



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

JÚLIA CINTRA ALMEIDA

**BIOCIDAS DE TERCEIRA GERAÇÃO NO SISTEMA ESTUARINO DO RIO  
CAPIBARIBE (SERC), RECIFE - PERNAMBUCO**

Recife

2021

JÚLIA CINTRA ALMEIDA

**BIOCIDAS DE TERCEIRA GERAÇÃO NO SISTEMA ESTUARINO DO RIO  
CAPIBARIBE (SERC), RECIFE - PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Oceanografia.

**Área de concentração:** Oceanografia Abiótica.

**Orientadora:** Profa. Dra. Eliete Zanardi-Lamardo.

Recife

2021

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

A447b Almeida, Júlia Cintra.  
Biocidas de terceira geração no Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC),  
Recife – Pernambuco / Júlia Cintra Almeida. – 2021.  
98 f.: il., fig., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Eliete Zanardi-Lamardo.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.  
Departamento de Oceanografia, Recife, 2021.  
Inclui referências.

1. Oceanografia. 2. Biocidas de 3ª geração. 3. Águas estuarinas. 4. Material  
particulado em suspensão. 5. Sedimentos. I. Zanardi-Lamardo, Eliete  
(Orientadora). II. Título.

UFPE

551.46 CDD (22. ed.)

BCTG/2022-37

JÚLIA CINTRA ALMEIDA

**BIOCIDAS DE TERCEIRA GERAÇÃO NO SISTEMA ESTUARINO DO RIO  
CAPIBARIBE (SERC), RECIFE - PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Oceanografia. Área de concentração: Oceanografia Abiótica.

Aprovada em: 16/08/2021.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Eliete Zanardi-Lamardo (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Carlos Augusto França Schettini (Examinador Externo)  
Universidade Federal do Rio Grande

---

Dra. Fiamma Eugênia Lemos Abreu (Examinadora Externa)  
Universidade Federal do Rio Grande

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai e à minha mãe pelo apoio incondicional, pelos inúmeros conselhos, pelos puxões de orelha e por todo amor. Sou imensamente grata por tudo que vocês fizeram e fazem por mim. Essa conquista não seria possível sem vocês.

Ao meu irmão, pela paciência em esclarecer minhas intermináveis dúvidas e lidar com meu jeito tagarela, pelas risadas e conversas e por sempre me incentivar. Uma das maiores sortes que eu tenho na vida é ter você como irmão e amigo.

À minha querida orientadora Eliete, por ter aceitado me orientar e por ter me acolhido de braços abertos quando tudo era novo e incerto. Obrigada pela atenção, carinho, respeito, paciência, confiança e ensinamentos ao longo dessa jornada.

Aos meus amigos Lucas, Sam, Deco e Marcão, por serem meu porto seguro em Recife, amenizando a saudade de casa e da família. Ter vocês ao meu lado tornou esse período mais leve e repleto de boas recordações.

À minhas amigas Mica, Mari, Lay e Maria, pela amizade que ficou ainda mais forte, apesar dos mais de 800 km de distância. Obrigada por tudo – vocês são perfeitas!

À toda a equipe do OrganoMAR pelo acolhimento e companhia, principalmente nos dias mais intensos e estressantes. Roxanny e Lino, obrigada pela paciência e disponibilidade no laboratório e, juntamente com Lia, pela ajuda na coleta. Aprendi muito com cada um de vocês e saibam que sempre poderão contar comigo.

À minha prima Adriana, por se fazer presente mesmo do outro lado do mundo, lutando contra o fuso-horário pra jogar conversa fora, celebrar minhas conquistas ou só pra saber como eu estava. Você é uma das pessoas mais importantes da minha vida e minha saudade diária.

Aos professores do PPGO pelos conhecimentos compartilhados.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

## RESUMO

Biocidas anti-incrustantes são compostos químicos adicionados às tintas que revestem embarcações e/ou estruturas submersas a fim de evitar a bioincrustação. Esses compostos foram aperfeiçoados ao longo dos anos e são divididos em 3 gerações – os biocidas da última geração (co-biocidas ou biocidas de reforço) são comumente utilizados devido à menor toxicidade e menor persistência ambiental. Os objetivos deste estudo foram (i) sintetizar os estudos realizados quanto à ocorrência ambiental e distribuição destes biocidas na América Latina e Caribe e reportar as lacunas existentes; e (ii) investigar a presença dos biocidas clorotalonil, diclofluanida e Irgarol no Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC). A revisão bibliográfica mostrou que os estudos sobre biocidas de 3ª geração nos países latino americanos e região caribenha ainda são limitados (a maioria foi realizada no Brasil, nas matrizes água e sedimento, e o Irgarol foi o composto mais detectado) e que, apesar do predomínio dos estudos brasileiros, não há dados disponíveis sobre a ocorrência de biocidas de reforço no estado de Pernambuco. A metodologia analítica proposta para a matriz aquosa (extração em fase sólida e quantificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) foi implantada no Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR). Amostras de água, sedimentos e material em suspensão foram coletadas considerando fontes potenciais no SERC - marinas, porto, confluência de rios e zona de turbidez máxima (ZTM). O clorotalonil não foi detectado em nenhuma matriz e o Irgarol foi detectado apenas no sedimento, com concentrações entre <1,0 e 3,4 ng/g. A diclofluanida foi detectada na água (4,6 a 24,2 ng/L), no material particulado (4,9 a 21,6 ng/L) e no sedimento (1,3 a 25,1 ng/g). As maiores concentrações de diclofluanida na água e no material particulado foram observadas na ZTM e na confluência dos rios, onde a hidrodinâmica local favorece o acúmulo dos contaminantes na coluna d'água. Nos sedimentos, as maiores concentrações foram detectadas nas imediações das marinas, sugerindo que (i) as embarcações são fontes potenciais de biocidas; (ii) a baixa hidrodinâmica favorece a deposição do material particulado; e (iii) a presença de locais para manutenção de embarcações podem contribuir com esse aporte através das partículas de tintas anti-incrustantes. Este estudo reenfaz a importância da hidrodinâmica local na distribuição dos contaminantes dentro do sistema estuarino e reporta, pela primeira vez, a ocorrência de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração no SERC.

