



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Geologia

Igor Araujo Pessoa

**Utilizando a geoquímica dos corais e bivalves para compreender as  
condições ambientais na Baía da Ilha Grande**

Rio de Janeiro

2023

Igor Araujo Pessoa

**Utilizando a geoquímica dos corais e bivalves para compreender as condições  
ambientais na Baía da Ilha Grande**

Tese apresentada, como requisito parcial para  
obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-  
Graduação em Geociências, da Universidade do  
Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração:  
Geociências

Orientador: Prof. Dr. Mauro Cesar Geraldes

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Luzia Antonioli

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/ REDE SIRIUS/ CTC/C

P475 Pessoa, Igor Araujo.

Utilizando a geoquímica dos corais e bivalves para compreender  
as condições ambientais na Baía da Ilha Grande / Igor Araujo  
Pessoa. – 2023.

132 f.: il.

Orientador: Mauro Cesar Geraldes.

Coorientadora: Luzia Antonioli.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro, Faculdade de Geologia.

1. Metais pesados – Grande, Ilha (RJ) – Teses. 2. Geoquímica –  
Grande, Ilha (RJ) – Teses. 3. Poluição marinha – Teses. 4. Bivalve  
(molusco) – Teses. I. Geraldes, Mauro Cesar. II. Antonioli, Luzia. III.  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Geologia.  
IV. Título.

CDU 550.43:639.411(815.3)

Bibliotecária responsável: Ingrid Pinheiro / CRB-7: 7048

Autorizo, apenas para fins acadêmicos, a reprodução total ou parcial desta tese,  
desde que citada a fonte

---

Assinatura

---

Data

Igor Araujo Pessoa

**Utilizando a geoquímica dos corais e bivalves para compreender as condições ambientais na Baía da Ilha Grande**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Geociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Geociências

Aprovada em 28 de agosto de 2023.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Cesar Geraldes

Faculdade de Geologia - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Luzia Antonioli

Faculdade de Geologia - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Banca Examinadora: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Werlem Holanda dos Santos

Faculdade de Geologia - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. Rodolfo Dino

Faculdade de Geologia - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. Marcelo dos Santos Salomão

Faculdade de Geologia - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. Alexis Rosa Nummer

Universidade Federal Fluminense

---

Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ariadne Marra de Souza

Universidade Federal do Espírito Santo

---

Rio de Janeiro

2023

## **DEDICATÓRIA**

À Vera Lucia Araujo Pessoa, a verdadeira luz.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço especialmente à minha família pelo apoio e compreensão ao longo desses anos. Ao Prof. Dr. Mauro Geraldes pela orientação e por se fazer presente nos momentos de maior importância de realização desta tese. À Coorientadora Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Luzia Antonioli pelo incentivo à produção acadêmica e pelas valiosas intervenções. Ao Prof. Dr. Rodolfo Dino pelo apoio acadêmico, principalmente relacionados as etapas de formação acadêmica. Agradeço também a colaboração dos coautores dos artigos gerados a partir dessa pesquisa, ao Prof. Dr. Marcos Fernandez, Prof. Dr. Armando Dias Tavares, Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Adina Paytan e Dr. Regina Mertz bem como aos colegas Marcelo Amorim, Lívia Gebara, Marcos Coelho, Bruno Cunha, Luiz Felipe Romero e Ana Carolina Moterani que contribuíram com as análises, coleta das amostras e processos relevantes a respeito da pesquisa. Gostaria de agradecer também ao Programa de Pós-Graduação em Geociências da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, especialmente a Marianni Picciani, por estar sempre à disposição, sendo fundamental nos procedimentos administrativos.

Esta pesquisa foi desenvolvida ao longo de um período de quatro anos, como parte do projeto de pesquisa "Análise isotópica aplicada em estudos ambientais ao longo da costa do Rio de Janeiro", iniciado pelo Prof. Mauro Geraldes. Esse projeto foi financiado pelo FINAP e pela Faperj, e está afiliado à Universidade Estadual do Rio de Janeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, através da concessão da bolsa de doutorado. E também com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Além disso, esta tese foi parcialmente financiada pela International Coral Reef Society (ICRS) e pela International Association of Sedimentologists (IAS) com bolsas de pesquisas e apoios financeiros para participação de congressos e realização de análises, obrigado!

Em todos os casos, o desenvolvimento das hipóteses científicas, investigações e preparação da tese, coleta de amostras, preparação e análise, avaliação e interpretação de dados, bem como a redação dos manuscritos foram realizados pelo doutorando na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (Brasil), na Universidade da Califórnia, Santa Cruz (Estados Unidos) e na Universidade Johannes Gutenberg de Mainz (Alemanha), entre janeiro de 2019 e Julho de 2023. Os resultados desta pesquisa foram apresentados em várias

conferências internacionais e estão publicados em periódicos internacionais revisados por pares.

When there is hope in the future, there is power in the present.

*Zig Ziglar*

## RESUMO

**PESSOA, Igor Araujo. Utilizando a geoquímica dos corais e bivalves para compreender as condições ambientais na Baía da Ilha Grande.** 2023. 132 f. Tese (Doutorado em Geociências) – Faculdade de Geologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Esta tese de doutorado utiliza corais e bivalves como indicadores de mudanças ambientais afim de avaliar os impactos da poluição marinha por metais na Baía da Ilha Grande (Rio de Janeiro/Brasil). A pesquisa emprega uma abordagem multidisciplinar, combinando levantamentos de campo, experimentos labororiais e técnicas de espectrometria de massas para fornecer dados sobre a dinâmica da poluição por metais e suas consequências para os organismos marinhos da região. A Baía da Ilha Grande é uma das áreas de maior biodiversidade do Brasil, e apesar da importância ecológica da região, a Baía está sob crescente pressão antropogênica, com diversas fontes de poluição terrestre e marinha que potencialmente impactam os habitats marinhos. Neste trabalho, uma nova estratégia é empregada para investigar como a poluição por metais varia espacialmente e temporalmente no meio marinho, utilizando esqueletos de corais e conchas de bivalves como registros naturais de eventos de poluição. O objetivo deste estudo é avaliar os padrões de contaminação por metais na Baía da Ilha Grande. Para isso, são utilizadas as técnicas de Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser (LA-ICP-MS) e Espectrometria de Massas com Coletor Múltiplo e com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser (LA-MC-ICP-MS) para medir concentrações de metais em esqueletos de corais (*Tubastraea tagusensis*) e conchas de bivalves (*Perna perna*). O trabalho envolve uma combinação de análise de concentrações elementares e isotópicas das conchas e dos esqueletos para avaliar os níveis de poluição por metais no ambiente marinho. O objetivo desta pesquisa é avaliar o aporte antropogênico de metais na Baía a partir da geoquímica de conchas de bivalves e esqueletos de corais para caracterizar as mudanças na química da água do mar que possam ter ocorrido ao longo da vida dos animais e terem sido registradas no material esquelético, de forma que os dados obtidos ajudem na investigação de contaminantes metálicos na Baía da Ilha Grande. Os resultados revelam uma variabilidade significativa na concentração de metais entre amostras de diferentes locais, indicando que a incorporação de metais em conchas de bivalves e esqueletos de corais é sensível ao local de amostragem. Além disso, a variabilidade das concentrações de metais ao longo dos esqueletos e das conchas sugere que os níveis ambientais de contaminação por metais mudaram ao longo da vida dos animais como consequência do aporte antropogênico. Os resultados desta pesquisa revelam que os níveis de metais na Baía da Ilha Grande estão impactando os organismos marinhos da região. Espera-se que este trabalho tenha implicações para a melhoria da gestão costeira da região, ao fornecer informações valiosas para os tomadores de decisão envolvidos na conservação dos ecossistemas marinhos na região.

Palavras-chave: conchas de bivalves; esqueletos de corais; proxies geoquímicos; Baía da Ilha Grande; poluição marinha; poluição por metais.

## ABSTRACT

PESSOA, Igor Araujo. **Using coral and bivalve geochemistry to understand environmental conditions in Ilha Grande Bay.** 2023. 132 f. Tese (Doutorado em Geociências) – Faculdade de Geologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

This doctoral thesis employs corals and bivalves as biological indicators to assess the impact of marine pollution by metals in Ilha Grande Bay (Rio de Janeiro, Brazil). The research utilizes a multidisciplinary approach, combining field surveys, laboratory experiments, and mass spectrometry techniques to provide data on the dynamics of metal pollution and its consequences for marine organisms in the region. Ilha Grande Bay is one of the most biodiverse areas in Brazil, and despite its ecological importance, the bay is under increasing anthropogenic pressure, with various sources of terrestrial and marine pollution that potentially impact marine habitats. In this work, a novel strategy is employed to investigate how metal pollution varies spatially and temporally in the marine environment, using coral skeletons and bivalve shells as proxies of marine pollution. The objective of this study is to evaluate metal contamination in Ilha Grande Bay. To achieve this, Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) and Laser Ablation Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-MC-ICP-MS) techniques are used to measure metal concentrations in coral skeletons (*Tubastraea tagusensis*) and bivalve shells (*Perna perna*). The work involves a combination of elemental and isotopic analysis of shells and skeletons to assess levels of metal pollution in the marine environment. The goal of this research is to evaluate the anthropogenic input of metals in the bay from the geochemistry of bivalve shells and coral skeletons to characterize changes in seawater chemistry that may have occurred throughout the animals' lives and have been recorded in the skeletal material. The results reveal significant variability in metal concentration among samples from different locations, indicating that the incorporation of metals in bivalve shells and coral skeletons is sensitive to the sampling location. Additionally, the variability of metal concentrations along the skeletons and shells suggests that environmental levels of metal contamination have changed over the animals' lifetimes as a result of anthropogenic input. The results of this research reveal that the levels of metals in Ilha Grande Bay are impacting marine organisms. It is hoped that this work will have implications for improving coastal management in the region by providing valuable information for decision-makers involved in the conservation of marine ecosystems in the region.

Keywords: bivalve shells; coral skeletons; trace metal uptake; geochemical proxies; Ilha Grande Bay; marine pollution; metal contamination.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Localização da Baía da Ilha Grande .....	32
Figura 2 –	Competição de habitat entre <i>Mussismilia hispida</i> , <i>Tubastraea tagusensis</i> e <i>Tubastraea coccinea</i> .....	35
Figura 3 –	Localização das potenciais fontes pontuais de poluição.....	37
Figura 4 –	Ilustração esquemática da análise por LA-ICP-MS em esqueletos de corais .....	42
Figura 5 –	Map of the study area .....	56
Figura 6 –	Schematic illustration of LA-ICP-MS analysis in coral skeletons...	58
Figura 7 –	Profiles of metal content and accumulation rate for <i>T. tagusensis</i> skeletons from Ilha Grande Bay .....	61
Figura 8 –	Profiles of mean metal concentrations for each element recorded in <i>T. tagusensis</i> skeletons from Ilha Grande Bay.....	62
Figura 9 –	Illustrative schemes of bivalve shell growth .....	84
Figura 10 –	Map of the study area .....	88
Figura 11 –	Sample shells .....	89
Figura 12 –	Results of lead isotope ratios ( $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ and $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ).....	94
Figura 13 –	Results of $^{208}\text{Pb}$ intensities combined with $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio.....	95
Figura 14 –	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ diagram combine with sediments data..	96
Figura 15 –	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ diagram combine with ores data.....	97
Figura 16 –	$^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ endmembers reported in the literature correlated with values observed in shells.....	98

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 –	Metal concentrations detected in the samples. Maximum, minimum and mean values of metal concentrations in coral skeletons collected from different sites in Ilha Grande Bay.....	60
Tabela 2 –	Laser parameter settings for sample analysis.....	90
Tabela 3 –	Spectrometer operating condition.....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	Alumínio
ACC	Carbonato de Cálcio Amorfo
Ar	Argônio
Ba	Bário
Ca	Cálcio
Cd	Cádmo
Cr	Cromo
Cu	Cobre
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission</i>
LA-ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser
LA-MC-ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser com Múltiplos Coletores
LOD	Limites de Detecção
M/ΔM	Modo de Resolução de Massa
Mg	Magnésio
Nd	Neodímio
Ni	Níquel
Pb	Chumbo
RSD	Desvio Padrão Relativo
RSF	Fator de Sensibilidade Relativa
SD	Desvio Padrão
Sn	Estanho
TIMS	Espectrometria de Massa por Ionização Térmica
Zn	Zinco

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	17
<b>1      OBJETIVO GERAL.....</b>	21
<b>1.1    Objetivo 1.....</b>	21
<b>1.2    Objetivo 2.....</b>	21
<b>2      REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	23
<b>2.1    Proxies geoquímicos e limitações no monitoramento da poluição marinha.....</b>	23
<b>2.2    Processos de Biomineralização e Incertezas.....</b>	25
<b>2.3    Aporte de metais no meio marinho.....</b>	29
<b>3      ÁREA DE ESTUDO.....</b>	32
<b>3.1    Problemas ambientais na Baía da Ilha Grande.....</b>	34
<b>3.2    Poluição marinha na Baía da Ilha Grande.....</b>	35
<b>3.3    Estudos anteriores sobre a poluição por metais na Baía da Ilha Grande.....</b>	37
<b>4      MÉTODOS.....</b>	40
<b>4.1    Análise por ablação a laser.....</b>	41
<b>4.2    Espectrômetros de massa de setor magnético.....</b>	42
<b>4.3    Interferências, limite de detecção e efeitos de matriz na análise por ablação a laser.....</b>	43
<b>4.4    Estratégia de calibração aplicada nessa pesquisa.....</b>	46
<b>5      UNDERSTANDING THE IMPACTS OF METAL POLLUTION ON CORALS IN ILHA GRANDE BAY (RIO DE JANEIRO, BRAZIL).....</b>	52
<b>5.1    Abstract.....</b>	52
<b>5.2    Introduction.....</b>	53
<b>5.3    Methods.....</b>	57
<b>5.3.1    Sample collection.....</b>	57
<b>5.3.2    LA-ICP-MS.....</b>	57
<b>5.4    Results and discussion.....</b>	58
<b>5.5    Conclusion.....</b>	67

5.6	<b>Supplementary material.....</b>	69
5.7	<b>References.....</b>	73
6	<b>A PRACTICAL PROCEDURE FOR ANALYSIS OF LEAD ISOTOPES IN BIVALVE SHELLS USING LASER ABLATION-MULTICOLLECTOR-INDUCTIVELY COUPLED PLASMA-MASS SPECTROMETRY (LA-MC-ICP-MS).....</b>	83
6.1	<b>Abstract.....</b>	83
6.2	<b>Introduction.....</b>	83
6.3	<b>Materials and Methods.....</b>	87
6.3.1	<u>Site description.....</u>	87
6.3.2	<u>Sample Characterization.....</u>	89
6.3.3	<u>Sample preparation.....</u>	89
6.3.4	<u>LA-MC-ICP-MS.....</u>	90
6.3.5	<u>Laser Settings.....</u>	90
6.3.6	<u>Spectrometer Settings.....</u>	91
6.3.7	<u>Calibration Procedure.....</u>	91
6.4	<b>Results and discussion.....</b>	93
6.5	<b>Conclusion.....</b>	99
6.6	<b>Supplementary material.....</b>	100
6.7	<b>References.....</b>	106
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	117
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	119

## INTRODUÇÃO

A poluição dos ambientes costeiros resultante de atividades humanas apresenta desafios significativos na gestão ambiental, uma vez que os ecossistemas marinhos estão sendo degradados globalmente em uma taxa sem precedentes. A gestão dos ecossistemas marinhos necessita de dados e pesquisas de monitoramento para determinar a magnitude e os riscos de um determinado evento de poluição assim como para avaliar os efeitos adversos nesses ecossistemas. Dessa forma, o monitoramento ambiental é necessário para avaliar as ameaças aos ambientes marinhos. Se por um lado, os dados obtidos por meio do monitoramento ambiental oferecerem a base para o desenvolvimento de mecanismos de conservação. Por outro lado, as pesquisas fornecem o fluxo de informações científicas necessárias para que os tomadores de decisão respondam de forma mais estratégica a poluição marinha e melhorem a qualidade ambiental. Além disso, entender a localização das fontes poluidoras em uma determinada área é crucial para uma gestão eficaz dos ecossistemas marinhos.

Ao projetar uma pesquisa de monitoramento, é importante ter objetivos claros para maximizar os resultados. Um programa de monitoramento bem-sucedido fornece resultados diretamente aplicáveis para decisões efetivas de gestão. Isso requer que os gestores ambientais estejam cientes das limitações da pesquisa, enquanto os pesquisadores devem compreender quais questões são mais relevantes para os tomadores de decisão. O monitoramento ambiental envolve a coleta de dados por meio de medições diretas e indiretas do meio ambiente. Um fator limitante das medições diretas é a capacidade limitada de adquirir dados continuamente, especialmente para avaliações de longo prazo. A análise química da água do mar serve como um exemplo claro de monitoramento direto, mas para esta abordagem capturar a variabilidade temporal e espacial das propriedades físico-químicas da água do mar com resolução suficientemente informativa, são exigidas medições contínuas e esforços extensivos de amostragem. O monitoramento direto frequentemente enfrenta desafios na avaliação da extensão e magnitude dos eventos de poluição, exigindo medições contínuas e esforços extensivos de amostragem. Além disso, certos parâmetros ambientais podem ser desafiadores de monitorar devido a restrições logísticas ou altos custos. Portanto, abordagens alternativas são necessárias para preencher as lacunas nos dados de monitoramento afim de obter uma compreensão mais abrangente das mudanças ambientais.

Por outro lado, métodos indiretos denominados “proxies” podem superar essas limitações, avaliando os componentes temporais e espaciais associados às mudanças nas condições ambientais causadas tanto pelos processos naturais como por atividades humanas. Métodos indiretos oferecem uma alternativa valiosa ao monitoramento ambiental, utilizando indicadores (proxies) para inferir condições ambientais passadas. Esses proxies podem ser marcadores geológicos, biológicos, ou químicos que refletem mudanças no ambiente ao longo do tempo. Esses registros podem ser obtidos de uma ampla gama de fontes, incluindo sedimentos, árvores, gelo e espécimes biológicos, como conchas de bivalves e esqueletos de corais. Uma vantagem significativa desses métodos indiretos é a capacidade de fornecer contexto histórico e perspectivas de longo prazo sobre as mudanças ambientais. Os dados podem se estender além do escopo temporal do monitoramento direto e fornecer informações sobre padrões e tendências que não são capturados por medições de curto prazo. Essa abordagem permite que os pesquisadores reconstruam condições ambientais passadas e avaliem a magnitude e o momento em que um determinado evento de mudança ambientais ocorreu no passado. Pode fornecer informações sobre vários aspectos do ambiente, como por exemplo temperatura, precipitação, disponibilidade de nutrientes, e os níveis de poluentes.

Por exemplo, bivalves têm sido usados como uma ferramenta valiosa para o monitoramento ambiental devido à sua excepcional capacidade de acumular contaminantes. Na maioria dos casos, as concentrações de contaminantes são avaliadas é no tecido dos bivalves, apesar das limitações em fornecer dados de concentração ao longo do tempo (GOLDBERG, 1975). A concentração de contaminantes no tecido de bivalves representa a acumulação de poluentes ao longo da vida do organismo ou do momento da exposição até o momento da coleta. Além disso, a concentração de contaminantes pode diminuir ao longo do tempo, uma vez que os organismos têm a capacidade de regular certos contaminantes ou eliminá-los de seus corpos. Assim, para obter informações sobre variações temporais de contaminantes no ambiente por meio do tecido de bivalves, são necessárias frequentes campanhas de campo. Por outro lado, é amplamente conhecido que existe uma relação entre as condições ambientais e a composição da concha dos bivalves. A deposição da concha de bivalves ocorre sob sucessivas camadas de crescimento. As bandas de crescimento presentes nas conchas servem como arquivos ambientais do momento em que a concha foi depositada. Dessa forma, uma única concha contém o registro de dados ambientais ao longo do tempo. Análises realizadas entre as bandas de crescimento de conchas de bivalves podem reconstruir com precisão as condições ambientais a partir desses registros (proxies geoquímicos). O uso desses proxies geoquímicos (em animais calcificadores marinhos) permite o estudo de

processos biogeoquímicos em uma ampla gama de escalas temporais e espaciais. Esses proxies apresentam uma maneira prática para determinar mudanças ambientais ocorridas no meio marinho e servem como uma ferramenta para avaliar a poluição costeira GILLIKIN *et al.*, 2005).

Corais e bivalves alimentam-se capturando pequenos organismos marinhos (plâncton) na coluna d'água. Durante a digestão alimentar, os elementos químicos são sistematicamente absorvidos e armazenados dentro das estruturas de carbonato de cálcio que formam as conchas e os esqueletos desses animais. Conforme os animais crescem, suas estruturas esqueléticas formam anéis de crescimento semelhantes aos anéis de crescimento encontrados em árvores. Os elementos químicos armazenados dentro desses anéis de crescimento podem fornecer informações ambientais sobre as condições físico-químicas da água do mar durante a vida dos animais. Esses registros ambientais (proxies geoquímicos) também podem indicar eventos de poluição. Uma vez preservados nas estruturas esqueléticas, os proxies geoquímicos fornecem registros contínuos de mudanças ambientais durante o período de calcificação do esqueleto. Esses dados podem ser usados para o monitoramento ambiental da água do mar em larga escala temporal. Dessa forma, o estudo de proxies geoquímicos em esqueletos de corais e conchas de bivalves oferece uma oportunidade para entender os fatores que afetam a qualidade da água do mar (DAVID *et al.*, 2003; CARRÉ *et al.*, 2006).

A origem da incorporação de metais em corais e bivalves é resultado da biodisponibilidade de elementos aos quais os animais são expostos ao longo de suas vidas. Uma vez liberados no ambiente marinho, os contaminantes metálicos estão sujeitos a condições ambientais que controlam seu destino e as concentrações a que os organismos marinhos estão expostos. Os contaminantes metálicos podem ser encontrados como íons dissolvidos, complexos moleculares, ligados a coloides ou aderidos a material particulado suspenso na água. Além da concentração de metais na água, existem outros fatores que precisam ser considerados ao usar esqueletos de corais e conchas de bivalves como proxies de poluição marinha: (1) efeitos ecológicos e biológicos (como por exemplo nicho ecológico e fisiologia das espécies, taxa metabólica e taxa de crescimento); (2) As condições ambientais, como a temperatura da água, a salinidade e a disponibilidade de nutrientes, podem influenciar a incorporação de elementos nos esqueletos de corais e conchas de bivalves; e (3) tempo de amostragem e duração dos eventos de poluentes afim de avaliar precisamente a dose e o tempo de exposição à substâncias tóxicas (BRIAND *et al.*, 2018).

O uso da geoquímica dos corais e bivalves para compreender as condições ambientais na Baía da Ilha Grande envolve o estudo da composição química dos esqueletos de corais e

conchas de bivalves no estudo das condições ambientais passadas. Esses organismos acumulam elementos químicos do ambiente, e ao analisar a composição geoquímica dessas estruturas, podemos obter informações valiosas sobre a composição da água e as mudanças das propriedades físico-químicas em uma dada região. A análise de metais ao longo dos anéis de crescimento de conchas de bivalves e esqueletos de corais permite investigar impactos da poluição marinha relacionadas como por exemplo os impactos derivados da expansão agrícola e do desenvolvimento costeiro. Essa abordagem possui grande valor no monitoramento ambiental, pois podemos obter registros ambientais com alta resolução espacial para criar registros resolvidos no tempo na investigação da qualidade de água do mar. Esse procedimento permite registrar mudanças em uma dada região costeira no momento da formação da estrutura calcária desses organismos. A análise geoquímica dessas estruturas, portanto permitem investigar as condições ambientais e distinguir padrões de mudanças na composição da água do mar. Em última análise, o uso desses registros geoquímicos fornece dados que não podem ser obtidos em pesquisas de monitoramento tradicionais. Além disso, esses registros podem ser inferidos a partir de um pequeno número de amostras.

A fim de garantir a conservação dos ecossistemas marinhos, e consequentemente a saúde humana, é crucial monitorar a poluição marinha. Ao longo das últimas décadas, diversas atividades econômicas provocaram a degradação dos ecossistemas marinhos na Baía da Ilha Grande (Rio de Janeiro, Brasil). Apesar disso, os esqueletos de corais e as conchas de bivalves servem como indicadores ambientais de poluição marinha. Até o momento, nenhum estudo examinou a relação entre a acumulação de metais em conchas de bivalves ou em esqueletos de corais com a poluição marinha na região. O uso de proxies geoquímicos na estrutura carbonática desses animais oferece informações valiosas para avaliar e monitorar a poluição por metais no ambiente marinho.

## 1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo desta tese de doutorado foi realizar análises de conteúdos metálicos em esqueletos de corais e conchas de bivalves para entender os padrões de distribuição e temporais da contaminação por metais na Baía da Ilha Grande. Essa pesquisa ocorreu por meio da coleta de corais e bivalves em diferentes locais com a finalidade de investigar a exposição a diferentes concentrações de metais em distintas áreas. Este trabalho utilizou uma abordagem multidisciplinar, combinando monitoramento ambiental com métodos de espectrometria de massas para fornecer dados sobre a dinâmica da poluição por metais e suas consequências para os ecossistemas marinhos.

### 1.1 Objetivo 1

O primeiro objetivo desta pesquisa foi utilizar os esqueletos de corais de *Tubastraea tagusensis* como indicadores ambientais de poluição marinha. As concentrações de metais de magnésio (Mg), alumínio (Al), cromo (Cr), ferro (Fe), níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), cádmio (Cd), bário (Ba), estanho (Sn), neodímio (Nd) e chumbo (Pb) foram medidas utilizando a técnica de Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado por Ablação a Laser (LA-ICP-MS). Diferentes seções dos esqueletos de corais foram analisadas para fornecer dados espaciais e temporais sobre os padrões de distribuição dos metais na Baía da Ilha Grande.

### 1.2 Objetivo 2

O segundo objetivo foi apresentar uma nova abordagem prática para determinar assinaturas isotópicas de chumbo (Pb) em conchas de bivalves como forma de avaliar a origem da poluição por chumbo em águas costeiras. Para demonstrar a aplicabilidade do novo método foram medidas as razões isotópicas de chumbo ( $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  e  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ) ao longo de distintas seções das conchas de bivalves, utilizando a técnica de Espectrometria de Massas

com Coletor Múltiplo e com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser (LA-MC-ICP-MS).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo apresenta uma revisão abrangente da literatura existente sobre o uso de proxies geoquímicos em conchas de bivalves e esqueletos de corais no monitoramento da poluição marinha por metais. Além disso, também é brevemente discutido os mecanismos de biomineralização dessas estruturas.

### 2.1 Proxies geoquímicos e limitações no monitoramento da poluição marinha

As conchas de bivalves e os esqueletos de corais armazenam uma variedade de componentes químicos (proxies), fornecendo registros geoquímicos sobre as mudanças ambientais na coluna d'água (DAVID, 2003; DERMOTT, 1986). À medida que os corais e bivalves crescem, seus esqueletos formam bandas anuais (análogas aos anéis de árvores), que incorporam elementos traços presentes na água. Os elementos químicos armazenados na estrutura esquelética podem ser medidos com precisão utilizando espectrômetros de massa de alta resolução, os quais podem fornecer informações tanto sobre a concentração de elementos químicos quanto sobre a composição isotópica de elementos traços. Esses dados podem ser utilizados para examinar como a incorporação de elementos químicos correlaciona-se com as taxas de crescimento do esqueleto. Essa correlação, por sua vez, serve para caracterizar as mudanças na química da água do mar que ocorram ao longo da vida dos animais e as quais ficaram registradas na estrutura carbonática do esqueleto (DODGE, 2003; GILLIKIN *et al.*, 2005).

As conchas de bivalves e os esqueletos de corais quando são estudados dessa forma podem gerar dados geoquímicos de alta resolução espacial na investigação das ameaças antrópicas que afetam o equilíbrio dos ecossistemas marinhos (GROVE *et al.*, 2012, KRAUSE-NEHRING *et al.*, 2012). Os proxies geoquímicos servem para registrar mudanças em um determinado local e período de tempo, e como estão ligados a mudanças ambientais, podem ser utilizados como um sistema de rastreamento para fontes de poluição nos ambientes marinhos (FALLON *et al.*, 2002; LAZARETH *et al.*, 2003). Dessa forma, esses registros oferecem informações valiosas sobre os impactos antropogênicos nos ecossistemas costeiros.

No entanto, para entender a relação entre os níveis de metais no ambiente e nas estruturas carbonáticas desses organismos marinhos é preciso considerar diversos fatores, como por exemplo os processos biológicos e fisiológicos, a especiação de metais no meio marinho associada com as variações das condições ambientais.

Para utilizar proxies geoquímicos no monitoramento da poluição marinha, é necessário considerar os fracionamentos isotópicos dos elementos químicos. Diversos fatores ambientais podem ocasionar o fracionamento isotópico de um determinado elemento, incluindo os mecanismos de especiação geoquímica na coluna d'água e fatores fisiológicos dentro do organismo. A forma química dos elementos metálicos na coluna d'água pode afetar a capacidade de serem incorporados pelos organismos marinhos. Alguns metais são mais facilmente incorporados nos tecidos, enquanto outros podem não ser tão facilmente assimilados (PUTTEN *et al.*, 2000). Além disso, o material particulado em suspensão juntamente com a ação das correntes costeiras e eventos meteorológicos também pode afetar a bioacumulação de metais nos organismos marinhos (WILLIAMS *et al.*, 2017). Além das variáveis ambientais, a distribuição dos elementos metálicos na água do mar é afetada por vários processos bióticos e abióticos relacionados ao comportamento dos elementos e à especiação dos metais no ambiente marinho (EMELYANOV *et al.*, 2015). Alguns metais reagem de maneira diferente aos processos físico-químicos que ocorrem na água do mar, incluindo as reações de precipitação e dissolução, bem como as mudanças das condições geoquímicas associadas aos processos microbianos. Todos esses mecanismos ocorrem desde a microescala até a escala ambiental e controlam a dinâmica dos metais no ambiente marinho. Dessa forma o comportamento geoquímico dos metais no meio marinho pode limitar nossa capacidade de caracterizar os eventos de poluição a partir das análises das conchas e esqueletos de corais (MOREL *et al.*, 2003).

Compreender as principais reações geoquímicas associadas aos mecanismos biológicos e físico-químicos no ambiente marinho é crucial para entender o registro histórico desses proxies geoquímicos (ANU *et al.*, 2007). Fatores ambientais e geoquímicos influenciam diretamente o transporte e a distribuição dos elementos metálicos no ambiente marinho. As características e os parâmetros ambientais tais como as correntes costeiras, temperatura, salinidade da água, profundidade, fluxo sedimentar e processos biogeoquímicos desempenham um papel crucial na dispersão ou retenção dos elementos metálicos no meio marinho. Esses fatores desempenham um papel importante no ciclo biogeoquímico dos metais que constituem características-chave as quais regem a biodisponibilidade dos elementos, tornando a incorporação de metais pelos organismos marinhos diretamente relacionados a

eles. Por exemplo, tanto os metais dissolvidos como os metais em fases sólidas são afetados por reações geoquímicas associadas a mudanças nas condições da água do mar, como variações na temperatura da água, pH, salinidade e nas condições de oxi-redox (DANG *et al.*, 2015). Além disso, dependendo do elemento e da condição de oxidação do ambiente, alguns elementos ficam menos reativos a matéria orgânica e tendem a permanecer dissolvidos (como Li, Na, K, Cs), enquanto outros tendem a se associar à matéria orgânica (como Zn, Cd, Pb, Ni e Cu) (CHOËL *et al.*, 2006; O'DAY *et al.*, 2004). Portanto, as investigações ambientais que utilizam esses proxies precisam reconhecer as complexas reações geoquímicas que ocorrem no meio marinho ao avaliar o acúmulo de metais em organismos marinhos.

A distribuição de metais no ambiente marinho, seja mantendo-se na coluna de água ou depositando-se nos sedimentos marinhos, é diretamente afetada pela produtividade primária e pela composição e abundância do material particulado em suspensão (STECHER *et al.*, 1999). A disponibilidade de matéria orgânica na água do mar desempenha um papel crucial no acúmulo de metais nos organismos marinhos. Por sua vez, a capacidade dos metais de associarem-se a matéria orgânica pode aumentar a concentrações em até 1000 vezes nos organismos marinhos (BONNAIL *et al.*, 2016). Por outro lado, a taxa de deposição de contaminantes metálicos nos sedimentos marinhos também é influenciada pela abundância e composição da matéria orgânica (AHRENS *et al.*, 2010). Visto que os metais possuem baixa solubilidade, os metais acumulam-se em sedimentos de grãos finos como por exemplo silte ou lama. Dessa forma, o tamanho do grão dos sedimentos também afeta a sua retenção no pacote sedimentar. Uma vez incorporados nos depósitos sedimentares, alguns metais são relativamente sensíveis a mudanças nas condições de oxirredução, enquanto outros são mais estáveis às mudanças nas condições ambientais. Alguns metais tendem a associarem-se a partículas de minerais argilosos ao depositarem nos sedimentos marinhos, resultando em concentrações mais altas em comparação com a coluna de água (CHAPPAZ *et al.*, 2008). Dessa maneira, estudos ambientais envolvendo corais e poluição por metais também devem levar em consideração o transporte e a distribuição pelas correntes marítimas, bem como a remobilização dos sedimentos marinhos, uma vez que sedimentos podem ser ressuspensos e os metais liberados de volta na coluna água (MUDGE *et al.*, 2005).

## 2.2 Proxies geoquímicos e limitações no monitoramento da poluição marinha Processos de Biomineralização e Incertezas

Além das dinâmicas interações entre as variáveis ambientais e geoquímicas, esta tese de doutorado combina esclerocronologia com poluição marinha. A esclerocronologia é o estudo das variações físicas e químicas presente na estrutura calcárias de organismos marinhos em relação ao contexto temporal as quais foram formadas (JONES, 1983). Apesar de diferentes espécies de calcificadores marinhos, tais como corais e bivalves, depositam seus esqueletos em distintas resoluções temporais (uma vez que os processos de biomíneralização são fisiologicamente diferentes de um grupo taxonômico para o outro), e embora a composição química das conchas ou esqueletos sejam diferentes (CUIF *et al.*, 2003). Combinar diferentes registros geoquímicos no ambiente marinhos é uma área de pesquisa promissora, dada a necessidade de expansão de nosso conhecimento sobre proxies geoquímicos.

A biomíneralização é um processo biológico pelo qual os organismos vivos formam estruturas calcárias, como conchas de bivalves e esqueletos de corais. Esses organismos incorporam elementos traços presentes na água e no ambiente em seus esqueletos calcários durante o crescimento. No entanto, existem algumas incertezas associadas a taxa de crescimento e a composição química das conchas de bivalves e esqueletos de corais, as quais podem variar de indivíduo para indivíduo e entre distintas espécies. Isso pode levar a variações nos registros geoquímicos no interior das estruturas, tornando necessário considerar essas variações ao interpretar os resultados.

Vários estudos utilizaram bivalves para monitorar a qualidade da água em diversas regiões do mundo (GOLDBERG, 1975). No entanto, a maioria deles tem analisado os contaminantes em amostras de tecidos (BELLOTTO *et al.*, 2007). As amostras de tecido oferecem uma avaliação limitada dos níveis de contaminantes, sendo suscetíveis a variações nas concentrações de contaminantes entre diferentes indivíduos (CARRIKER *et al.*, 1982), o que pode afetar a interpretação dos dados. Além disso, há algumas limitações em usar tecidos para medir concentrações de metais, uma vez que certos organismos podem eliminar rapidamente alguns metais específicos (LARES *et al.*, 2005), enquanto outros podem ser mantidos nos organismos por períodos mais longos (BOISSON *et al.*, 1998). Por outro lado, os arquivos contidos na estrutura esquelética apresentam uma abordagem mais promissora na aquisição de dados ambientais. Vários organismos marinhos possuem a capacidade de secretar seus esqueletos a partir da água do mar. O processo de calcificação das estruturas esqueléticas atua como um mecanismo natural para capturar e registrar informações sobre a composição da água do mar no momento da formação do esqueleto (PROUTY *et al.*, 2008; HOLLAND *et al.*, 2014). Corais e bivalves são exemplos de espécies marinhas que possuem

essa capacidade de registrar informações sobre as condições da água do mar durante a formação do esqueleto. Esses arquivos geoquímicos apresentam uma vantagem significativa, pois podem gerar séries temporais das composições físico-químicas da água do mar (RUNNALLS *et al.*, 2003).

A formação da estrutura esquelética em bivalves e corais ocorre num espaço localizado entre o tecido interno e o próprio esqueleto (MARIN *et al.*, 2012; TAMBUTTÉ *et al.*, 2011). Embora os mecanismos de calcificação ainda não sejam totalmente compreendidos, é considerado que a água do mar entra nesse espaço por meio de passagens estreitas entre as células do tecido, onde os íons presente na água são transportados ativamente através da membrana do tecido, facilitando o transporte de elementos químicos para o espaço calcificante (ALLEMAND *et al.*, 2011). Por meio desse bombeamento ativo, o pH do fluido do espaço calcificante é elevado, levando à formação de cristais de aragonita. Na sequencia a organização dos cristais e a calcificação do esqueleto é regulada por uma matriz orgânica que desempenha um papel importante nas características estruturais do esqueleto (COHEN *et al.*, 2003; JACOB *et al.*, 2008; FRITZ *et al.*, 1990).