**Palavras-chave:** biocidas de 3ª geração; águas estuarinas; material particulado em suspensão; sedimentos.

## ABSTRACT

Antifouling biocides are chemical compounds added to paints that coat vessels and/or submerged structures to prevent biofouling. These compounds have been improved over the years and are divided into 3 generations – the biocides from the last one, known as co-biocides or booster biocides, are commonly used due to lower toxicity and lower environmental persistence. The objectives of this study were (i) to synthesize the studies regarding the environmental occurrence and distribution of these biocides in Latin America and the Caribbean and report existing gaps and (ii) to investigate the presence of the biocides chlorothalonil, dichlofluanid, and Irgarol in the Capibaribe Estuarine System (CES). The literature review showed that studies about 3<sup>rd</sup> generation biocides in Latin American countries and the Caribbean are still limited (the majority was carried out in Brazil, in water and sediment matrices, and Irgarol was the most detected compound) and that despite the predominance of Brazilian studies, there is no data available on the occurrence of booster biocides in the state of Pernambuco. The proposed methodology for the aqueous matrix (solid-phase extraction and quantification by gas chromatography-mass spectrometry) were implemented at the Laboratory of Organic Compounds in Coastal and Marine Ecosystems (OrganoMAR). Water, sediments, and suspended particulate matter samples were collected considering potential sources along the CES – marinas, port, river confluence, and estuarine turbidity maximum zone (TMZ). Chlorothalonil was not detected in any matrix and Irgarol was only detected in sediments, with concentrations between <1.0 and 3.4 ng/g. Dichlofluanid was detected in water (4.6 to 24.2 ng/L), particulate matter (4.9 to 21.6 ng/L), and sediment (1.3 to 25.1 ng/g). The highest concentrations of dichlofluanid in water and particulate matter were observed in the ZTM and at the confluence of the rivers, where local hydrodynamics favor the accumulation of contaminants in the water column. In the sediments, the highest concentrations were detected in the vicinity of the marinas, suggesting that (i) vessels are potential sources of booster biocides; (ii) low hydrodynamics favors the deposition of particulate matter; and (iii) the presence of boat maintenance facilities can contribute to the input of biocides through antifouling paint particles. This study re-emphasizes the importance of local hydrodynamics in the distribution of contaminants within the estuarine system and reports, for the first time, the occurrence of 3<sup>rd</sup> generation antifouling biocides in CES.

**Keywords:** booster biocides; estuarine waters; suspended particulate matter; sediments.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC) e seus principais contribuintes: Rio Capibaribe, Rio Jordão (J), Rio Tejipió (T) e Canal de Maré do Pina (P)	30
Figura 2 –	Pontos de amostragem no Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC)	31
Figura 3 –	Fluxograma do processo de extração em fase sólida (SPE)	40
Figura 4 –	Fluxograma da metodologia utilizada para extração dos biocidas em sedimento e no MPS	42
Figura 5 –	Ocorrência de biocidas de reforço em diferentes matrizes ambientais e países da América Latina	50
Figura 6 –	Curvas analíticas preparadas em n-hexano para os três biocidas anti-incrustantes estudados	67
Figura 7 –	Box-plot com as concentrações de diclofluanida ( $\text{ng L}^{-1}$ ) nas três campanhas. Q1, Q2 e Q3 são os quartis (25, 50 e 75%, respectivamente). Círculos representam a média e os asteriscos são os outliers	72
Figura 8 –	Distribuição da diclofluanida no MPS e na água em amostras do SERC. Barras indicam o desvio padrão ( $n = 6$ ) e os números indicam os pontos de coleta	76
Figura 9 –	Concentrações médias $\pm$ desvio padrão ( $n = 3$ ) de Irgarol e diclofluanida em sedimentos do SERC	78
Figura 10 –	Concentrações de diclofluanida em amostras de água ( $\text{ng L}^{-1}$ ), MPS ( $\text{ng L}^{-1}$ ) e sedimento ( $\text{ng g}^{-1}$ ) do SERC. Barras indicam o desvio padrão para água ( $n = 53$ ), MPS ( $n = 37$ ) e sedimento ( $n = 20$ )	81

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Propriedades e características físico-químicas dos biocidas de reforço escolhidos	19
Tabela 2 –	Métodos analíticos para detecção simultânea de biocidas anti-incrustantes	25
Tabela 3 –	Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem no SERC	32
Tabela 4 –	Solventes utilizados nas análises químicas	34
Tabela 5 –	Parâmetros cromatográficos utilizados para determinação dos biocidas de 3ª geração	42
Tabela 6 –	Tempos de retenção, fragmentos característicos e abundância relativa dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração	43
Tabela 7 –	Atributos analisados para inclusão dos artigos	49
Tabela 8 –	Principais informações dos estudos que avaliaram a toxicidade de biocidas anti-incrustantes de terceira geração sobre a biota aquática	54
Tabela 9 –	Metodologias analíticas para determinação de biocidas de reforço anti-incrustantes em matrizes ambientais na América Latina	59
Tabela 10 –	Ocorrência mundial de alguns biocidas de reforço em amostras de água e sedimento	62
Tabela 11 –	Concentrações ambientais de biocidas anti-incrustantes de terceira geração em amostras de água, biota e sedimento	64
Tabela 12 –	Equações de regressão linear, coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e faixas lineares dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração estudados	68
Tabela 13 –	Valores médios de repetitividade (CV) e recuperação ( $n = 3$ ) do método utilizado para análise de biocidas anti-incrustantes em amostras de água fortificada	69
Tabela 14 –	Valores médios de repetitividade (CV) e recuperação ( $n = 3$ ) dos biocidas anti-incrustantes em amostras de sedimento fortificado	70
Tabela 15 –	Salinidade e intervalo de tempo (min) entre a coleta e o estofo da maré vazante (valores negativos representam o intervalo antes do estofo da maré vazante e valores positivos representam o intervalo após o estofo da maré)	71

Tabela 16 –	Concentrações médias ( $n = 3$ ) ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) da diclofluanida em amostras de água do SERC	71
Tabela 17 –	Concentrações médias ( $n = 3$ ) ( $\text{ng L}^{-1}$ ) da diclofluanida em amostras de MPS	75
Tabela 18 –	Concentrações médias ( $\text{ng g}^{-1}$ ) e desvio padrão ( $n = 3$ ) dos biocidas irgarol e diclofluanida em amostras de sedimento superficial do SERC	77

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACE	<i>Assessment of Antifouling Agents in Coastal Environments</i>
AF	Amostras fortificadas
ANVISA	Associação Nacional de Vigilância Sanitária
ASE	Extração Acelerada por Solvente (do inglês <i>Accelerated Solvent Extraction</i> )
BPD	<i>Biocidal Products Directive</i>
BPR	<i>Biocidal Products Regulation</i>
CA	Controle analítico
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
COEs	Compostos organoestânicos
CV	Coefficiente de variação
DBT	Dibutilestanho
DCOIT	4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona
DMSA	N,N-dimetilaminossulfanilida
DMST	N,N-dimetil-N'-p-tolilsulfamida
FUSE	Extração Assistida por Microondas Focalizada (do inglês <i>Focused Ultrasound-Assisted Extraction</i> )
GC	Cromatografia Gasosa (do inglês <i>Gas Chromatography</i> )
GC-ECD	Cromatografia Gasosa com Detecção por Captura De Elétrons (do inglês <i>Gas Chromatography Coupled to Electron Capture Detector</i> )
GC-FTD	Cromatografia Gasosa com Detecção Termiônica De Chama (do inglês <i>Gas Chromatography Coupled to Flame Thermionic Detector</i> )
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (do inglês <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> )
GC-PCI-NCS-MS-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa Sequencial e Ionização Química Positiva e Negativa (do inglês <i>Gas Chromatography Coupled to Positive and Negative Chemical Ionisation Tandem Mass Spectrometry</i> )
GPS	<i>Global Positioning System</i>
HPLC-APCI-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas e Ionização Química de Pressão Atmosférica (do inglês <i>High</i>

	<i>Performance Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry</i> )
HPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas sequencial (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry</i> )
IMO	<i>International Maritime Organization</i>
IE	Impacto de elétrons (do inglês <i>Electron Ionization</i> )
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
K <sub>oc</sub>	Coefficiente de partição água-carbono orgânico
K <sub>ow</sub>	Coefficiente de partição octanol-água
LC-ESI-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas Sequencial e Ionização por Eletrospray (do inglês <i>Liquid Chromatography Electrospray Ionisation Tandem Mass Spectrometry</i> )
LD	Limite de detecção
LLE	Extração líquido-líquido (do inglês <i>Liquid-Liquid Extraction</i> )
LQ	Limite de quantificação
min	Minuto
m/z	Relação massa/carga
MAE	Extração Assistida por Micro-ondas (do inglês <i>Microwave-Assisted Extaction</i> )
MBT	Monobutilestano
MM	Massa molecular
MPS	Material particulado em suspensão
MRC	Material de referência certificado
MS	Espectrômetro de Massas (do inglês <i>Mass Spectrometry</i> )
ND	Não detectado
NORMAM-23	Normas da Autoridade Marítima Para o Controle de Sistemas Anti-incrustantes em Embarcações
PI	Padrão interno ( <i>surrogate</i> )
PICG	Padrão interno cromatográfico ( <i>internal standard</i> )
PTA	Partículas de tintas anti-incrustantes
rpm	Rotação por minuto
s	Desvio padrão absoluto

SBSE	Extração Sortiva em Barra de Agitação (do inglês <i>Stir Bar Sorptive Extraction</i> )
SEM	Solução estoque mista
SERC	Sistema Estuarino do Rio Capibaribe
SIM	Modo de monitoramento de íons selecionado (do inglês <i>Selected Ion Monitoring</i> )
SPE	Extração em fase sólida (do inglês <i>Solid-Phase Extraction</i> )
STM	Solução trabalho mista
TBT	Tributilestanho
TCMTB	2-(tiocianometiltio) benzotiazol
TD-GC-MS/MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas Sequencial e Detecção por Dessorção Térmica (do inglês <i>Thermal Desorption-Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry</i> )
TPhT	Trifenilestanho
UAE	Extração assistida por ultrassom (do inglês <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i> )
VA-MSPD	Dispersão da Matriz em Fase Sólida Assistida por Vórtex (do inglês <i>Vortex-Assisted Matrix Solid-Phase Dispersion</i> )
ZTM	Zona de turbidez máxima