Durante o processo de formação do esqueleto, a incorporação de elementos metálicos nos esqueletos de corais e conchas de bivalves fornece registros das condições ambientais experimentadas pelos animais ao longo de suas vidas (CORRÈGE, 2006). Embora a acumulação de metais em conchas e esqueletos de corais ofereça informações sobre os níveis de contaminação no ambiente marinho no momento da calcificação do esqueleto, os mecanismos metabólicos também afetam na incorporação de metais no esqueleto (COHEN *et al.*, 1997). Ou seja, a incorporação de elementos químicos é diretamente afetada pelos mecanismos biológicos (GAGAN *et al.*, 2012). De modo que, para utilizar proxies geoquímicos como indicadores de mudanças ambientais, é necessário compreender os mecanismos de calcificação. O material esquelético não é inicialmente depositado como cristais de aragonita, mas sim como um carbonato de cálcio amorfo (ACC) o qual é formado por uma matriz orgânica antes que a fase de carbonato seja depositada (WEINER *et al.*, 2003). Além disso, há heterogeneidades químicas dentro das estruturas de carbonato de cálcio, ou seja o material esquelético é formado a partir de um fluido heterogêneo, e sua composição química dos varia em diferentes partes da concha ou do esqueleto (CHALK *et al.*, 2021, LINGARD *et al.*, 1992, CLODE *et al.*, 2002).

Apesar de estudos anteriores já terem demonstrado que o transporte de íons da água do mar para o espaço calcificante é um processo altamente seletivo (MARUBINI *et al.*, 2008), ainda não é conhecido como ocorre a seleção dos íons transportados para esse espaço. Essa

incerteza ocorre porque os mecanismos moleculares e as vias de transporte de íons são em grande parte determinados por relações empíricas entre um meio quimicamente definido e a subsequente deposição dos minerais nesse meio (SCHÖNE *et al.*, 2010). Devido a essas peculiaridades, determinar as mudanças que ocorrem no meio marinho a partir de proxies geoquímicos associados aos mecanismos de biomíneralização é algo que ainda precisa ser melhor caracterizado. Ainda é necessário um conhecimento mais aprofundado dos mecanismos de biomíneralização em relação as mudanças ambientais para melhor compreender como esses registros são armazenados em esqueletos calcários marinhos (WEINER *et al.*, 2003).

Uma questão a ser respondida é como os mecanismos de calcificação e as taxas de deposição do esqueleto podem prever quantitativamente, ou determinarem qualitativamente, as variações da composição química da água do mar ao longo do tempo. Ou seja, para melhorar a aplicabilidade dos proxies geoquímicos, ainda é necessário determinar quais fatores biológicos regem a biomíneralização dos componentes esqueléticos (JUPITER *et al.*, 2008). Embora seja claro que ocorra a bioacumulação de elementos traços nas estruturas cristalinas de esqueletos de corais e nas conchas de bivalves, e que esta incorporação varia como consequência das mudanças das condições ambientais. Ainda não está claro como a incorporação de metais em carbonatos biogênicos marinhos varia em relação as mudanças ambientais.

A aplicação de proxies geoquímicos em carbonatos biogênicos marinhos deve considerar o fracionamento isotópico associados aos efeitos biológicos (MEIBOM *et al.*, 2006). Os metais são incorporados nos esqueletos dos corais e nas conchas de bivalves de diferentes maneiras (como a substituição de metais dissolvidos na estrutura cristalina, captura de matéria particulada dentro das cavidades esqueléticas, absorção de matéria orgânica do tecido do coral e alimentação do coral) (SINCLAIR, 2005). Além disso, a variabilidade nas calibrações empíricas de proxies a partir de diferentes espécies ou até mesmo a partir da mesma espécie apresenta desafios significativos para a ampla aplicação de proxies geoquímicos (LA VIGNE *et al.*, 2016). Essas dificuldades implicam que o conceito de proxies geoquímicos é um tema complexo, que considera fatores físicos, biológicos e químicos, os quais afetam a incorporação de elementos traços em carbonatos biogênicos marinhos. Dessa forma, é necessário proceder com cuidado ao tentar inferir a liberação de contaminantes metálicos no meio marinho com base nas concentrações de metais observadas em esqueletos de coral ou conchas de bivalves (CARRÉ *et al.*, 2006).

### 2.3 Aporte de metais no meio marinho

Os elementos metálicos são elementos que naturalmente estão presentes na água do mar. As fontes naturais de metais no ambiente marinho incluem processos geológicos como o vulcanismo e o intemperismo de rochas e minerais, a decomposição de rochas e a lixiviação de minerais liberam metais no ambiente marinho. Os sedimentos são frutos do intemperismo e da erosão de rochas e contém metais que podem ser transportados da terra para os rios e eventualmente para o ambiente marinho. Os metais podem entrar no ambiente marinho por meio de outras vias, incluindo deposição atmosférica associada com incêndios florestais, tempestades de desertos e/ou erupções vulcânicas (SHOTYK *et al.*, 1992). Embora as fontes naturais contribuam para a presença de metais no ambiente marinho, é importante considerar que as fontes antropogênicas têm um impacto maior na concentração desses elementos do meio marinho. A poluição por metais ocorre quando as atividades humanas aumentam as concentrações de metais acima dos níveis naturais, afetando o equilíbrio do ecossistema e ameaçando os seres marinhos (LUO *et al.*, 2022).

Por sua vez, os organismos marinhos acumulam metais por meio de processos metabólicos ou quando são consumidos por outros organismos contaminados (CHENG *et al.*, 2013; JAKIMSKA *et al.*, 2011). Os metais acumulados na biota podem entrar na cadeia alimentar marinha, representando riscos significativos tanto para a saúde humana como para o equilíbrio do ecossistema marinho. O consumo de peixes contaminados com metais representa riscos potenciais para a saúde humana, como distúrbios neurológicos e o de desenvolvimento de câncer e problemas reprodutivos (LIU *et al.*, 2022). Nesse sentido, é crucial monitorar a poluição marinha para aprimorar políticas e regulamentações ambientais, minimizar a contaminação, e proteger a saúde humana e a sustentabilidade dos ecossistemas marinhos (BRIAND *et al.*, 2018). Embora alguns metais sejam essenciais para os processos biológicos, eles podem ser tóxicos mesmo em baixas concentrações. Os impactos dos contaminantes metálicos podem variar de letais a crônicos para toda a cadeia trófica no meio marinho, incluindo fitoplâncton, zooplâncton, benthos, peixes e até mesmo humanos (CIESIELSKI *et al.* 2016). Como forma de controle dos níveis de metais nos tecidos, alguns animais marinhos empregam uma variedade de mecanismos para regular e excretar, enquanto outros acumulam os metais em seus tecidos (ARINI *et al.*, 2015). Em termos de biodisponibilidade e toxicidade, o mercúrio é considerado o metal mais tóxico, seguido por cádmio, cobre, zinco, níquel, chumbo, cromo, alumínio e cobalto (WU *et al.*, 2016).

Em geral, o aporte antropogênico de metais está associado a zonas industriais e a urbanização, ambas desempenham um papel importante na liberação de metais no ambiente marinho. O aporte antropogênico de metais pode ter diferentes atividades econômicas, e o tipo de poluição pode variar dependendo da fonte poluidora (MISHRA *et al.*, 2023). Por exemplo, o cádmio é comumente utilizado em baterias e dispositivos eletrônicos, sendo também liberado por meio da combustão de combustíveis e operações de mineração. As principais vias para sua entrada no ambiente incluem a deposição atmosférica e o escoamento urbano. Consequentemente, o aporte antropogênico de cádmio pode ser disperso e não necessariamente confinado à proximidade das fontes.

O cobre, por sua vez, possui excelente condutividade térmica e elétrica, sendo amplamente utilizado em componentes elétricos, fios, trocadores de calor, tubulações e sistemas de encanamento. Além disso, o cobre é um elemento comum em tintas antifouling usadas para proteger cascos de embarcações. Além de sua liberação por essas tintas, o cobre entra no ambiente marinho por meio de efluentes industriais e esgoto doméstico. O cobre também pode ser lixiviado a partir de tubos de esgoto e está presente em diversos produtos químicos domésticos, contribuindo para a mistura química encontrada em esgoto urbano.

Já o zinco é utilizado em inúmeras ligas metálicas e é amplamente empregado na galvanização de ferro e aço para proteção contra corrosão. Além disso, o óxido de zinco é utilizado em vários produtos como plásticos, tintas e produtos farmacêuticos. A presença de zinco no ambiente marinho também pode ser atribuída a rede de esgoto urbana, bem como descargas industriais. Assim como o zinco, o níquel é amplamente empregado em várias ligas metálicas para minimizar a corrosão. O níquel também está presente em várias tecnologias de bateria modernas, como baterias de níquel-metal hidreto e níquel-cádmio recarregáveis. Além disso, o níquel serve como catalisador em diversas aplicações, incluindo a produção de óleos vegetais hidrogenados.

O chumbo, por sua vez, é utilizado em várias aplicações, incluindo tubos da rede de esgoto, baterias convencionais e tintas metálicas. Embora os resíduos industriais contribuam para sua presença no ambiente marinho, a principal via de chumbo é através da deposição atmosférica. Por outro lado, óxidos de ferro são comumente encontrados em águas residuais de minas, incluindo a água bombeada durante operações de mineração e os lixiviados de rejeitos de minas (que frequentemente contêm outros metais).

O estanho tem diversas aplicabilidades em várias indústrias. O estanho é empregado na produção de latas de alimentos e bebidas, processamento e galvanização de metais, materiais de construção e aplicações elétricas. Compostos orgânicos de estanho são utilizados

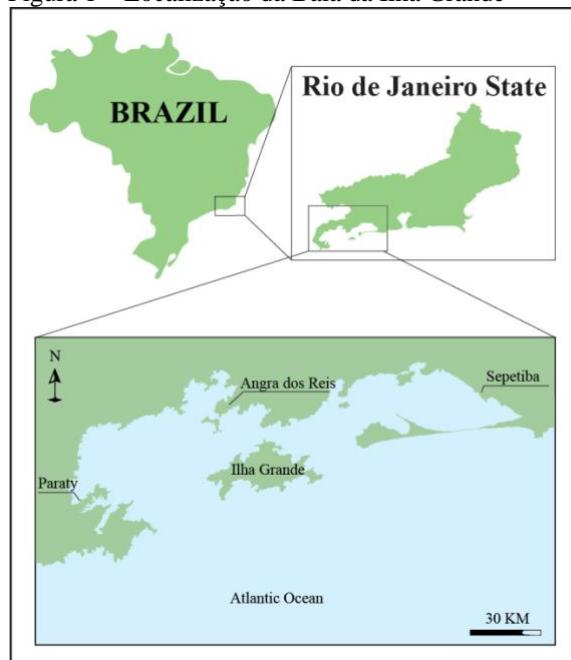
na indústria de vidro, perfumes, sabonetes, fabricação de plásticos como estabilizadores, agroquímicos e biocidas. Além disso, o tributilzinc (TBT) foi amplamente utilizado em tintas para embarcações marítimas até uma proibição internacional ser implementada em 2008. No entanto, o TBT persistirá nos sedimentos marinhos por várias décadas, apesar da proibição.

O alumínio é amplamente utilizado na indústria da construção e na fabricação de navios. O alumínio também é utilizado na produção de latas, folhas, contêineres, além de ser empregado em fiação elétrica e iluminação de LED. Compostos de bário, como o sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ), são amplamente utilizados na indústria química como um preenchimento em tintas, plásticos, borracha e outros materiais, bem como na indústria do petróleo e gás para diversas aplicações e em usinas nucleares. O titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ ) é um composto essencial em dispositivos eletrônicos, como computadores, smartphones, televisões e eletrônicos automotivos. O magnésio é usado em componentes de motores e na produção de dispositivos eletrônicos. Além disso, o magnésio também é empregado em processos metalúrgicos, como produção de aço e produção de ligas de alumínio para melhorar a resistência à corrosão.

### 3 ÁREA DE ESTUDO

A Baía da Ilha Grande está localizada na costa sul do Estado Rio de Janeiro, conforme mostrado na Figura 1. A geomorfologia da região inclui uma costa de aproximadamente 365 km de extensão a qual abriga a Ilha Grande e 189 ilhas menores (FAO, 2015). Litologicamente, a região é constituída, principalmente de gnaisses, migmatitos e de granitos-gnaisses, com rochas de embasamento pré-cambriano e cretáceas, e uma bacia costeira quaternária (NASCIMENTO *et al.*, 2019; HEILBRON *et al.*, 2020). A bacia hidrográfica abrange cerca de 5472 km<sup>2</sup> e é composta pela Baía da Ilha Grande e a Bacia de Guandu, que inclui 18 municípios, incluindo Angra dos Reis, Paraty, Mangaratiba, Itaguaí e Rio de Janeiro. Os principais rios que contribuem para as bacias hidrográficas são os rios Mambucaba e Bracuí na Bacia da Ilha Grande e os canais São Francisco e Guandu na Bacia de Guandu, que desaguam na Baía de Sepetiba (SEMADS, 2021). Os sedimentos na área de estudo variam de argila e silte à areia e cascalho (MAHIQUES *et al.*, 1989). Os sedimentos do fundo da baía e das margens de mangue são predominantemente lamosos contendo proporções variáveis de argila e silte, enquanto que próximos aos costões rochosos e nas praias são caracterizados por areia e cascalho (BELO *et al.*, 2002). A taxa de sedimentação, especialmente na Baía de Sepetiba e Enseada de Angra dos Reis, varia de 0,3 a  $1,36 \pm 0,05$  cm por ano (KJERFVE *et al.*, 2021; LUDMILA *et al.*, 2015).

Figura 1 – Localização da Baía da Ilha Grande



Fonte: O Autor, 2023.

A salinidade da água na baía da Ilha Grande varia de 33,8g/l a 35,7g/l (MIRANDA *et al.*, 1977). A baía tem um regime de maré semidiurna com uma amplitude média de 0,7 a 0,8 m, ocasionalmente chegando a 1,8 m (DHN, 2013). Enquanto que na entrada da baía, as correntes de maré podem exceder 1,5 m/s (GUERRA *et al.*, 2009). As correntes de maré observadas na baía variam entre 0,2 m/s durante as marés de sizígia e 0,1 m/s durante as marés de quadratura, e também há uma corrente quase-estacionária para leste no canal de navegação entre a ilha e o continente. O canal de navegação tem uma profundidade média de 25 m, onde as correntes marinhas podem atingir 0,65 cm/s durante tempestades de inverno. A hidrodinâmica é dominada por uma circulação impulsionada pelo vento, com predominância de ventos do sul durante o inverno, enquanto que durante o verão os ventos predominantes são de leste (CAVALCANTE, 2010; PENO, 2017).

Um recente modelo hidrodinâmico de circulação avaliou a taxa de renovação da massa água na Baía da Ilha Grande (SANTOS *et al.*, 2018). O estudo incluiu diversas variáveis ambientais, como por exemplo, padrões de vento e maré, descargas fluviais, correntes costeiras, condições meteorológicas, bem como diferenças sazonais entre o verão e o inverno. Nesse estudo, dois cenários foram desenvolvidos pelo modelo, um representando condições de verão e outro representando condições de inverno. O modelo revelou que correntes costeiras longitudinais Leste-Oeste ao longo da costa do Estado do Rio de Janeiro influenciam os padrões de corrente na entrada da baía. Os padrões de vento também desempenham um papel crucial na hidrodinâmica local, com ventos na baía variando de moderados a fracos, atingindo velocidades de 9 m/s no inverno e 7,5 m/s no verão. No inverno, o vento dominante origina-se do Sudoeste, característico de frentes frias. Durante o verão, a renovação da água é principalmente influenciada pelas contribuições dos rios, superando a taxa de renovação fluvial no inverno. Enquanto que a taxa de renovação na entrada da baía tem menor influência durante o verão quando comparada com o inverno. No inverno, a passagem de frentes frias resulta em uma maior entrada de águas oceânicas, favorecendo a renovação da massa água na baía através da entrada de água do mar.

Dessa forma, esse modelo revelou que durante o inverno ocorre uma maior renovação da água em comparação ao verão, indicando que eventos meteorológicos têm um impacto mais significativo no transporte de água perto do canal de navegação e na entrada da baía, indicando um período de maior renovação da água. Dessa forma, as condições de inverno mostraram um maior influxo de água do mar através do canal de navegação, levando a uma maior renovação da água na baía e um tempo de residência da água mais curto do que no verão, enquanto as enseadas internas dentro das baías exibem taxas de renovação mais baixas.

Durante o inverno, a variação do tempo de residência da água varia de 5 a 10 dias, correspondendo ao intervalo entre sucessivas frentes frias que renovam a massa d'água no interior da baía. Enquanto no verão, o tempo de residência do corpo d'água atinge 60 dias. Com base nesses resultados, pode-se inferir que as regiões com menor renovação da água e, consequentemente, maior tempo de residência da água ocorrem no fundo da baía e nas enseadas internas onde as correntes marítimas não se comportam como no canal de navegação.

### 3.1 Problemas ambientais na Baía da Ilha Grande

A Baía da Ilha Grande é uma região que possui alta biodiversidade com um imenso valor ecológico e ambiental, contando com 11 unidades de conservação (ICMBIO, 2000). A baía é dominada por habitats ricos em biodiversidade, como lagos, manguezais, praias, costões rochosos cercada por uma floresta tropical. Apesar da importância ecológica da região, a poluição marinha, os impactos negativos do turismo e perda de habitat estão aumentando na baía da Ilha Grande. Áreas anteriormente intactas e preservadas na baía estão em colapso, resultando em um declínio de espécies nativas, antes amplamente encontradas, agora poucos indivíduos restam como remanescentes nos poucos locais onde ainda há encontram um bom habitat (CREED *et al.*, 2007). Dessa forma, a presença de unidades de conservação na baía tem se mostrado insuficiente para proteger as espécies nativas em declínio (INEA, 2003).

Além disso, espécies invasoras representam ameaças significativas para a biodiversidade nativa da baía. Espécies introduzidas de outras regiões competem com as espécies nativas, levando a desequilíbrios ecológicos. Por exemplo, enquanto as espécies de corais nativos estão em declínio, a presença de uma espécie de coral que antes era incomum está aumentando na Baía da Ilha Grande. A espécie de coral analisada nesta tese, *Tubastraea tagusensis*, ou coral sol, é originária do Oceano Indo-Pacífico e é considerada uma espécie invasora (CREED, 2006). O primeiro registro de ocorrência no Brasil foi em plataformas de petróleo na Bacia de Campos, no Rio de Janeiro, por volta de 1980 (da SILVA *et al.*, 2014). Um estudo anterior relatou que *Tubastraea* causa necrose nos tecidos de *Mussismilia hispida*, um coral endêmico do Brasil, quando encontrado em proximidade ( $\leq 5$  cm) com os corais

invasores (CREED, 2006). Essas evidências sugerem que *Tubastraea* é dominante e pode reduzir ou excluir os corais endêmicos, conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Competição de habitat entre *Mussismilia hispida*, *Tubastraea tagusensis* e *Tubastraea coccinea*



Legenda: A – Mh (*Mussismilia hispida*) e Tt (*Tubastraea tagusensis*); B – Mh (*M. hispida*) e Tc (*Tubastraea coccinea*); C – B – Mh (*M. hispida*) e Tc (*Tubastraea coccinea*), detalhe da área danificada. Barras de escala = 5 cm. Setas indicam áreas danificadas no coral nativo.

Fonte: Creed, 2006.

### 3.2 Poluição marinha na Baía da Ilha Grande

A Baía de Ilha Grande enfrenta diversos problemas ambientais que possuem implicações para o equilíbrio dos ecossistemas marinhos e o bem-estar da população local. Uma das principais preocupações na Baía de Ilha Grande é a poluição marinha por diversos contaminantes, incluindo metais, nutrientes e resíduos plásticos. As atividades industriais, o escoamento urbano e o descarte inadequado de resíduos, contribuem para a poluição da baía, impactando os ecossistemas marinhos. A baía concentra várias fontes potenciais de poluição e contaminação, incluindo o lançamento de resíduos domésticos e industriais, a presença de grandes navios, bem como a existência de diversos portos e marinas. A urbanização descontrolada e o desenvolvimento turístico nas áreas em torno da baía têm levado a pressões crescentes sobre os ecossistemas costeiros, perda de habitat e o desequilíbrio dos ecossistemas.

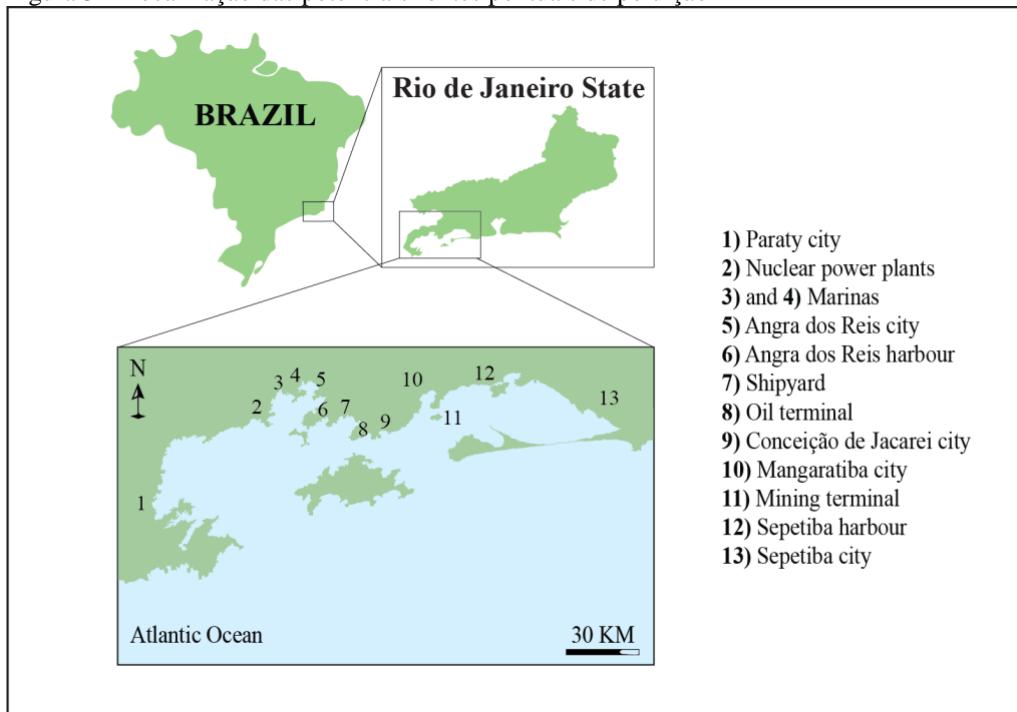
A degradação dos ecossistemas marinhos ocorre principalmente devido às atividades econômicas desenvolvidas na região. A Baía de Ilha Grande está situada entre as cidades de Sepetiba, Angra dos Reis e Paraty. A Baía de Sepetiba é uma baía costeira semifechada que se conecta com a Baía da Ilha Grande. A Baía de Sepetiba recebe resíduos de mais de 400 instalações industriais, incluindo indústrias siderúrgicas e portos. Angra dos Reis, por sua vez, também possui diversas fontes de poluentes (tais como portos, estaleiros, terminais marítimos, marinas e duas usinas termonucleares) (PACS, 2015). Enquanto que Paraty é uma cidade menor onde o esgoto municipal é lançado no ambiente marinho sem qualquer tratamento

prévio (GERALDES *et al.*, 2015). Mais especificamente, as atividades econômicas na Baía da Ilha grande incluem dois portos comerciais, um terminal de mineração que exporta e armazena minério na entrada da baía, uma usina nuclear, mais de 16 marinas e várias embarcações recreativas (FAO, 2018). Além disso, a Baía de Ilha Grande recebe resíduos derivados de um expressivo parque industrial, que inclui o maior complexo siderúrgico da América do Sul, localizado na cidade de Sepetiba (CUNHA *et al.*, 2009; PESSOA *et al.*, 2009).

As fontes pontuais que contribuem para a degradação dos ecossistemas marinhos na Baía de Ilha Grande são: (a) O escoamento dos rios associado com o uso excessivo de fertilizantes, pesticidas e outros produtos agrícolas; durante eventos de chuva, e podem os poluentes podem ser transportados para os rios; (b) O despejo inadequado de poluentes na rede de esgoto municipal também contribui para a poluição marinha; (c) Os resíduos industriais podem lançar grandes quantidades de contaminantes químicos diretamente na baía por meio do descarte inapropriados; (d) As Operações portuárias também resultam no lançamento de poluentes, como combustíveis, óleos e outros produtos químicos; assim como (e) Os derramamentos de óleo de embarcações, navios e barcos ou do terminal de petróleo da região.

Além dessas fontes pontuais, a Baía de Ilha Grande também sofre com a poluição de fontes difusas. Fontes difusas referem-se à poluição difusa ou dispersa que possui origem em diversas atividades. Entre as fontes difusas de poluição marinha na Baía de Ilha Grande estão: (1) A rede pluvial e a água escoada nas áreas urbanas, a qual pode transportar poluentes como lixo, detritos, óleo e produtos químicos para a baía. Esses poluentes frequentemente possuem como origem as estradas, estacionamentos, telhados e outras superfícies impermeáveis; (2) O escoamento de fertilizantes e pesticidas utilizados em terras agrícolas, os quais podem entrar na baía através do escoamento superficial ou infiltração no lençol freático; (3) Os navios e as embarcações menores também contribuem para a poluição marinha através de derramamentos de combustível, descarte inadequado de resíduos e por meio da contínua liberação de tintas anti-incrustantes utilizadas no casco das embarcações (da SILVA, 2018), Figura 3.

Figura 3 – Localização das potenciais fontes pontuais de poluição



Fonte: O Autor, 2023.

### 3.3 Estudos anteriores sobre a poluição por metais na Baía da Ilha Grande

Um estudo anterior (de SOUZA *et al.*, 2002) investigou concentrações de metais em peixes da Baía da Ilha Grande. Os autores examinaram os níveis de Cd, Fe, Zn, Pb, Ni, Cu e Cr nos tecidos de músculo, gônadas e fígado de quatro espécies de peixes (*Mugil lisa*, *Cynocion leiarchus*, *Micropogonias furnieri* e *Genidens genidens*). Um total de 120 espécimes de peixes foram coletados no estudo. Os autores revelaram que a capacidade de bioacumulação desses elementos é influenciada pela biodisponibilidade dos metais no ambiente marinho. Os resultados demonstraram variações consideráveis nas concentrações de metais entre as espécies analisadas e revelaram que a região está contaminada por metais. As amostras apresentaram concentrações elevadas de metais, excedendo os níveis máximos permitidos em tecidos de peixes em alguns casos. As concentrações observadas de cobre variaram de 0 a 300 µg/g, cromo variou de 0 a 2 µg/g, zinco variou de 0 a mais de 600 µg/g, cádmio variou de 0 a 5 µg/g, chumbo variou de 1 a mais de 10 µg/g enquanto níquel variou de 0,5 a 1,5 µg/g. Com base nos resultados, os autores hipotetizaram que os peixes que habitam a Baía da Ilha Grande podem acumular até 2,5% do conteúdo de metais biodisponíveis para a biota no ambiente marinho. Os autores concluíram que as fontes locais de poluição por metais

estavam contribuindo para a contaminação, levantando preocupações sobre os riscos potenciais associados ao consumo de peixes pela população local. Essas informações são cruciais para entender o impacto da contaminação por metais na vida marinha e na cadeia alimentar. Esse tipo de monitoramento pode ser útil para os formuladores de políticas que trabalham na mitigação da poluição marinha e em políticas ambientais para proteger a vida marinha.

Outra investigação (FRANCIONI *et al.*, 2004) utilizou bivalves *Perna perna* para monitorar a contaminação por metais na Baía da Ilha Grande (Cu, Zn, Cd e Cr). Os autores relataram que *P. perna* é um bom indicador para monitorar a contaminação por metais em águas costeiras. Os resultados do estudo demostraram que as concentrações de metais nas conchas dos mexilhões *Perna perna* ficaram abaixo dos níveis recomendados para consumo humano, exceto para o zinco. Eles também observaram que a variabilidade intra-populacional de *Perna perna* pode afetar a resposta proporcional aos níveis variados de contaminação por diferentes fontes. Os autores destacaram a necessidade de considerar as características específicas do local de estudo e as fontes locais de poluição. Eles reconheceram que um tamanho amostral relativamente pequeno limitou o poder estatístico do estudo, enquanto as variações sazonais nas concentrações de metais não foram investigadas.

Outro estudo examinou a biodisponibilidade de metais (Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Pb) na água do mar da Baía da Ilha Grande, utilizando espécies de bivalves (*Nodipecten nodosus*) para avaliar riscos potenciais à saúde humana e ambiental (VANNUCI-SILVA *et al.*, 2017). Foram empregadas duas abordagens para avaliar a biodisponibilidade de metais na água do mar: 1) Os bivalves foram transplantados em três locais de coleta no interior da baía entre o inverno e o verão, entre os anos de 2012 e 2013; 2) Filmes finos de gradientes difusivos (DGTs) foram imersos na água, junto com as amostras de bivalves. Os resultados demonstraram a aplicação bem-sucedida da técnica DGT na determinação das concentrações de metais na água, com exceção do chumbo. Todos os metais foram detectados nas amostras de bivalves. Os dados obtidos a partir da técnica DGT relataram a presença de metais na água e exibiram correlação com a biodisponibilidade de Co, Cu, Mn, Ni e Pb nos tecidos moles dos bivalves transplantados. O estudo identificou a cidade de Mangaratiba como tendo as maiores concentrações de metais na baía, onde foram observados níveis elevados de Co e Ni em comparação com as outras áreas analisadas. Os autores enfatizaram a importância do monitoramento contínuo de concentrações de metais na Baía da Ilha Grande e os riscos associados à saúde humana. No entanto, é importante observar que o estudo foi conduzido dentro de um período de tempo específico (julho a setembro de 2012 e dezembro de 2012 a

fevereiro de 2013), e cautela deve ser exercida ao generalizar os resultados para diferentes períodos. Além disso, como a avaliação da biodisponibilidade de metais foi limitada aos bivalves *Nodipecten nodosus*, dessa forma, os resultados podem variar para outros organismos marinhos.

Outro estudo examinou a presença de metais nos sedimentos marinhos da Baía da Ilha Grande (de SOUZA *et al.*, 2021). Os autores também correlacionaram a influência da dinâmica costeira na distribuição de metais, com o canal de navegação, o qual desempenha um papel importante conectando as diferentes regiões da baía. Eles concluíram que a dispersão de metais no ambiente marinho é influenciada pelas correntes de maré e pelas condições ambientais. Os autores relataram que os níveis elevados de metais nos sedimentos da região (Mg: 2,0 mg/kg; Al: 14,5 mg/kg; Cr: 243,0 mg/kg; Fe: 15,4 mg/kg; Ni: 68,0 mg/kg; Cu: 1160 mg/kg; Zn: 344,0 mg/kg; Cd: 23,0 mg/kg; Pb: 78,0 mg/kg) são oriundos principalmente do processamento de minério, esgoto doméstico e resíduos industriais, incluindo resíduos dos estaleiros presentes na região. O estudo destacou a necessidade urgente de estabelecer níveis aceitáveis de contaminação por metal em sedimentos marinhos, especificamente voltados para a costa brasileira, uma vez que a legislação atual é inadequada para lidar com um alto grau de contaminação antropogênica pois se baseia nas legislações canadense e americana.

Medidas eficazes de controle e mitigação de poluentes no meio marinho requerem monitoramento, regulamentação e estratégias de gestão abrangentes que visem essas diferentes fontes de poluição para compreender os impactos nos ecossistemas marinhos. A regulamentação ambiental brasileira (CONAMA 454, 2012) que determina os níveis de metais em águas salobras concentra-se nas condições de qualidade da água, nos padrões e riscos ambientais associados com as atividades portuárias, estaleiros, e despejo industrial estabelecendo diretrizes para a presença de certas substâncias químicas. No entanto, a legislação nacional não considera efeitos letais potenciais ou efeitos nos processos reprodutivos na biota marinha. As concentrações máximas permitidas em águas salobras brasileiras para os metais analisados nesta pesquisa são: alumínio (0,1 mg/L); bário (0,01 mg/L); cádmio (0,04 mg/L); chumbo (0,210 mg/L); cobre (7,8 µg/L); cromo (1,1 mg/L); ferro (0,3 mg/L); níquel (74,0 µg/L); e zinco (0,12 mg/L).

## 4 MÉTODOS

Os corais e os bivalves incorporam elementos traço em seus esqueletos os quais podem ser analisados com precisão usando métodos de espectrometria de massa de alta resolução (AL-ROUSAN *et al.*, 2007; PESSOA *et al.*, 2022). As estruturas de carbonáticas dos corais e dos bivalves contêm proxies geoquímicos que fornecem informações sobre a poluição marinha (CARILLI *et al.*, 2009; CARROLL *et al.*, 2009). A técnica LA-ICP-MS é um método capaz para de detectar e quantificar metais traço dentro dos anéis de crescimento dos esqueletos desses animais. Dada a capacidade do método em obter dados em alta resolução espacial no interior dos esqueletos de corais e nas conchas de bivalves, essa metodologia pode fornecer dados sobre a distribuição e a concentração de metais em ambientes marinhos (HALLMANN *et al.*, 2009; PRICE *et al.*, 1997). Dessa forma, a integração da técnica LA-ICP-MS nos programas de monitoramento ambiental pode contribuir significativamente para proteger os ecossistemas marinhos e preservar a biodiversidade marinha.

Nesta tese de doutorado, novos e estabelecidos métodos de espectrometria de massas foram desenvolvidos e aplicados para avaliar os impactos da poluição marinha por metais na Baía da Ilha Grande. Nesse estudo espectrômetros de massa de alta resolução (com limite de detecção de até partes por bilhão para muitos elementos) foram utilizados para obter resultados precisos. Os instrumentos utilizados nesta pesquisa combinam as vantagens de alta resolução espacial com alta eficiência de ionização, fornecendo análises confiáveis na escala de micrômetros possuindo alta sensibilidade em relação aos outros métodos utilizados em estudos ambientais envolvendo o monitoramento ambiental e poluição marinha.

A pesquisa inclui a combinação de dois diferentes métodos: (1) as concentrações de metais; e (2) as composições isotópicas nas amostras foram medidas usando os seguintes métodos: LA-ICP-MS e LA-MC-ICP-MS, respectivamente. As concentrações de metais foram determinadas no Instituto de Geociências da Universidade Johannes Gutenberg Mainz (Alemanha) usando um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) Agilent 7700x acoplado a um sistema de ablação a laser de excímero ArF ESI NWR193 equipado com uma célula de ablação TwoVol2. Para análises isotópicas, a instrumentação usada consiste em um sistema de ablação a laser de excímero ArF (Photon Machines, 193 mm) acoplado ao espectrômetro de massa de multicoletores Neptune Plus (Thermo Scientific) localizado na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (Brasil).

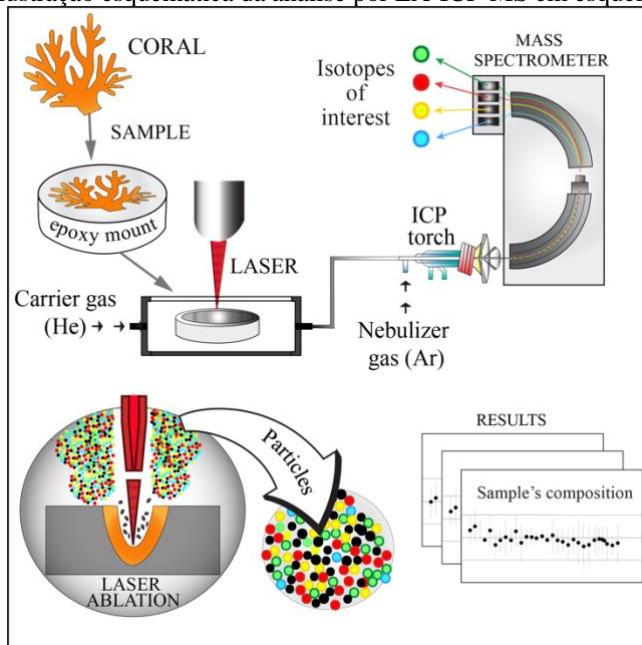
#### 4.1 Análise por Ablação a Laser

A combinação de análises por ablação a laser com ICP-MS (ou MC-ICP-MS), ou Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser (LA-ICP-MS) e Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente por Ablação a Laser e Coletor Múltiplo (LA-MC-ICP-MS), são metodologias distintas que permitem análises elementares e isotópicas de alta precisão, respectivamente. A principal vantagem dessas técnicas reside no fato de que quase nenhum pré-tratamento da amostra é necessário para realizar análises químicas em amostras sólidas, em partes por milhão (ppm) (MEIJA *et al.*, 2012). Esses métodos simplificam os procedimentos de tratamento das amostras, reduz o risco de contaminação, permite uma amostragem direta sem a necessidade da digestão de ácidos, fornece microanálises confiáveis de locais discretos na escala do micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) e oferece alta sensibilidade e rapidez em comparação com outros métodos analíticos. No entanto, a precisão e exatidão na análise por Ablação a Laser podem ser afetadas por diversos fatores, tais como o desvio instrumental, fracionamento isotópico, interferências de massa, efeitos de matriz e a falta de materiais de referência compatíveis com a amostra analisada (JOCHUM *et al.*, 2012). Dessa forma, uma estratégia abrangente de calibração é fundamental para superar esses desafios e essencial para obter resultados precisos (JOCHUM *et al.*, 2007). A seguir é descrito em detalhado cada etapa envolvida em análises por ablação a laser LA-(MC)-ICP-MS.

A análise por ablação a laser utiliza energia laser para converter amostras sólidas em partículas finas. As amostras são colocadas na célula de ablação a laser, onde um laser pulsado focaliza e vaporiza uma pequena quantidade da amostra. Esse processo leva à formação de partículas finas (aerossóis) que são transportadas para uma fonte de plasma dentro do ICP por meio de um fluxo de gás composto por argônio (Ar) e hélio (He). A alta temperatura do plasma leva à ionização completa das partículas, deixando apenas os constituintes atômicos para serem detectados pelo espectrômetro de massa (GUNTHER *et al.*, 2005; MACHIDA *et al.*, 2015). As partículas são transportadas para o interior do espectrômetro de massa, onde passam por um campo magnético de separação de acordo com a razão massa/carga em um compartimento com atmosfera a vácuo. A intensidade do feixe de íons (cuja unidade é dada em CPS; contagens por segundo) é transformada em um sinal elétrico, o qual é medido e registrado nos detectores. A razão massa/carga fornece informações sobre a composição elementar, e a intensidade do sinal serve como indicador da

concentração do elemento analisado. Os dados são processados no computador, fornecendo informações qualitativas e quantitativas sobre a composição química da amostra, Figura 4.