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
1.1	BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO	18
1.2	LEGISLAÇÃO	22
1.3	MÉTODOS ANALÍTICOS	24
1.4.	PROPOSTA DA DISSERTAÇÃO	26
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b>	<b>28</b>
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>29</b>
3.1	DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	29
3.2	DESCRIÇÃO DOS PONTOS AMOSTRAIS	31
3.3	COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS	33
<b>3.3.1</b>	<b>Água e Material Particulado em Suspensão (MPS)</b>	<b>33</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Sedimento</b>	<b>33</b>
3.4	PADRÕES ANALÍTICOS E SOLVENTES	34
3.5	PREPARO DAS SOLUÇÕES	35
3.6	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	35
<b>3.6.1</b>	<b>Linearidade, curva analítica e faixa de trabalho</b>	<b>35</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Exatidão</b>	<b>36</b>
<b>3.6.3</b>	<b>Precisão</b>	<b>36</b>
<b>3.6.4</b>	<b>Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método</b>	<b>37</b>
3.7	CONTROLE DE QUALIDADE	37
<b>3.7.1</b>	<b>Controle analítico</b>	<b>37</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Branco analítico</b>	<b>38</b>
<b>3.7.3</b>	<b>Amostras fortificadas</b>	<b>38</b>
3.8	EXTRAÇÃO DOS BIOCIDAS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS	39
<b>3.8.1</b>	<b>Amostras de água</b>	<b>39</b>
<b>3.8.2</b>	<b>Amostras de MPS e sedimento</b>	<b>41</b>
<b>3.8.3</b>	<b>Instrumentação e parâmetros cromatográficos</b>	<b>42</b>
3.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	43
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>45</b>
4.1	MANUSCRITO: BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO NA AMÉRICA LATINA E CARIBE: UMA REVISÃO	45

<b>4.1.1</b>	<b>Introdução</b>	<b>45</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Biocidas de reforço em ambientes aquáticos</b>	<b>47</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Materiais e métodos</b>	<b>48</b>
4.1.3.1	Levantamento bibliográfico	48
4.1.3.2	Elaboração da tabela de atributos e inserção dos dados no SIG	49
<b>4.1.4</b>	<b>Resultados e discussão</b>	<b>49</b>
<b>4.1.4.1</b>	<b>Biocidas de reforço em matrizes ambientais</b>	<b>49</b>
<b>4.1.4.2</b>	<b>Efeitos tóxicos dos biocidas sobre a biota aquática</b>	<b>53</b>
<b>4.1.4.3</b>	<b>Metodologias analíticas</b>	<b>58</b>
<b>4.1.7</b>	<b>Considerações finais</b>	<b>60</b>
<b>4.1.8</b>	<b>Material suplementar</b>	<b>62</b>
4.2	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS	67
<b>4.2.1</b>	<b>Linearidade, curva analítica e faixa linear</b>	<b>67</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Precisão e exatidão</b>	<b>69</b>
4.3	BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO EM MATRIZES AMBIENTAIS	70
<b>4.3.1</b>	<b>Água</b>	<b>70</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Material particulado em suspensão (MPS)</b>	<b>75</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Sedimento</b>	<b>77</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Diclofluanida no SERC: integração entre as matrizes ambientais</b>	<b>81</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Cerca de 90% do comércio mundial é realizado por meio de uma rede de rotas marítimas utilizadas por aproximadamente 98.140 embarcações (IMO, 2006; UNCTAD, 2020). Apesar de serem importantes para a economia e o comércio marítimo globais, as operações portuárias causam impactos consideráveis tanto para o oceano quanto para a zona costeira, sendo mais relevantes em regiões com intenso fluxo de embarcações.

O transporte marítimo também é uma fonte potencial de poluição do ambiente marinho, embora seja considerado um meio de transporte relativamente limpo em comparação aos transportes aéreo e terrestre, quando se considera a emissão de CO<sub>2</sub> (CRISTEA *et al.*, 2013; MIOLA *et al.*, 2009; SJÖDIN; FLODSTRÖM, 2007). Os principais impactos são decorrentes do descarte de resíduos sólidos e orgânicos proveniente das embarcações e rejeitos de operações de dragagem, e do abastecimento e queima de combustíveis fósseis (ANTAQ, 2021). A liberação de compostos químicos como hidrocarbonetos do petróleo, metais e biocidas anti-incrustantes, além do transporte de espécies invasoras via água de lastro ou bioincrustação, também são fontes expressivas.

A bioincrustação consiste no estabelecimento de organismos sobre superfícies submersas artificiais (boias, píeres, embarcações, plataformas) ou naturais (carcaças, rochas, outros organismos). Embora seja frequente no ambiente marinho, tem se tornado um grande problema enfrentado principalmente pela indústria naval (DAFFORN; LEWIS; JOHNSTON, 2011; KOTRIKLA, 2009) pois pode comprometer a estabilidade da embarcação e camuflar possíveis danos estruturais (TURNER, 2010). Esse fenômeno aumenta a fricção casco-água, a necessidade de docagens e pode introduzir, ainda que de forma não intencional, espécies exóticas (KOTRIKLA, 2009) no local de destino das embarcações. Além disso, também aumenta o peso da embarcação e, conseqüentemente, o tempo de viagem e o consumo de combustível (CHAMP, 2000).

Alguns sistemas anti-incrustantes foram desenvolvidos, como *primers* e tintas, e são aplicados em estruturas submersas a fim de protegê-las da incrustação e evitar perdas financeiras (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007). Os *primers* são aplicados para facilitar a aderência da tinta, representando a primeira camada de revestimento. Em seguida, são aplicadas algumas camadas de tintas anti-incrustantes contendo aditivos químicos – esses aditivos são lixiviados gradativamente da camada superficial, dificultando a bioincrustação (DAFFORN; LEWIS; JOHNSTON, 2011). Dentre as diversas opções disponíveis no mercado, existem as tintas que utilizam copolímeros de autopolimento com e sem tributilestanho (TBT),

as tintas convencionais livres de TBT e tintas contendo os biocidas de reforço (DAFFORN; LEWIS; JOHNSTON, 2011). Destas, a última opção é comumente utilizada devido à sua disponibilidade no mercado e eficácia (SOON *et al.*, 2021). Entretanto, a aplicação desses revestimentos não impede completamente a bioincrustação, sendo necessária a remoção periódica para evitar o acúmulo excessivo de organismos (SOON *et al.*, 2021).

Os biocidas são utilizados como princípio ativo desde meados do século XIX, quando foram inventadas as primeiras tintas anti-incrustantes (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007). Esses biocidas foram substituídos à medida que tecnologias mais eficientes eram desenvolvidas e podem ser categorizados em três gerações: primeira (óxidos de zinco e cobre), segunda (compostos organoestânicos) e terceira (livres de organoestânicos) (FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007).

A primeira geração de tintas anti-incrustantes tem como base os óxidos de zinco e cobre (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007; FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007). Entretanto, algumas limitações tais como a resistência ao cobre apresentada por algumas espécies de algas, a baixa durabilidade (os aditivos são liberados rapidamente) e, conseqüentemente, a rápida perda de eficiência (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011), destacaram a necessidade de tintas mais eficazes no combate a bioincrustação.

A partir de então, tintas à base de compostos organoestânicos (COEs), como trifenilestanho (TPhT) e tributilestanho (TBT), começaram a ser produzidas e passaram a ser conhecidas como segunda geração. Essas tintas foram amplamente utilizadas por volta de 1960 (YEBRA; KIIL; DAM-JOHANSEN, 2004a) e, em 1980, cerca de 90% das embarcações mundiais já aplicavam esses revestimentos (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011). Tal sucesso comercial estava relacionado ao uso de copolímeros associados aos biocidas, que promovem uma taxa de liberação constante e mais lenta, garantindo maior eficiência e durabilidade (ABREU, 2016; GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003; HUGGETT *et al.*, 1992).

Do ponto de vista econômico, a utilização dessas tintas era viável, mas do ponto de vista biológico, efeitos a organismos não alvo começaram a ser observados, como bioacumulação em mamíferos e enfraquecimento do sistema imunológico dos peixes (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007) e ocorrência de imposex (FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007). O imposex - desenvolvimento de um pênis não funcional em gastrópodes fêmea - é um efeito típico da exposição à compostos organoestânicos (COEs). Após a constatação da elevada toxicidade apresentada pelo TBT, medidas restritivas quanto ao seu uso em tintas anti-incrustantes foram adotadas em meados dos anos 80 por países como Reino Unido, França,

Dinamarca e Canadá (CHAMP, 2000) a fim de reduzir as concentrações ambientais. Na ocasião, a quantidade de países com tais restrições não era representativa.

Em 2001, a Organização Marítima Mundial (IMO) propôs o banimento de tintas anti-incrustantes contendo COEs durante a Convenção Internacional sobre o Controle de Sistemas Anti-incrustantes Nocivos em Navios (Convenção AFS). A partir de 2003, foram proibidas novas aplicações dessas tintas e o banimento mundial entrou em vigor apenas em 2008 (IMO, 2001). Atualmente, a Convenção AFS conta com a participação de 91 países que, em conjunto, representam aproximadamente 96% da frota mercante global (IMO, 2021a).

Embora essas proibições tenham sido efetivas na diminuição das concentrações de TBT no ambiente aquático (EVANS; LEKSONO; MCKINNELL, 1995; LAW *et al.*, 2012), estudos recentes reportam a presença de TBT e seus produtos de degradação dibutilestanho (DBT) e monobutilestanho (MBT) ao longo de áreas costeiras asiáticas (CHEN *et al.*, 2017; WANG, X. *et al.*, 2019), europeias (ABRAHAM *et al.*, 2017), africanas (VAN GESSELLEN *et al.*, 2018) e sul-americanas (CASTRO *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2018). A detecção do TBT em estudos recentes pode representar resíduos antigos ou novos aportes oriundos do uso ilegal desse composto.

Os efeitos tóxicos causados pelo TBT chamaram a atenção para o desenvolvimento de tintas cujos impactos ambientais e efeitos aos organismos não alvo fossem menos severos ou inexistentes. Assim surgiu a terceira geração, abrangendo pelo menos 23 compostos químicos, dos quais 16 são homologados pela IMO para utilização em tintas anti-incrustantes (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011; GUARDIOLA *et al.*, 2012; IMO, 2005). Esses biocidas estão associados à matriz acrílica e apresentam baixa estabilidade no ambiente e toxicidade em comparação aos compostos organoestânicos (YEBRA; KIIL; DAM-JOHANSEN, 2004).

Esses compostos são conhecidos como co-biocidas ou biocidas de reforço, pois potencializam os efeitos causados pelos metais (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007), que passaram a ser bastante utilizados após o banimento do TBT. Muitas tintas anti-incrustantes contém compostos de cobre nas suas formulações (DUPRAZ *et al.*, 2018), comportando-se como a maior fonte local de cobre para o ambiente marinho (SRINIVASAN; SWAIN, 2007). Níquel e zinco também são combinados com os co-biocidas (LAGERSTRÖM, 2019; SOON *et al.*, 2021), sendo o último adicionado especialmente em tintas com baixos teores de cobre (EGARDT; NILSSON; DAHLLÖF, 2017).