Figura 4 – Ilustração esquemática da análise por LA-ICP-MS em esqueletos de corais



Legenda: A técnica de LA-ICP-MS utiliza luz laser para remover porções de uma superfície sólida com um feixe de laser. No plasma, as partículas passam por um processo adicional de vaporização, transformando-se em partículas extremamente pequenas e, em seguida, sofrem ionização. O espectrômetro de massa é equipado com um sistema de detecção e um computador para possibilitar o processamento dos dados.

Fonte: O Autor, 2023.

#### 4.2. Espectrômetros de massas com setor magnético

Nesta tese de doutorado, espectrômetros de massas do tipo “setor magnético” foram utilizados na determinação das concentrações elementares e na composição isotópica das amostras. Instrumentos desse tipo podem ser equipados com um único detector (coletor) ou com um sistema de múltiplos coletores. Os analisadores com um único coletor são utilizados para determinações quantitativas de elementos, enquanto os espectrômetros de massa com múltiplos coletores são necessários para realizar medições de razões isotópicas de alta precisão. Os espectrômetros de massas com setor magnético baseiam-se no princípio de que partículas carregadas (íons) ao atravessar o campo magnético em alta velocidade no interior do espectrômetro e são forçadas a descrever um caminho curvilíneo. Ao ajustar a intensidade do campo magnético de acordo com a carga de íons específicos e com a razão massa/carga desejada, é possível selecionar os elementos de interesse a serem coletados nos detectores de

uma determinada amostra. Dessa forma, os íons com uma menor razão massa-carga são desviados com maior facilidade, enquanto que os íons com razões massa/carga maiores experimentam uma força menor exercida pelo campo magnético. O conceito por trás desses instrumentos que possuem o setor magnético é que o campo magnético ao exercer essa força sobre as partículas carregadas (íons), os íons são forçados a seguir um caminho curvo. De acordo com a intensidade do campo magnético é possível selecionar os íons de interesse.

Por outro lado, a principal vantagem dos espectrômetros de massa de setor com um único coletor é um sinal mais limpo, sem ruídos. Isso porque enquanto os íons seguem o caminho curvo, os fótons de alta energia e os neutros são eliminados ao colidir com as paredes internas do campo magnético no interior do espectrômetro. Uma desvantagem dos instrumentos com um único coletor são as ocasionais interrupções e nos atrasos para ajustar o campo magnético, o que requerer o ajuste do campo magnético constante ao longo das análises.

O sistema operacional dos espectrômetros de massas com múltiplos coletores é semelhante ao dos instrumentos com um único coletor, mas os íons passam primeiro por um filtro de energia antes de serem separados espacialmente no setor magnético de acordo com sua massa. Os sistemas com múltiplos coletores são equipados com nove ou mais detectores posicionados no plano focal do campo magnético, permitindo a detecção simultânea de razões isotópicas com pequenas variações na sua composição isotópica (GÜNTHER-LEOPOLD *et al.*, 2004). Entre as vantagens dos espectrômetros de massa com múltiplos coletores está a capacidade de detectar várias massas simultaneamente, levando a um aumento na precisão das Contagens Por Segundo (CPS, intensidade do sinal) e na diminuição das incertezas envolvidas nesse tipo de análise. A detecção simultânea elimina a maioria dos ruídos de fundo, resultando em uma redução da incerteza. Dessa maneira, a principal aplicação dos espectrômetros com múltiplos coletores é em análises de razões isotópicas. Uma desvantagem dos espectrômetros de massas com múltiplos coletores é a sua menor velocidade de comutação em comparação com os setores de um único coletor, o que limita suas aplicações.

#### **4.3 Interferências, limite de detecção e efeitos de matriz na análise por ablação a laser**

Nas análises por ablação a laser, várias questões devem ser consideradas para garantir a precisão e a confiabilidade dos resultados obtidos. Alguns dos principais desafios

enfrentados nessas análises são as interferências, o limite de detecção e o efeito matriz. As interferências ocorrem quando outros elementos ou compostos presentes na amostra podem influenciar a medição do elemento ou isótopo de interesse, levando a resultados imprecisos. As interferências podem surgir de diversas fontes, como isótopos de elementos vizinhos ou sobreposição de massas de íons. A análise por ablação a laser pode estar sujeita também a interferências de íons isobáricos, íons poliatómicos, assim como íons com carga dupla. As interferências podem desempenhar um papel significativo em sistemas com múltiplos coletores, principalmente em LA-MC-ICP-MS, onde as proporções isotópicas são medidas com uma precisão de partes por milhão (ppm). Contudo, as interferências (geralmente) são insignificantes em análises de concentração elementar em LA-ICP-MS. A presença de interferência pode alterar a intensidade do sinal medido, resultando em um sinal maior o qual deve ser corrigido ou removido da análise. Existem várias maneiras de minimizar a interferência, incluindo ajustes nas configurações espectrômetro, do plasma e no fluxo de gás Ar, e otimização das células de reação / colisão. A otimização dos parâmetros ICP inclui a posição da tocha e outros fluxos de gás ICP (JOCHUM *et al.*, 2014).

Outro conceito importante é o limite de detecção. O limite de detecção refere-se a menor quantidade de um determinado elemento a qual pode ser detectada e quantificada pelo espectrômetro. O limite de detecção depende das características da amostra, das condições experimentais e das especificações do equipamento. O limite de detecção é especialmente importante quando se busca analisar traços de elementos em baixas concentrações, e pode ser afetado tanto pela sensibilidade quanto pelos ruídos das análises. Os espectrômetros de massas mais modernos são capazes de manter baixos os sinais de ruídos em uma ampla faixa espectral. Nesse sentido, o limite de detecção de um espectrômetro de massa é determinado pela sensibilidade e pelo ruído de fundo, sendo que um menor ruído e maior sensibilidade resultam em limites de detecção mais baixos. Em outras palavras, o limite de detecção é determinado pela quantidade de ruído em relação ao nível de sensibilidade do espectrômetro de massa (LATKOCZY *et al.*, 2002).

Além disso, a influência do efeito matriz, que é independente de interferência, também pode afetar o desempenho da análise devido à composição da amostra. O efeito matriz refere-se as variações ocorridas durante as análises devido a variações na composição química da amostra. A presença de diversos elementos e compostos presentes na amostra pode afetar a ablação a laser, a ionização e a transmissão de íons no espectrômetro de massa. Esses efeitos de matriz podem levar a erros na quantificação dos elementos de interesse e, portanto, devem ser corrigidos ou considerados nas análises.

Para superar esses desafios, é fundamental adotar uma abordagem analítica cuidadosa, que envolva a calibração adequada do equipamento, o uso de materiais de referência adequados e a aplicação de correções para interferências e para o efeito matriz. Além disso, a escolha da técnica de espectrometria de massa apropriada (LA-ICP-MS ou LA-MC-ICP-MS) dependerá dos objetivos da análise. Com uma abordagem bem planejada, a análise por ablação a laser pode fornecer informações valiosas sobre a composição de amostras sólidas em alta resolução espacial e com alta precisão, sendo útil em diversas áreas do conhecimento.

A calibração do sistema envolve estabelecer uma relação entre o sinal registrado pelo espectrômetro de uma amostra com o sinal de um material de referência específico. Na análise por ablação a laser, é necessário garantir a compatibilidade dos sinais entre as amostras e os materiais de referência. Além disso, os materiais de referência devem ser homogêneos e conter todos os elementos de interesse (LAZARTIGUES *et al.*, 2014). Uma abordagem de calibração ideal resulta em uma correlação direta entre a composição do material de referência e as concentrações elementares das amostras. Se os sinais medidos pelo espectrômetro forem os mesmos para o material de referência e a amostra, pode-se assumir que a amostra contém a mesma composição do material de referência. No entanto, isso só é válido se as matrizes forem semelhantes (material de referência e amostras), em termos de propriedades químicas e físicas. Contudo, esse procedimento de calibração não compensa as variações nas eficiências de ablação e não aborda os desvios instrumentais ao longo do tempo, que são comumente observados na análise por ablação a laser (JOCHUM *et al.*, 2014).

Uma abordagem mais confiável é comparar a proporção da intensidade do sinal de um elemento comum encontrado na amostra (padrão interno) com a resposta do mesmo elemento no material de referência de composição conhecida (ELBURG *et al.*, 2012). No caso de conchas de bivalves e esqueletos de corais, o cálcio é usado como padrão interno porque está presente em concentrações suficientemente altas, possuindo alta intensidade de sinal, mais alta que o ruído de fundo, e além disso o cálcio está distribuído homogeneousmente na matriz carbonática das conchas e dos esqueletos. Nessa abordagem de calibração, tanto o elemento de interesse quanto o padrão interno são assumidos como comportando-se de forma semelhante, independentemente de variações na matriz e no sinal. Por exemplo, a densidade das bandas de crescimento de um esqueleto de coral muda à medida que a temperatura da água, a luz e as condições de nutrientes mudam ao longo da vida do coral, formando bandas mais densas no verão e bandas menos densas no inverno. Durante a análise, a quantidade de material ablactado varia entre as bandas de crescimento do esqueleto de coral. Sem nenhuma correção, poderia concluir que as intensidades do sinal indicariam maiores concentrações do

elemento analisado em uma banda de crescimento em relação à outra. No entanto, se o material adicional ablactado não levar a mudanças na proporção do elemento analisado para o cálcio, o resultado obtido a partir da comparação de proporções sugeriria que as concentrações do elemento não apresentaram variações entre diferentes bandas de crescimento (CHEN *et al.*, 2015).

#### **4.4 Estratégia de calibração aplicada nessa pesquisa**

ETAPA I: Cálculo das concentrações dos elementos de interesse.

- Dados brutos em CPS (contagem por segundo)
  - Tempo de aquecimento = 20 s; Intensidade do ruído (branco da análise).
  - Ajuste entre os ruídos e o material de referência (antes da análise dos materiais de referência); determinado a partir da intensidade de  $^{43}\text{Ca}$  (a intensidade aumenta repentinamente quando o sinal referente ao material de referência é captado).
  - Tempo de aquisição do sinal = 30 s. A medição no material de referência termina; os valores são extraídos como valores médios (média do ruído).
  - Todos os valores medidos depois de 49 s são rejeitados (esse tempo inclui o tempo de lavagem); Valores  $> 49$  s = valores rejeitados.
- Dados brutos incluindo o ruído; em relação ao padrão interno ( $^{43}\text{Ca}$ ).
  - A média do ruído (“branco” da análise) do elemento de interesse é subtraída da intensidade medida do elemento no material de referência.
  - Os dados são normalizados para o elemento escolhido como padrão interno (nesse caso,  $^{43}\text{Ca}$ ) para descontar a instabilidades no plasma.
  - NIST SRM 612 (material de referência utilizado nesse estudo para calibração das concentrações de elementos).

$$\frac{\text{Elemento Intensidade no material de referência} - \text{Elemento Média do níquel}}{\text{Ca Intensidade no material de referência} - \text{Ca Média do níquel}} \quad (1)$$

- Concentrações não corrigidas, a partir das razões (*Elemento / <sup>43</sup>Ca*), de acordo com as intensidades medidas pelo espectrômetro.

$$C_E = C_{IS} * R_{ik} * \left( \frac{A_k}{A_i} \right) * \left( \frac{M_E}{M_{IS}} \right) \quad (2)$$

$C_E$  = concentração do elemento de interesse medida na amostra, não corrigida.

$C_{IS}$  = concentração do padrão interno (<sup>43</sup>Ca) medido na amostra.

$R_{ik}$  = concentração do padrão interno (<sup>43</sup>Ca) medido no material de referência; no caso do NIST SRM 612 o valor de referência é 85050 [μg/g]; valor da concentração do <sup>43</sup>Ca de acordo com o banco de dados GeoReM.

$A_k$  = abundância isotópica do <sup>43</sup>Ca.

$A_i$  = abundância isotópica do elemento.

$M_E$  = massa atômica relativa (peso atômico) do elemento.

$M_{IS}$  = massa atômica relativa (peso atômico) do <sup>43</sup>Ca.

- Fator de sensibilidade relativa (concentração medida / concentração 'verdadeira')
  - Sensibilidade = concentração medida / concentração 'verdadeira'
  - Cálculo do fator de sensibilidade relativa (RSF) a partir do material de referência usado para calibração (nesse caso, NIST SRM 612)

$$RSF = \left( \frac{C_{\text{Elemento não corrigida}}}{C_{\text{Elemento verdadeira}}} \right) \quad (3)$$

C Elemento não corrigida = concentração não corrigida do elemento

C Elemento verdadeira = concentração ‘verdadeira’ (valor de referência; disponível no banco de dados GeoReM)

## ETAPA II: Amostras e materiais de referência

Cálculo das concentrações de elementos corrigidas nas amostras e materiais de referência.

- Dados brutos [CPS]

- Novamente: Tempo de aquecimento = 20 s = Intensidades do ruído (branco).
- Ajuste entre o ruído e a amostra / material de referência; determinada a partir da intensidade do  $^{43}\text{Ca}$  (a intensidade aumenta repentinamente quando a amostra ou o material de referência começa a ser analisado).

- Medições na amostra ou no material de referência

- no caso de materiais de referência o tempo de aquisição dos dados é de 30 s; todos os valores após 49s de medição são rejeitados (incluindo o tempo de lavagem).
- no caso das amostras: o tempo amostral varia de amostra para amostra
- Isso significa que a área analisada na amostra deve ser avaliada a partir do sinal de intensidade do  $^{43}\text{Ca}$  (o sinal aumenta na amostra, ou cai repentinamente quando a aquisição de dados da amostra termina)

- Cálculo do Limites de detecção (LODs) para amostras

- Calcular a média, o desvio padrão (SD) e mediana para os ruídos
- Limites de detecção (LODs) = 3 vezes o desvio padrão da intensidade dos ruídos

- Os LODs são transformados em dados corrigidos incluindo os ruídos, em relação ao padrão interno. Ou seja, são transformados primeiro em concentrações não corrigidas, depois em concentrações corrigidas e por fim são transferidos para as razões  $\text{Elemento} / {}^{43}\text{Ca}$ .
  - Dados corrigidos de fundo, em relação ao padrão interno ( ${}^{43}\text{Ca}$ )
    - Mesmo cálculo utilizado na Etapa I
  - Concentrações não corrigidas
    - Mesmo cálculo utilizado na Etapa I concentrações
  - Concentrações corrigidas

As concentrações são dadas em  $\mu\text{g/g}$  (ppm), e são calibradas dividindo as concentrações não corrigidas pelos valores de RSF (fatores de sensibilidade relativa) obtidos a partir do material de referência; ver Etapa I

$$\left( \frac{C_{\text{Elemento não corrigida}}}{\text{RSF}} \right) \quad (4)$$

- Razões  $\text{Elemento} / {}^{43}\text{Ca}$

As concentrações dos elementos nas amostras são fornecidas como razões  $\text{Elemento} / {}^{43}\text{Ca}$  em uma razão em  $\text{mmol/mol}$ :

$$\frac{C_{\text{Elemento}}}{\frac{M_{\text{Elemento}}}{C_{\text{Ca}}} * 100C} * 100C$$

(5)

$C_{\text{Elemento}}$  = concentração corrigida do elemento em [ $\mu\text{g/g}$ ].

$C_{\text{Ca}}$  = concentração de Ca (constante) para amostras, é estimada como 380.000 [ $\mu\text{g/g}$ ]; para materiais de referência, deve ser obtido o valor de referência (como por exemplo os valores referenciados no banco de dados GeoReM).

$M_{\text{Elemento}}$  = massa atômica relativa (peso atômico) do elemento (em g/mol).

$M_{\text{Ca}}$  = massa atômica relativa (peso atômico) do  $^{43}\text{Ca}$  (em g/mol).

- Precisão das análises em [%]:

No caso dos materiais de referência, para determinar a precisão das medições de LA-ICP-MS, é feito uma comparação entre a diferença de concentração medida do elemento (em  $\mu\text{g/g}$ ) pelo espectrômetro sob os valores de referência (em  $\mu\text{g/g}$ , concentrações "verdadeiras"). Com a precisão da análise de LA-ICP-MS sendo inferida a partir dos desvios padrão relativos (RSD) dos materiais de referência (em %).

$$\text{Precisão [%]} = \left( \frac{\text{Concentração medida}_{\text{Elemento}}}{\text{Concentração verdadeira}_{\text{Elemento}}} - 1 \right) * 100C$$

(6)

ETAPA III: Correções dos valores discrepantes (outliers)

- Realizada para todas as amostras

- Leva em conta valores discrepantes negativos (limite inferior = valores abaixo de 0 ou abaixo dos LODs) e valores discrepantes positivos (limite superior = valores acima da média + 5 vezes o desvio padrão)
- Outros limites superiores e inferiores podem ser estabelecidos na análise (dependendo de quais critérios serão estabelecidos)
  - Concentrações corrigidas para valores discrepantes negativos
    - Todos os valores < 0 são considerados como valores discrepantes.
  - Concentrações corrigidas de valores discrepantes positivos
    - Para considerar valores discrepantes positivos, os valores que excedem a média por 5 vezes o desvio padrão são considerados discrepantes.
  - Razões *Elemento / <sup>43</sup>Ca*
    - Todos os valores abaixo do limite de detecção (LOD; valor constante para cada elemento) são considerados como valores discrepantes.
    - Isso reduz significativamente os dados para elementos cujas concentrações estão próximas aos LODs.
    - Nenhum limite superior é definido (valores discrepantes positivos estão no conjunto de dados).

## 5 UNDERSTANDING THE IMPACTS OF METAL POLLUTION ON CORALS IN ILHA GRANDE BAY (RIO DE JANEIRO, BRAZIL)

### 5.1 Abstract

Ilha Grande Bay is one of the most biodiverse areas in Brazil, but several anthropogenic activities are inducing marine degradation and habitat deterioration. Although marine pollution is a major problem in the region, there is a lack of understanding on the impacts of metal pollution on corals. In this study, coral skeletons of *Tubastraea tagusensis* were used as environmental indicators to provide spatial and temporal data on distribution patterns of metal content in Ilha Grande Bay. Metal concentrations of magnesium (Mg), aluminum (Al), chromium (Cr), iron (Fe), nickel (Ni), copper (Cu), zinc (Zn), cadmium (Cd), barium (Ba), tin (Sn), neodymium (Nd), and lead (Pb) were measured along different sections of coral skeletons using Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (LA-ICP-MS). The results showed considerable variability in metal accumulation among corals sampled from different locations, indicating that corals were exposed to different levels of metal pollution. The higher concentrations of Mg (3900 µg/g), Al (396 µg/g), Fe (80.6 µg/g), Ni (0.34 µg/g), Cu (5.76 µg/g), Zn (7.55 µg/g), Ba (49.2 µg/g), Sn (0.01 µg/g), and Pb (0.38 µg/g) were associated with non-point-source pollution and direct releases from different anthropogenic sources; Cr, Cd, and Nd were not detected in the samples. The lowest metal concentrations were found in corals sampled from a site with minimal contaminants, which served as a control area due to its relatively low human impact. In contrast, corals collected near pollution sources consistently had higher concentrations in their skeletons, indicating different types of metal contamination. The range of metal concentrations registered along the skeletons suggests that the level of environmental contamination has changed over time due to acute and chronic pollution events. This study confirms the effectiveness of *T. tagusensis* skeletons as reliable environmental indicators for the assessment of metal pollution in the marine environment and results have the potential to inform and enhance management strategies by providing baseline data on metal contamination that affects corals in the region.

## 5.2 Introduction

Marine ecosystems worldwide are being degraded for a variety of reasons, one of which is coastal pollution [1]. Coastal pollution from industrial and municipal waste can have significant impacts on the marine environment, including loss of biodiversity, decline in fisheries, and degradation of habitats [2]. Anthropogenic activities including industrial wastes, mining, agriculture, and shipping, significantly contribute to the release of chemical pollutants, posing threats to coral reef ecosystems. Due to these human influences, coral biodiversity is rapidly declining in several regions worldwide [3]. In environmental investigations, it is important to be able to determine the source of pollution in order to control emissions at sustainable levels and avoid habitat degradation [4]. However, sparse monitoring makes it difficult to accurately assess the magnitude and frequency of pollutant releases into the marine environment. On the other hand, trace metal analysis of coral skeletons offers an opportunity to evaluate current and past seawater conditions, providing valuable insights for monitoring marine pollution [5]. Corals have the remarkable ability to record changes in seawater chemistry in the form of geochemical proxies within their skeletons, and these proxies can register environmental changes at specific sites over time [6].

Coral skeletons are composed of biogenic calcium carbonate crystals (aragonite) surrounded by an organic matrix. The skeletal material is initially deposited as amorphous calcium carbonate (ACC), which is assembled into organic compartments during calcification of the skeleton [7,8]. The skeleton grows gradually through biomimetic processes, forming band patterns that are deposited in chronological order. The density of these growth bands changes as water temperature, light and nutrient conditions change throughout the life of the coral [9,10]. However, the precise mechanisms governing the biomimetic process of coral skeletons are still unclear and require further investigation [11]. It is commonly assumed that trace metals present in seawater are systematically taken up by corals. The metals can either accumulate in the tissues [12], be stored within the skeletal bands of scleractinian corals throughout their lifespan [13], or be excreted from the body through detoxification mechanisms [14]. It has been suggested that the uptake of trace metals into coral skeletons is proportional to their concentration in seawater at the time of skeleton calcification [15] and reflects the environmental metal bioavailability to which corals are exposed during their life in contaminated water [16]. Metals are incorporated into the aragonitic skeleton through various mechanisms, such as the substitution of dissolved metals in the crystal lattice, trapping of particles in the skeletal cavities, uptake of organic matter

from coral tissue, and coral feeding [15,17,18]. Moreover, the incorporation of trace metals into the crystalline phase of the skeleton is also influenced by the growth rate of the crystals and coral metabolic rate [19–21]. However, a better understanding of the mechanisms behind metal incorporation is needed to maximize coral geochemical proxies to their full potential.

Although some metals (e.g., manganese, iron, copper and zinc) are essential micronutrients for maintaining the biochemical and physiological functions of corals [22], they become toxic when certain concentrations are exceeded in the environment and can bioaccumulate within the food chain, posing risks to both human and ecosystem health [23–26]. Metals enter coastal waters through atmospheric deposition, runoff, and groundwater inflow, and can originate from both natural and anthropogenic sources [27]. Although trace metals are naturally present in seawater, higher concentrations of metal pollution are usually found near the sources of pollution [28]. After release into the marine environment, metals may be present as dissolved ions, associated with molecular complexes, bound to colloids, or adhered to suspended particulate material [29]. All of these chemical forms are influenced by environmental conditions that control their pathways and play a critical role in the spatial distribution of metals in the marine environment and the concentrations to which marine organisms are exposed [30]. While free ions and dissolved metals can be transported over long distances by ocean currents, metals associated with suspended particulate material are often removed from the water column by precipitation and trapped in bottom sediments where they can accumulate. In this sense, it is also important to consider the potential remobilization of metals from bottom sediments back into the water column [31]. Nonetheless, not all metals behave in the same way and the geochemical behaviors between particle-associated metals and dissolved ions in the marine environment can impact the distribution of metals that might affect skeletal geochemical records [32].

Due to their sensitivity to physical and chemical changes in the marine environment, several studies have applied coral geochemical proxies as tracer systems for marine pollution sources [15]. However, to assesses the impact of metal pollution on coral health and ecosystem integrity, it is important to understand the complex dynamics of metal uptake into coral skeletons. In addition to considering biomineralization mechanisms, metal bioavailability, geochemical behavior, and speciation, vital and kinetic effects should also be considered when coral skeletons are used to monitor marine pollution [10]. Specifically, assessment of the effects of metal pollution on corals is further complicated by biological effects that may result in preferential uptake and/or unexpected isotopic fractions due to physiological factors. The uptake of trace metals into coral skeletons is a complex process that

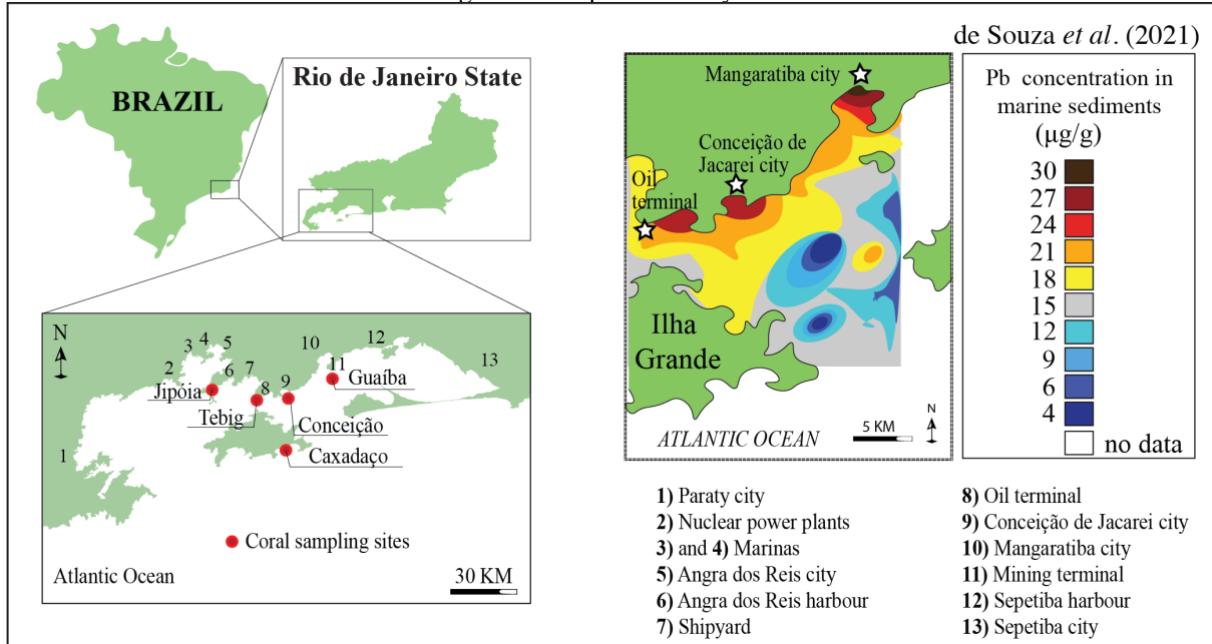
goes beyond a simple relationship between coral skeleton geochemistry and seawater composition. The incorporation of metals into coral skeletons is therefore a subject of continuing research and the isotopic fractionations that occur when metals are incorporated into corals, including fractionation between seawater and skeletons and between tissues and skeletons are of major interest [33–36].

Nevertheless, several authors have successfully used coral skeletons as indicators of metal contamination [38–47]. In a comprehensive review with several compelling studies from around the world, Saha and collaborators [48] summarized the application of metal proxies in coral skeletons to detect different types of seawater pollution. In addition, Chan and colleagues [49] investigated metal accumulation in both tissues and skeletons of *Tubastraea coccinea* from different polluted environments. The authors concluded that tissues were more sensitive than skeletons in monitoring metal accumulation. However, tissue samples provide only a limited temporal snapshot of contaminants and may not be representative of average conditions due to the temporal variability of metals in the environment [50]. Many other researchers have studied metal concentrations in coral skeletons to monitor coastal pollution and its association with human activities [51–54]. However, it should be noted that metal concentrations in coral skeletons alone do not provide information about the sources of pollution because metal contaminants found in the environment may come from multiple sources. To address this issue, concentration data must be combined with isotopic analyzes and the results compared with source signatures and control sites to determine differences between natural variations and anthropogenic influences [55,56].

Effective pollution control and mitigation measures require comprehensive monitoring, regulation, and management strategies to prevent ecosystem degradation. Despite the ecological importance of Ilha Grande Bay, the area is subject to increasing anthropogenic pressures, with various land-based and marine sources of pollution potentially affecting marine habitats. Metal pollution is a pressing issue that poses a significant threat to the health and integrity of marine ecosystems in the bay [57,58]. The presence of protected areas has proven insufficient to protect declining marine species. Formerly intact sites in the Bay are rapidly collapsing, leaving coral species only in the few places where good habitat remains [59]. The Bay is exposed to several sources of pollution, including municipal waste, industrial activities such as metallurgical, chemical, and nuclear power plants, shipping, oil and mining terminals, commercial ports, and several marinas with recreational boats [60], Figure 5. Such activities frequently release metallic pollutants into the marine environment, highlighting the

need for robust monitoring strategies that can provide evidence-based recommendations to policy makers.

Figure 5 – Map of the study area



Legend: Location of sampling sites and potential sources of metal pollution. The map shows the locations where coral samples were collected (red circles) and the numbers (1 - 13) reveal the locations of the anthropogenic pollution sources. The pollutants released from industrial and municipal wastes circulate throughout the Bay and accumulate in bottom sediments near discharge points.

Source: The Author, 2023.

While marine pollution in Ilha Grande Bay has been studied frequently [61-64], the effects of metal pollution on corals have not yet been assessed. This present study aims to investigate the relationship between metal accumulation in coral skeletons and the spatial and temporal distribution of metal content in Ilha Grande Bay. We hypothesized that corals collected from different locations might be exposed to different metal loads. The goal of this study was to assess anthropogenic inputs of metals to the bay by determining metal concentrations in coral skeletons. Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) was used to measure the concentrations of Mg, Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Ba, Sn, Nd, and Pb in the skeletons of *Tubastraea tagusensis*. Corals incorporate trace metals that can be precisely measured using high-resolution analytical techniques. Based on the capabilities of LA-ICP-MS to obtain elemental and isotopic data at high spatial resolution from coral skeletons, the technique offers great potential to characterize human disturbances on marine life. LA-ICP-MS combines the advantages of high spatial resolution, high ionization efficiency, and low detection limits with an in-situ approach. This method enables reliable microanalysis to investigate specific locations at the µm scale within the

skeletal material, allowing for a comprehensive examination of elemental distributions in coral skeletons that can be correlated with time-sensitive data [65].

### 5.3 Methods

#### 5.3.1 Sample collection

In late August 2020, five colonies of *T. tagusensis* (each approximately 5 cm in diameter) were collected alive from five different sampling sites (Figure 5) located near the local sources of pollution, at a depth of 1 m. After collection, the samples were transferred to the laboratory, and the coral soft tissues and skeletons were separated using dental forceps. Complete colonies of the skeleton were thoroughly cleaned and washed using ultrasonic treatment and deionized water to remove any particles that could adhere to their surfaces. The coral skeleton colonies were dried at 110°C for 24 hours. Subsequently, individual coral polyps were separated from their colonies using a cut-off tool. The coral polyps were treated with trace metal-grade hydrogen peroxide to remove organic constituents from the skeletons. Afterward, they were dried, brought back up in 10 mL of 2% HNO<sub>3</sub> and dried again.

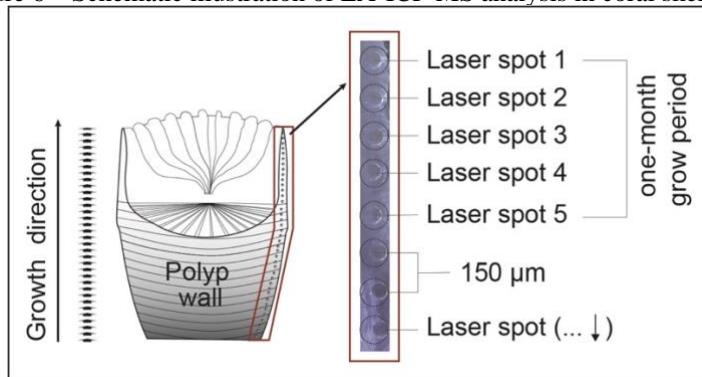
#### 5.3.2 LA-ICP-MS

For laser ablation analysis, single polyps of *T. tagusensis* were fixed in epoxy resin discs, ground, and polished. A transverse cut was performed exposing the internal structures of the polyps on which the LA-ICP-MS analyses were planned to be carried out. It is now recognized that there are geochemical heterogeneities across the macro-structure of the skeleton that can potentially bias interpretation [66]. Different skeletal components show different sensitivities to environmental stresses due to distinct features such as architecture density, extension rate, and calcification rate [67]. Therefore, sampling location should be carefully selected within the skeleton. In this study, laser shots were focused on the same skeletal structure, on the inner parts of the polyp walls, from the mouth to the base along the

axis of maximum growth of the skeleton. This part of the skeleton was chosen because it is more sensitive to proxy interpretations due to its high-density skeletal structure compared to other low-density skeletal components (columella and septa) [48].

To relate the variations in metal uptake during specific periods of skeleton formation, our results were correlated with the skeletal growth rate reported for *Tubastraea tagusensis*; which is  $\sim 0.92$  cm/yr [69]. In this study, laser spots (with a beam diameter of  $70\text{ }\mu\text{m}$ ) were positioned at an average distance of  $150\text{ }\mu\text{m}$  from each other along the selected transects. In this manner, laser ablation analysis detected monthly variations in metal uptake, Figure 6. The laser transects covered different distances depending on the length of the vertical growth of each sample. For instance, in Caxadaço coral, laser transects were performed along  $0.66$  cm of the polyp wall, Conceição coral ( $0.57$  cm), Tebig coral ( $0.80$  cm), Guaíba coral ( $0.77$  cm), and Jipóia coral ( $0.75$  cm). The age of the samples was determined based on the month of sampling (August 2020), which corresponds to the last carbonate accretion at the top of the colony (age of the outermost growth layer), matching with the first laser spot analysis at the top of the polyp wall. Thus, the life span of the coral samples used in this study comprises the period between August 2020 and September 2019.

Figure 6 – Schematic illustration of LA-ICP-MS analysis in coral skeletons



Legend: Outside view showing the growth lines printed on the external skeleton surface. Interior view; the red box indicates where the laser ablation analysis where performed.

Source: The Author, 2023.

Element concentrations for Mg, Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Ba, Sn, Nd, and Pb were determined at the Institute for Geosciences, Johannes Gutenberg University Mainz (Germany) using an Agilent 7700x inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS) coupled to an ESI NWR193 ArF excimer laser ablation (LA) system equipped with a TwoVol2 ablation cell. The ArF LA system was operated at a pulse repetition rate of  $10$  Hz and an energy density of ca.  $3\text{ J cm}^{-2}$ . Ablation was carried out under He atmosphere and the sample gas

were mixed with Ar before entering the plasma. Measurement spots with a beam diameter of 70 µm were aligned with a midpoint distance of 150 µm along the chosen transects. Backgrounds were measured for 15 s prior to each ablation. Ablation time was 30 s followed by 20 s of wash out. The isotopes monitored were  $^{26}\text{Mg}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{53}\text{Cr}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{118}\text{Sn}$ ,  $^{143}\text{Nd}$  and  $^{208}\text{Pb}$ . Signals were monitored in a time-resolved mode and processed using an in-house Excel spreadsheet. Details of the calculations are given in Mischel et al.[39]. NIST SRM 610 and 612 were used as calibration material applying the reference values reported in the GeoReM database [68] to calculate the element concentrations of the sample measurements. Basaltic USGS BCR-2G, synthetic carbonate USGS MACS-3 and biogenic carbonate JCp-1-NP were analyzed repeatedly as quality control materials to monitor precision and accuracy of the measurements as well as calibration strategy. All reference materials were analyzed at the beginning and at the end of a sequence and after ca. 40 spots on the samples. For all materials  $^{43}\text{Ca}$  was used as internal standard applying for the USGS BCR-2G and MACS-3 the preferred values reported in the GeoReM database, for JCp-1-NP a Ca content of 38.18 wt.%, and 39 wt.% for the samples.

#### 5.4 Results and discussion

Ilha Grande Bay is subject to severe pollution from a variety of sources, including current and past environmental spill incidents. Metal contaminants from municipal sewage and industrial wastes, as well as from mining and shipping activities, have polluted the region for several decades [62]. In this study, two approaches were employed to demonstrate the applicability of the skeletons as environmental indicators of metal pollution in Ilha Grande Bay: (1) natural baseline values were used to estimate and compare metal accumulation in samples collected from different sites; (2) the range of metal concentrations measured along different sections of the skeletons was used to evaluate changes in metal incorporation throughout the life of the corals. The results are presented in table 1 and plotted as graphs. Table I shows the metal concentrations for all samples. The resulting element concentrations for all measurements are provided in Supplementary Material.