O uso desses biocidas de reforço tem aumentado significativamente em estruturas portuárias, embarcações e até mesmo na agricultura, frente ao benefício que proporcionam. Por esta razão podem ser introduzidos no ambiente aquático de muitas formas. Após a pintura, os

compostos liberados na superfície da tinta são lixiviados por meio do atrito (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003) e liberados na coluna d'água (SOROLDONI *et al.*, 2018a). Partículas de tintas anti-incrustantes (PTA) e os resíduos gerados durante a remoção da tinta dos cascos das embarcações em procedimentos de manutenção ainda podem conter concentrações elevadas de biocidas, atuando como fontes pontuais de contaminação (SOROLDONI *et al.*, 2017). Outra via significativa de introdução é pelo escoamento superficial de solos contaminados por alguns biocidas anti-incrustantes que também são utilizados como herbicidas ou fungicidas (p. ex., diuron e clorotalonil).

Com o banimento do TBT, espera-se que ocorra um aumento nas concentrações de biocidas de terceira geração em ambientes aquáticos decorrente da intensificação do seu uso e considerando que esses compostos podem permanecer tanto na fração dissolvida quanto na particulada (material em suspensão ou sedimento). Informações sobre a presença, ocorrência e efeitos ambientais desses biocidas são primordiais para auxiliar os órgãos competentes no gerenciamento e tomadas de decisões para o manejo de áreas impactadas.

### 1.1 BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO

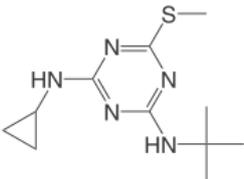
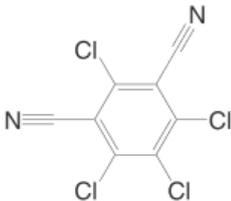
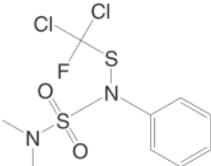
Apesar de serem menos tóxicos, alguns co-biocidas apresentam efeitos sobre organismos aquáticos não-alvo, como peixes, corais, invertebrados e crustáceos (BAO *et al.*, 2011; BELLAS, 2006; HALL *et al.*, 1999; OWEN *et al.*, 2002; WANG, H. *et al.*, 2011). O Irgarol atua inibindo a atividade fotossintética e prejudicando o transporte de elétrons nos cloroplastos, sendo altamente tóxico sobre os organismos autótrofos (MOHR *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2008) e menos eficaz sobre animais (ALBANIS *et al.*, 2002). O clorotalonil apresenta toxicidade sobre algumas espécies de invertebrados marinhos (BELLAS, 2006), crustáceos (CIMA *et al.*, 2008; FÉRNANDEZ-ALBA *et al.*, 2002), moluscos (BELLAS, 2006; ERNST *et al.*, 1991; GUERREIRO *et al.*, 2017) e peixes (ERNST *et al.*, 1991; LOPES *et al.*, 2019). Os dados sobre o destino ambiental da diclofluanida são limitados (ROLA *et al.*, 2020), bem como os dados de toxicidade sobre a biota aquática. A diclofluanida é considerada moderadamente tóxica para invertebrados marinhos (WANG, H. *et al.*, 2011), porém não existem dados de toxicidade para outras espécies aquáticas (AMARA *et al.*, 2018).

Os biocidas anti-incrustantes de terceira geração chegaram ao mercado após a proibição do uso do TBT e com o intuito de conciliar a menor toxicidade ambiental dos biocidas de 1ª geração e a alta eficiência dos de 2ª geração. Vários compostos foram sintetizados mas os biocidas mais utilizados são Irgarol 1051, clorotalonil, diclofluanida, DCOIT e TCMTB

(GARCÍA *et al.*, 2020). Informações sobre solubilidade, tempo de meia vida (matriz aquosa e sólida) e coeficientes de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) e água-carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) auxiliam na compreensão sobre o transporte e destino desses contaminantes no ambiente aquático (ABREU, 2016). Essas características físico-químicas devem ser avaliadas para melhor compreender o comportamento e os processos degradativos aos quais esses compostos estão susceptíveis, considerando também as características da região estudada.

O presente estudo escolheu os biocidas clorotalonil, diclofluanida e Irgarol, considerando as informações disponíveis na literatura, principalmente quanto à ocorrência ambiental desses compostos no Brasil, a frequência de utilização e suas características físico-químicas, detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades e características físico-químicas dos biocidas de reforço escolhidos

Parâmetro	Irgarol 1051	Clorotalonil	Diclofluanida
Estrutura química			
Massa molecular (g mol <sup>-1</sup> )	253,4	265,9	333,2
Solubilidade em água (25°C, mg L <sup>-1</sup> )	7	0,60	0,006
log K <sub>oc</sub>	3,3	2,64	3,1
log K <sub>ow</sub>	3,95	2,9	3,7
Ponto de ebulição (°C)	428	350	336
t/2 em água marinha	100-365 dias	<2 dias	< 1 dia
t/2 em sedimento	100-265 dias	< 2h	<10h

Fonte: adaptado de Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Garcia *et al.*, 2020; Soares *et al.*, 2021a. K<sub>oc</sub>: coeficiente de partição água-carbono orgânico; K<sub>ow</sub>: coeficiente de partição octanol-água; t/2: tempo de meia-vida.