Table 1 – Metal concentrations detected in the samples. Maximum, minimum and mean values of metal concentrations in coral skeletons collected from different sites in Ilha Grande Bay

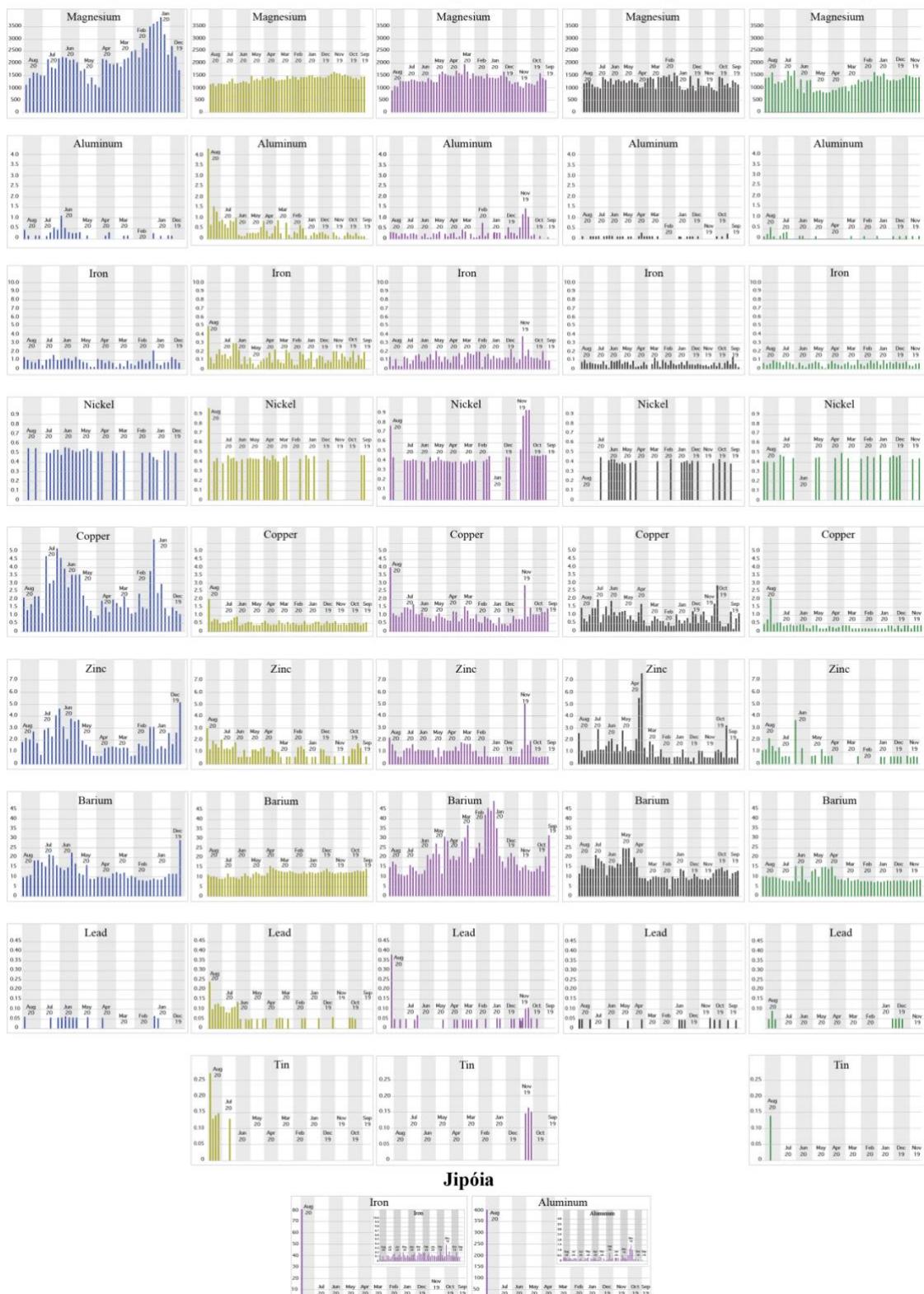
Site [µg/g]	Conceição		Guaíba		Jipóia		Tebig		Caxadaço	
	mean (range)	sd	mean (range)	sd	mean (range)	sd	mean (range)	sd	mean (range)	sd
Mg	2147 (3901 - 1032)	445.5	1381 (1664 - 1085)	70	1371 (1967 - 903)	147	1221 (1619 - 874)	177	1251 (1704 - 796)	161
Al	0.16 (1.10 - 0)	0.1	0.46 (4.29 - 0)	0.24	7.33 (396.1 - 0)	22.5	0.06 (0.29 - 0)	0.03	0.06 (0.55 - 0)	0.04
Cr	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL
Fe	0.90 (2.16 - 0.21)	0.37	1.41 (4.95 - 0.17)	0.71	2.76 (80.61 - 0.22)	4.99	0.65 (1.42 - 0)	0.26	0.62 (1.05 - 0.08)	0.8
Ni	0.32 (0.55 - 0)	0.14	0.23 (0.96 - 0)	0.11	0.34 (0.94 - 0)	0.15	0.14 (0.44 - 0)	0.09	0.19 (0.49 - 0)	0.09
Cu	2.28 (5.76 - 0.83)	1.05	0.56 (2.03 - 0.37)	0.16	1.04 (3.99 - 0.37)	0.42	0.93 (2.88 - 0.16)	0.43	0.35 (2.08 - 0)	0.18
Zn	2.67 (5.16 - 0.66)	0.86	0.94 (2.98 - 0)	0.41	1.09 (5.04 - 0)	0.51	1.29 (7.55 - 0)	0.86	0.55 (3.66 - 0)	0.32
Cd	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL
Sn	BDL	BDL	0.01 (0.27 - 0)	0.008	0.008 (0.16 - 0)	0.004	BDL	BDL	0.003 (0.13 - 0)	0.001
Ba	12.6 (28.5 - 7.96)	3.13	11.9 (15.7 - 8.99)	0.87	20.9 (49.2 - 10.66)	6.33	13.02 (24.9 - 7.98)	2.7	9.54 (15.7 - 7.24)	1.58
Nd	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL
Pb	0.01 (0.06 - 0)	0.007	0.04 (0.24 - 0)	0.01	0.02 (0.38 - 0)	0.02	0.009 (0.04 - 0)	0.004	0.007 (0.09 - 0)	0.003

Legend: BDL = Below Detection Limits.

Source: The Author, 2023.

Metal concentrations of Mg, Al, Fe, Cu, Ni, Zn, Ba, and Pb were detectable in all samples, Sn was detected in only 3 samples (Guaíba, Jipóia, and Caxadaço). In contrast, Cr, Cd, and Nd were not detected in any sample. Among the 12 metals analyzed, magnesium was by far the most abundant and showed a relatively stable pattern with constant concentrations in most samples and mean values ranging from 1221 to 2147 µg/g. Mean aluminum concentrations ranged from 0.06 to 7.33 µg/g, with the largest accumulation in Al content observed in the skeleton of Jipóia coral at 396 µg/g. Iron concentrations had similar ranges in all samples, showing relatively flat profiles with mean values ranging from 0.62 to 2.76 µg/g, except for the elevated peak observed in Jipóia (80.6 µg/g) and a small increase in Guaíba (4.95 µg/g). Nickel concentrations were relatively constant in the samples with mean values ranging from 0.14 to 0.34 µg/g, mean copper concentrations varied from 0.35 to 2.28 µg/g, while mean zinc values ranged from 0.55 to 2.67 µg/g, with the highest value recorded in Tebig coral (7.55 µg/g). The mean barium concentrations ranged from 9.54 to 20.9 µg/g, and the highest peak value was recorded in Jipóia at 49.2 µg/g. Lead profiles yielded low mean concentrations with a maximum peak at 0.38 µg/g in Jipóia coral. Tin was detected in only three samples: Guaíba (0.27 µg/g), Jipóia (0.16 µg/g), and Caxadaço (0.10 µg/g). These results demonstrate that anthropogenic metal inputs are incorporated into corals in Ilha Grande Bay, Figure 7.

Figure 7 – Profiles of metal content and accumulation rate for *T. tagusensis* skeletons from Ilha Grande Bay  
**Conceição**            **Guaíba**            **Jipóia**            **Tebig**            **Caxadaço**

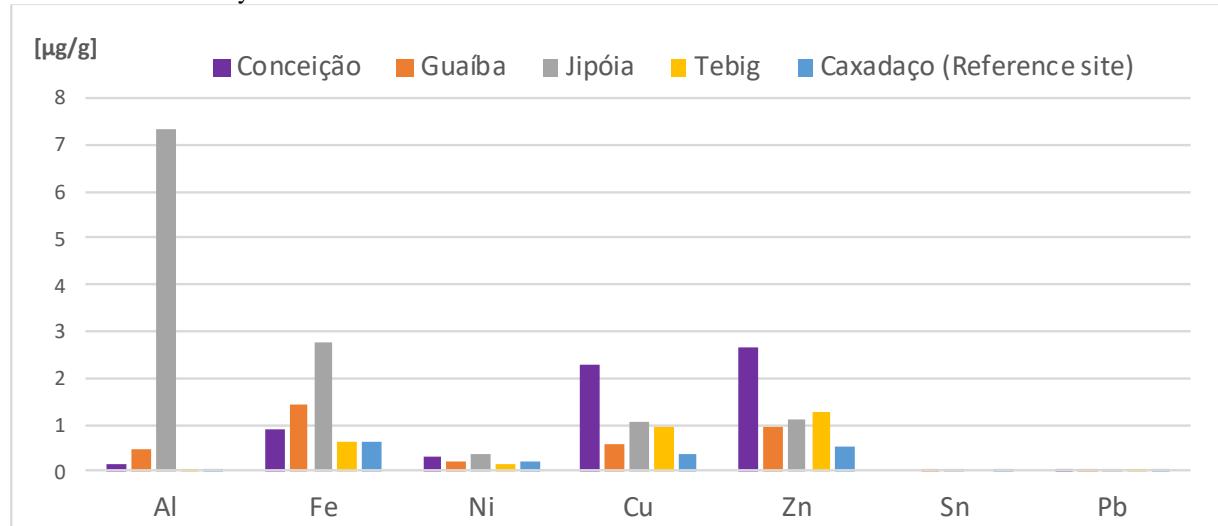


Legend: Comparison of metal concentrations between samples from different polluted environments, with measurements taken along different sections of the polyp walls as temporal records of metal incorporation.

Source: The Author, 2023

To correlate metal concentrations in skeletons with increasing distance from pollution sources, a site with minimal contamination exposure was chosen as a control area for determining natural background levels. Caxadaço beach is located in a pristine area outside of the bay, strongly influenced by ocean currents and far from the local anthropogenic sources. However, during sunny weekends, the site is heavily frequented by recreational boats. Despite the presence of tourists and boats, Caxadaço beach was considered as a reference area for the assessment of changes in environmental conditions and inputs of metal pollutants to the marine environment. The mean values of metal concentrations observed at this site serve as a basis for comparison and identification of anthropogenic influences with other sampling sites within the bay. The identification of concentrations above the mean values observed at the control site allowed to characterize anthropogenic disturbances on corals, Figure 7.

Figure 8 – Profiles of mean metal concentrations for each element recorded in *T. tagusensis* skeletons from Ilha Grande Bay



Legend: Comparison of mean values obtained between samples from different polluted environments and the results reported for Caxadaço (natural background values).

Source: The Author, 2023.

Overall, the metal concentrations found in the Caxadaço coral reflect the minimum values observed in this study. The mean concentration values used as natural background levels were: Mg 1251.9 µg/g; Al 0.068 µg/g; Fe 0.62 µg/g; Ni 0.19 µg/g; Cu 0.35 µg/g; Zn 0.55 µg/g; and Ba 9.54 µg/g. Despite minor differences in signals for copper (2.08 µg/g, August 2020) and zinc (3.66 µg/g, June 2020), the overall trends remained consistent throughout the life of the coral where metal content presented relatively stable patterns. Lead and tin were also detected in Caxadaço coral at very low concentrations; lead peaked at 0.09

$\mu\text{g/g}$  in August 2020 and  $0.05 \mu\text{g/g}$  in December 2019, while tin was only observed in August 2020 ( $0.13 \mu\text{g/g}$ ).

To further investigate the contribution of metal inputs from different sources, Jipóia Island was selected as a sampling site due to its proximity to the city of Angra dos Reis, which hosts both a shipyard and a port. The Jipóia coral had the highest concentrations for Al ( $396.12 \mu\text{g/g}$ ), Fe ( $80.61 \mu\text{g/g}$ ), and Pb ( $0.38 \mu\text{g/g}$ ) of all samples. These peaks were detected at the same laser spot, indicating that incorporation occurred during the same time period, August 2020. In addition, the Jipóia coral shows the greatest variation in Ba content, with values ranging from  $10.66$  to  $49.22 \mu\text{g/g}$ ; Ni concentrations peaked in November 2019 ( $0.94 \mu\text{g/g}$ ) before declining to baseline levels, indicating a decrease in pollution over time. In addition, moderate mean copper levels ( $1.04 \mu\text{g/g}$ ) were observed in this sample, with a significant Cu peak ( $3.99 \mu\text{g/g}$ ) recorded in August 2020. Zinc concentrations ranged from  $0$  to  $5.41 \mu\text{g/g}$ , while the range of magnesium concentrations ( $1967.54$  -  $903.69 \mu\text{g/g}$ ) in the Jipóia coral corresponds to similar ranges described for the reference site. Lead ( $0.38 \mu\text{g/g}$ ) and tin ( $0.16 \mu\text{g/g}$ ) were also detected in Jipóia. For the Jipóia coral, the elevated Al, Fe, and Pb concentrations occurred in the outermost part of the skeleton, corresponding to the last carbonate deposition (August 2020). This indicates that the release of these metals to the environment was characterized by a short-term pollution event. Aluminum, iron, and lead reach concentrations up to five thousand times, one hundred times, and five times higher, respectively, than at the control site. These exceptionally high metal concentrations also appear to be related to the end of the pandemic and the reestablishment of industrial activities. Perhaps the use of metal alloys in the shipyard have contributed to the elevated concentrations observed in this coral, and such high metal contents in the skeletons have not been found anywhere else. It seems possible that the anomalous amplitudes of Al, Fe, and Pb observed in the Jipóia corals could have been caused by ship maintenance and repair activities. Therefore, it is possible that the Jipóia coral was primarily affected by shipyard operations, where an isolated acute pollution event could have contributed to the incorporation of high metal content into the skeleton. In addition, this coral had the highest variability in Ba concentrations of all samples, which could be related to both shipyard activities and municipal waste from the city of Angra dos Reis.

The choice of Conceição city as a sampling site was primarily influenced by its proximity to a small river, as we wanted to investigate the potential influence of river runoff on coastal pollution. The higher Mg concentrations were found in the coral collected in Conceição, where the mean concentrations were two orders of magnitude higher ( $2147.72$

$\mu\text{g/g}$ ) than at the reference site. In addition, iron concentrations also exceeded the reference values measured in the control area, with average values of  $0.90 \mu\text{g/g}$ . Cooper exhibits a wider range of concentrations in Conceição, with values ranging from  $0.83$  to  $5.76 \mu\text{g/g}$ , while the range of Mg was from  $1032.73$  to  $3901.87 \mu\text{g/g}$ . Nickel concentrations exhibited flat profiles throughout the life of the coral, with mean values of  $0.32$ . Zinc concentrations ranged from  $0.66$  to  $5.16 \mu\text{g/g}$  with a mean of  $2.67 \mu\text{g/g}$ . Barium peaked at  $28.58 \mu\text{g/g}$  in December 2019, but levels stabilized between  $10.0$  and  $15.0 \mu\text{g/g}$ . Aluminum and lead were detectable at low levels with mean values of  $0.16$  and  $0.01 \mu\text{g/g}$ , respectively. The coral from Conceição recorded overlapping ranges of zinc, copper, and iron concentrations that showed a similar pattern across different stages of skeletal formation. The distribution of these metals along the skeleton showed a comparable mode of accumulation, with maximum and minimum values indicating an identical pattern of incorporation throughout the life of the coral. The most plausible explanation for the oscillatory signals recorded in this coral is likely related to municipal waste and metal contaminants bound to suspended particulate matter associated with increased river discharges. This suggests that the incorporation of metals into this coral could be attributed to both natural sources and human activities.

Because Guaíba Island is home to a mining terminal that exports and stores ore, we decided to include it in our sampling strategy. The Guaíba coral recorded high Al, Fe, Cu, Sn, and Pb concentrations that coincided in the same analyzed laser spot in August 2020. Manganese concentrations showed no differences between measurements in the different skeletal sections of Guaíba. This implies that Mg uptake did not change over time and environmental Mg concentrations did not change during the lifetime of the coral at this site. The magnesium content showed a profile with average values close to the reference values obtained at Caxadaço beach ( $1381.15 \mu\text{g/g}$ ). Barium, on the other hand, showed high concentrations and reached a mean value two orders of magnitude higher than the reference values observed in the reference site. In the Guaíba coral skeleton, the highest concentrations of aluminum, iron, copper, tin, and lead coincide with the same laser point analyzed. This indicates a significant increase in pollution at this site during a relatively short period in August 2020. This suggests that the uptake of these metals occurred after the pandemic lockdown and the restart of industrial activities resumed. In this manner, the anomalies detected in the Guaíba coral could be due to the input of mining materials from this terminal and the associated shipping activities. Moreover, the magnesium and zinc contents present flat profiles with average values similar to the control values. This implies that the uptake of Mg

and Zn did not change over time and their environmental concentrations remained constant throughout the life of the coral at this site.

Finally, we also included the oil terminal (Tebig) in our study to verify the influence of the heavy shipping traffic associated with the Tebig terminal. The Tebig coral showed a remarkable Zn peak ( $7.55 \mu\text{g/g}$ ) in April 2020, and smaller Zn peaks were observed at different stages of skeleton formation. Apart from the Zn peaks, the other metals show relatively stable profiles with average values close to the baseline concentrations observed in Caxadaço. While lead was detected in low concentrations in the Tebig coral ( $0.04 \mu\text{g/g}$ ), tin was not observed. Tebig coral had the highest zinc content of all samples, while concentrations of the other metals were closer to reference values. These conflicting results may be attributed to the strong hydrodynamic conditions at the sampling site. The corals were collected in close proximity to the oil terminal, which is located in the navigation channel of the bay. The navigation channel includes a complex system of ocean currents influenced by the energy of tidal currents, wind direction, and coastal currents. Given the high energy of the water movement, it is plausible that the low metal values are related to the residence time of the water at this site. This suggests that the contaminants may have been carried away from this site by coastal currents.

These results confirm that *Tubastraea tagusensis* skeletons can be used to determine the timing and magnitude of metal pollution events in the marine environment. Based on the natural baseline values, the results reported considerable variability in metal accumulation in corals that grew under different environmental conditions, suggesting a heterogeneous distribution of the metals in the bay. Overall, the range of metal contents observed in the skeletons were influenced by both diffused pollution and direct inputs from different anthropogenic sources. However, it should be noted that this approach cannot identify the specific pollution sources because multiple sources contribute to the release of metals into the marine environment, making it difficult to distinguish them without further isotopic analysis.

For example, shipyard activities in the study area include ship maintenance and repair. Such operations involve thermal cutting of metals, welding, grinding, blasting, coating, painting, and cleaning of cargo holds and tanks. Our results suggest that the contribution of the shipbuilding industry to coastal pollution in Ilha Grande Bay may be responsible for the significant metal accumulation in the skeletons. However, the bay also receives waste from over industrial facilities operating in the city of Sepetiba, which works intensively with metals, contributes significantly to marine pollution in the region. Therefore, it can be assumed that the range of metal levels observed in the samples is due to a mixture of

anthropogenic inputs from different sources. Moreover, in harbor areas such as Ilha Grande Bay, dredging operations are likely to result in the resuspension of sediments, which can constitute an additional source of pollution taken up by corals.

Regarding non-point sources of pollution in the study area, the use of antifouling paints on boat and ship hulls serves as a clear example of diffused pollution. It is well known that antifouling paints generate hazardous wastes that can be a constant source of toxic chemicals to marine life [70]. Most antifouling paints for boats and ships contain copper, zinc, lead, and tin. These metals are commonly used in antifouling compounds as corrosion inhibitors for ship hulls to prevent the growth of fouling organisms [71]. The intense shipping traffic in Ilha Grande Bay serves as a continuous source of Pb, Cu, Zn, and Sn, resulting in diffuse contamination [72,73]. In addition to leaching from antifouling paints, these metals also enter the marine environment via industrial and municipal waste. Lead, zinc, and nickel are used in a variety of metal alloys and batteries; copper is used in electrical components and wires, heat exchangers, piping, and plumbing; zinc is used in various products such as plastics, inks, and pharmaceuticals; while tin is used in chemical and metal processing, construction, electrical applications, and herbicides and pesticides. In addition, agricultural practices in surrounding areas can introduce metallic pollutants into the Bay through the use of fertilizers, pesticides, and herbicides. These chemical compounds can enter the marine environment with runoff that eventually flows into the Bay.

Although corals have the ability to tolerate relatively high concentrations of metals [74], acute exposure to large amounts of toxic metals and chronic exposure to repeated small amounts can pose a significant threat to corals and ecological risks to the marine ecosystem [75]. Elevated metal concentrations were observed along different sections of the skeletons. The differences in metal concentrations within the skeletons were related to temporal changes in metal concentrations in the environment, suggesting that the animals incorporated different amounts of metals at different stages of skeletal formation. Considering that metal incorporation into corals is strongly influenced by metal bioavailability, the most likely cause for the variability in metal content in skeletons is that the variations in metal concentration found in the environment reflect changes in metal incorporation at the time of skeletal calcification. In this manner, it can be assumed that the corals were exposed to different metal loads during their life span.

Apart from economic development related to urbanization and industrialization, the possible influence of the COVID-19 outbreak cannot be excluded as a potential factor that may have affected the incorporation of metals into the skeletons. The results reported for

Caxadaço coral seem to support the assumption that there is a link between the accumulation of metals in corals with the global pandemic and the implementation of measures to maintain social distance. In areas with heavy boat traffic, such as Caxadaço beach, residues of antifouling paints (e.g. Pb and Sn) may be released into the marine environment. On the one hand, the distribution of the two Pb peaks registered along the skeleton of the Caxadaço coral comprises the lockdown period (December 2019 - August 2020). It seems possible that the absence of lead input to the marine environment was a result of the absence of recreational boats due to the decrease in mobility and tourist activities at the reference site. On the other hand, the observed increase in lead and tin concentrations in August 2020 was likely related to an increase in recreational boating activity after travel restrictions were lifted.

A recent study reported that the dispersion of metals in Ilha Grande Bay is strongly influenced by tidal currents, while the shipping channel plays an important role in connecting different regions of the bay [76]. In this present study, the differences in metal concentrations observed in corals from different polluted environments are probably related to the distribution of metals in the marine environment. However, these results should be interpreted with caution because metal uptake into the coral skeleton depends on several factors. Due to the action of ocean currents, bioavailable metals for corals tend to be more abundant near the sources of pollution. As a result, corals may accumulate higher concentrations of metals near the sources. In contrast, in areas where metal contaminants are diluted, uptake by corals may be lower due to lower concentrations in the water. This implies that the accumulation of metals in coral skeletons depends on the environmental characteristics of the site and its proximity to pollution sources. In this way, the observed peak concentrations in certain sections of the skeletons could be attributed to sporadic anthropogenic inputs associated with acute short-term releases of metal contaminants.

A limitation of this study is that only five coral samples from five different sites were analyzed, which may not be representative for a comprehensive assessment of the impacts of metal pollution throughout the bay. Although this study was based on a small number of samples, natural baseline values for metal content in *T. tagusensis* skeletons were established to characterize the extent of pollution that has occurred over the life of the corals. Moreover, this study provides quantitative and qualitative data on anthropogenic impacts on corals in areas significantly impacted by human activities, as well as at a pristine site distant from local sources of pollution. Another important research direction is to determine the range of metal concentrations in seawater that are considered toxic to coral survival. However, few controlled laboratory experiments have been conducted to correlate coral skeleton

geochemistry with seawater metal levels [77,78]. In order to accurately infer the temporal changes in metal concentrations in seawater based on the measured concentrations in coral skeletons, further calibration experiments should use aquarium systems and gradually increase metal concentrations in water over time. Improvements in the use of coral proxies would be useful to translate into meaningful policy guidelines for metal concentrations in seawater.

## 5.5 Conclusion

Here we present an innovative approach to marine pollution assessment that opens new perspectives for monitoring metal pollution in Ilha Grande Bay. The results show significant differences in metal uptake among corals from different sites, reflecting the different conditions under which individual corals were exposed to pollutants. In addition, the data allow us to identify the timing of anthropogenic metal inputs. Elevated concentrations were observed in different sections of the skeletons, suggesting a possible link between the accumulation of metals in corals and the recovery of tourism and industrial activities post-pandemic. The observed variations in metal content in skeletons suggest that corals were exposed to both non-point-source pollution and sporadic metal releases from various point sources during their lifetime. Higher metal concentrations in the coral skeletons were attributed to acute pollution events and to their proximity to pollution sources, while minor variations in metal content could be due to chronic events. These results suggest that human-induced pollution is affecting corals in Ilha Grande Bay and possibly harming other marine organisms.

The results of this study may help improve environmental regulations to mitigate the risks associated with habitat degradation in the region. Given the capabilities of LA-ICP-MS, to obtain precise and accurate data from a small number of samples, this technique offers several key advantages over traditional biomonitoring surveys. The high spatial resolution of the method allows identification of specific areas within coral skeletons with higher metal accumulation, providing valuable insight into the ability of corals to bioaccumulate available metal content in the marine environment. Such information is critical to understanding the potential impacts of metal pollution on marine life and the food chain. However, to gain a more comprehensive understanding of the dynamics of metal pollution in the marine

environment, future monitoring programs need to include the use of isotopic signatures to address the origin of metal pollution.

## 5.6 Supplementary Material

Laser shots	Mg	Al	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Sn	Ba	Nd	Pb
Conceicao-1	1123.23	0.43	0.00	1.38	0.00	2.11	1.84	0.00	0.00	9.55	0.00	0.06
Conceicao-2	1400.91	0.16	0.00	1.04	0.55	1.33	2.18	0.00	0.00	10.28	0.00	0.00
Conceicao-3	1628.76	0.00	0.00	0.86	0.00	1.70	2.08	0.00	0.00	10.82	0.00	0.00
Conceicao-4	1612.50	0.17	0.00	0.76	0.55	2.20	2.72	0.00	0.00	18.23	0.00	0.00
Conceicao-5	1527.50	0.16	0.00	1.11	0.00	2.20	1.75	0.00	0.00	18.32	0.00	0.00
Conceicao-6	1492.23	0.00	0.00	0.44	0.00	1.15	0.79	0.00	0.00	17.29	0.00	0.00
Conceicao-7	2176.05	0.15	0.00	1.08	0.50	4.70	2.87	0.00	0.00	15.30	0.00	0.00
Conceicao-8	1840.01	0.31	0.00	1.16	0.49	3.01	3.04	0.00	0.00	21.27	0.00	0.06
Conceicao-9	1792.89	0.55	0.00	1.62	0.53	3.19	2.31	0.00	0.00	20.60	0.00	0.00
Conceicao-10	2212.07	0.44	0.00	1.04	0.53	5.19	4.08	0.00	0.00	15.76	0.00	0.06
Conceicao-11	2265.84	1.10	0.00	1.03	0.48	4.59	4.62	0.00	0.00	14.53	0.00	0.06
Conceicao-12	2233.48	0.53	0.00	1.23	0.56	3.93	3.12	0.00	0.00	13.32	0.00	0.06
Conceicao-13	2151.96	0.32	0.00	1.22	0.55	2.75	2.09	0.00	0.00	14.63	0.00	0.06
Conceicao-14	2160.45	0.28	0.00	0.95	0.53	3.55	3.79	0.00	0.00	22.19	0.00	0.06
Conceicao-15	2056.27	0.29	0.00	1.40	0.51	3.56	3.55	0.00	0.00	16.66	0.00	0.06
Conceicao-16	1703.03	0.33	0.00	1.10	0.51	3.58	3.69	0.00	0.00	11.60	0.00	0.00
Conceicao-17	1770.88	0.00	0.00	0.84	0.53	2.25	1.96	0.00	0.00	10.96	0.00	0.00
Conceicao-18	1180.71	0.17	0.00	0.74	0.54	1.60	1.63	0.00	0.00	15.83	0.00	0.06
Conceicao-19	1428.98	0.00	0.00	0.26	0.52	1.30	1.45	0.00	0.00	8.86	0.00	0.00
Conceicao-20	1138.91	0.00	0.00	0.24	0.00	0.83	0.72	0.00	0.00	8.92	0.00	0.00
Conceicao-21	1032.73	0.00	0.00	1.17	0.51	1.01	0.69	0.00	0.00	10.01	0.00	0.00
Conceicao-22	2186.60	0.00	0.00	1.04	0.51	1.92	0.68	0.00	0.00	9.94	0.00	0.06
Conceicao-23	2150.10	0.16	0.00	0.73	0.00	1.54	1.34	0.00	0.00	9.58	0.00	0.00
Conceicao-24	1992.87	0.31	0.00	0.93	0.00	1.23	1.39	0.00	0.00	9.21	0.00	0.00
Conceicao-25	1965.10	0.00	0.00	0.73	0.52	2.00	1.46	0.00	0.00	11.67	0.00	0.00
Conceicao-26	2029.04	0.00	0.00	0.21	0.50	1.74	1.40	0.00	0.00	12.29	0.00	0.00
Conceicao-27	1877.17	0.00	0.00	0.64	0.00	1.53	1.32	0.00	0.00	11.47	0.00	0.00
Conceicao-28	2174.29	0.16	0.00	0.31	0.52	2.19	1.39	0.00	0.00	11.96	0.00	0.00
Conceicao-29	2226.16	0.16	0.00	0.97	0.00	1.51	1.36	0.00	0.00	9.29	0.00	0.00
Conceicao-30	2491.80	0.00	0.00	0.63	0.00	1.14	0.67	0.00	0.00	10.48	0.00	0.00
Conceicao-31	2554.06	0.00	0.00	0.44	0.00	1.21	0.72	0.00	0.00	9.67	0.00	0.00
Conceicao-32	2248.86	0.00	0.00	0.90	0.00	2.35	1.71	0.00	0.00	8.27	0.00	0.00
Conceicao-33	2839.29	0.00	0.00	1.09	0.51	1.54	1.50	0.00	0.00	8.25	0.00	0.00
Conceicao-34	2613.90	0.00	0.00	0.67	0.00	1.35	1.52	0.00	0.00	7.97	0.00	0.00
Conceicao-35	3531.28	0.00	0.00	0.89	0.50	3.78	2.20	0.00	0.00	8.23	0.00	0.00
Conceicao-36	3632.47	0.28	0.00	2.17	0.45	5.76	3.10	0.00	0.00	9.06	0.00	0.06
Conceicao-37	3724.64	0.00	0.00	0.64	0.42	2.41	1.29	0.00	0.00	8.48	0.00	0.05
Conceicao-38	3901.88	0.15	0.00	0.46	0.00	2.96	1.49	0.00	0.00	8.53	0.00	0.00
Conceicao-39	3197.45	0.00	0.00	0.78	0.53	1.47	1.32	0.00	0.00	9.81	0.00	0.00
Conceicao-40	2366.15	0.17	0.00	0.80	0.52	0.96	2.59	0.00	0.00	11.41	0.00	0.00
Conceicao-41	2716.15	0.15	0.00	1.39	0.00	1.51	1.67	0.00	0.00	11.41	0.00	0.00
Conceicao-42	2280.68	0.00	0.00	1.13	0.50	1.29	2.63	0.00	0.00	11.35	0.00	0.00
Conceicao-43	1722.71	0.00	0.00	0.74	0.00	1.08	5.16	0.00	0.00	28.59	0.00	0.00
MEAN	2147.72	0.16	0.00	0.91	0.32	2.28	2.07	0.00	0.00	12.60	0.00	0.02
MAX	3901.88	1.10	0.00	2.17	0.56	5.76	5.16	0.00	0.00	28.59	0.00	0.06
MIN	1032.73	0.00	0.00	0.21	0.00	0.83	0.67	0.00	0.00	7.97	0.00	0.00

Laser shots	Mg	Al	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Sn	Ba	Nd	Pb
Guaiba-1	1155.25	4.29	0.00	4.96	0.97	2.03	2.98	0.00	0.27	11.19	0.00	0.24
Guaiba-2	1198.48	0.68	0.00	1.36	0.00	0.64	1.28	0.00	0.13	10.29	0.00	0.10
Guaiba-3	1085.10	1.55	0.00	0.69	0.41	0.79	1.98	0.00	0.14	10.47	0.00	0.12
Guaiba-4	1194.08	1.29	0.00	1.75	0.44	0.76	1.71	0.00	0.15	9.81	0.00	0.13
Guaiba-5	1180.47	0.84	0.00	2.30	0.00	0.49	1.39	0.00	0.00	9.16	0.00	0.11
Guaiba-6	1166.22	0.93	0.00	1.63	0.39	0.59	2.06	0.00	0.00	9.26	0.00	0.11
Guaiba-7	1171.45	0.71	0.00	1.77	0.00	0.53	1.29	0.00	0.00	9.53	0.00	0.09
Guaiba-8	1267.04	0.54	0.00	1.20	0.48	0.66	1.34	0.00	0.13	11.89	0.00	0.08
Guaiba-9	1386.69	0.89	0.00	1.51	0.44	0.70	1.26	0.00	0.00	9.89	0.00	0.11
Guaiba-10	1193.44	0.84	0.00	2.99	0.45	0.89	1.44	0.00	0.00	9.86	0.00	0.11
Guaiba-11	1194.33	1.03	0.00	3.01	0.41	0.93	1.81	0.00	0.00	9.52	0.00	0.14
Guaiba-12	1231.09	0.20	0.00	2.22	0.00	0.37	0.61	0.00	0.00	8.99	0.00	0.05
Guaiba-13	1267.30	0.13	0.00	0.57	0.43	0.45	0.61	0.00	0.00	10.21	0.00	0.00
Guaiba-14	1246.50	0.14	0.00	1.44	0.00	0.53	1.20	0.00	0.00	11.76	0.00	0.05
Guaiba-15	1201.03	0.29	0.00	0.59	0.44	0.61	0.61	0.00	0.00	10.58	0.00	0.04
Guaiba-16	1260.46	0.29	0.00	1.34	0.45	0.59	0.60	0.00	0.00	9.60	0.00	0.05
Guaiba-17	1335.54	0.30	0.00	0.68	0.44	0.41	1.24	0.00	0.00	11.58	0.00	0.00
Guaiba-18	1393.26	0.28	0.00	0.17	0.44	0.41	1.23	0.00	0.00	12.49	0.00	0.05
Guaiba-19	1329.22	0.32	0.00	0.52	0.43	0.39	1.10	0.00	0.00	11.84	0.00	0.00
Guaiba-20	1482.42	0.58	0.00	0.93	0.00	0.55	1.33	0.00	0.00	10.78	0.00	0.05
Guaiba-21	1364.05	0.85	0.00	1.19	0.46	0.68	1.42	0.00	0.00	10.68	0.00	0.05
Guaiba-22	1409.52	0.40	0.00	1.34	0.44	0.49	0.64	0.00	0.00	12.04	0.00	0.00
Guaiba-23	1456.51	0.14	0.00	1.91	0.42	0.39	0.63	0.00	0.00	15.78	0.00	0.00
Guaiba-24	1405.00	0.27	0.00	0.79	0.48	0.43	1.24	0.00	0.00	14.66	0.00	0.00
Guaiba-25	1282.35	0.62	0.00	2.27	0.43	0.42	1.10	0.00	0.00	13.70	0.00	0.05
Guaiba-26	1328.33	0.90	0.00	1.11	0.41	0.71	1.04	0.00	0.00	13.20	0.00	0.06
Guaiba-27	1346.92	0.27	0.00	0.79	0.00	0.53	0.59	0.00	0.00	12.96	0.00	0.05
Guaiba-28	1343.96	0.00	0.00	0.68	0.45	0.44	0.00	0.00	0.00	12.64	0.00	0.00
Guaiba-29	1504.27	0.78	0.00	2.23	0.47	0.61	0.64	0.00	0.00	12.61	0.00	0.05
Guaiba-30	1384.82	0.21	0.00	1.91	0.00	0.48	0.62	0.00	0.00	13.18	0.00	0.00
Guaiba-31	1477.14	0.07	0.00	1.16	0.00	0.55	0.00	0.00	0.00	12.64	0.00	0.00
Guaiba-32	1461.55	0.35	0.00	0.47	0.00	0.47	0.63	0.00	0.00	12.04	0.00	0.00
Guaiba-33	1346.57	0.28	0.00	0.50	0.00	0.39	1.41	0.00	0.00	12.09	0.00	0.00
Guaiba-34	1443.67	0.67	0.00	2.01	0.43	0.44	1.49	0.00	0.00	11.83	0.00	0.05
Guaiba-35	1445.95	0.51	0.00	1.73	0.00	0.65	1.25	0.00	0.00	12.72	0.00	0.06
Guaiba-36	1466.53	0.16	0.00	1.06	0.47	0.44	0.66	0.00	0.00	11.79	0.00	0.00
Guaiba-37	1462.97	0.00	0.00	1.22	0.44	0.45	0.00	0.00	0.00	12.63	0.00	0.00
Guaiba-38	1526.64	0.16	0.00	1.27	0.00	0.50	0.61	0.00	0.00	12.35	0.00	0.00
Guaiba-39	1458.46	0.30	0.00	0.24	0.46	0.61	0.63	0.00	0.00	11.88	0.00	0.00
Guaiba-40	1459.10	0.22	0.00	1.22	0.00	0.60	0.00	0.00	0.00	12.21	0.00	0.05
Guaiba-41	1466.40	0.30	0.00	1.54	0.00	0.40	1.27	0.00	0.00	12.53	0.00	0.00
Guaiba-42	1417.99	0.33	0.00	1.45	0.00	0.47	1.21	0.00	0.00	13.16	0.00	0.00
Guaiba-43	1435.90	0.23	0.00	0.72	0.00	0.65	0.67	0.00	0.00	14.28	0.00	0.00
Guaiba-44	1503.22	0.16	0.00	0.99	0.42	0.51	0.68	0.00	0.00	12.69	0.00	0.00
Guaiba-45	1582.86	0.00	0.00	0.85	0.00	0.53	0.00	0.00	0.00	12.18	0.00	0.06
Guaiba-46	1664.81	0.32	0.00	2.09	0.00	0.64	0.65	0.00	0.00	11.69	0.00	0.00
Guaiba-47	1604.36	0.16	0.00	2.09	0.00	0.46	0.00	0.00	0.00	12.15	0.00	0.00
Guaiba-48	1605.05	0.08	0.00	1.09	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	12.55	0.00	0.00
Guaiba-49	1499.15	0.00	0.00	1.80	0.00	0.54	0.69	0.00	0.00	12.09	0.00	0.00
Guaiba-50	1559.36	0.15	0.00	1.43	0.00	0.43	0.00	0.00	0.00	12.25	0.00	0.00
Guaiba-51	1507.95	0.30	0.00	0.88	0.00	0.53	0.64	0.00	0.00	12.32	0.00	0.05
Guaiba-52	1474.50	0.21	0.00	1.37	0.00	0.50	1.30	0.00	0.00	12.35	0.00	0.05
Guaiba-53	1393.01	0.13	0.00	2.11	0.00	0.56	1.25	0.00	0.00	12.91	0.00	0.05
Guaiba-54	1426.13	0.27	0.00	0.78	0.00	0.55	1.74	0.00	0.00	13.33	0.00	0.00
Guaiba-55	1349.62	0.14	0.00	1.62	0.00	0.43	1.35	0.00	0.00	12.97	0.00	0.00
Guaiba-56	1462.54	0.14	0.00	1.18	0.47	0.50	0.00	0.00	0.00	12.96	0.00	0.00
Guaiba-57	1459.04	0.14	0.00	1.97	0.47	0.58	0.64	0.00	0.00	14.30	0.00	0.00
MEAN	1381.15	0.46	0.00	1.42	0.23	0.57	0.94	0.00	0.01	11.91	0.00	0.04
MAX	1664.81	4.29	0.00	4.96	0.97	2.03	2.98	0.00	0.27	15.78	0.00	0.24
MIN	1085.10	0.00	0.00	0.17	0.00	0.37	0.00	0.00	0.00	8.99	0.00	0.00

Laser shots	Mg	Al	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Sn	Ba	Nd	Pb
Jipoia-1	903.70	396.12	0.00	80.62	0.78	4.00	2.21	0.00	0.00	15.04	0.00	0.38
Jipoia-2	1087.16	0.32	0.00	1.43	0.45	1.13	1.67	0.00	0.00	17.87	0.00	0.05
Jipoia-3	1054.86	0.32	0.00	0.38	0.00	1.02	1.12	0.00	0.00	16.48	0.00	0.00
Jipoia-4	1305.55	0.27	0.00	1.19	0.00	0.91	0.60	0.00	0.00	11.52	0.00	0.05
Jipoia-5	1271.53	0.13	0.00	0.36	0.00	1.19	0.59	0.00	0.00	11.12	0.00	0.00
Jipoia-6	1267.95	0.26	0.00	0.36	0.42	1.52	1.15	0.00	0.00	10.66	0.00	0.05
Jipoia-7	1279.47	0.27	0.00	1.44	0.42	1.52	1.34	0.00	0.00	11.04	0.00	0.00
Jipoia-8	1349.91	0.13	0.00	1.25	0.42	1.39	1.32	0.00	0.00	16.11	0.00	0.00
Jipoia-9	1324.80	0.26	0.00	0.62	0.43	1.70	1.66	0.00	0.00	15.14	0.00	0.04
Jipoia-10	1278.23	0.27	0.00	1.04	0.42	1.09	1.11	0.00	0.00	13.16	0.00	0.05
Jipoia-11	1258.33	0.21	0.00	1.59	0.00	1.08	1.22	0.00	0.00	11.33	0.00	0.00
Jipoia-12	1276.90	0.00	0.00	1.72	0.41	1.20	1.16	0.00	0.00	11.53	0.00	0.00
Jipoia-13	1233.36	0.13	0.00	0.83	0.40	0.90	1.15	0.00	0.00	13.48	0.00	0.00
Jipoia-14	1411.74	0.25	0.00	0.88	0.22	0.87	1.15	0.00	0.00	21.33	0.00	0.00
Jipoia-15	1322.36	0.06	0.00	1.39	0.45	0.84	1.15	0.00	0.00	19.09	0.00	0.00
Jipoia-16	1241.56	0.07	0.00	1.72	0.41	0.64	1.16	0.00	0.00	22.01	0.00	0.00
Jipoia-17	1239.64	0.27	0.00	1.10	0.41	0.96	0.58	0.00	0.00	27.24	0.00	0.00
Jipoia-18	1566.49	0.24	0.00	2.11	0.45	1.14	1.39	0.00	0.00	21.75	0.00	0.00
Jipoia-19	1669.89	0.34	0.00	1.49	0.42	0.89	0.63	0.00	0.00	11.69	0.00	0.05
Jipoia-20	1576.40	0.00	0.00	0.84	0.41	0.82	1.16	0.00	0.00	30.78	0.00	0.00
Jipoia-21	1528.17	0.25	0.00	1.42	0.41	0.65	1.09	0.00	0.00	28.66	0.00	0.00
Jipoia-22	1514.59	0.12	0.00	1.12	0.41	0.68	1.12	0.00	0.00	19.09	0.00	0.00
Jipoia-23	1477.77	0.26	0.00	0.73	0.40	1.26	1.12	0.00	0.00	20.88	0.00	0.05
Jipoia-24	1711.29	0.30	0.00	1.50	0.41	1.22	1.46	0.00	0.00	18.68	0.00	0.05
Jipoia-25	1616.29	0.07	0.00	1.50	0.00	0.62	1.09	0.00	0.00	20.40	0.00	0.00
Jipoia-26	1555.64	0.13	0.00	1.86	0.40	0.81	1.81	0.00	0.00	28.46	0.00	0.05
Jipoia-27	1967.54	0.45	0.00	0.51	0.39	1.57	1.73	0.00	0.00	30.46	0.00	0.05
Jipoia-28	1668.46	0.36	0.00	1.40	0.39	1.30	1.69	0.00	0.00	36.74	0.00	0.05
Jipoia-29	1381.10	0.00	0.00	1.91	0.42	0.79	1.70	0.00	0.00	17.52	0.00	0.05
Jipoia-30	1593.52	0.25	0.00	1.76	0.41	0.80	1.06	0.00	0.00	19.63	0.00	0.00
Jipoia-31	1478.26	0.06	0.00	1.65	0.41	1.06	1.14	0.00	0.00	24.83	0.00	0.05
Jipoia-32	1475.16	0.07	0.00	2.03	0.00	0.59	0.65	0.00	0.00	27.60	0.00	0.00
Jipoia-33	1480.92	0.15	0.00	2.03	0.00	0.54	0.62	0.00	0.00	21.70	0.00	0.00
Jipoia-34	1382.88	0.77	0.00	0.22	0.41	0.93	1.50	0.00	0.00	42.10	0.00	0.05
Jipoia-35	1572.70	0.14	0.00	1.46	0.43	0.83	0.64	0.00	0.00	45.57	0.00	0.00
Jipoia-36	1416.54	0.28	0.00	1.81	0.46	0.72	0.61	0.00	0.00	44.26	0.00	0.00
Jipoia-37	1427.99	0.00	0.00	1.14	0.00	0.43	0.62	0.00	0.00	49.23	0.00	0.00
Jipoia-38	1373.46	0.30	0.00	1.55	0.00	0.41	0.64	0.00	0.00	35.26	0.00	0.05
Jipoia-39	1407.20	0.33	0.00	0.62	0.00	0.86	0.63	0.00	0.00	20.76	0.00	0.05
Jipoia-40	1502.25	0.29	0.00	1.25	0.00	0.46	0.66	0.00	0.00	17.99	0.00	0.00
Jipoia-41	1657.70	0.00	0.00	1.01	0.00	0.48	0.00	0.00	0.00	14.61	0.00	0.00
Jipoia-42	1444.65	0.15	0.00	1.30	0.46	0.37	0.00	0.00	0.00	20.34	0.00	0.00
Jipoia-43	1280.60	0.55	0.00	1.34	0.45	0.51	0.63	0.00	0.00	22.45	0.00	0.05
Jipoia-44	1156.10	0.32	0.00	2.34	0.00	0.97	0.64	0.00	0.00	20.43	0.00	0.05
Jipoia-45	1228.77	0.29	0.00	1.38	0.00	0.77	0.63	0.00	0.00	16.43	0.00	0.00
Jipoia-46	1239.33	0.16	0.00	0.68	0.00	0.78	0.63	0.00	0.00	13.38	0.00	0.05
Jipoia-47	1066.12	0.56	0.00	1.17	0.53	0.76	1.26	0.00	0.00	14.93	0.00	0.05
Jipoia-48	996.56	1.18	0.00	3.84	0.89	2.88	5.05	0.00	0.15	16.09	0.00	0.10
Jipoia-49	1225.23	1.45	0.00	1.52	0.95	0.92	1.61	0.00	0.16	13.50	0.00	0.11
Jipoia-50	1201.02	1.05	0.00	2.25	0.95	1.49	1.94	0.00	0.15	12.78	0.00	0.05
Jipoia-51	1165.18	0.15	0.00	1.35	0.47	1.08	0.64	0.00	0.00	12.81	0.00	0.00
Jipoia-52	1095.85	0.22	0.00	1.24	0.46	1.07	0.61	0.00	0.00	14.30	0.00	0.05
Jipoia-53	1274.30	0.00	0.00	1.28	0.46	1.07	0.57	0.00	0.00	15.78	0.00	0.00
Jipoia-54	1596.56	0.14	0.00	1.09	0.46	1.23	0.62	0.00	0.00	12.79	0.00	0.00
Jipoia-55	1397.20	0.00	0.00	2.11	0.47	1.21	0.62	0.00	0.00	20.67	0.00	0.00
Jipoia-56	1349.84	0.08	0.00	0.96	0.45	1.43	0.65	0.00	0.00	31.38	0.00	0.00
MEAN	1371.90	7.34	0.00	2.76	0.34	1.04	1.09	0.00	0.01	20.91	0.00	0.03
MAX	1967.54	396.12	0.00	80.62	0.95	4.00	5.05	0.00	0.16	49.23	0.00	0.38
MIN	903.70	0.00	0.00	0.22	0.00	0.37	0.00	0.00	0.00	10.66	0.00	0.00

Laser shots	Mg	Al	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Sn	Ba	Nd	Pb
Tebig-1	1174.90	0.12	0.00	0.85	0.00	1.48	2.58	0.00	0.00	11.72	0.00	0.05
Tebig-2	1218.82	0.00	0.00	1.07	0.00	0.81	1.13	0.00	0.00	15.94	0.00	0.05
Tebig-3	1294.09	0.00	0.00	0.70	0.00	0.63	0.60	0.00	0.00	15.84	0.00	0.00
Tebig-4	1137.30	0.12	0.00	0.83	0.00	1.05	1.11	0.00	0.00	14.76	0.00	0.00
Tebig-5	1045.38	0.13	0.00	0.62	0.00	1.43	1.14	0.00	0.00	14.19	0.00	0.05
Tebig-6	1045.38	0.13	0.00	0.62	0.00	1.43	1.14	0.00	0.00	14.19	0.00	0.00
Tebig-7	977.21	0.14	0.00	0.55	0.00	2.03	1.22	0.00	0.00	21.23	0.00	0.00
Tebig-8	1436.74	0.00	0.00	0.55	0.45	0.57	2.92	0.00	0.00	19.54	0.00	0.00
Tebig-9	1346.28	0.13	0.00	0.93	0.00	1.08	1.23	0.00	0.00	18.10	0.00	0.00
Tebig-10	1262.87	0.13	0.00	0.49	0.00	1.56	1.20	0.00	0.00	16.93	0.00	0.00
Tebig-11	1392.69	0.13	0.00	0.09	0.42	1.01	1.53	0.00	0.00	10.82	0.00	0.00
Tebig-12	1137.14	0.14	0.00	0.97	0.43	1.91	1.94	0.00	0.00	15.91	0.00	0.05
Tebig-13	1315.63	0.00	0.00	0.83	0.43	1.21	2.12	0.00	0.00	15.67	0.00	0.00
Tebig-14	1345.46	0.12	0.00	0.95	0.00	0.98	1.09	0.00	0.00	14.75	0.00	0.00
Tebig-15	1277.63	0.12	0.00	1.07	0.38	1.20	1.63	0.00	0.00	16.91	0.00	0.00
Tebig-16	1303.73	0.12	0.00	0.61	0.40	1.26	1.09	0.00	0.00	16.55	0.00	0.00
Tebig-17	1215.03	0.00	0.00	0.85	0.38	1.29	2.81	0.00	0.00	24.99	0.00	0.00
Tebig-18	1287.27	0.12	0.00	0.86	0.00	0.77	1.45	0.00	0.00	24.59	0.00	0.00
Tebig-19	1345.98	0.12	0.00	0.51	0.39	1.02	1.08	0.00	0.00	24.80	0.00	0.04
Tebig-20	1223.96	0.00	0.00	0.99	0.00	0.74	1.18	0.00	0.00	17.52	0.00	0.00
Tebig-21	1190.64	0.00	0.00	0.26	0.42	0.63	1.12	0.00	0.00	19.96	0.00	0.00
Tebig-22	1005.53	0.13	0.00	0.31	0.00	1.20	2.11	0.00	0.00	15.11	0.00	0.00
Tebig-23	1034.71	0.29	0.00	0.43	0.00	1.73	5.50	0.00	0.00	9.42	0.00	0.00
Tebig-24	1212.23	0.13	0.00	0.84	0.00	0.70	7.55	0.00	0.00	9.32	0.00	0.00
Tebig-25	1412.30	0.13	0.00	0.49	0.00	0.36	1.37	0.00	0.00	9.32	0.00	0.00
Tebig-26	1452.52	0.13	0.00	0.00	0.00	0.38	0.58	0.00	0.00	7.99	0.00	0.00
Tebig-27	1369.41	0.14	0.00	0.61	0.00	0.68	1.88	0.00	0.00	8.84	0.00	0.00
Tebig-28	956.82	0.00	0.00	1.30	0.00	0.95	1.61	0.00	0.00	10.23	0.00	0.00
Tebig-29	1456.36	0.13	0.00	0.93	0.41	0.81	0.58	0.00	0.00	10.35	0.00	0.00
Tebig-30	1424.26	0.00	0.00	0.26	0.00	0.67	0.63	0.00	0.00	9.83	0.00	0.00
Tebig-31	1516.01	0.00	0.00	1.10	0.00	0.67	1.23	0.00	0.00	9.64	0.00	0.00
Tebig-32	1452.66	0.00	0.00	0.79	0.00	0.36	0.59	0.00	0.00	9.89	0.00	0.00
Tebig-33	1539.26	0.00	0.00	0.49	0.00	0.58	0.55	0.00	0.00	9.20	0.00	0.00
Tebig-34	1273.09	0.00	0.00	1.05	0.43	0.35	0.58	0.00	0.00	9.37	0.00	0.00
Tebig-35	1619.68	0.00	0.00	0.66	0.00	0.35	0.00	0.00	0.00	10.11	0.00	0.00
Tebig-36	1501.49	0.00	0.00	0.47	0.00	1.07	0.61	0.00	0.00	9.03	0.00	0.00
Tebig-37	1085.40	0.12	0.00	0.56	0.00	0.72	0.62	0.00	0.00	9.39	0.00	0.00
Tebig-38	930.21	0.00	0.00	0.84	0.39	0.50	0.59	0.00	0.00	14.19	0.00	0.05
Tebig-39	923.42	0.00	0.00	0.49	0.41	0.68	1.21	0.00	0.00	13.32	0.00	0.05
Tebig-40	959.78	0.12	0.00	0.94	0.41	0.84	0.56	0.00	0.00	9.49	0.00	0.04
Tebig-41	1479.61	0.12	0.00	0.53	0.38	0.54	0.55	0.00	0.00	8.44	0.00	0.00
Tebig-42	1095.96	0.12	0.00	0.55	0.41	1.26	0.23	0.00	0.00	9.14	0.00	0.00
Tebig-43	891.94	0.00	0.00	0.50	0.00	1.06	0.55	0.00	0.00	11.48	0.00	0.00
Tebig-44	1389.81	0.12	0.00	0.62	0.41	0.54	0.00	0.00	0.00	9.99	0.00	0.00
Tebig-45	1083.47	0.00	0.00	0.53	0.00	1.05	1.12	0.00	0.00	8.85	0.00	0.00
Tebig-46	1092.31	0.00	0.00	0.42	0.00	1.25	1.11	0.00	0.00	8.66	0.00	0.00
Tebig-47	1077.02	0.00	0.00	0.46	0.00	0.72	0.57	0.00	0.00	9.19	0.00	0.00
Tebig-48	1173.04	0.00	0.00	0.33	0.00	0.56	0.56	0.00	0.00	8.47	0.00	0.00
Tebig-49	1025.24	0.00	0.00	0.48	0.00	0.99	0.57	0.00	0.00	9.38	0.00	0.00
Tebig-50	923.11	0.00	0.00	0.77	0.39	1.74	0.53	0.00	0.00	11.95	0.00	0.00
Tebig-51	874.62	0.12	0.00	0.37	0.00	2.88	1.08	0.00	0.00	13.70	0.00	0.04
Tebig-52	1455.69	0.00	0.00	0.74	0.43	0.64	1.19	0.00	0.00	14.16	0.00	0.00
Tebig-53	1411.00	0.12	0.00	0.15	0.00	0.31	1.03	0.00	0.00	14.93	0.00	0.04
Tebig-54	1108.14	0.00	0.00	0.73	0.40	0.33	0.54	0.00	0.00	12.91	0.00	0.00
Tebig-55	1181.78	0.25	0.00	0.95	0.00	0.49	3.22	0.00	0.00	13.50	0.00	0.00
Tebig-56	1021.52	0.00	0.00	0.57	0.39	1.23	0.54	0.00	0.00	9.08	0.00	0.04
Tebig-57	1307.77	0.00	0.00	1.42	0.00	0.17	0.57	0.00	0.00	11.88	0.00	0.00
Tebig-58	1228.19	0.00	0.00	0.64	0.00	0.83	0.54	0.00	0.00	12.50	0.00	0.00
Tebig-59	1143.01	0.00	0.00	0.22	0.00	1.14	2.10	0.00	0.00	11.42	0.00	0.05
MEAN	1221.40	0.07	0.00	0.66	0.15	0.94	1.29	0.00	0.00	13.03	0.00	0.01
MAX	1619.68	0.29	0.00	1.42	0.45	2.88	7.55	0.00	0.00	24.99	0.00	0.05
MIN	874.62	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	7.99	0.00	0.00

Laser shots	Mg	Al	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Sn	Ba	Nd	Pb
Caxadaco-1	1406.27	0.12	0.00	0.74	0.41	0.46	1.16	0.00	0.00	10.38	0.00	0.00
Caxadaco-2	1434.72	0.23	0.00	0.46	0.41	0.75	1.20	0.00	0.00	10.50	0.00	0.05
Caxadaco-3	1640.15	0.56	0.00	0.64	0.00	2.09	2.15	0.00	0.14	9.69	0.00	0.09
Caxadaco-4	1176.21	0.12	0.00	1.03	0.40	0.44	1.53	0.00	0.00	10.19	0.00	0.04
Caxadaco-5	1254.21	0.00	0.00	0.80	0.00	0.56	1.09	0.00	0.00	9.76	0.00	0.00
Caxadaco-6	1210.07	0.15	0.00	0.77	0.48	0.56	1.40	0.00	0.00	9.31	0.00	0.00
Caxadaco-7	1331.04	0.29	0.00	0.45	0.46	0.35	0.63	0.00	0.00	8.44	0.00	0.00
Caxadaco-8	1701.74	0.33	0.00	0.86	0.00	0.41	0.69	0.00	0.00	8.17	0.00	0.00
Caxadaco-9	1504.47	0.00	0.00	0.64	0.00	0.45	0.65	0.00	0.00	7.99	0.00	0.00
Caxadaco-10	1704.68	0.00	0.00	0.55	0.44	0.37	0.00	0.00	0.00	7.84	0.00	0.00
Caxadaco-11	949.89	0.00	0.00	0.10	0.00	0.38	3.67	0.00	0.00	15.70	0.00	0.00
Caxadaco-12	1348.40	0.16	0.00	0.71	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	7.67	0.00	0.00
Caxadaco-13	796.65	0.15	0.00	0.36	0.00	0.43	1.29	0.00	0.00	15.71	0.00	0.00
Caxadaco-14	1305.25	0.00	0.00	0.21	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	8.67	0.00	0.00
Caxadaco-15	1327.46	0.00	0.00	0.58	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	7.40	0.00	0.00
Caxadaco-16	834.72	0.00	0.00	0.68	0.00	0.39	0.69	0.00	0.00	13.14	0.00	0.00
Caxadaco-17	886.22	0.13	0.00	0.86	0.44	0.41	0.73	0.00	0.00	13.97	0.00	0.00
Caxadaco-18	908.44	0.00	0.00	0.76	0.45	0.20	0.00	0.00	0.00	10.23	0.00	0.00
Caxadaco-19	837.09	0.00	0.00	0.32	0.00	0.19	1.26	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00
Caxadaco-20	818.22	0.00	0.00	0.09	0.00	0.20	0.67	0.00	0.00	15.31	0.00	0.00
Caxadaco-21	826.60	0.00	0.00	0.56	0.00	0.35	0.66	0.00	0.00	14.28	0.00	0.00
Caxadaco-22	923.32	0.00	0.00	0.90	0.00	0.27	0.72	0.00	0.00	15.54	0.00	0.00
Caxadaco-23	917.48	0.00	0.00	0.63	0.44	0.20	0.00	0.00	0.00	10.61	0.00	0.00
Caxadaco-24	1020.20	0.00	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.75	0.00	0.00
Caxadaco-25	1043.19	0.00	0.00	0.34	0.50	0.38	0.00	0.00	0.00	8.81	0.00	0.00
Caxadaco-26	1067.08	0.00	0.00	0.59	0.00	0.39	0.00	0.00	0.00	8.23	0.00	0.00
Caxadaco-27	880.96	0.00	0.00	0.79	0.44	0.39	0.00	0.00	0.00	9.51	0.00	0.00
Caxadaco-28	1115.05	0.14	0.00	0.43	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	8.06	0.00	0.00
Caxadaco-29	1146.94	0.00	0.00	0.44	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	8.22	0.00	0.00
Caxadaco-30	1341.14	0.00	0.00	1.06	0.00	0.19	0.65	0.00	0.00	8.72	0.00	0.00
Caxadaco-31	1240.59	0.00	0.00	0.58	0.44	0.18	0.00	0.00	0.00	7.78	0.00	0.00
Caxadaco-32	1299.23	0.14	0.00	0.34	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	7.92	0.00	0.00
Caxadaco-33	1318.12	0.00	0.00	0.67	0.46	0.19	0.00	0.00	0.00	7.89	0.00	0.00
Caxadaco-34	1267.86	0.00	0.00	0.97	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00	7.67	0.00	0.00
Caxadaco-35	1646.00	0.00	0.00	0.67	0.45	0.19	0.00	0.00	0.00	7.24	0.00	0.00
Caxadaco-36	1491.91	0.14	0.00	0.91	0.00	0.19	0.00	0.00	0.00	7.99	0.00	0.00
Caxadaco-37	1475.00	0.00	0.00	0.48	0.48	0.19	0.63	0.00	0.00	7.55	0.00	0.00
Caxadaco-38	1594.93	0.00	0.00	1.01	0.00	0.18	0.60	0.00	0.00	7.84	0.00	0.00
Caxadaco-39	1347.18	0.00	0.00	0.63	0.00	0.38	0.00	0.00	0.00	8.18	0.00	0.00
Caxadaco-40	1299.26	0.00	0.00	0.82	0.45	0.37	0.65	0.00	0.00	7.97	0.00	0.05
Caxadaco-41	1341.39	0.13	0.00	0.64	0.47	0.18	0.64	0.00	0.00	8.18	0.00	0.05
Caxadaco-42	1299.26	0.00	0.00	0.82	0.45	0.37	0.65	0.00	0.00	7.97	0.00	0.05
Caxadaco-43	1341.39	0.13	0.00	0.64	0.47	0.18	0.64	0.00	0.00	8.18	0.00	0.05
Caxadaco-44	1411.37	0.00	0.00	0.69	0.00	0.38	0.00	0.00	0.00	8.23	0.00	0.00
Caxadaco-45	1541.69	0.13	0.00	0.84	0.00	0.38	0.71	0.00	0.00	7.92	0.00	0.00
Caxadaco-46	1484.92	0.00	0.00	0.41	0.00	0.19	0.56	0.00	0.00	7.54	0.00	0.00
Caxadaco-47	1445.49	0.13	0.00	0.36	0.43	0.38	0.66	0.00	0.00	8.36	0.00	0.00
Caxadaco-48	1424.10	0.00	0.00	0.61	0.00	0.38	0.61	0.00	0.00	8.59	0.00	0.00
Caxadaco-49	1415.86	0.14	0.00	0.66	0.44	0.39	0.00	0.00	0.00	8.84	0.00	0.00
MEAN	1251.91	0.07	0.00	0.62	0.19	0.35	0.55	0.00	0.00	9.55	0.00	0.01
MAX	1704.68	0.56	0.00	1.06	0.50	2.09	3.67	0.00	0.14	15.71	0.00	0.09
MIN	796.65	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7.24	0.00	0.00

## 5.7 References

- [1] M. Shahidul Islam, M. Tanaka, Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis, Mar. Pollut. Bull. 48 (2004) 624–649

- [2] H.K. Lotze, H.S. Lenihan, B.J. Bourque, R.H. Bradbury, R.G. Cooke, M.C. Kay, S.M. Kidwell, M.X. Kirby, C.H. Peterson, J.B.C. Jackson, Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas, *Science*. 312 (2006) 1806–1809
- [3] L. Burke, K. Reytar, M. Spalding, A. Perry, Reefs at risk revisited, *World Resources Institute*, Washington, DC, 2011
- [4] H. Cheng, Y. Hu, Lead (Pb) isotopic fingerprinting and its applications in lead pollution studies in China: A review, *Environ. Pollut.* 158 (2010) 1134–1146
- [5] I. Pessoa, Using coral geochemistry to understand environmental conditions, *Nat. Rev. Earth Environ.* (2023) 43017
- [6] J. Carilli, B. Williams, B.R. Schöne, R.A. Krause, S.J. Fallon, Historical Contaminant Records from Sclerochronological Archives, in: M.B. Jules, R.R. Michael, P.S. John (Eds.), *Environ. Contam. Using Nat. Arch. to Track Sources Long-Term Trends Pollut. Developments Paleoenvirons.*, 18th ed., Ontario, 2015: pp. 355–391
- [7] S. Tambutté, M. Holcomb, C. Ferrier-Pagès, S. Reynaud, É. Tambutté, D. Zoccola, D. Allemand, Coral biomineralization: From the gene to the environment, *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 408 (2011) 58–78
- [8] J.L. Drake, T. Mass, J. Stolarski, S. Von Euw, B. Schootbrugge, P.G. Falkowski, How corals made rocks through the ages, *Glob. Chang. Biol.* 26 (2020) 31–53
- [9] J.-P. Cuif, Y. Dauphin, The two-step mode of growth in the scleractinian coral skeletons from the micrometre to the overall scale, *J. Struct. Biol.* 150 (2005) 319–331
- [10] A.L. Cohen, T.A. McConaughey, geochemical perspectives on coral mineralization, *Rev. Mineral. & Geochemistry*. 54 (2003) 151–187
- [11] D. Allemand, C. Ferrier-Pagès, P. Furla, F. Houlbrèque, S. Puverel, S. Reynaud, É. Tambutté, S. Tambutté, D. Zoccola, Biomineralisation in reef-building corals: from molecular mechanisms to environmental control, *Comptes Rendus Palevol.* 3 (2004) 453–467

- [12] G. Esslemont, Development and comparison of methods for measuring heavy metal concentrations in coral tissues, *Mar. Chem.* 69 (2000) 69–74
- [13] M. Inoue, A. Hata, A. Suzuki, M. Nohara, N. Shikazono, W.W.-S. Yim, W.S. Hantoro, S. Donghuai, H. Kawahata, Distribution and temporal changes of lead in the surface seawater in the western Pacific and adjacent seas derived from coral skeletons, *Environ. Pollut.* 144 (2006) 1045–1052
- [14] C. Bastidas, E.M. García, Sublethal effects of mercury and its distribution in the coral *Porites astreoides*, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 267 (2004) 133–143
- [15] T. Corrège, Monitoring of terrestrial input by massive corals, *J. Geochemical Explor.* 88 (2006) 380–383
- [16] A.A.M. Ali, M.A. Hamed, H. Abd El-Azim, Heavy metals distribution in the coral reef ecosystems of the Northern Red Sea, *Helgol. Mar. Res.* 65 (2011) 67–80
- [17] L.A. BARNARD, I.G. MACINTYRE, J.W. PIERCE, Possible environmental index in tropical reef corals, *Nature*. 252 (1974) 219–220
- [18] G.T. Shen, E.A. Boyle, Determination of lead, cadmium and other trace metals in annually-banded corals, *Chem. Geol.* 67 (1988) 47–62
- [19] A.L. Cohen, S.R. Hart, The effect of colony topography on climate signals in coral skeleton, *Geochim. Cosmochim. Acta*. 61 (1997) 3905–3912
- [20] M.K. Gagan, G.B. Dunbar, A. Suzuki, The effect of skeletal mass accumulation in *Porites* on coral Sr/Ca and  $\delta^{18}\text{O}$  paleothermometry, *Paleoceanography*. 27 (2012). <https://doi.org/https://doi.org/10.1029/2011PA002215>.
- [21] E. V Reed, D.M. Thompson, J.E. Cole, J.M. Lough, N.E. Cantin, A.H. Cheung, A. Tudhope, L. Vetter, G. Jimenez, R.L. Edwards, Impacts of Coral Growth on Geochemistry:

Lessons From the Galápagos Islands, *Paleoceanogr. Paleoclimatology.* 36 (2021) e2020PA004051

[22] H.G. Reich, E.F. Camp, L.M. Roger, H.M. Putnam, The trace metal economy of the coral holobiont: supplies, demands and exchanges, *Biol. Rev.* 98 (2023) 623–642

[23] A.D. Harland, B.E. Brown, Metal tolerance in the scleractinian coral *Porites lutea*, *Mar. Pollut. Bull.* 20 (1989) 353–357

[24] G.K. Bielmyer, M. Grosell, R. Bhagooli, A.C. Baker, C. Langdon, P. Gillette, T.R. Capo, Differential effects of copper on three species of scleractinian corals and their algal symbionts (*Symbiodinium* spp.), *Aquat. Toxicol.* 97 (2010) 125–133

[25] F.I. Kuzminov, C.M. Brown, V. V Fadeev, M.Y. Gorbunov, Effects of metal toxicity on photosynthetic processes in coral symbionts, *Symbiodinium* spp., *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 446 (2013) 216–227

[26] L.S. Hédouin, R.E. Wolf, J. Phillips, R.D. Gates, Improving the ecological relevance of toxicity tests on scleractinian corals: Influence of season, life stage, and seawater temperature, *Environ. Pollut.* 213 (2016) 240–253

[27] R. Chester, T. Jickells, Trace Elements in the Oceans, in: *Mar. Geochemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, 2012: pp. 223–252

[28] H.A. Naser, Assessment and management of heavy metal pollution in the marine environment of the Arabian Gulf: A review, *Mar. Pollut. Bull.* 72 (2013) 6–13

[29] A. Jakimska, K. Piotr, S. Krzysztof, J. Namieśnik, Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms, *Polish J. Environ. Stud.* 20 (2011)

[30] R.P. Mason, Trace Metal(loid)s in Marine Waters, in: *Trace Met. Aquat. Syst.*, John Wiley & Sons, Ltd (2013) 219–309

- [31] L.H. Kalnejais, W.R. Martin, R.P. Signell, M.H. Bothner, Role of Sediment Resuspension in the Remobilization of Particulate-Phase Metals from Coastal Sediments, *Environ. Sci. Technol.* 41 (2007) 2282–2288
- [32] C. Feng, X. Guo, S. Yin, C. Tian, Y. Li, Z. Shen, Heavy metal partitioning of suspended particulate matter–water and sediment–water in the Yangtze Estuary, *Chemosphere*. 185 (2017) 717–725
- [33] T.M. DeCarlo, G.A. Gaetani, M. Holcomb, A.L. Cohen, Experimental determination of factors controlling U/Ca of aragonite precipitated from seawater: Implications for interpreting coral skeleton, *Geochim. Cosmochim. Acta*. 162 (2015) 151–165
- [34] M.E. Gonnea, A.L. Cohen, T.M. DeCarlo, M.A. Charette, Relationship between water and aragonite barium concentrations in aquaria reared juvenile corals, *Geochim. Cosmochim. Acta*. 209 (2017) 123–134
- [35] M. Holcomb, T.M. DeCarlo, G.A. Gaetani, M. McCulloch, Factors affecting B/Ca ratios in synthetic aragonite, *Chem. Geol.* 437 (2016) 67–76
- [36] T.M. Marchitto, S.P. Bryan, W. Doss, M.T. McCulloch, P. Montagna, A simple biomineralization model to explain Li, Mg, and Sr incorporation into aragonitic foraminifera and corals, *Earth Planet. Sci. Lett.* 481 (2018) 20–29
- [37] Z. Wang, P. Hu, G. Gaetani, C. Liu, C. Saenger, A. Cohen, S. Hart, Experimental calibration of Mg isotope fractionation between aragonite and seawater, *Geochim. Cosmochim. Acta*. 102 (2013) 113–123
- [38] Edinger EN, Azmy K, Diegor W, Siregar PR (2008) Heavy metal contamination from gold mining recorded in *Porites lobata* skeletons, Buyat-Ratototok District, North Sulawesi, Indonesia. *Mar Poll Bull* 56:1553–1569
- [39] Prouty NG, Goodkin NF, Jones R, Lamborg CH, Storlazzi CD, Hughen KA (2013) Environmental assessment of metal exposure to corals living in Castle Harbour Bermuda. *Mar. Chem.* 154, 55–66

- [40] Nguyen A, Zhao J, Feng Y, Hu W, Yu K, Gasparon M, Pham T, Clark T (2013) Impact of recent coastal development and human activities on Nha Trang Bay, Vietnam: evidence from a *Porites lutea* geochemical record. *Coral Reefs* 32 (1), 181–193
- [41] Maina J, de Moel H, Vermaat JE, Henrich Bruggemann J, Guillaume MM, Grove CA, Madin JS, Mertz-Kraus R, Zinke J (2012) Linking coral river runoff proxies with climate variability, hydrology and land-use in Madagascar catchments. *Mar. Pollut. Bull.* 64 (10), 2047–2059
- [42] Lewis S, Brodie J, McCulloch M, Mallela J, Jupiter S, Stuart Williams H, Lough J, Matson, E., 2012. An assessment of an environmental gradient using coral geochemical records, Whitsunday Islands, Great Barrier Reef Australia. *Mar. Pollut. Bull.* 65 (4), 306–319
- [43] Inoue M, Ishikawa D, Miyaji T, Yamazaki A, Suzuki A, Yamano H, Kawahata H, Watanabe T (2014) Evaluation of Mn and Fe in coral skeletons (*Porites* spp.) as proxies for sediment loading and reconstruction of 50 yrs of land use on Ishigaki Island, Japan. *Coral Reefs* 33 (2), 363–373
- [44] Erfemeijer PL, Riegl B, Hoeksema BW, Todd PA (2012) Environmental impacts of dredging and other sediment disturbances on corals: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 64 (9), 1737–1765
- [45] Lee JM, Boyle EA, Pfeiffer M, Meltzner AJ, Suwargadi B (2014) Coral-based history of lead and lead isotopes of the surface Indian Ocean since the mid-20th century. *Earth Planet. Sci. Lett.* 398, 37–47
- [46] S.A. Al-Rousan, R.N. Al-Shloul, F.A. Al-Horani, A.H. Abu-Hilal, Heavy metal contents in growth bands of *Porites* corals: Record of anthropogenic and human developments from the Jordanian Gulf of Aqaba, *Mar. Pollut. Bull.* 54 (2007) 1912–1922
- [47] S.A. Barakat, S. Al-Rousan, M.S. Al-Trabeen, Use of scleractinian corals to indicate marine pollution in the northern Gulf of Aqaba, Jordan, *Environ. Monit. Assess.* 187 (2015)

- [48] Saha N, Webb G. E., Zhao J.X., 2016. Coral skeletal geochemistry as a monitor of inshore water quality. *Science of the Total Environment* 566–567 (2016) 652–684
- [49] Chan I, Hung JJ, Peng SH, Tseng LC, Ho TY, Hwang JS (2014). Comparison of metal accumulation in the azooxanthellate scleractinian coral (*Tubastraea coccinea*) from different polluted environments. *Marine Pollution Bulletin*, 85(2), 648–658
- [50] Howard LS, Brown BE (1986) Metals in tissues and skeleton of *Fungia* fungites from Phuket Thailand Mar. Pollut. Bull., 17, 569-570
- [51] Abdelbaset S, El-Sorogy A, Mohamed E, Hamdy N, Nour E (2012) Heavy metals contamination of the Quaternary coral reefs, Red Sea coast, Egypt Environ. Earth, 67, 777-785
- [52] Ali AAM, Hames MA, El-Azim HA (2010) Trace metal distribution in the coral reef ecosystems of the Northen red Sea Helg. Mar. Res., 65 (1), 67-80
- [53] Al-Rousan SA, Al-Shloul RN, Al-Horani FA, Abu-Hilal AH (2007) Heavy metal contents in growth bands of *Porites* corals: record of anthropogenic and human developments from Jordanian Gulf of Aqaba Mar. Pollut. Bull., 54 (2007), pp. 1912-1922
- [54] Wang BS, Goodkin NF, Angeline N, Switzer AD, You CF, Hughen K (2011) Temporal distributions of anthropogenic Al, Zn and Pb in Hong Kong *Porites* coral during the last two centuries. *Mar Poll Bull* 63:508–515
- [55] Prouty N, Hughen KA, Carilli J (2008) Geochemical signature of land-based activities in Caribbean coral surface samples. *Coral Reefs* 27:727–742
- [56] Moyer RP, Grottoli AG, Olesik JW (2012) A multiproxy record of terrestrial inputs to the coastal ocean using minor and trace elements (Ba/Ca, Mn/Ca, Y/Ca) and carbon isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{14}\text{C}$ ) in a nearshore coral from Puerto Rico. *Paleoceanography* 27:PA3205
- [57] ICMBIO. Plano de Manejo da Estação Ecológica de Tamoios - Fase 1 Encarte 5 - Diagnóstico da UC. Rio de Janeiro

- [58] Creed JC, Pires DO, Figueiredo MAO (2007) Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brazil.
- [59] Bastos MP, Callado CH (2008) Estudos para o Plano de Manejo do Parque Estadual da Ilha Grande. Relatório de Pesquisas. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Vol 1- 9.
- [60] Pessoa et al. 2022 A Practical Procedure for Analysis of Lead Isotopes in Bivalve Shells Using Laser Ablation. Multicollector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-MC-ICP-MS). *Applied Spectroscopy*; 76(12):1440-1451
- [61] De Souza Lima RG, Araújo FG, Maia MF, Pinto ASSB (2002) Evaluation of heavy metals in fish of the Sepetiba and Ilha Grande Bays, Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research Section A* 89, 171–179
- [62] De Souza AM, Rocha DS, Guerra JV, Cunha BA (2021) Metal Concentrations in Marine Sediments of the Rio de Janeiro Coast (Brazil): A Proposal to Establish New Acceptable Levels of Contamination. *Mar. Pollut. Bull.* 165: 112113
- [63] Cunha BCA, Machado W, Marra A, Araujo D (2018) Lead Source Assessment by Isotopic and Elementary Composition in the Transition from Pristine to Polluted Condition of Coastal Sediments. *J. Sediment. Environ.* 2018. 3(1): 46-53. 10.12957/jse.2018.33890
- [64] Vannuci-Silva M, Souza JM, Oliveira FF, Araujo Jr (2017) Bioavailability of Metals at a Southeastern Brazilian Coastal Area of High Environmental Concern Under Anthropic Influence: Evaluation Using Transplanted Bivalves (*Nodipecten nodosus*) and the DGT Technique. *Water, Air, Soil Pollut.* 2017: 222–228. 10.1007/s11270-017-3387-4
- [65] Mertz-Kraus R, Brachert TC, Jochum KP, Reuter M, Stoll B (2009) LA-ICP-MS analyses on coral growth increments reveal heavy winter rain in the Eastern Mediterranean at 9 Ma. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 273, 25–40.