## ▪ IRGAROL

Irgarol (2-*N*-*terc*-butil-4-*N*-ciclopropil-6-metilsulfanil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) é um poderoso herbicida pertencente ao grupo das triazinas e um dos biocidas mais frequentemente detectados no mundo (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011). Foi amplamente utilizado

em tintas anti-incrustantes como biocida de reforço (ZHANG *et al.*, 2019a) e reportado pela primeira vez como contaminante costeiro por Readman *et al.* (1993). Sua elevada toxicidade para organismos não-alvo (AMARA *et al.*, 2018; HALL *et al.*, 1999) resultou na sua inclusão, juntamente com o diuron, na lista dos "48 poluentes prioritários a serem monitorados em águas europeias" (EUROPEAN PARLIAMENT, 2013). Em 2016, seu uso em tintas anti-incrustantes foi proibido em países europeus (EUROPEAN COMMISSION, 2016).

Estudos prévios demonstraram que o Irgarol possui solubilidade moderada em água (7 mg L<sup>-1</sup>) e não sofre alterações por um período de até 36 dias em matriz aquosa (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011; OKAMURA; SUGIYAMA, 2004). Devido aos elevados coeficientes de partição água-carbono e octanol-água, o Irgarol é mais fortemente ligado aos sedimentos do que o clorotalonil e a diclofluanida (Tabela 1), tendendo a particionar preferencialmente nos sedimentos e material particulado (BARD; PEDERSEN, 1992; KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004)

O Irgarol apresenta meia-vida estimada em 100 – 365 dias na água marinha e 100 – 265 dias no sedimento (SOARES *et al.*, 2021a) e sua degradação pode ocorrer por vias biológicas ou químicas – biodegradação, fotodegradação ou hidrólise (TSANG; LEI; LAM, 2009). A hidrólise é a forma menos eficiente, enquanto a fotodegradação é a principal via para quebra da molécula desse composto, originando os produtos de degradação M1 (2-metiltio-4-*terc*-butilamino-6-amino-*s*-triazina), M2 (2-amino-propanal-4-*terc*-butilamino-6-metiltio-*s*-triazina) e M3 (2,4(diamino-di-*terc*-butil)-6-metiltio-*s*-triazina) (TSANG; LEI; LAM, 2009; ZHANG *et al.*, 2008). O M1 é o principal metabólito gerado e é mais persistente do que o composto parental (OKAMURA *et al.*, 2000; OMAE, 2003). Suspeita-se que o M2 apresente maior toxicidade em comparação ao Irgarol, enquanto o M3 pode ser potencialmente bioacumulativo na cadeia trófica (LAM *et al.*, 2006).

#### ▪ CLOROTALONIL

O clorotalonil (2,4,5,6-tetracloroisofaltonitrila) é um fungicida pertencente ao grupo químico das isofaltonitrilas, sendo utilizado como fungicida nas atividades agrícolas e como biocida em tintas anti-incrustantes (DELORENZO; FULTON, 2012; LOURENÇATO *et al.*, 2015). Dessa maneira, esse composto também pode contaminar as águas superficiais via escoamento superficial, processos erosivos ou deposição atmosférica, trazendo impactos para a biota aquática (GUARDIOLA *et al.*, 2012; USEPA, 1999). Apresenta baixa solubilidade em água (0,6 mg L<sup>-1</sup> a 25°C) e baixa persistência ambiental, que pode ser reduzida através da

biodegradação e fotodegradação na superfície da água, dificultando ainda mais a quantificação desse composto (CAUX *et al.*, 1996; KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004; SAKKAS *et al.*, 2002; VOULVOULIS, 2006).

Na coluna d'água, apresenta meia-vida de apenas algumas horas (CAUX *et al.*, 1996; SAKKAS *et al.*, 2002) mesmo em baixas concentrações, com a degradação ocorrendo de forma mais acelerada em águas doces (meia-vida entre 4 e 150 horas) (DAVIES, 1987). Em águas marinhas naturais ele é totalmente degradado após quatro semanas (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011). Os principais produtos de degradação são cloro-1,3-dicianobenzeno, dicloro-1,3-di-cianobenzeno, tricloro-1,3-dicianobenzeno e benzamida (SAKKAS *et al.*, 2002).

#### ▪ DICLOFLUANIDA

A diclofluanida (N-[dicloro(fluoro)metil]sulfanil-N-(dimetilsulfamoil)anilina pertence ao grupo químico dos organoclorados, apresenta baixa solubilidade em água ( $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ ) e  $K_{ow}$  de 3,7 (HAMWIJK *et al.*, 2005). Em razão da suas características físico-químicas, tende a apresentar elevada afinidade pelo material particulado e pelo sedimento (THOMAS; BROOKS, 2010), podendo trazer riscos aos organismos bentônicos. Possui meia-vida de apenas algumas horas na água do mar em diferentes temperaturas ( $< 53$  horas) (HAMWIJK *et al.*, 2005; SAKKAS; KONSTANTINOU; ALBANIS, 2001; VIANA *et al.*, 2019) e é rapidamente degradada.

Durante o processo de degradação, que ocorre através da fotodegradação, hidrólise e degradação anaeróbica, a diclofluanida pode gerar três metabólitos: DMSA (N,N-dimetilaminossulfanilida), n-diclorofluorometiltio-anilina e anilina (SAKKAS; KONSTANTINOU; ALBANIS, 2001; THOMAS *et al.*, 2003). O DMSA é o principal produto de degradação, é ambientalmente estável e permanece por longos períodos no ambiente (HAMWIJK *et al.*, 2005; SCHOUTEN *et al.*, 2005), porém sua degradação e persistência são influenciadas por fatores como incidência luminosa, atividade microbiana, pH do meio e teor de matéria orgânica (CLARK; WATKINS, 1978; SAKKAS; KONSTANTINOU; ALBANIS, 2001). Embora apresente baixa toxicidade em comparação com outros biocidas, alguns estudos já reportaram efeitos tóxicos em organismos marinhos (LEE, S. *et al.*, 2010; WANG, H. *et al.*, 2011).