- [66] Fietzke J, Wall M (2022). Distinct fine-scale variations in calcification control revealed by high-resolution 2D boron laser images in the cold-water coral *Lophelia pertusa*. *Science Advances*, 8(11), eabj4172
- [67] M Chalk M, Standish TB, D'Angelo CD, Castillo C, Milton KD, Foster JA (2021). Mapping coral calcification strategies from in situ boron isotope and trace element measurements of the tropical coral *Siderastrea siderea*. *Scientific Reports*, 11(1), 472.
- [68] GeoReM database. <http://georem.mpch-mainz.gwdg.de/>, Application Version 34
- [69] Creed JC (2006) Two invasive alien azooxanthellate corals, *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*, dominate the native zooxanthellate *Mussismilia hispida* in Brazil. *Coral Reefs* 25: 350
- [70] Ytreberg E, Åström S, Fridell E (2021) Valuating environmental impacts from ship emissions – The marine perspective. *Journal of Environmental Management*, 282, 111958.
- [71] Lagerstrom 2019. Occurrence and environmental risk assessment of antifouling paint biocides from leisure boats. Thesis at Stockholm University
- [72] Pinheiro et al. 2007. Assessing the Impacts of Organotin Compounds in Ilha Grande Bay, (Rio de Janeiro, Brazil): Imposex and a Multiple-Source Dispersion Model. *Journal of Coastal Research* SI(39):1383-1388
- [73] Inoue M, Suzuki A, Nohara M, Kan H, Edward A, Kawahata H (2004) Coral skeletal tin and copper concentrations at Pohnpei, Micronesia: possible index for marine pollution by toxic antibiofouling paints. *Environ Pollut* 129:399–407
- [74] El-Sorogy A.S., Mohamed M.A., Nour H.E. (2012) Heavy metals contamination of the Quaternary coral reefs, Red Sea coast, Egypt. *Environmental Earth Sciences*, 67, 777–785.

- [75] Sonone S.S., Jadhav S., Sankhla M.S., Kumar R. (2020) Water contamination by heavy metals and their toxic effect on aquaculture and human health through food Chain. *Letters in Applied NanoBioScience*, 10, 2148–2166.
- [76] Cavalcante LS (2010) Estudo da Influência da Dinâmica da Plataforma Continental nas Baías de Ilha Grande e Sepetiba via Aninhamento de Modelo Numérico Costeiro a Modelo Numérico Oceânico Sonia. Tese de doutorado. Programa de Engenharia Oceânica, Engenharia Costeira & Oceanográfica, COPPE/UFRJ
- [77] Grottoli AG, Adkins JF, Panero WR, Reaman DM (2010) Growth rates, stable oxygen isotopes ( $\delta^{18}\text{O}$ ), and strontium (Sr/Ca) composition in two species of Pacific sclerosponges (Acanthoceratetes wellsi and Astroclera willeyana) with  $\delta^{18}\text{O}$  calibration and application to paleoceanography. *J Geophys Res* 115(C6):C06008
- [78] Chan I, Tseng L-C, Kâ S, Chang C-F, Hwang J-S (2012) An experimental study of the response of the gorgonian coral *Subergorgia suberosa* to polluted seawater from a former coastal mining site in Taiwan. *Zool Stud* 51(1):27–37

## **6 A PRACTICAL PROCEDURE FOR ANALYSIS OF LEAD ISOTOPES IN BIVALVE SHELLS USING LASER ABLATION-MULTICOLLECTOR-INDUCTIVELY COUPLED PLASMA-MASS SPECTROMETRY (LA-MC-ICP-MS)**

### **6.1 Abstract**

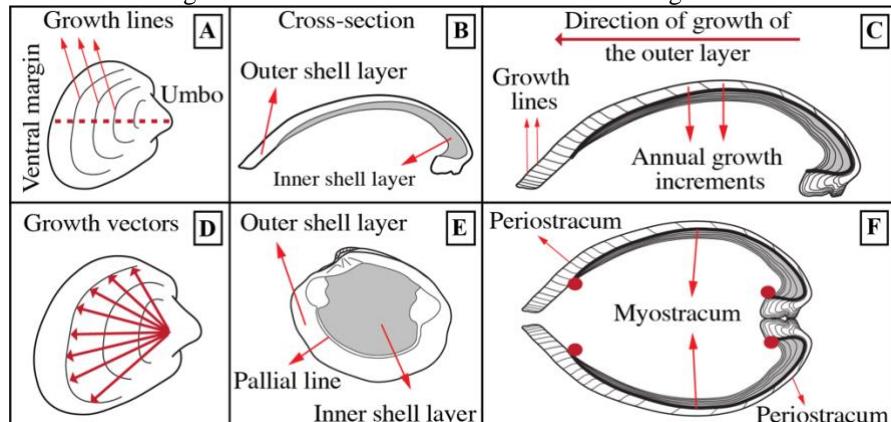
Lead, like other trace elements, is incorporated in the growing bands of bivalve shells. The chemicals stored into the shells can provide valuable information about seawater conditions during the period of shell formation. In this study, we present a practical approach to determine Pb isotopic signatures in bivalve shells as a tool for evaluating lead pollution in coastal waters. To demonstrate the applicability of the method, Pb isotopic fingerprinting in bivalve shell layers were investigated using Laser Ablation-Multicollector-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (LA-MC-ICP-MS). Lead isotope ratios ( $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  and  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ) were measured along distinct sections of the maximum growth axis of the shells. Calibration and quantification of Pb isotopes were performed using NIST 612 as reference material. Our results demonstrated that Pb isotope ratios in the shells ranged from 1.143 to 1.201 for  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and from 2.061 to 2.161 for  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ . The isotopic signatures recorded in the sample shells correspond to similar ranges of Pb signatures reported for marine sediments from the same study area. In general, this work shows that LA-MC-ICP-MS is a suitable technique for determining spatially resolved lead isotopic signatures in bivalve shells and that it can be used to estimate the origin of Pb pollution in aquatic environments.

### **6.2 Introduction**

Bivalve mollusks are exclusively aquatic animals, feeding on suspended particles present in the water through filtration processes. They occur in all types of aquatic environment, including freshwater and brackish environments, as well as in marine shallow waters and the deep-sea from environments, from the tropics to the poles [1]. In addition, bivalves accumulate trace elements present in water into their soft tissues and shells through metabolic processes [2]. The chemical elements can remain stored inside the shell even after the

animal's death, as long as the shells remain protected from physio-chemical alteration processes [3]. It is widely agreed that the incorporation of trace elements in bivalve shells can provide powerful insights into any changes in the marine environment that occur during the lifespan of the organisms [4,5]. Due to these peculiarities, bivalve shells are widely used as environmental indicators of seawater conditions [6–8]. A bivalve shell consists of highly architectural complex structures of biogenic calcium carbonate (calcite or aragonite) [9] surrounded by an organic matrix [10], both containing minor and trace elements [11] as well as a variety of organic molecules [12]. Although the mechanisms of shell formation are still not yet fully understood [13], it is commonly assumed that calcification occurs in a confined area at the border of the mantle epithelium tissue between the mantle, the periostracum, and the shell itself [14]. Bivalve shells grow incrementally through a systematic deposition process creating band patterns that are deposited in chronological order into distinct shell layers.<sup>15,16</sup> Periodically the biomineralization process ceases, producing characteristic periodic patterns (called growth lines) printed on the outer surface of the shell (Figure 9) [17–19].

Figure 9 – Illustrative schemes of bivalve shell growth



Legend: Schematic diagrams showing the morphological structures of shells. (a) Outside view showing the growth lines printed on the external shell surface. Dashed red line indicates where the shell was sectioned. All cross-sections in this study are prepared as radial sections along the maximum growth axis. (b) Umbo-ventral margin cross-section as indicated in A revealing major shell structures, the inner (gray) and outer shell layer (white). (c) Schematic cross-section showing the deposition sequences of shell layers. Note: (i) the distinct growth patterns and direction of growth between the outer and inner shell layers, (ii) the growth direction arrows apply only to the outer structure, (iii) the growth lines of the outer layer occur in different spacing according to ontogenetic trends, and (iv) the growth lines approach the outer shell surface at increasingly shallower angles toward the umbo. (d) Outside view showing the growth vectors of the shell. (e) Interior view. The pallial line separates the two compartments in which the outer and inner shell layers are formed. (f) Cross-sectional view of both valves. Red circles denote position where pallial line meets internal surface. Note: (i) The boundary between the outer and inner layer is separated by the myostracum, and (ii) the outer shell layer is totally covered by the periostracum. Please note that this illustrative scheme refers to *Arctica islandica* shells, several other species have three layers.

Source: Figure modified from the work of Schöne [20].

Lead can be found either as dissolved ions or adhered to suspended particulate material in the polluted water, both subjected to environmental conditions that influence their distribution in the environment [21–25]. The origin of lead accumulation in the shells is a result of the environmental Pb content that the bivalves are exposed to throughout their Lives [26–28]. Lead incorporation in bivalves occurs when the suspended particles are filtered during feeding in contaminated water [29]. The metal either accumulates in the soft tissues or in the shell of the bivalves or is removed from the body by detoxification mechanisms [30]. It has been suggested that the uptake of some trace elements into the crystalline phase of the shell is influenced by crystal growth rates, shell curvature, and physiological effects [9]. However, trace element uptake mechanisms in bivalve shells are still poorly known and far from being completely understood [31].

Lead concentration analyses alone do not address the origin of the lead found in the environment since it can be characterized as mix of composition from multiple anthropogenic sources [32]. On the other hand, lead isotopic signatures are widely used as a tracer system to identify different sources of Pb due to the isotopic contrast between anthropogenic and natural sources of Pb [33]. In fact, lead isotope ratios are wellknown potential for their fingerprinting power, as the Pb signatures found in the environment retain the same isotopic composition as the ores from which the manufactured products were derived [34]. The advantage of isotopic research over purely quantitative studies is the possibility of discriminating between distinct sources, isotopic measurement being superior to use of concentrations alone. However, in areas where the sources of pollution cannot be determined due to the overlap in isotopic composition from multiple sources, the isotopic results need to be used in conjunction with other data, such as elemental concentrations and pollutant composition [35].

To date, only a handful of studies have determined Pb isotopic composition in soft tissues of bivalves [28,31,36–38]. There have also been studies investigating lead isotopes in bivalve shells employing ICP-MS (with dissolved shell samples) [23,39], and graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) [24]. However, bulk analysis provides a time integrated value only, which reflects accumulation of the element over the entire life of the animal, and may not be representative due to intra-sample variability.

Traditionally, studies on Pb uptake in bivalve shells have focused on quantitative analyses using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) to discuss Pb concentration rather than Pb isotopic composition [20–23,40–47]. It should be noted that ICP-MS is generally used for non-multicollector instruments such as quadrupoles

or single-collector sector-field spectrometers. However, with a single detector device, uncertainty in the isotope ratios is limited by the transmission of ions through the ion optical system. For the most demanding isotope ratio applications with elements showing tiny variations in their natural isotopic composition, analysis needs to be accomplished via multicollector (MC) ICP-MS. Multicollector systems have two advantages compared to single-collector sector-field spectrometers: (i) all isotopic ion currents are measured simultaneously therefore, the absolute intensities of ion beams do not need to remain constant during the analysis any changes in the ion source affect all ions in a similar fashion. In other words, the simultaneous detection of isotopes means that any noise in the ion source is canceled out and all ions are counted at the same time, thereby reducing any drift in the system and (ii) it prevents the need to perform magnet switching, which means the location of the ion beam in the cup is more stable. This is accomplished due to the double-focusing magnetic sector field as well as the multicollector detection system, wherein an array of ion-counting device provides better detection performance. Rather than a single detector, MC-ICPMS uses multiple collectors on the focal plane of the magnetic sector for simultaneous detection of each isotope [48].

The combination of laser ablation with MC-ICP-MS has become a powerful method for undertaking isotopic analyses well suited for several Earth Science applications [57]. The technique shows several key features compared to traditional isotope techniques, as it combines the advantages of very low detection limits associated with direct extraction from sample, enables high-spatial-resolution, and faster evaluation. The method simplifies cleaning procedures, reduces the risk of contamination, and allows for direct sampling without complex digestion (by acids), and it also provides reliable analysis with reduced sample size (on the  $\mu\text{m}$  scale) as well as high sensitivity. The benefits of the technique lie in the fact that almost no sample preparation is required, just a few laser shots offer quite representative results, and data from a small number of samples can be used to evaluate isotope ratios. A drawback of LA-MC-ICP-MS is that it cannot, in general, provide isotopic data with the same efficiency as conventional thermal ionization mass spectrometry (TIMS) or solution MC-ICP-MS methods [57].

In this study, we test a new strategy for Pb isotopic ratios determination in shells using LA-MC-ICP-MS. Our aim is: (i) to perform highly resolved measurements of Pb isotopic data within growth increments in bivalve shells, (ii) to demonstrate the method's applicability to environmental and bio-analytical work, and (iii) to investigate Pb isotopic signatures in bivalve shells from Ilha Grande Bay (Rio de Janeiro, Brazil). This work highlights the great

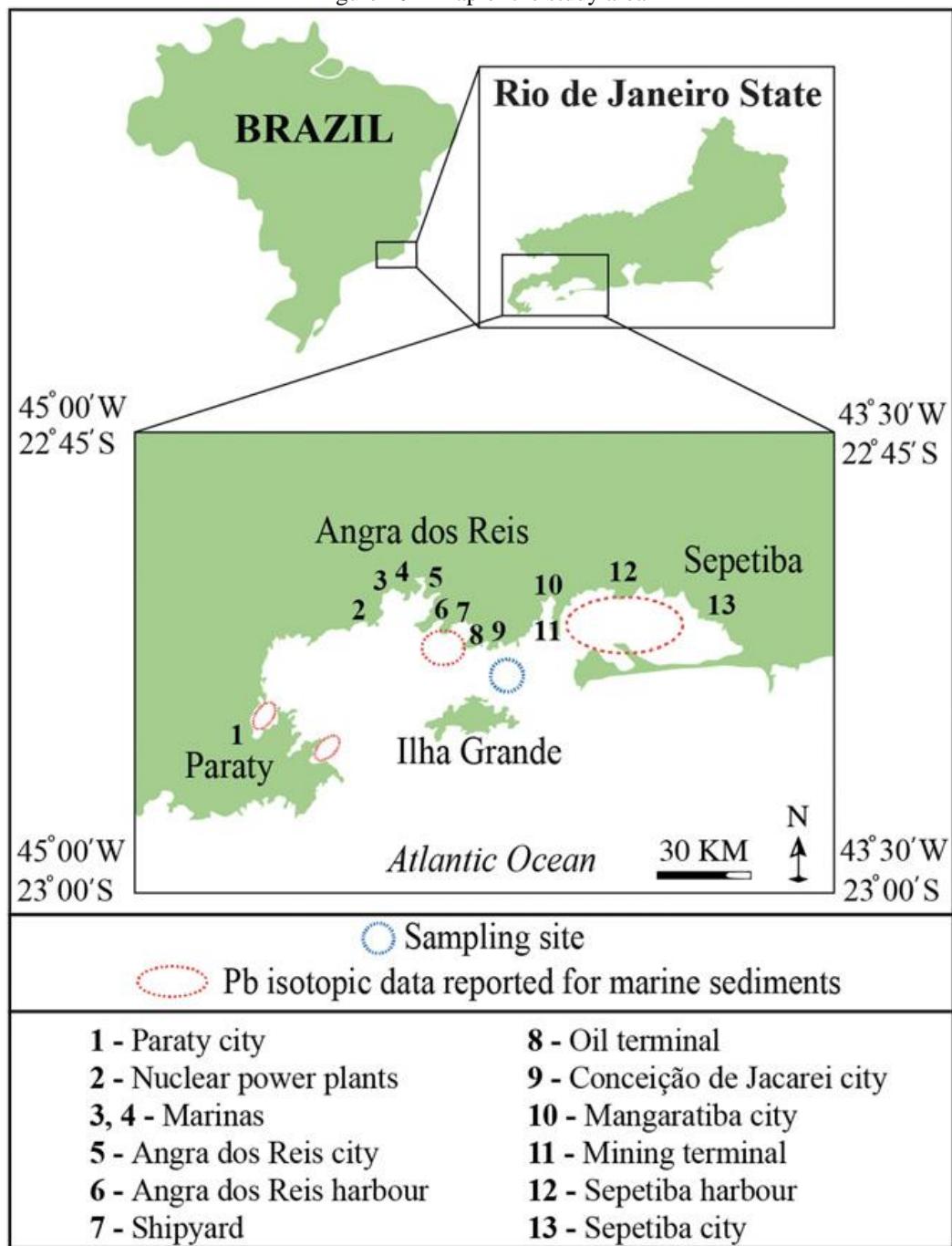
potential of LA-MC-ICP-MS to investigate the source and fate of Pb contaminants in the marine environment.

### 6.3 Materials and Methods

#### 6.3.1 Site description

Ilha Grande Bay is under increasing anthropogenic pressure with several land-based and marine pollution sources that are potentially impacting marine habitats. The bay is situated on the southeast coast of Brazil, on the south coast of Rio de Janeiro state, between the cities of Sepetiba, Angra dos Reis, and Paraty (Figure 10). The region receives wastes derived from an expressive industrial park, which includes the largest steel industry complex in South America, and from a large commercial port. In addition, there is a mining terminal that exports and stores ore at the entrance of the Bay. In Sepetiba Bay, significant concentrations of heavy metals have been found in the bottom sediments (Cd: 19.9 mg/kg, Cu: 161 mg/kg, Ni: 31 mg/kg, Pb: 19.8 mg/kg, and Zn: 512 mg/kg) [49], and recent studies reported 19.8 mg/kg of Pb in bottom sediments in Angra dos Reis [50]. Lead has also been found in significant concentrations in the soft tissues of bivalves (Pb content: 1.3 mg/kg) [51], indicating the bioavailability of this element in the study area.

Figure 10 – Map of the study area



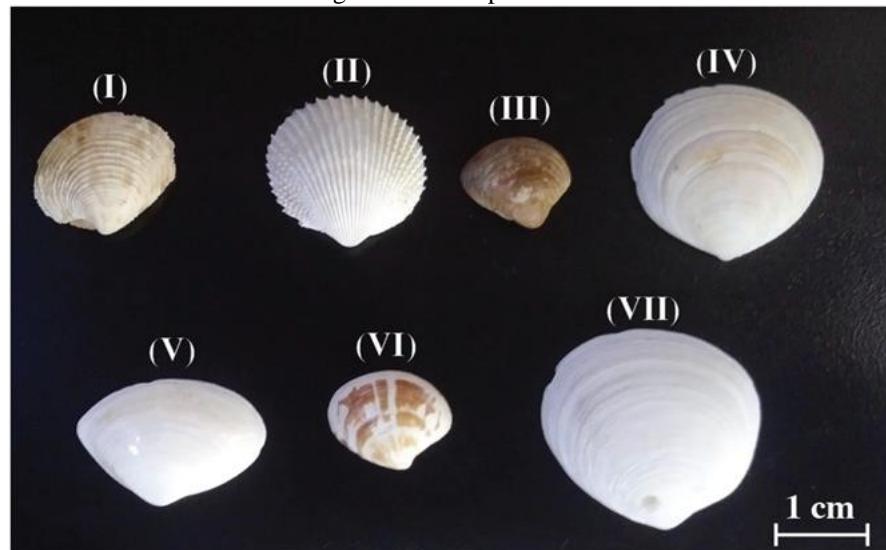
Legend: The blue circle indicates the location of the sampling site, the numbers (1–13) reveal the locations of the anthropogenic pollution sources, and the red circles show the sites where previous studies reported Pb isotopic data for marine sediments.<sup>52–54</sup> Potential sources of metal pollution in the region include local industrial activities, mainly metallurgical and chemical industries, a nuclear power plant, harbors, an oil terminal, a maritime mining terminal, dockyards, and several marinas. The pollutants released from urban wastes and industrial plants circulate throughout the bay and/or accumulate in the bottom sediments near to the discharge points. Sediments within the study area represent nearly all particle sizes, ranging from clay and silt within Sepetiba Bay and Angra dos Reis to sand and gravel along the rocky shore of Ilha Grande Bay [55].

Source: The Author, 2023.

### 6.3.2 Sample Characterization

In February 2019, seven shells were collected alive from water 15 m deep on the bottom sediments using a Van Veen grab sampler. Identification of species was based on the morphological characteristics of the shell according to the taxonomic key presented by Rios et al [56]. Samples used in this study comprise the bivalve species *Pitar circinatus*, *Trachycardium muricatum*, *Mactra janeiroensis*, *Fenaliella vilardeboana*, *Corbula cubaniana*, *Pitar fulminatus*, and *Cyclinella tenuis* (Figure 11).

Figure 11 – Sample shells



Legend: The roman numbers are used herein to refer to specimens. *Pitar circinatus* (I), *Trachycardium muricatum* (II), *Mactra janeiroensis* (III), *Fenaliella vilardeboana* (IV), *Corbula cubaniana* (V), *Pitar fulminatus* (VI), and *Cyclinella tenuis* (VII).

Source: The Author, 2023.

### 6.3.3 Sample Preparation

Prior to LA-MC-ICP-MS analysis, tissues were removed, and shells were ultrasonicated for 30 min to remove any material that could adhere to shell surfaces. Sample shells were mounted on glass slides, grounded using sandpaper of different grits (400–2000 grit), and polished with 3 µm and 1 µm diamond pastes. A transversal cut was performed along the axis of maximum growth of the shells, from the umbo to the ventral margin, the cut crosses the internal growth patterns where laser spot analyses were distributed.

#### 6.3.4 LA-MC-ICP-MS

Instrumentation used in this study consisted of an excimer ArF laser ablation system (Teledyne CETAC, 193 nm) coupled to a Neptune Plus (Thermo Fisher) multicollector mass spectrometer, housed in the MultiLab laboratory at the Rio de Janeiro State University, Brazil. The Neptune Plus doublefocusing magnetic sector MC-ICP-MS is equipped with nine Faraday cup detectors and a central ion counter with a retardation potential quadrupole lens. Calibration and quantification of Pb isotopes were carried out using the silicate glass NIST SRM 612 glass from the National Institute of Standards and Technology (NIST) as external reference material.

#### 6.3.5 Laser Settings

Several tests were performed on both unknown samples and reference material to optimize laser operating conditions. Optimal conditions were evaluated online by progressively increasing frequency, fluence, and crater diameter until achieve a “clean” spectrum (ion energy distributions) of the target ions. Quality of measurements was assured by testing the most appropriate repetition rate (10 Hz), laser fluence ( $2.55 \text{ J/cm}^2$ ), and spot size ( $110 \mu\text{m}$ ). Data were collected in static mode using integrations of 1.048 s and 40 integration cycles (totaling 40 s). Table II lists the laser operating parameters for all determinations, in both reference material and samples.

Table 2 – Laser parameter settings for sample analysis

<b>Instrument</b>	<b>Laser photon machine</b>
<b>Frequency</b>	10 Hz
<b>Fluence</b>	$2.55 \text{ J/cm}^2$
<b>Crater diameter</b>	$110 \mu\text{m}$
<b>Time of ablation</b>	40 s
<b>Flux–He (MFC 1)</b>	0.580 L/min
<b>Flux–He (MFC 2)</b>	0.220 L/min

Source: The Author, 2023.

### 6.3.6 Spectrometer Settings

The spectrometer was set to a low-resolution mode ( $M/\Delta M = 300$ ) to generate flat-topped peaks, which are often preferred in the measurement of isotopic ratios as they have a reduced drift effect. Measurements were performed in static mode and lead isotopes were measured on the following ion counters: IC-3 (206Pb), IC-2 (207Pb), and IC-1(208Pb). The spectrometer tuning conditions were calibrated using the referential solution NBS 987 and operational settings (accelerating voltage, lens system, torch settings, and gas flows) were optimized using NIST 612. Measurements were performed in the same day, under equivalent specified conditions, and same operating parameters, (Table III).

Table 3 – Spectrometer operating conditions

Instrument	Neptune Plus
<b>Potency</b>	900 W
<b>Gas flow (argon)</b>	Cooling gas: 15.00 L/min Auxiliary gas: 0.70 L/min Carrier gas: 0.80 L/min
<b>Extractor</b>	10 000 V
<b>Mode</b>	Static
<b>Data Acquisition</b>	
<b>Integration time</b>	1.048 s
<b>N of integrations</b>	1
<b>Window of acquisition</b>	40 s

Source: The Author, 2023.

### 6.3.7 Calibration Procedure

It is known that the use of laser systems produces solid inclusion of fine particles into the plasma source that affects the degree of mass discrimination. There are three major

considerations for better quality isotopic measurements in LA analysis: (i) the isotope fractionations that occurs during the ablation and ionization processes, (ii) the contribution of the mass-load-dependent matrix effects, and (iii) the lack of sufficiently matrix-matched reference materials [58]. It has been demonstrated that temporal changes in isotope fractionations are explained by elemental behavior, differences in elemental volatility, and/or time-dependent changes in particle size distribution [59]. Typical laser-induced fractionations must be corrected using particular laser sampling strategies and matrix-matched reference materials.<sup>60</sup> Further, analysis must rely on the homogeneity of the reference material with a similar mass fraction compared to the samples.<sup>61</sup> Based on this relationship, the sample's composition can be calculated otherwise, isobaric interferences and differences in element fractionations are expected [62,63].

Although differences in fractionation are expected for different matrices during the LA process, the use of magnetic sector-based mass spectrometer equipped with a multicollector array can minimize such effects, and thus minimize isotope fractionation process [63]. In this present study, instrumental mass bias was corrected by standard-sample bracketing procedure. This approach compares the abundance of Pb isotopic ratios determined in the reference material to the abundance of Pb isotopic ratios in samples. Regardless the large difference between the CaCO<sub>3</sub> composition of shells and silicate glass NIST 612 (which is a calcium–sodium aluminosilicate glass). We observed similar ablation behaviors among samples and reference material, signal intensities were very stable during analysis, and the respective isotopic ratios measured on the reference material kept within the desired yield, in accordance with the reference values. Furthermore, NIST 612 has homogenous Pb isotopic distribution [64,65] and the isotope of interested (<sup>206</sup>Pb, <sup>207</sup>Pb, and <sup>208</sup>Pb) are free of interferences [66]. In addition to that measurand and calibrant ratios arise from the same element, therefore, undergo the same mass discrimination [60]. The underlying assumption is that Pb mass fractionation changes uniformly with time [67]. Since the rate of change (in the form of both instability and drift) is constant for the Pb isotope ratios among samples and NIST 612, then the correction is small [68].

To ensure consistent and stable measurement conditions, prior to data collection samples were ablated for 3 s to remove any surface contamination present. Measurements were performed by standard-sample-standard bracketing approach and dynamic blank corrections were applied cycle by cycle assuming a linear relationship between the preceding and succeeding blank measurements (e.g., blank 1, NIST 612, five sample analysis, blank 2, five sample analysis, NIST 612, and blank 3). Data reduction was evaluated in accordance

with accurate replicates of the certified values ( $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} = 1.099$  and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 2.164$ ) [64,65].

Data were saved in an Excel spreadsheet and outlier values falling outside of two sample errors of the mean were discarded. Lead isotope ratios ( $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ) were in good agreement with the reference values reported for NIST 612.78,79 The percent relative standard deviation (RSD%) reported for sample shells were 0.167–0.695 RSD% for  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  ratio and 0.271 to 0.864 RSD% for  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  ratio. These results were also consistent with the range of measurement uncertainties on the reference material,  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} = 0.632$  RSD% and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 0.440$  RSD%. According to these results, repeatability of  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  ratio in comparison to  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  represents a worse result.

In this sense, NIST 612 can be used as reference material without concern that fractionation processes would significantly increase measurement uncertainty and overestimating reproducibility. Otherwise, the extremely different matrices analyzed (reference material and bivalve shells) would lead to significant differences in isotope fractionations from one matrix to the other. Which could be a problem by establishing different levels of induced mass bias between completely independent measurements under identical conditions. Although measurements on NIST 612 were consistent with the reference values over the entire experiment, a small but significant overestimation of Pb ratio values emerges from calibration. Hence, an important question arises whether the yield of measurement uncertainties can be improved beyond the levels that have been observed here. Further investigations should consider using a second homogenous reference material of known Pb isotopic composition using the bracketing approach to measure NIST 612 against itself to increase the trueness of the resulting isotopic data.

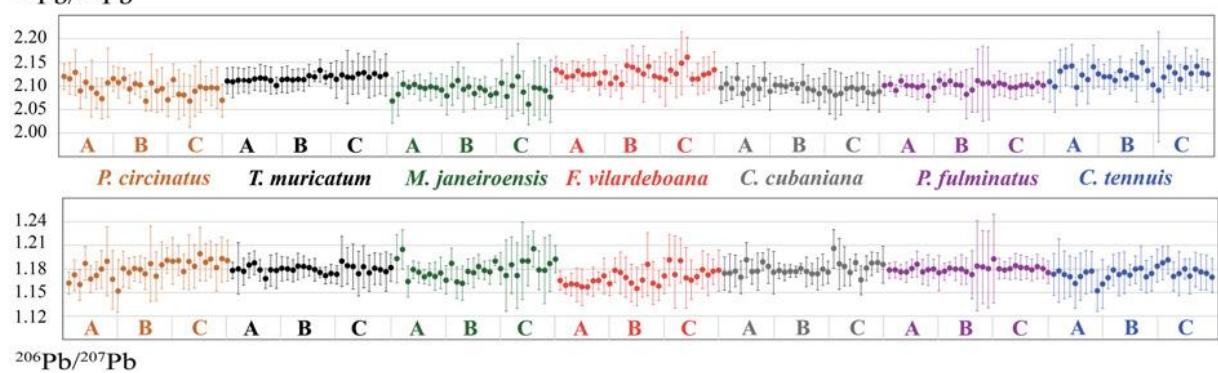
#### 6.4 Results and discussion

Several authors have used bivalve shell geochemistry as a tool to monitor Pb pollution in the marine environment. Price and Pierce [42] investigated accumulation of Pb in shells of *Cerastoderma edule*. The results were interpreted as short-term anthropogenic pollution events or “isolated addition events” of pollutant releases in the environment. Richardson and collaborators [44] analyzed Pb concentrations in shells of *Modiolus modiolus* and observed elevated levels of Pb in shells from a polluted site and a decrease in concentrations through

time and concluded that there was a decline of pollution at the study area. Gillikin [28] analyzed Pb accumulation in shells of *Mercenaria mercenaria*, the results revealed large variability of Pb concentration among individuals that grew under the same environmental conditions. While Cariou [47] indicated that Pb incorporation in oyster shells are site-dependent, their results showed a strong relationship between Pb concentration in shells with the environmental level of local Pb contamination. Vander Putten et al. [43] analyzed Pb incorporation into the outer and inner layer of *Mytilus edulis*, highlighting that different layers of bivalve shells might react differentially to environmental elemental concentrations. While Schöne [20] inferred that the outer layer of bivalve shells is the most relevant part for sclerochronological analyses as it provides the most complete environmental record.

In this present study, laser shots were distributed closely one to another and continuously profiled along distinct sections of the shell to verify changes on Pb isotopic composition that may have occurred over distinct stages of shell formation. Figure 12 shows the range of Pb isotope ratios ( $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ) observed in bivalve shells from Ilha Grande Bay.

Figure 12 – Results of lead isotope ratios ( $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ )



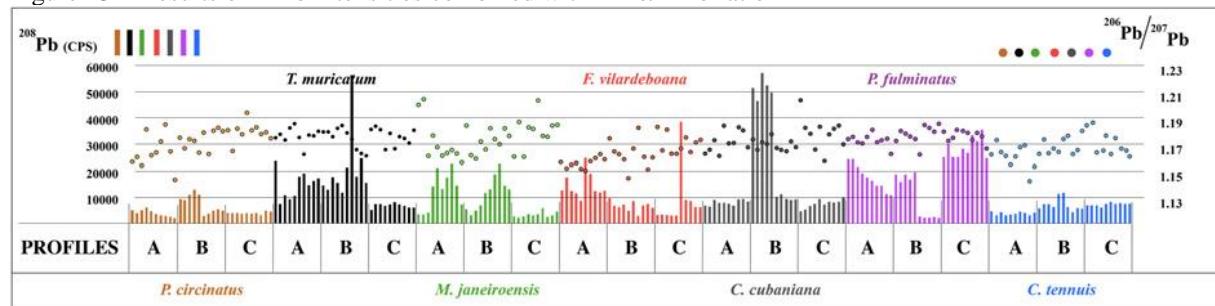
Legend: Samples are represented by different colors and the letters (A), (B), and (C) represent the transect profiles performed in distinct sections of the shells. Each data point denotes the mean of 40 integration cycles from the same laser shot and error bars are  $\pm 2$  standard error of the mean of 40 integration cycles.

Source: The Author, 2023.

Results of lead isotope ratios ranged from 1.143 to 1.201 for  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and from 2.061 to 2.161 for  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  with mean values at 2.107 and 1.171 for  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  and  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , respectively. According to these results, Pb isotope ratios illustrated similar ranges between specimens with mean values virtually identical among sample shells (within the uncertainty interval). Further, results did not show differences between measurements

taken in distinct portions of a given shell for all the analyzed samples and values did not change over distinct periods of shell formation despite the species analyzed. To further investigate possible changes on environmental Pb content that might have occurred during the lifespan of the animals, we combined results of  $^{208}\text{Pb}$  counts with results of  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  ratio as shown in Figure 13.

Figure 13 – Results of  $^{208}\text{Pb}$  intensities combined with  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  ratio

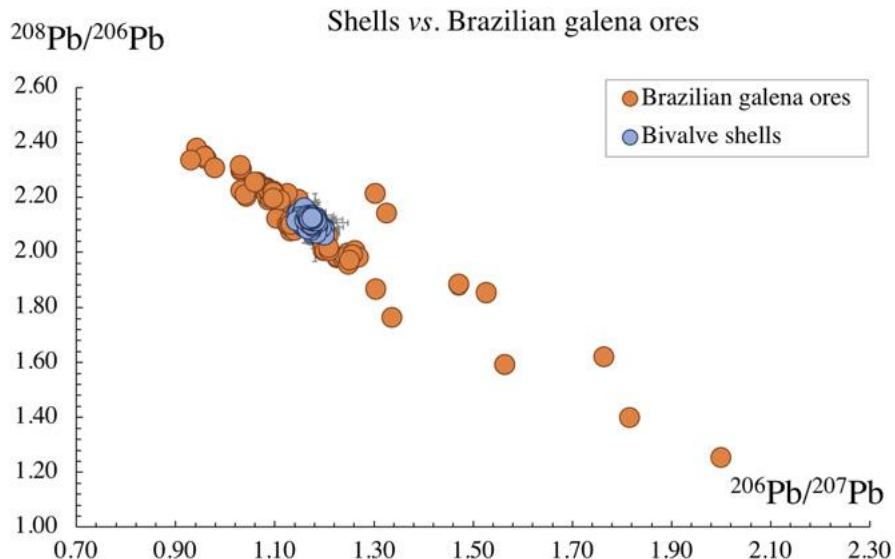


Legend: Samples are represented by different colors and the letters (A), (B), and (C) represent the transect profiles performed in distinct sections of the shells; bars represent the mean intensity of  $^{208}\text{Pb}$  counts (in counts per second, or cps) for each laser spot, and each data point denotes the results of  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  ratio.

Source: The Author, 2023.

Results revealed high variability of Pb content among sample shells and marked gradients of  $^{208}\text{Pb}$  intensities were observed between outer and inner layers within a single shell: *Corbula cubaniana* (profile B), *Trachycardium muricatum* (profile B versus C), *Pitar fulminatus* (profile B), *Fenaliella vilardeboana* (profile C), and *Mactra janeiroensis* (profile B versus C), while inter- and intra-shell variability of  $^{208}\text{Pb}$  intensities were also observed. The most likely explanation for this is that changes on ion intensities may reflect changes on Pb incorporation over distinct stages of shell formation, suggesting that animals had incorporated distinct amounts of lead during their lifetime.

Considering the existence of a maritime mining terminal in the region that exports and store ore at the entrance of Sepetiba Bay, we compared our results with Pb isotopic data reported for Brazilian galena ores (Pb ores) [69–73]. The results observed in shells were plotted together with Pb isotopic data reported for Brazilian Pb ore signatures (Figure 14).

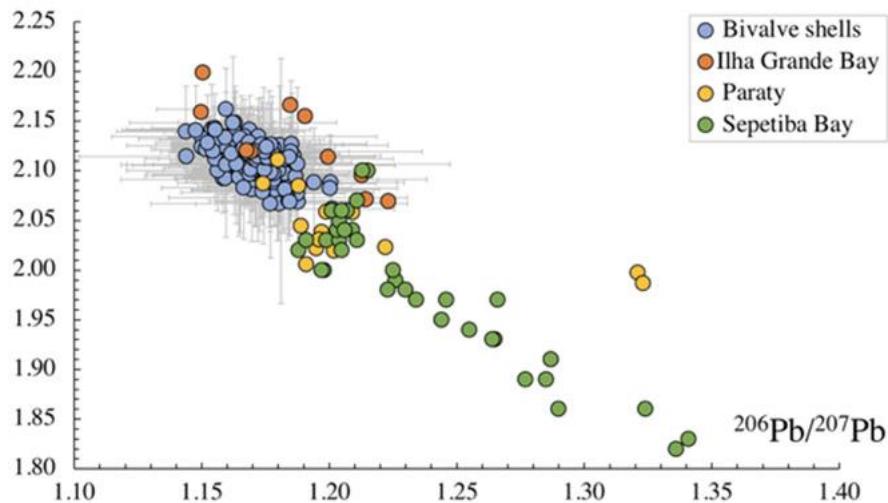
Figure 14 –  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  vs.  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  diagram

Legend: Three isotopes plot showing the results observed in shells together with Pb isotopic data reported for Brazilian galena ores [69–73]. Error bars on the laser ablation analyses are  $\pm 2$  standard error of the mean of 40 integration cycles.

Source: The Author, 2023.

The results of Pb isotopic composition in shells fall within the trend line of the isotopic signatures related to Brazilian galena ores suggesting that lead incorporation in shells may arise from maritime mining emissions. Considering that lead incorporation in shells have a strong relationship with environmental lead bioavailability, we compared our results with published records that may have a possible link with Pb anthropogenic sources. Bivalve species analyzed in this study are endobenthic organisms which live within the bottom sediments [56], this environmental compartment plays an important role and constitute key factors governing Pb bioavailability. Lead tends to adsorb on organic debris and be stored within sedimentary deposits in a form that can be released back in the water [21–25]. Taking this into account, we correlated our results with Pb isotopic data reported for marine sediments from the same study, and results were plotted together with Pb isotopic data reported for marine sediments from Ilha Grande [54], Paraty [52], and Sepetiba Bay [53] (Figure 15).

Figure 15 –  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  vs.  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  diagram  
Bivalve shells vs. superficial marine sediments

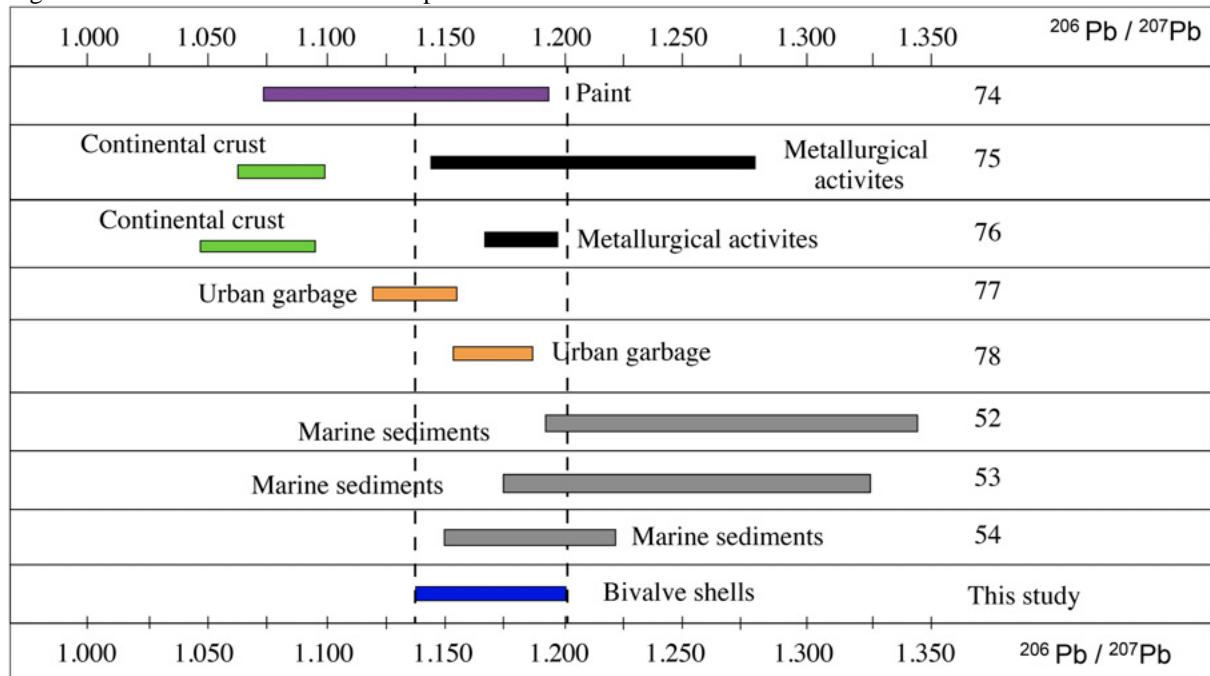


Legend: Three isotopes plot showing the results found in shells together with Pb isotopic data reported for surface marine sediments from Ilha Grande Bay, Paraty, and Sepetiba Bay [52–54]. Error bars on the laser ablation analyses are  $\pm 2$  standard error of the mean of 40 integration cycles.

Source: The Author, 2023.

Lead isotopic data recorded in shells overlaps the same range found in marine sediments from Ilha Grande Bay [54]. However, considering the size of the error bars, much of the data also overlaps with Pb isotopic signatures reported for marine sediments from Paraty [52] and Sepetiba Bay [53]. This implies that there were environmental heterogeneities in the isotopic composition of lead content among these areas, as consequence of different anthropogenic sources acting in this region. On the other hand, it would be more useful to compare the isotopic data found in shells with seawater, as the animals did not obtain Pb from the sediments but from metals dissolved in interstitial water. However, no Pb isotopic data was available on seawater or interstitial waters. From another perspective, a comparison between inorganic systems and biological systems must also consider biological fractionations and physiological processes. Thereby, differences in isotopic composition between sample shells and sediments could also be explained by biological effects. To further investigate the association of Pb isotopic signatures with other sources of pollution, we correlated the  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  end-members observed in shells with values reported for several anthropogenic sources as shown in Figure 16.

Figure 16 –  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  endmembers reported in the literature correlated with values observed in shells



Legend: The intervals on the upper and lower part of the figure are those described for leaded paint [74], metallurgical activities [75,76], continental crust [75,76], urban waste [77,78], and marine sediments from Ilha Grande Bay [54], Paraty [52], and Sepetiba Bay [53].

Source: The Author, 2023.

Although the previous studies [52–54,74–78] reported Pb isotopic values found in other areas that had different historical levels of pollution than the study area, it should be remembered that Pb isotope ratios only vary in accordance to the signatures of the ores from which the manufactured products were derived [34,35]. The  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  end-members in shells showed similar range to Pb signatures reported for contaminated sediments from Ilha Grande Bay [52]. These values were closer to the anthropogenic end-member than those measured on the Continental crust (São Francisco Craton, Brazil), possibly indicating a larger anthropogenic input for the coastal area. The isotopic ratios observed in shells correspond to similar ranges described for metallurgic activities [75,76], had similarities with  $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$  end-members derived from urban wastes [77,78], and also with leaded paint [74]. Lead is commonly used in maritime paints as an anticorrosive agent on the hulls of vessels, and the presence of dockyards and several marinas in Ilha Grande Bay may pose additional pollution sources (such as leaded paint shed from vessels into the marine environment). At the same time, results lie on the ore mixing line (Figure 14), thus it might be safely assumed that the Pb isotopic composition observed in shells might be attributed to a mix of composition from multiple sources.

While our approach provided a useful measure of Pb isotope ratios in bivalve shells, our findings do not disentangle the specific sources of pollution due to the overlap in isotopic composition from multiple sources. In coastal areas subject to intense environmental contamination from several sources for long periods, such as Ilha Grande Bay, contributions to marine pollution may include current and previous environmental incidents as well as diffused contamination from multiple sources, making it difficult to distinguish them.

Source correlation and fingerprinting is based on establishing relationships between samples and sources based on similarities or differences in their isotopic signatures. However, in environmental investigations it can be difficult to address the origin of pollution sources using a single isotopic signature value alone. A single isotopic value may not differentiate contaminants as a wide range of pollutants present in the environment can have a relatively narrow range of isotope compositions. Additionally, in areas with several pollution sources it is expected that a mix of isotope composition will be found in the environment, making it difficult to correlate the sources with single isotopic signatures. Hence, it is important to emphasize that a single isotope approach alone does not build a comprehensive answer but narrow down the number of possibilities, a multi-isotope approach may allow better refinement of sources identification. In order to distinguish the anthropogenic sources in the environment, it is necessary to integrate the Pb isotopic results found in this study with another isotope system(s) and to calculate the overlap between the isotopic signatures among samples [35].

## 6.5 Conclusion

In this study we show that LA-MC-ICP-MS is a suitable technique to perform measurements of Pb isotope ratios in bivalve shells, which can be potentially used to investigate changes on environmental Pb isotopic composition that might have occurred in different stages of shell formation. Ultimately, this procedure provides insights that cannot be obtained in traditional monitoring studies; the method presented here serves as an attractive alternative to better understand the sources of lead pollution in coastal waters from a small number of samples. This is an exploratory study of the potential use of LA-MC-ICP-MS with new prospects for assessing possible sources of Pb contamination in the marine environment. Given the capabilities of LA-MC-ICP-MS to obtain isotopic data at high spatial resolution,

we foresee an opportunity to extend the application of this procedure beyond bivalve shells. This approach offers great potential that may be suitable to determine Pb isotopic data of diverse marine calcareous organisms.

## 6.6 Supplementary material

<i>Corbula cubaniana</i>	208/206	sd	206/207	sd
1A	2.0956	0.0331	1.1676	0.0221
2A	2.1039	0.0365	1.1681	0.0252
3A	2.0941	0.0261	1.1710	0.0210
4A	2.1154	0.0339	1.1621	0.0220
5A	2.0832	0.0287	1.1852	0.0233
6A	2.0933	0.0259	1.1700	0.0163
7A	2.1008	0.0415	1.1703	0.0255
8A	2.0935	0.0257	1.1833	0.0117
9A	2.1133	0.0351	1.1769	0.0229
10A	2.0879	0.0399	1.1688	0.0282
1B	2.1011	0.0157	1.1709	0.0098
2B	2.1005	0.0174	1.1686	0.0105
3B	2.0984	0.0136	1.1707	0.0085
4B	2.1025	0.0120	1.1700	0.0068
5B	2.0946	0.0119	1.1740	0.0070
6B	2.1041	0.0400	1.1698	0.0194
7B	2.0934	0.0281	1.1669	0.0145
8B	2.0906	0.0227	1.1670	0.0209
9B	2.0835	0.0315	1.1726	0.0210
10B	2.0955	0.0300	1.1690	0.0156
1C	2.0882	0.0479	1.2004	0.0262
2C	2.0802	0.0508	1.1801	0.0343
3C	2.0832	0.0439	1.1768	0.0263
4C	2.0933	0.0244	1.1683	0.0182
5C	2.0963	0.0229	1.1821	0.0111
6C	2.0923	0.0346	1.1583	0.0189
7C	2.0956	0.0302	1.1745	0.0166
8C	2.0856	0.0369	1.1806	0.0161
9C	2.0823	0.0195	1.1821	0.0129
10C	2.0871	0.0429	1.1794	0.0251

<i>Cyclinela tenuis</i>	<b>208/206</b>	<b>sd</b>	<b>206/207</b>	<b>sd</b>
1A	2.1078	0.0420	1.1662	0.0280
2A	2.0979	0.0542	1.1713	0.0427
3A	2.1309	0.0451	1.1656	0.0323
4A	2.1393	0.0386	1.1629	0.0274
5A	2.1419	0.0452	1.1540	0.0337
6A	2.0958	0.0400	1.1627	0.0316
7A	2.1223	0.0343	1.1689	0.0289
8A	2.1132	0.0520	1.1698	0.0268
9A	2.1396	0.0458	1.1438	0.0271
10A	2.1255	0.0295	1.1533	0.0327
1B	2.1189	0.0254	1.1620	0.0150
2B	2.1188	0.0360	1.1721	0.0211
3B	2.1105	0.0175	1.1662	0.0287
4B	2.1310	0.0326	1.1683	0.0278
5B	2.1142	0.0168	1.1653	0.0139
6B	2.1221	0.0319	1.1726	0.0188
7B	2.1170	0.0515	1.1741	0.0292
8B	2.1485	0.0371	1.1630	0.0222
9B	2.1314	0.0406	1.1667	0.0232
10B	2.1016	0.0370	1.1778	0.0218
1C	2.0899	0.1235	1.1811	0.0224
2C	2.1167	0.0427	1.1855	0.0187
3C	2.1397	0.0340	1.1628	0.0194
4C	2.1268	0.0350	1.1673	0.0293
5C	2.1135	0.0309	1.1732	0.0135
6C	2.1382	0.0425	1.1632	0.0236
7C	2.1265	0.0378	1.1725	0.0236
8C	2.1413	0.0347	1.1688	0.0239
9C	2.1268	0.0303	1.1680	0.0239
10C	2.1232	0.0331	1.1625	0.0228

<i>Felaniella vilardeboana</i>	208/206	sd	206/207	sd
1A	2.1339	0.0293	1.1588	0.0126
2A	2.1289	0.0213	1.1522	0.0109
3A	2.1202	0.0259	1.1536	0.0154
4A	2.1217	0.0317	1.1528	0.0225
5A	2.1322	0.0203	1.1502	0.0249
6A	2.1243	0.0208	1.1501	0.0102
7A	2.1242	0.0329	1.1577	0.0191
8A	2.1254	0.0259	1.1584	0.0117
9A	2.1059	0.0243	1.1652	0.0238
10A	2.1293	0.0357	1.1548	0.0162
1B	2.1048	0.0264	1.1722	0.0168
2B	2.1183	0.0265	1.1689	0.0283
3B	2.1035	0.0288	1.1626	0.0272
4B	2.1433	0.0342	1.1551	0.0246
5B	2.1409	0.0452	1.1478	0.0290
6B	2.1335	0.0312	1.1592	0.0223
7B	2.1257	0.0595	1.1806	0.0425
8B	2.1414	0.0239	1.1552	0.0287
9B	2.1216	0.0315	1.1517	0.0198
10B	2.1193	0.0433	1.1651	0.0238
1C	2.1149	0.0562	1.1861	0.0342
2C	2.1345	0.0293	1.1667	0.0519
3C	2.1270	0.0508	1.1853	0.0294
4C	2.1486	0.0666	1.1623	0.0405
5C	2.1619	0.0411	1.1594	0.0269
6C	2.1155	0.0135	1.1633	0.0098
7C	2.1151	0.0326	1.1733	0.0258
8C	2.1230	0.0383	1.1662	0.0281
9C	2.1272	0.0353	1.1704	0.0171
10C	2.1345	0.0381	1.1722	0.0281

<i>Mactra janeiroensis</i>	208/206	sd	206/207	sd
1A	2.0688	0.0485	1.1878	0.0323
2A	2.0825	0.0477	1.2004	0.0262
3A	2.1039	0.0279	1.1574	0.0204
4A	2.0977	0.0144	1.1730	0.0120
5A	2.1031	0.0202	1.1695	0.0141
6A	2.0976	0.0275	1.1634	0.0097
7A	2.0954	0.0176	1.1673	0.0147
8A	2.0989	0.0295	1.1647	0.0187
9A	2.0966	0.0205	1.1688	0.0206
10A	2.0924	0.0332	1.1593	0.0193
1B	2.0798	0.0424	1.1811	0.0207
2B	2.1005	0.0405	1.1562	0.0216
3B	2.1122	0.0386	1.1553	0.0223
4B	2.0923	0.0475	1.1708	0.0165
5B	2.0992	0.0205	1.1692	0.0203
6B	2.0839	0.0322	1.1774	0.0164
7B	2.0964	0.0184	1.1727	0.0126
8B	2.0903	0.0298	1.1699	0.0165
9B	2.0810	0.0164	1.1849	0.0065
10B	2.0848	0.0309	1.1745	0.0215
1C	2.1062	0.0501	1.1653	0.0469
2C	2.0784	0.0488	1.1796	0.0378
3C	2.1005	0.0627	1.1650	0.0444
4C	2.1194	0.0713	1.1851	0.0514
5C	2.0871	0.0449	1.1846	0.0338
6C	2.0616	0.0439	1.2011	0.0243
7C	2.0966	0.0577	1.1727	0.0263
8C	2.0949	0.0660	1.1721	0.0443
9C	2.0911	0.0521	1.1816	0.0374
10C	2.0773	0.0537	1.1876	0.0185

<i>Pitar circinatus</i>	<b>208/206</b>	<b>sd</b>	<b>206/207</b>	<b>sd</b>
1A	2.1197	0.0267	1.1544	0.0155
2A	2.1142	0.0337	1.1654	0.0206
3A	2.1280	0.0485	1.1523	0.0205
4A	2.0888	0.0369	1.1808	0.0228
5A	2.1072	0.0316	1.1597	0.0186
6A	2.0939	0.0597	1.1647	0.0189
7A	2.0847	0.0327	1.1733	0.0249
8A	2.0729	0.0429	1.1838	0.0468
9A	2.1063	0.0731	1.1594	0.0390
10A	2.1144	0.0260	1.1439	0.0421
1B	2.1074	0.0326	1.1736	0.0240
2B	2.1157	0.0215	1.1684	0.0200
3B	2.0927	0.0296	1.1738	0.0175
4B	2.1044	0.0230	1.1726	0.0180
5B	2.1018	0.0261	1.1674	0.0212
6B	2.0668	0.0208	1.1803	0.0504
7B	2.1066	0.0598	1.1637	0.0326
8B	2.0886	0.0451	1.1785	0.0314
9B	2.0931	0.0451	1.1849	0.0173
10B	2.0698	0.0354	1.1842	0.0311
1C	2.1122	0.0347	1.1844	0.0205
2C	2.0814	0.0523	1.1697	0.0234
3C	2.0810	0.0440	1.1828	0.0369
4C	2.0668	0.0544	1.1769	0.0293
5C	2.0882	0.0546	1.1940	0.0353
6C	2.0971	0.0549	1.1826	0.0254
7C	2.0943	0.0257	1.1869	0.0240
8C	2.0953	0.0380	1.1753	0.0315
9C	2.0945	0.0440	1.1868	0.0302
10C	2.0687	0.0340	1.1846	0.0270

<i>Pitar fulminatus</i>	<b>208/206</b>	<b>sd</b>	<b>206/207</b>	<b>sd</b>
1A	2.1013	0.0211	1.1719	0.0107
2A	2.1042	0.0154	1.1727	0.0113
3A	2.0910	0.0133	1.1702	0.0099
4A	2.1110	0.0133	1.1701	0.0126
5A	2.1016	0.0208	1.1745	0.0124
6A	2.1005	0.0219	1.1802	0.0169
7A	2.0971	0.0244	1.1702	0.0166
8A	2.1005	0.0235	1.1730	0.0206
9A	2.0786	0.0326	1.1739	0.0129
10A	2.0965	0.0291	1.1687	0.0238
1B	2.1123	0.0175	1.1705	0.0117
2B	2.1038	0.0211	1.1747	0.0097
3B	2.1104	0.0261	1.1739	0.0153
4B	2.1021	0.0234	1.1736	0.0197
5B	2.1012	0.0285	1.1710	0.0174
6B	2.0828	0.0514	1.1665	0.0323
7B	2.0913	0.0460	1.1783	0.0600
8B	2.1120	0.0687	1.1764	0.0486
9B	2.1053	0.0790	1.1742	0.0514
10B	2.1068	0.0770	1.1874	0.0598
1C	2.1002	0.0231	1.1746	0.0135
2C	2.1066	0.0263	1.1727	0.0122
3C	2.1031	0.0242	1.1742	0.0141
4C	2.0974	0.0227	1.1782	0.0167
5C	2.0979	0.0258	1.1760	0.0167
6C	2.1012	0.0233	1.1756	0.0148
7C	2.1032	0.0220	1.1726	0.0140
8C	2.0986	0.0194	1.1771	0.0170
9C	2.1072	0.0214	1.1748	0.0136
10C	2.1016	0.0280	1.1693	0.0146

<i>Trachycardium muricatum</i>	<b>208/206</b>	<b>sd</b>	<b>206/207</b>	<b>sd</b>
1A	2.1109	0.0276	1.1722	0.0109
2A	2.1085	0.0320	1.1745	0.0344
3A	2.1122	0.0269	1.1704	0.0176
4A	2.1128	0.0250	1.1785	0.0164
5A	2.1117	0.0282	1.1820	0.0155
6A	2.1149	0.0238	1.1725	0.0144
7A	2.1175	0.0288	1.1615	0.0135
8A	2.1165	0.0265	1.1720	0.0206
9A	2.1112	0.0296	1.1715	0.0231
10A	2.1013	0.0178	1.1746	0.0160
1B	2.1135	0.0268	1.1745	0.0157
2B	2.1146	0.0282	1.1720	0.0150
3B	2.1121	0.0228	1.1775	0.0175
4B	2.1147	0.0227	1.1768	0.0143
5B	2.1132	0.0238	1.1758	0.0104
6B	2.1229	0.0234	1.1732	0.0155
7B	2.1202	0.0101	1.1693	0.0070
8B	2.1330	0.0240	1.1651	0.0115
9B	2.1186	0.0150	1.1677	0.0123
10B	2.1227	0.0262	1.1665	0.0122
1C	2.1141	0.0400	1.1842	0.0336
2C	2.1230	0.0273	1.1782	0.0242
3C	2.1192	0.0559	1.1775	0.0302
4C	2.1182	0.0362	1.1677	0.0304
5C	2.1264	0.0421	1.1772	0.0282
6C	2.1288	0.0336	1.1686	0.0241
7C	2.1193	0.0433	1.1746	0.0209
8C	2.1266	0.0470	1.1735	0.0214
9C	2.1204	0.0357	1.1703	0.0262
10C	2.1242	0.0442	1.1755	0.0178

## 6.7 References

1. E.M. Gosling. Bivalve Molluscs Biology, Ecology, and Culture. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd./Fishing News Books, 2004.

2. M. Elliot, K. Welsh, C. Chilcott, M. McCulloch, et al. "Profiles of Trace Elements and Isotopes Derived from Giant Long-Lived *Tridacna gigas* Bivalves: Potential Applications in Paleoclimate Studies". *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 2009. 280(1-2): 132-142. 10.1016/j.palaeo.2009.06.007
3. M. Zuykov, E. Pelletier, D.A. T Harper. "Bivalve Mollusks in Metal Pollution Studies: From Bioaccumulation to Biomonitoring". *Chemosphere*. 2013. 93(2): 201-20 8. 10.1016/j.chemosphere.2013.05.001
4. B.R. Schöne, D.P. Gillikin. "Unraveling Environmental Histories from Skeletal Diaries: Advances in Sclerochronology". *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 2013. 373: 1-5. 10.1016/j.palaeo.2012.11.026
5. M. Carr'e, I. Bentaleb, D. Blamart, N. Ogle, et al. "Stable Isotopes and Sclerochronology of the Bivalve *Mesodesma donacium*: Potential Application to Peruvian Paleoceanographic Reconstructions". *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 2005. 228(1-2): 4-25. 10.1016/j.palaeo.2005.03.045
6. B.R. Schöne, D.M. Surge. "Bivalve Sclerochronology and Geochemistry". *Treatise Online*. 2012. 1(14): 1-24. 10.17161/to.v0i0.4297
7. N.J.G. Pearce, V.L. Mann. "Trace Metal Variations in the Shells of *Ensis siliqua* Record Pollution and Environmental Conditions in the Sea to the West of Mainland Britain". *Mar. Pollut. Bull.* 2006. 52 (7): 739-755. 10.1016/J.Marpolbul.2005.11.003
8. M. Carr'e, I. Bentaleb, O. Bruguier, E. Ordinola, et al. "Calcification Rate Influence on Trace Element Concentrations in Aragonitic Bivalve Shells: Evidence and Mechanisms". *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2006. 70(19): 4906-4920. 10.1016/j.gca.2006.07.019
9. L.M. Otter, O.B.A. Agbaje, M.R. Kilburn, C.H. Lenz. et al. "Insights into Architecture, Growth Dynamics and Biomineralization of Pulsed Sr-Labelled *Katelysia rhytiphora* (Mollusca, Bivalvia)". *Biogeosci. Discuss.* 2019. 16(17): 3439-3455.10.5194/bg-16-3439-2019

10. D.E. Jacob, A. L Soldati, R. Wirth, J. Huth, et al. "Nanostructure, Composition, and Mechanisms of Bivalve Shell Growth". *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2008. 72(22): 5401-5415. 10.1016/j.gca.2008.08.019
11. B.R. Schöne, S.D. Houk, C. Freyre, D. Antuané, et al. "Daily Growth Rates in Shells of *Arctica islandica*: Assessing Sub-Seasonal Environmental Controls on a Long-Lived Bivalve Mollusk". *Palaios.* 2005. 20(1): 78-92. 10.2110/palo.2003.p03-101
12. O.B.A. Agbaje, D.E. Thomas, B.V. McInerney, M.P. Molloy, et al. "Organic Macromolecules in Shells of *Arctica islandica*: Comparison with Nacreous Bivalve Shells". *Mar. Biol.* 2017. 164: 1-13. 10.1007/s00227-017-3238-2
13. S. Weiner, P.M. Dove. "An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect". *Rev. Mineral. Geochem.* 2003. 54(1): 1-29. 10.2113/0540001
14. L. Addadi, D. Joester, F. Nudelman, S. Weiner. "Mollusk Shell Formation: A Source of New Concepts for Understanding Biomineralization Processes". *Chemistry.* 2006. 12(4): 980-987. 10.1002/chem.200500980
15. D. Chateigner, C. Hedegaard, H.-R. Wenk. "Mollusc Shell Microstructures and Crystallographic Textures". *J. Struct. Geol.* 2000. 22(11-12): 1723-1735. 10.1016/s01918141(00)00088-2
16. G.R. Clark II. "Daily Growth Lines in Some Living Pectens (Mollusca: Bivalvia), and Some Applications in a Fossil Relative: Time and Tide Will Tell". *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 2005. 228(1-2): 26-42. 10.1016/j.palaeo.2005.03.044
17. J.D. Taylor, W.J. Kennedy, A. Hall. "The Shell Structure and Mineralogy of the Bivalvia. Introduction. Nuculacea-Trigonacea". *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.), Zool.* 1969. (Suppl. 3): 1-185.
18. J.D. Taylor, W.J. Kennedy, A. Hall. "The Shell Structure and Mineralogy of the Bivalvia. II. Lucinacea-Clavagellacea Conclusions". *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.), Zool.* 1973. 22(9): 256-292.

19. T. Ubukata. "Geometric Pattern and Growth Rate of Prismatic Shell Structures in *Bivalvia*". *Paleontol. Res.* 2001. 5(1): 33-44.
20. B.R. Schöne. "Arctica islandica (*Bivalvia*): A Unique Paleoenvironmental Archive of the Northern North Atlantic Ocean". *Global Planet. Change.* 2013. 111: 199-225. 10.1016/j.gloplacha.2013.09.013
21. J. Hinrichs, O. Dellwig, H.J. Brumsack. "Lead in Sediments and Suspended Particulate Matter of the German Bight: Natural versus Anthropogenic Origin". *Appl. Geochem.* 2002. 17(5): 621-632. 10.1016/S0883-2927(01)00124-X
22. B.P. Bourgoin. "Mytilus edulis Shell as a Bioindicator of Lead Pollution: Considerations on Bioavailability and Variability". *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1990. 61(3): 253-262.
23. F. Monna, N. Clauer, T. Toulkeridis, J.R. Lancelot. "Influence of Anthropogenic Activity on the Lead Isotope Signature of Thau Lake Sediments (Southern France): Origin and Temporal Evolution". *Appl. Geochem.* 2000. 15(9): 1291-1305. 10.1016/S0883-2927(99)00117-1
24. M. Labonne, D.B. Othman, J. Luck. "Pb Isotopes in Mussels as Tracers of Metal Sources and Water Movements in a Lagoon (Thau Basin, S. France)". *Chem. Geol.* 2001. 181(1-4): 181-191. 10.1016/S0009-2541(01)00281-9
25. A. Bollhöfer. "Stable Lead Isotope Ratios and Metals in Freshwater Mussels from a Uranium Mining Environment in Australia's Wet-Dry Tropics". *Appl. Geochem.* 2012. 27(1):171-185. 10.1016/j.apgeochem.2011.10.00
26. H.A. Holland, B.R. Schöne, S. Marali, K. P Jochum. "History of Bioavailable Lead and Iron in the Greater North Sea and Iceland During the Last Millennium: A Bivalve Sclerochronological Reconstruction". *Mar. Pollut. Bull.* 2014. 87(1-2): 104-116. 10.1016/j.marpolbul.2014.08.005

27. B.P. Bourgoin, M.J. Risk. "Historical Changes in Lead in the Eastern Canadian Arctic, Determined from Fossil and Modern *Mya truncata* Shells". *Sci. Total Environ.* 1987. 67(2-3): 287-291. 10.1016/0048-9697(87)90220-8
28. D.P. Gillikin, F. Dehairs, W. Bayeyens, J. Navez, et al. "Inter- and Intra-Annual Variations of Pb/Ca Ratios in Clam Shells (*Mercenaria Mercenaria*): A Record of Anthropogenic Lead Pollution?" *Mar. Pollut. Bull.* 2005. 50(12): 1530-1540. 10.1016/j.marpolbul.2005.06.020
29. L.C. Pitts, G.T. Wallace. "Lead Deposition in the Shell of the Bivalve, *Mya arenaria*: an Indicator of Dissolved Lead in Seawater". *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* 1994. 39(1): 93-104. 10.1006/ecss.1994.1051
30. F. Gifford, R.H. Dunstana, W. O'Connor, T. Roberts, et al. "Pearl Aquaculture: Profitable Environmental Remediation?" *Sci. Total Environ.* 2014. 319(1-3): 27-37. 10.1016/S0048-9697(03)00437-6
31. F. Marin, N. Le Roy, B. Marie. "The Formation and Mineralization of Mollusk Shell". *Front. Biosci., Scholar Ed.* 2012. 4(3):1099-1125. 10.2741/s321
32. F. Monna, J. Dominik, J.L. Loizeau, M. Pardos, et al. "Origin and Evolution of Pb in Sediments of Lake Geneva (Switzerland–France). Establishing a Stable Pb Record". *Environ. Sci. Technol.* 1999. 33(17): 2850-2857. 10.1021/es9902468
33. F. Monna, J. Lancelot, I. Croudace, A.B. Cundy, et al. "Pb Isotopic Signature of Urban Air in France and in UK: Implications on Pb Pollution Sources". *Environ. Sci. Technol.* 1997. 31(8):2277–2286. 10.1021/es960870+
34. M. Kom'arek, V. Ettler, V. Chrastn'y, M. Mihaljevic. "Lead Isotopes in Environmental Sciences: A Review". *Environ. Int.* 2008. 34(4): 562-577. 10.1016/j.envint.2007.10.005
35. H. Cheng, Y. Hu. "Lead (Pb) Isotopic Fingerprinting and Its Applications in Lead Pollution Studies in China: A Review". *Environ. Pollut.* 2010. 158(5): 1134-1146. 10.1016/j.envpol.2009.12.028

36. N.C. Munksgaard, C.M. Moir, D.L. Parry. "Bio-Monitoring Using Lead Isotope Ratios in Seagrass and Oysters". *Marine Technol. Soc. J.* 2002. 36(1): 52–54. 10.4031/002533202787914269
37. N.C. Munksgaard, J.A. Brazier, C.M. Moir, D.L. Parry. "The Use of Lead Isotopes in Monitoring the Environmental Impacts of Uranium and Lead Mining in Northern Australia". *Aust. J. Chem.* 2003. 56(2-3): 233-238. 10.1071/CH02239
38. R. Company, A. Serafim, B. Lopes, A. Cravo, et al. "Using Biochemical and Isotope Geochemistry to Understand the Environmental and Public Health Implications of Lead Pollution in the Lower Guadiana River, Iberia: A Freshwater Bivalve Study". *Sci. Total Environ.* 2008. 405(1-3): 109-119. 10.1016/j.scitotenv.2008.07.016
39. M. Labonne, D.B. Othman, J.M. Luck. "Recent and Past Anthropogenic Impact on a Mediterranean Lagoon: Lead Isotope Constraints from Mussel Shells". *Appl. Geochem.* 1998. 13(7):885-892. 10.1016/S0883-2927(98)00016-X
40. W.T. Perkins, R. Fuge, N.J.G. Pearce. "Quantitative Analysis of Trace Elements in Carbonates Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.* 1991. 6: 445-449. 10.1039/JA9910600445
41. R. Fuge, T.J Palmer, N.J.G. Pearce, W.T. Perkins. "Minor and Trace Element Chemistry of Modern Shells: A Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Spectrometry Study". *Appl. Geochem.* 1993. 8(Suppl. 2): 111-116. 10.1016/S0883-2927(09)80020-6
42. G.D. Price, N.J.G. Pearce. "Biomonitoring of Pollution by *Cerastoderma edule* from the British Isles: A Laser Ablation ICPMS Study". *Mar. Pollut. Bull.* 1997. 34(12): 1025-1031. 10.1016/S0025-326X(97)00098-2
43. E. Vander Putten, F. Dehairs, L. Andr'e, W. Baeyens. "Quantitative In Situ Microanalysis of Minor and Trace Elements in Biogenic Calcite Using Infrared Laser Ablation–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: A Critical Evaluation". *Anal. Chim. Acta*. 1999. 378(1-3): 261-272. 10.1016/S0003-2670(98)00613-8

44. C.A. Richardson, S.R.N. Chenery, J.M. Cook. "Assessing the History of Trace Metal (Cu, Zn, Pb) Contamination in the North Sea Through Laser Ablation ICP-MS of Horse Mussel *Modiolus* Shells". *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2001. 211: 157-167.
45. V.R. Bellotto, N. Miekeley. "Trace Metals in Mussel Shells and Corresponding Soft Tissue Samples: A Validation Experiment for the Use of *Perna perna* Shells in Pollution Monitoring". *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. 389(3): 769-776. 10.1007/s00216-007-1420-y
46. J. Krause-Nehring, T. Brey, S.R. Thorrold. "Centennial Records of Lead Contamination in Northern Atlantic Bivalves (*Arctica islandica*)". *Mar. Pollut. Bull.* 2012. 64(2): 233-240. 10.1016/j.marpolbul.2011.11.028
47. E. Cariou, C. Guivel, L. Carole, L. Lenta, M. Elliot. "Lead Accumulation in Oyster Shells, a Potential Tool for Environmental Monitoring". *Mar. Pollut. Bull.* 2017. 125: 19-29. 10.1016/j.marpolbul.2017.07.075
48. M. Wieser, J. Schwieters, C. Douthitt. "Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". In: F. Vanhaecke, P. Degryse, editors. *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2012. Chap. 3, Pp. 77-91. 10.1002/9783527650484.ch3
49. A.M. De Souza, D.S. Rocha, J.V. Guerra, B.A. Cunha, et al. "Metal Concentrations in Marine Sediments of the Rio de Janeiro Coast (Brazil): A Proposal to Establish New Acceptable Levels of Contamination". *Mar. Pollut. Bull.* 165: 112113. 10.1016/j.marpolbul.2021.112113
50. B.C.A. Cunha, W. Machado, A. Marra, D. Araújo, et al. "Lead Source Assessment by Isotopic and Elementary Composition in the Transition from Pristine to Polluted Condition of Coastal Sediments". *J. Sediment. Environ.* 2018. 3(1): 46-53. 10.12957/jse.2018.33890
51. M. Vannuci-Silva, J.M. Souza, F.F. Oliveira, AraujoJr., et al. "Bioavailability of Metals at a Southeastern Brazilian Coastal Area of High Environmental Concern Under Anthropic

Influence: Evaluation Using Transplanted Bivalves (*Nodipecten nodosus*) and the DGT Technique". Water, Air, Soil Pollut. 2017: 222–228. 10.1007/s11270-017-3387-4

52. M.C. Geraldes, S.D. Pereira, H.H. Villena, F.W. Herms. "Pb Isotopes Study in Recent Sediments from Paraty Bay (Rio de Janeiro, Brazil): Anthropogenic versus Oceanic Signatures". Int. J. Geosci. 2015. 6(7): 645-655. 10.4236/ijg.2015.67052

53. S.J. Díaz Morales, J.V. Guerra, M.A.S. Nunes, M.V.A. Martins, et al. "Anthropogenic Impacts on the Western Sector of Sepetiba Bay (SE do Brazil) Accessed by the Pb Isotope Composition of Surface Sediments". J. Sediment. Environ. 2019. 4(3): 291–311. 10.12957/jse.2019.45269

54. B.C.A. Cunha, D. Rocha, M.C. Geraldes, S.D. Pereira, A.C. Almeida. "Pb Isotopic Signatures in Sediments of a Sub-Tropical Coastal Lagoon: Anthropogenic Sources for Metal Contamination in the Sepetiba Bay (SE-Brazil)". J. Coastal Res. 2009. 56: 797–801.

55. M.M. Mahiques. "Considerações Sobre os Sedimentos de Superfície de Fundo da Baía da Ilha Grande, Rio de Janeiro". Dissertação de Mestrado. São Paulo, Brazil: Instituto de Geociências, University of São Paulo, 1987.

56. E.C. Rios, R.A. dos Santos, J.A. Alvares Peres. Seashells of Brazil. Rio Grande: Editora da Fundação Universidade do Rio Grande, 1994.

57. S.M. Eggins, R. Grün, M.T. McCulloch, A.W.G. Pike, et al. "In Situ U-Series Dating by Laser-Ablation Multi-Collector ICPMS: New Prospects for Quaternary Geochronology". Quat. Sci. Rev. 2005. 24(23-24): 2523-2538. 10.1016/j.quascirev.2005.07.006

58. K.P. Jochum, B. Stoll, U. Weis, D.E. Jacob, et al. "Non-Matrix-Matched Calibration for the Multi-Element Analysis of Geological and Environmental Samples Using 200 nm Femtosecond LA-ICP-MS: A Comparison with Nanosecond Lasers". Geostand. Geoanal. Res. 2014. 38(3): 265-292. 10.1111/J.1751-908X.2014.12028.x

59. R. Machida, T. Nakazawa, N. Furuta. "Temporal Changes of Fractionation Index Caused by Changes in the Large Size of Ablated Particles in Laser Ablation–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". *Anal. Sci.* 2015. 31(5): 345-355. 10.2116/analsci.31.345
60. J. Meija, L. Yang, Z. Mester, R.E. Sturgeon. "Correction of Instrumental Mass Discrimination for Isotope Ratio Determination with Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". In: F. Vanhaecke, P. Degryse, editors. *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2012. Chap. 5, Pp. 113–137. 10.1002/9783527650484.ch5
61. K.P. Jochum, D. Garbe-Schönberg, M. Veter, B. Stoll, et al. "Nano-Powdered Calcium Carbonate Reference Materials: Significant Progress for Microanalysis?" *Geostand. Geoanal. Res.* 2019. 43(4): 595-609. 10.1111/ggr.12292
62. J. Lin, Y.S. Liu, Z.C. Hu, L. Yang, et al. "Accurate Determination of Lithium Isotope Ratios by MC-ICP-MS Without StrictMatrix-Matching by Using a NovelWashing Method". *J. Anal. At. Spectrom.* 2016. 31(2): 390–397. 10.1039/c5ja00231a
63. T. Hirata. "Advances in Laser Ablation–Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". In: F. Vanhaecke, P. Degryse, editors. *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2012. Chapter 4, Pp. 93–112. 10.1002/9783527650484.ch4
64. J.D. Woodhead, J.M. Hergt. "Strontium and Lead Isotope Analyses of NIST Glass Certified Reference Materials: SRM 610, 612, 614". *Geostand. Newslet.* 2001. 25(2-3): 261-266. 10.1111/j.1751-908x.2001.tb00601.x
65. C. Kaiyun, Y. Honglin, B. Zhian, Z. Chunlei, D. Mengning. "Precise and Accurate in SituDetermination of Lead Isotope Ratios in NIST, USGS, MPI-DING, and CGSG Glass Reference Materials Using Femtosecond Laser Ablation MC-ICP-MS". *Geostand. Geoanal. Res.* 2014. 38(1). 5-21. 10.1111/j.1751-908x.2013.00223.x

66. M. Rehkamper, K. Mezger. "Investigation of Matrix Effects for Pb Isotope Ratio Measurements by Multiple Collector ICP-MS: Verification and Application of Optimized Analytical Protocols". *J. Anal. At. Spectrom.* 2000. 15(11): 1451-1460. 10.1039/b005262k
67. J. Baker, S. Stos, T. Waight. "Lead Isotope Analysis of Archaeological Metals by Multiple-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry". *Archaeometry*. 2006. 48(1): 45-56. 10.1111/j.1475-4754.2006.00242.x
68. N.J. Pearson, W.L. Griffin, S.Y. O'Reilly. "Mass Fractionation Correction in Laser Ablation Multiple-Collector ICP-MS: Implications for Overlap Corrections and Precise and Accurate In Situ Isotope Ratio Measurement". In: P. Sylvester, editor. *Laser Ablation-ICP-MS in the Earth Sciences: Current Practices and Outstanding Issues*. Quebec: Mineralogical Association of Canada, 2008. Chap. 7, Pp. 93-116.
69. J. Cassedanne, M. Lasserre. "Análise Isotópica Pelo Método do Chumbo de Algumas Galenas Brasileiras: Descrição do Método Utilizado". *Mineração e Metalurgia*. 1969. 49: 215–224.
70. J. Cassedanne, M. Lasserre. "Análise Isotópica Pelo Método do Chumbo de Uma Segunda Série de Galenas Brasileiras". *Mineração e Metalurgia*. 1970. 51: 31–40.
71. J. Cassedanne, J.L. Duthou, M. Lasserre. "Análise Isotópica Pelo Método do Chumbo de Uma Terceira Série de Galenas Brasileiras". *Mineração e Metalurgia*. 1972. 36: 12–19.
72. J.L. Duthou, J.P. Cassedanne, M. Lasserre. "Analyse Isotopique du Plomb des Galènes du Craton du São Francisco. Brésil. Interprétation des Resultants". *Bulletin du Bureau de Recherches Géologiques et Minières*. 1972. 3: 3-23.
73. A. Misi, S. S Iyer, C.C.G. Tassinari, J.R. Kyle, et al. "Geological and Isotopic Constraints on the Metallogenic Evolution of the Proterozoic Sediment-Hosted Pb-Zn (Ag) Deposits of Brazil". *Gondwana Res.* 1999. 2(1): 47-65. 10.1016/S1342-937X(05)70126-X

74. N. Mirlean, D. Robinson, K. Kawashita. "Identification of Local Sources of Lead in Atmospheric Deposits in an Urban Area in Southern Brazil Using Stable Lead Isotope Ratios". *Atmos. Environ.* 2005. 39(33): 6204-6212. 10.1016/j.atmosenv.2005.07.002
75. C. Aily. "Caracterização Isotópica de Pb na Atmosfera: Um Exemplo da Cidade de São Paulo". Dissertação de Mestrado. São Paulo, Brazil: Instituto de Geociências, University of São Paulo, 2002. 10.11606/D.44.2001.tde-11092015-093709
76. R.P. Moraes, B.R. Figueiredo, J.M. Lafon. "Pb-Isotopic Tracing of Metal-Pollution Sources in the Ribeira Valley, Southeastern Brazil". *Terrae.* 2004. 1(1): 19-26. <https://www.ige.unicamp.br/terrae/V2/PDF-N2/moraes.pdf>
77. C.A. V Moura, H.E. Gaudette, M.C. Carvalho, G.P. Morales. "The Use of Lead Isotope Composition as a Tool to Investigate the Anthropogenic Impacts of the Environment in the Metropolitan Region of Belém (PA)". *Terrae.* 2004. 1(1): 16-25. <https://www.ige.unicamp.br/terrae/V2/PDF-N2/moura.pdf>
78. S.M.C.L. Gioia, M.M. Pimentel, M. Tessler, E.L. Dantas, et al. "Sources of Anthropogenic Lead in Sediments from an Artificial Lake in Brasília, Central Brazil". *Sci. Total Environ.* 2006. 356(1-3): 125-142. 10.1016/j.scitotenv.2005.02.041

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por um lado, o uso de proxies geoquímicos em conchas e esqueleto de corais oferece uma oportunidade para compreender os impactos das atividades humanas no meio marinho. Por outro lado, lacunas críticas no conhecimento podem limitar o uso desses proxies no monitoramento da qualidade da água do mar. Apesar de todos os desafios técnicos e científicos, esqueletos de corais e conchas de bivalves abrigam proxies geoquímicos que podem servir como ferramentas na avaliação da poluição costeira. A natureza multidisciplinar dos proxies geoquímicos requer pesquisas avançadas que permeiem diversas áreas científicas para preencher essas lacunas. Essa área do conhecimento é, de fato, um campo emergente que exige flexibilidade e reconhecimento de que ainda há muito a ser descoberto. Os benefícios dos aspectos científicos de novas e estabelecidas aplicações de proxies geoquímicos em ambientes marinhos oferecem novas metodologias que podem ser aprimoradas em estudos futuros. O uso desses traçadores biogeoquímicos como registros de mudanças ambientais requer conhecimento do problema a ser resolvido e o conhecimento de diversas subáreas do monitoramento ambiental.

Contudo, um dos principais problemas em vincular a geoquímica dos esqueletos de corais à política ambiental é como inferir a química da água do mar a partir das concentrações de metais observadas nos esqueletos de corais, e convertê-las em políticas relevantes para determinar os limites de concentrações de metais na água do mar. Para abordar essa lacuna, pesquisas futuras devem estabelecer ensaios laboratoriais, bem controlados, usando aquários com diferentes níveis de concentração de metais. O conteúdo de metal na água do aquário deve ser gradualmente aumentado ao longo do tempo, enquanto observa-se a vitalidade do animal e as concentrações de metal na água ao longo do experimento. Idealmente, após um período de mais de um ano, os animais devem ser analisados para correlacionar a distribuição do conteúdo de metal em seus esqueletos com a variabilidade temporal das concentrações de metal na água. O aprimoramento do uso desses proxies marinhos como indicadores de poluição por metais será útil para estabelecer níveis ambientais aceitáveis de metais na água e convertê-los em diretrizes políticas significativas para as concentrações de metais na água do mar.

Dada a atual crise ambiental, essa questão requer medições precisas para melhorar a nossa compreensão dos impactos ambientais que estão cada vez mais frequentes e intensos. Os proxies geoquímicos, cujas propriedades contribuirão para desenvolver novas aplicações,

exigem novas metodologias para abordar efetivamente as questões ambientais mais urgentes. Estamos agora em um momento crítico da história. Os ecossistemas marinhos estão enfrentando uma grave crise, enquanto os organismos marinhos enfrentam imensos desafios. O aprimoramento da qualidade dos estudos científicos que aplicam proxies geoquímicos oferece informações valiosas para a gestão dos ecossistemas marinhos. O aprimoramento desses proxies ambientais será útil para melhorar nossa capacidade de avaliar as mudanças ambientais e guiar políticas públicas de gestão ambientais na conservação dos ecossistemas marinhos.

## REFERÊNCIAS

- AHRENS, L.; TANIYASU, S.; YEUNG, L. W. Y.; YAMASHITA, N.; LAM, P. K. S.; EBINGHAUS, R. Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere*, 79(3), 266–272, 2010.
- AL-ROUSAN, S. A.; AL-SHLOUL, R. N.; AL-HORANI, F. A.; ABU-HILAL, A. H. Heavy metal contents in growth bands of *Porites* corals: Record of anthropogenic and human developments from the Jordanian Gulf of Aqaba. *Marine Pollution Bulletin*, 54(12), 1912–1922, 2007.
- ALLEMAND, D.; TAMBUTTÉ, É.; ZOCCOLA, D.; TAMBUTTÉ, S. Coral Calcification, Cells to Reefs. In *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, 119–150, Springer Netherlands, 2011.
- ANU, G.; KUMAR, N. C.; JAYALAKSHMI, K. J.; NAIR, S. M. Monitoring of heavy metal partitioning in reef corals of Lakshadweep Archipelago, Indian Ocean. *Environmental Monitoring and Assessment*, 128(1–3), 195–208, 2007.
- ARINI, A.; GOURVES, P. Y.; GONZALEZ, P.; BAUDRIMONT, M. Metal detoxification and gene expression regulation after a Cd and Zn contamination: An experimental study on *Danio rerio*. *Chemosphere*, 128, 125–133, 2015.
- BELLOTTO, V. R.; MIEKELEY, N. Trace metals in mussel shells and corresponding soft tissue samples: a validation experiment for the use of *Perna perna* shells in pollution monitoring. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(3), 769–776, 2007.
- BELO, W. C.; DIAS, G. T. M.; DIAS, M. S. O fundo marinho da Baía da Ilha Grande, RJ: o relevo submarino e a sedimentação no canal central. *Revista Brasileira de Geofísica*, 20(1), 2002.

BOISSON, F.; COTRET, O.; FOWLER, S. W. Bioaccumulation and retention of lead in the mussel *Mytilus galloprovincialis* following uptake from seawater. *Science of The Total Environment*, 222(1–2), 55–61, 1998.

BONNAIL, E.; SARMIENTO, A. M.; DELVALLS, T. A.; NIETO, J. M.; RIBA, I. Assessment of metal contamination, bioavailability, toxicity and bioaccumulation in extreme metallic environments (Iberian Pyrite Belt) using *Corbicula fluminea*. *Science of The Total Environment*, 544, 1031–1044, 2016.

BRIAND, M. J.; BUSTAMANTE, P.; BONNET, X., CHURLAUD, C.; LETOURNEUR, Y. Tracking trace elements into complex coral reef trophic networks. *Science of The Total Environment*, 612, 1091–1104, 2018.

CARILLI, J. E.; PROUTY, N. G.; HUGHEN, K. A.; NORRIS, R. D. Century-scale records of land-based activities recorded in Mesoamerican coral cores. *Marine Pollution Bulletin*, 58(12), 1835–1842, 2009.

CARRÉ, M.; BENTALEB, I.; BRUGUIER, O.; ORDINOLA, E., BARRETT, N. T.; FONTUGNE, M. Calcification rate influence on trace element concentrations in aragonitic bivalve shells: Evidences and mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70(19), 4906–4920, 2006.

CARRIKER, M. R.; SWANN, C. P.; EWART, J. W. An exploratory study with the proton microprobe of the ontogenetic distribution of 16 elements in the shell of living oysters (*Crassostrea virginica*). *Marine Biology*, 69(3), 235–246, 1982.

CARROLL, M. L.; JOHNSON, B. J.; HENKES, G. A.; MCMAHON, K. W.; VORONKOV, A., AMBROSE, W. G.; DENISENKO, S. G. Bivalves as indicators of environmental variation and potential anthropogenic impacts in the southern Barents Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 59(4–7), 193–206, 2009.

CHALK, T. B.; STANDISH, C. D.; D'ANGELO, C.; CASTILLO, K. D.; MILTON, J. A.; FOSTER, G. L. Mapping coral calcification strategies from in situ boron isotope and trace

element measurements of the tropical coral *Siderastrea siderea*. *Scientific Reports*, 11(1), 472, 2021.

CHAPPAZ, A.; GOBEIL, C.; TESSIER, A. Geochemical and anthropogenic enrichments of Mo in sediments from perennially oxic and seasonally anoxic lakes in Eastern Canada. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(1), 170–184, 2008.

CHEN, X.; WEI, G.; DENG, W.; LIU, Y.; SUN, Y.; ZENG, T.; XIE, L. Decadal variations in trace metal concentrations on a coral reef: Evidence from a 159 year record of Mn, Cu, and V in a Porites coral from the northern South China Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(1), 405–416, 2015.

CHENG, Z.; MAN, Y. B.; NIE, X. P.; WONG, M. H. Trophic relationships and health risk assessments of trace metals in the aquaculture pond ecosystem of Pearl River Delta, China. *Chemosphere*, 90(7), 2142–2148, 2013.

CHOËL, M.; DEBOUDT, K.; FLAMENT, P.; LECORNET, G.; PERDRIX, E.; SOBANSKA, S. Fast evolution of tropospheric Pb- and Zn-rich particles in the vicinity of a lead smelter. *Atmospheric Environment*, 40(24), 4439–4449, 2006.

CIESIELSKI, T. M.; PASTUKHOV, M. V.; LEEVES, S. A.; FARKAS, J.; LIERHAGEN, S.; POLETAEVA, V. I.; JENSSSEN, B. M. Differential bioaccumulation of potentially toxic elements in benthic and pelagic food chains in Lake Baikal. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 15593–15604, 2016.

CLODE, P. L.; MARSHALL, A. T. Low temperature FESEM of the calcifying interface of a scleractinian coral. *Tissue and Cell*, 34(3), 187–198, 2002.

COHEN, A. L. Geochemical Perspectives on Coral Mineralization. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), 151–187, 2003.

COHEN, A. L.; HART, S. R. The effect of colony topography on climate signals in coral skeleton. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(18), 3905–3912, 1997.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 454/2012 - Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional”, 2012.

CORRÈGE, T. Monitoring of terrestrial input by massive corals. *Journal of Geochemical Exploration*, 88(1–3), 380–383, 2006.

CREED, J.; PIRES, D.; FIGUEIREDO, M. Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande. Ministério do Meio Ambiente (Segunda edição). Ministério do Meio Ambiente Secretaria Nacional de Biodiversidade e Florestas Departamento de Conservação da Biodiversidade, 2007.

CREED, J. C. Two invasive alien azooxanthellate corals, *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*, dominate the native zooxanthellate *Mussismilia hispida* in Brazil. *Coral Reefs*, 25(3), 350–350, 2006.

CUIF, J.-P.; LECOINTRE, G.; PERRIN, C.; TILLIER, A.; TILLIER, S. Patterns of septal biomineralization in Scleractinia compared with their 28S rRNA phylogeny: a dual approach for a new taxonomic framework. *Zoologica Scripta*, 32(5), 459–473, 2003.

CUNHA, B.; ROCHA, D.; GERALDES, M.; PEREIRA, S.; ALMEIDA, A. Pb isotopic signatures in sediments of a sub-tropical coastal lagoon: Anthropogenic sources for metal contamination in the Sepetiba Bay (SE — Brazil). *Journal of Coastal Research*, 56, 797–801, 2009.

da SILVA, M. D.; PEREIRA, M. B.; IKEMOTO, S. M.; ROLIN, H. N.; MORAES, L. E. DE S.; ROCHA, T. DE C. F.; DE OLIVEIRA, U. M. Iniciativa BIG 2050 – Radar BIG a saúde ambiental da Baía de Ilha Grande. *Brazilian Journals of Development*, 7(5), 2021.

DANG, D. H.; LENOBLE, V.; DURRIEU, G.; OMANOVIĆ, D.; MULLOT, J.-U.; MOUNIER, S.; GARNIER, C. Seasonal variations of coastal sedimentary trace metals cycling: Insight on the effect of manganese and iron (oxy)hydroxides, sulphide and organic matter. *Marine Pollution Bulletin*, 92(1–2), 113–124, 2015.

DAVID, C. P. Heavy metal concentrations in growth bands of corals: a record of mine tailings input through time (Marinduque Island, Philippines). *Marine Pollution Bulletin*, 46(2), 187–196, 2003.

de SOUZA, A. M.; ROCHA, D. S.; GUERRA, J. V.; CUNHA, B. A.; MARTINS, M. V. A.; GERALDES, M. C. Metal concentrations in marine sediments of the Rio de Janeiro Coast (Brazil): A proposal to establish new acceptable levels of contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112113, 2021.

DE SOUZA LIMA JUNIOR, R. G.; ARAÚJO, F. G.; MAIA, M. F.; SEDA DA SILVEIRA BRAZ PINTO, A. Evaluation of Heavy Metals in Fish of the Sepetiba and Ilha Grande Bays, Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research*, 89(2), 171–179, 2002.

DERMOTT, R. M.; LUM, K. R. Metal concentrations in the annual shell layers of the Bivalve *Elliptio complanata*. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical*, 12(2), 131–143, 1986.

DHN. Diretoria de Hidrografia e Navegação. Roteiro: Costa Sul – Do Cabo Frio ao Arroio Chuí. Lagoas dos Patos e Mirim, 2016.

DODGE, R. E.; GILBERT, T. R. Chronology of lead pollution contained in banded coral skeletons. *Marine Biology*, 82(1), 9–13, 1984.

ELBURG, M. A. Geochronological Dating. In *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*, 235–274, First Edition, Wiley, 2012

EMELYANOV, E. M.; GULBINSKAS, S.; SUZDALEV, S. Biogenic components and trace elements in the sediments of river mouths and accumulation areas of the Curonian Lagoon (south-eastern Baltic Sea). *Baltica*, 28(2), 151–162, 2015.

FALLON, S. J.; WHITE, J. C.; MCCULLOCH, M. T. Porites corals as recorders of mining and environmental impacts: Misima Island, Papua New Guinea. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(1), 45–62, 2002.

FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Avaliação de Meio Termo do Projeto: Gestão Integrada do Ecossistema da Baía da Ilha Grande (BIG), 2015.

FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Concepção e estabelecimento de um mecanismo sustentável de incentivo para gerenciar de maneira Integrada o Ecossistema da Baía da Ilha Grande, 2018.

FRANCIONI, E.; WAGENER, A. DE L. R.; CALIXTO, R. DE C.; BASTOS, G. C. Evaluation of *Perna perna* (Linné, 1758) as a tool to monitoring trace metals contamination in estuarine and coastal waters of Rio de Janeiro, Brazil. Journal of the Brazilian Chemical Society, 15(1), 103–110, 2004.

FRITZ, L. W.; RAGONE, L. M.; LUTZ, R. A.; SWAPP, S. Biominerization of barite in the shell of the freshwater Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Molluscs: Bivalvia). Limnology and Oceanography, 35(3), 756–762, 1990.

GAGAN, M. K.; DUNBAR, G. B.; SUZUKI, A. The effect of skeletal mass accumulation in Porites on coral Sr/Ca and  $\delta^{18}\text{O}$  paleothermometry. Paleoceanography, 27(1), 2012.

GERALDES, M. C.; PEREIRA, S. D.; VILLENA, H. H.; HERMS, F. W. Pb Isotopes Study in Recent Sediments from Paraty Bay (Rio de Janeiro, Brazil): Antropogenic Versus Oceanic Signatures. International Journal of Geosciences, 06(07), 645–655, 2015.

GILLIKIN, D. P.; DEHAIRS, F.; BAEYENS, W.; NAVÉZ, J.; LORRAIN, A.; ANDRÉ, L. Inter- and intra-annual variations of Pb/Ca ratios in clam shells (*Mercenaria mercenaria*): A record of anthropogenic lead pollution? Marine Pollution Bulletin, 50(12), 1530–1540, 2005.

GOLDBERG, E. D. The mussel watch — A first step in global marine monitoring. Marine Pollution Bulletin, 6(7), 111, 1975.

GROVE, C. A.; ZINKE, J.; SCHEUFEN, T.; MAINA, J.; EPPING, E.; BOER, W.; RANDRIAMANANTSOA, B.; BRUMMER, G.-J. A. Spatial linkages between coral proxies of terrestrial runoff across a large embayment in Madagascar. Biogeosciences, 9(8), 3063–3081, 2012.

GUERRA, J. V; SOARES, F. L. M. Circulation and Flux of Suspended Particulate Matter in Ilha Grande Bay, SE Brazil. Proceedings of the 10th International Coastal Symposium, 56(SI Fort Lauderdale), 1350–1354, 2009.

GÜNTHER, D.; HATTENDORF, B. Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(3), 255–265, 2005.

GÜNTHER-LEOPOLD, I.; WERNLI, B.; KOPAJTIC, Z.; GÜNTHER, D. Measurement of isotope ratios on transient signals by MC-ICP?MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(2), 241–249, 2004.

HALLIDAY, A.; REHKÄMPER, M.; LEE, D.-C.; YI, W. Early evolution of the Earth and Moon: new constraints from Hf-W isotope geochemistry. *Earth and Planetary Science Letters*, 142(1–2), 75–89, 1996.

HALLMANN, N.; BURCHELL, M.; SCHÖNE, B. R.; IRVINE, G. V.; MAXWELL, D. High-resolution sclerochronological analysis of the bivalve mollusk *Saxidomus gigantea* from Alaska and British Columbia: techniques for revealing environmental archives and archaeological seasonality. *Journal of Archaeological Science*, 36(10), 2353–2364, 2009.

HEILBRON, M.; SILVA, L. G. DO E.; ALMEIDA, J. C. H.; TUPINAMBÁ, M.; PEIXOTO, C.; VALERIANO, C. DE M.; LOBATO, M.; RODRIGUES, S. W. DE O.; RAGATKY, C. D.; SILVA, M. A.; MONTEIRO, T.; FREITAS N. C.; DE MIGUENS, D.; GIRÃO, R. Proterozoic to Ordovician geology and tectonic evolution of Rio de Janeiro State, SE-Brazil: insights on the central Ribeira Orogen from the new 1:400,000 scale geologic map. *Brazilian Journal of Geology*, 50(2), 2020.

HOLLAND, H. A.; SCHÖNE, B. R.; MARALI, S.; JOCHUM, K. P. History of bioavailable lead and iron in the Greater North Sea and Iceland during the last millennium – A bivalve sclerochronological reconstruction. *Marine Pollution Bulletin*, 87(1–2), 104–116, 2014.

ICMBIO. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Plano de Manejo da Estação Ecológica de Tamoios - Fase 1 Encarte 5 - Diagnóstico da Unidade de Conservação, Diretoria de Unidades de Conservação de Proteção Integral, 2000. Relatório técnico.

INEA. Instituto Estadual do Ambiente. Parque Estadual da Ilha Grande (PEIG): Plano de manejo (fase 2). Instituto Estadual do Ambiente, 2013. Relatório técnico.

JACOB, D. E.; SOLDATI, A. L.; WIRTH, R.; HUTH, J.; WEHRMEISTER, U.; HOFMEISTER, W. Nanostructure, composition and mechanisms of bivalve shell growth. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(22), 5401–5415, 2008.

JAKIMSKA, A.; KONIECZKA, P.; SKORA, K.; NAMIESNIK, J. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: the role and impact of heavy metals on organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 2011.

JOCHUM, K. P.; SCHOLZ, D.; STOLL, B.; WEIS, U.; WILSON, S. A.; YANG, Q.; SCHWALB, A.; BÖRNER, N.; JACOB, D. E.; ANDREAE, M. O. Accurate trace element analysis of speleothems and biogenic calcium carbonates by LA-ICP-MS. *Chemical Geology*, 318–319, 31–44, 2012.

JOCHUM, K. P.; STOLL, B.; HERWIG, K.; WILLBOLD, M. Validation of LA-ICP-MS trace element analysis of geological glasses using a new solid-state 193 nm Nd:YAG laser and matrix-matched calibration. *J. Anal. At. Spectrom.*, 22(2), 112–121, 2007.

JOCHUM, K. P.; STOLL, B.; WEIS, U.; JACOB, D. E.; MERTZ-KRAUS, R.; ANDREAE, M. O. Non-Matrix-Matched Calibration for the Multi-Element Analysis of Geological and Environmental Samples Using 200 nm Femtosecond LA-ICP-MS: A Comparison with Nanosecond Lasers. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 38(3), 265–292, 2014.

JONES, D. S. Sclerochronology: Reading the Record of the Molluscan Shell: Annual Growth Increments in the Shells of Bivalve Molluscs Record Marine Climatic Changes and Reveal Surprising Longevity. *American Scientist*, 71(4), 384–391, 1983.

JUPITER, S.; ROFF, G.; MARION, G.; HENDERSON, M.; SCHRAMEYER, V.; MCCULLOCH, M.; HOEGH-GULDBERG, O. Linkages between coral assemblages and coral proxies of terrestrial exposure along a cross-shelf gradient on the southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs*, 27(4), 887–903, 2008.

KJERFVE, B.; DIAS G. T. M.; FILIPPO, A.; GERALDES, M. C. Oceanographic and environmental characteristics of a coupled coastal bay system: Baía de Ilha Grande - Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brazil. *Regional Studies in Marine Science*, 41, 101594, 2021.

KRAUSE-NEHRING, J.; BREY, T.; THORROLD, S. R. Centennial records of lead contamination in northern Atlantic bivalves (*Arctica islandica*). *Marine Pollution Bulletin*, 64(2), 233–240, 2012.

LARES, M. L.; RIVERO, L. E.; HUERTA-DIAZ, M. A. Cd concentration in the soft tissue vs. the nacreous layer of *Mytilus californianus*. *Marine Pollution Bulletin*, 50(11), 1373–1381, 2005.

LATKOCZY, C.; GÜNTHER, D. Enhanced sensitivity in inductively coupled plasma sector field mass spectrometry for direct solid analysis using laser ablation (LA-ICP-SFMS). *J. Anal. At. Spectrom.*, 17(10), 1264–1270, 2002.

LAVIGNE, M.; GROTTOLI, A. G.; PALARDY, J. E.; SHERRELL, R. M. Multi-colony calibrations of coral Ba/Ca with a contemporaneous in situ seawater barium record. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 179, 203–216, 2016.

LAZARETH, C. E.; PUTTEN, E. V.; ANDRÉ, L.; DEHAIRS, F. High-resolution trace element profiles in shells of the mangrove bivalve *Isognomon ephippium*: a record of environmental spatio-temporal variations? *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57(5–6), 1103–1114, 2003.

LAZARTIGUES, A. V.; SIROIS, P.; SAVARD, D. LA-ICP-MS Analysis of Small Samples: Carbonate Reference Materials and Larval Fish Otoliths. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2014.

LINGARD, S. M.; EVANS, R. D.; BOURGOIN, B. P. Method for the estimation of organic-bound and crystal-bound metal concentrations in bivalve shells. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 1992.

LIU, B.; LV, L.; AN, M.; WANG, T.; LI, M.; YU, Y. Heavy metals in marine food web from Laizhou Bay, China: Levels, trophic magnification, and health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 841, 156818, 2022.

LUO, H.; WANG, Q.; GUAN, Q.; MA, Y.; NI, F.; YANG, E.; ZHANG, J. Heavy metal pollution levels, source apportionment and risk assessment in dust storms in key cities in Northwest China. *Journal of Hazardous Materials*, 422, 126878, 2022.

MACHIDA, R.; NAKAZAWA, T.; FURUTA, N. Temporal Changes of Fractionation Index Caused by Changes in the Large Size of Ablated Particles in Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Sciences*, 31(5), 345–355, 2015.

MAHIQUES, M. M. DE; FURTADO, V. V. Utilização da análise dos componentes principais na caracterização dos sedimentos de superfície de fundo da Baía da Ilha Grande (RJ). *Boletim Do Instituto Oceanográfico*, 37(1), 01–19, 1989.

MARIN, F. The formation and mineralization of mollusk shell. *Frontiers in Bioscience*, S4(3), 321, 2012.

MARUBINI, F.; FERRIER-PAGÈS, C.; FURLA, P.; ALLEMAND, D. Coral calcification responds to seawater acidification: a working hypothesis towards a physiological mechanism. *Coral Reefs*, 27(3), 491–499, 2008.

MAYK, D.; FIETZKE, J.; ANAGNOSTOU, E.; PAYTAN, A. LA-MC-ICP-MS study of boron isotopes in individual planktonic foraminifera: A novel approach to obtain seasonal variability patterns. *Chemical Geology*, 531, 119351, 2020.

MEIBOM, A.; YURIMOTO, H.; CUIF, J.; DOMART-COULON, I.; HOULBREQUE, F.; CONSTANTZ, B., DAUPHIN, Y.; TAMBUITÉ, E.; TAMBUITÉ, S.; ALLEMAND, D.;

WOODEN, J.; DUNBAR, R. Vital effects in coral skeletal composition display strict three-dimensional control. *Geophysical Research Letters*, 33(11), 2006.

MEIJA, J.; YANG, L.; MESTER, Z.; STURGEON, R. E. Correction of Instrumental Mass Discrimination for Isotope Ratio Determination with Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. In F. Vanhaecke & P. Degryse (Eds.), *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*. First Edition, 113–137, Wiley, 2012.

MIRANDA, L. B.; IKEDA, Y.; CASTRO FILHO, B. M.; PEREIRA FILHO, N. Note on the occurrence of saline fronts in the Ilha Grande (RJ) region. *Boletim Do Instituto Oceanográfico*, 26(2), 249–256, 1977.

MISHRA, R.; SINGH, E.; KUMAR, A.; SINGH, A. K.; MADHAV, S.; SHUKLA, S. K.; KUMAR, S. Metal pollution in marine environment: sources and impact assessment. In *Metals in Water*. 175–193, Elsevier, 2023.

MOREL, F. M. M.; PRICE, N. M. The Biogeochemical Cycles of Trace Metals in the Oceans. *Science*, 300(5621), 944–947, 2003.

MUDGE, S. M.; DUCE, C. E. Identifying the source, transport path and sinks of sewage derived organic matter. *Environmental Pollution*, 136(2), 209–220, 2005.

NASCIMENTO, D. N.; SALOMÃO, M. D. S.; MANE, M. A.; GERALDES, M. C.; APPI, C.; ALVES MARTINS, M. V. Marine transgression records in the Sepetiba Bay region (RJ-Brazil) by gpr and ground magnetic survey. *Journal of Sedimentary Environments*, 4(4), 518–539, 2019.

O'DAY, P. A.; VLASSOPOULOS, D.; ROOT, R.; RIVERA, N. The influence of sulfur and iron on dissolved arsenic concentrations in the shallow subsurface under changing redox conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(38), 13703–13708, 2004.

PACS. Instituto Políticas Alternativas para o Cone Sul. Baía de Sepetiba: fronteira do desenvolvimentismo e os limites para a construção de alternativas, 2015. Relatório técnico.

PENO-20793. COPPE-UFRJ. Geração de Campos de Correntes 3D para Planejamento de Operações de Navegação no Terminal Portuário Tebig na Baía da Ilha Grande, RJ, Descrição: Tem por objetivo a geração de campos de corrente tridimensionais (3D), para planejamento de operações de navegação no Terminal Portuário TEBIG na Baía da Ilha Grande, 2017. Programa de Engenharia Oceânica, Área de Engenharia Costeira e Oceanográfica, COPPE/UFRJ Relatório técnico.

PESSOA, I.; CUNHA, B.; COELHO, M.; ROMERO, L. F.; TAVARES, A. D.; ANTONIOLI, L.; MOTERANI, A. C. A Practical Procedure for Analysis of Lead Isotopes in Bivalve Shells Using Laser Ablation Multicollector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-MC-ICP-MS). *Applied Spectroscopy*, 76(12), 1440–1451, 2022.

PESSOA I; FERNANDEZ M; TOSTE R; DORE M, PARAHYBA, M. IMPOSEX in a touristic area in Southeastern Brazilian coast. *Journal of Coastal Research*, SI 56,10th International Coastal Symposium, Lisbon, 881–884, 2009.

Pinheiro, L. A. Análise Hidro-sedimentológica de Eventual Ruptura da Restinga da Marambaia, Baía de Sepetiba, RJ. Tese de Doutorado. Programa de Engenharia Oceânica, Área de Engenharia Costeira e Oceanográfica, COPPE/UFRJ, 2015.

PRICE, G. D.; PEARCE, N. J. G. Biomonitoring of pollution by *Cerastoderma edule* from the British Isles: a Laser Ablation ICP-MS study. *Marine Pollution Bulletin*, 34(12), 1025–1031, 1997.

PROUTY, N. G.; HUGHEN, K. A.; CARILLI, J. Geochemical signature of land-based activities in Caribbean coral surface samples. *Coral Reefs*, 27(4), 727–742, 2008.

PUTTEN, E. VANDER; DEHAIRS, F.; KEPPENS, E.; BAEYENS, W. High resolution distribution of trace elements in the calcite shell layer of modern *mytilus edulis*: environmental and biological controls. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(6), 997–1011, 2000.

RUNNALLS, L. A.; COLEMAN, M. L. Record of natural and anthropogenic changes in reef environments (Barbados West Indies) using laser ablation ICP-MS and sclerochronology on coral cores. *Coral Reefs*, 22(4), 416–426, 2003.

SANTOS, A.; ROSMAN, P.; PEIXOTO, R.; PONTE, L. Projeto Baías do Brasil - Baías de Ilha Grande e Sepetiba, Rio de Janeiro, 2018. Programa de Engenharia Oceânica, Área de Engenharia Costeira e Oceanográfica, COPPE/UFRJ. Relatório técnico.

SCHÖNE, B. R.; ZHANG, Z.; JACOB, D.; GILLIKIN, D. P.; TKEN, T.; NBERG, D., MCCONNAUGHEY, T.; SOLDATI, A. Effect of organic matrices on the determination of the trace element chemistry (Mg, Sr, Mg/Ca, Sr/Ca) of aragonitic bivalve shells *Arctica islandica*. Comparison of ICP-OES and LA-ICP-MS data. *GEOCHEMICAL JOURNAL*, 44(1), 23–37, 2010.

SEMADS. Bacias hidrográficas e rios fluminenses: síntese informativa por macrorregião ambiental (Vol. 3, p. 73). Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, 2001. Relatório técnico.

SHOTYK, W.; WAYNE NESBITT, H.; FYFE, W. S. Natural and antropogenic enrichments of trace metals in peat profiles. *International Journal of Coal Geology*, 20(1–2), 49–84, 1992.

SILVA, A. G.; PAULA, A. F.; FLEURY, B. G.; CREED, J. C. Eleven years of range expansion of two invasive corals (*Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*) through the southwest Atlantic (Brazil). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 141, 9–16, 2014.

SINCLAIR, D. J. Correlated trace element “vital effects” in tropical corals: A new geochemical tool for probing biomineralization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(13), 3265–3284, 2005.

STECHER, H. A.; KOGUT, M. B. Rapid barium removal in the Delaware estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63(7–8), 1003–1012, 1999.

TAMBUTTÉ, S.; HOLCOMB, M.; FERRIER-PAGÈS, C.; REYNAUD, S.; TAMBUTTÉ, É.; ZOCCOLA, D.; ALLEMAND, D. Coral biomineralization: From the gene to the environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 408(1–2), 58–78, 2011.

VANNUCI-SILVA, M.; DE SOUZA, J. M.; DE OLIVEIRA, F. F.; DE ARAÚJO, M. A. G.; FRANCIONI, E.; EISMANN, C. E.; KIANG, C. H.; GOVONE, J. S.; BELZUNCE-SEGARRA, M. J.; MENEGÁRIO, A. A. Bioavailability of Metals at a Southeastern Brazilian Coastal Area of High Environmental Concern Under Anthropic Influence: Evaluation Using Transplanted Bivalves (*Nodipecten nodosus*) and the DGT Technique. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(6), 222, 2017.

WEINER, S.; LEVI-KALISMAN, Y.; RAZ, S.; ADDADI, L. Biologically formed amorphous calcium carbonate. *Connective Tissue Research*, 44 Suppl 1, 214–218, 2003.

WILLIAMS, B.; RISK, M.; STONE, R.; SINCLAIR, D.; GHALEB, B. Oceanographic changes in the North Pacific Ocean over the past century recorded in deep-water gorgonian corals. *Marine Ecology Progress Series*, 335, 85–94, 2007.