## 1.2 LEGISLAÇÃO

Atualmente, a legislação referente ao uso de biocidas anti-incrustantes de terceira geração ainda está restrita a poucos países, principalmente na comunidade europeia. Isso pode ser justificado pela quantidade limitada de informações sobre comportamento e ocorrência desses compostos no meio ambiente, bem como os riscos resultantes da sua utilização (THOMAS; BROOKS, 2010). A carência de dados sobre contaminação e potenciais efeitos em ambientes costeiros e marinhos serviu de motivação para o desenvolvimento do Projeto ACE.

O Projeto ACE (*Assessment of Antifouling Agents in Coastal Environments*) teve início em 1998 e foi coordenado pelo Reino Unido, com parceira de países europeus como Holanda, Espanha, Grécia, Dinamarca, Suécia e França. Através da análise dos cinco biocidas mais utilizados na época (diuron, Irgarol, clorotalonil, diclofluanida e DCOIT) em amostras de água e sedimento, o projeto avaliou os níveis e comportamento ambientais, ameaças potenciais, ocorrência e distribuição desses biocidas em marinas, portos, estuários e águas costeiras européias (KONSTANTINO, 2006). A realização deste projeto resultou no registro desses biocidas na BPD (*Biocidal Products Directive*, Diretriz 98/8/EC), diretriz que autorizava a colocação de produtos biocidas no mercado e a sua utilização pelos Estados-membros (EUROPEAN PARLIAMENT, 1998). Entretanto, a divergência entre as regulamentações adotadas pelos países da União Europeia levou à revogação da BPD em 1 de setembro de 2013, data em que a BPR (*Biocidal Products Regulation*, Nº 585/2012) entrou em vigor. A BPR pretendia melhorar o funcionamento do mercado de produtos biocidas entre os países da União Europeia, a fim de assegurar um elevado nível de proteção às saúdes humana, animal e ambiental (EUROPEAN PARLIAMENT, 2012).

Em 2013, o Irgarol foi incluído na lista de substâncias prioritárias no domínio da política da água (Diretiva 2013/039/EU), e em 2016 seu uso como agente anti-incrustante não foi autorizado devido aos riscos inaceitáveis na avaliação de risco ambiental, além de ser tóxico e persistente (EUROPEAN COMMISSION, 2016). Em 2021, a IMO proibiu a aplicação e reaplicação de tintas anti-incrustantes contendo Irgarol a partir de 01 de janeiro de 2023 (IMO, 2021b). O Conselho da União Europeia também propôs o banimento do Irgarol em tintas anti-incrustantes e a venda e uso já estão proibidos na União Europeia (COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2021).

Ainda em 2016, o Comitê dos Produtos Biocidas aprovou a utilização da diclofluanida em produtos anti-incrustantes até 2025, exceto em embarcações que navegam em águas doces (ECHA, 2016). O clorotalonil não possui registro para uso em produtos anti-incrustantes nos

países europeus e seu uso como fungicida em plantações não foi aprovado (EUROPEAN COMMISSION, 2019).

Infelizmente a legislação é bastante limitada para países não pertencentes a Comunidade Europeia. Na Austrália, o clorotalonil possui registro para uso como fungicida, enquanto a diclofluanida é registrada para preservação de madeira – e ambos possuem aprovação para uso como constituinte ativo de produtos químicos (AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY, 2015). Sete co-biocidas não são registrados ou aprovados para uso, dentre eles o Irgarol, apesar de ter sido detectado em regiões da Grande Barreira de Corais (KROON *et al.*, 2020).

Na Nova Zelândia, a Autoridade de Proteção Ambiental proibiu, em 2013, a importação e fabricação de tintas contendo clorotalonil e Irgarol, permitindo apenas o uso e comercialização do estoque disponível (EPA, 2013). Diuron e ziram foram proibidos em 2017 e, a partir de 2023, será proibida a importação e fabricação de tintas contendo tiram. Tintas contendo diclofluanida podem ser utilizadas desde que sejam adotados controles adicionais para gestão de possíveis riscos ambientais (EPA, 2013).

No Japão, as tintas anti-incrustantes são registradas junto à Associação Japonesa de Fabricantes de Tintas, que examina se esses produtos estão em conformidade com a Convenção AFS. No total, 14 compostos possuem aprovação para uso, incluindo o Irgarol e o clorotalonil (SOON *et al.*, 2019). Além desses, o óxido cuproso, o cobre piritiona e o DCOIT também possuem o registro para uso, sendo os compostos mais utilizados como ingredientes ativos nas tintas disponíveis no mercado japonês (JPMA, 2021).

O Brasil não possui legislação quanto à aplicação de tintas anti-incrustantes contendo biocidas de terceira geração em embarcações ou em estruturas submersas, possibilitando a venda e aplicação de forma indiscriminada. Dentre os compostos deste grupo, o clorotalonil possui registro apenas para uso como fungicida (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2019), enquanto a concentração máxima permitida de diuron em águas potáveis é de 90  $\mu\text{g L}^{-1}$  de acordo com a Portaria 2.914/2011 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). A supervisão quanto a não-utilização de tintas anti-incrustantes à base de TBT é responsabilidade da Marinha do Brasil por meio da NORMAM-23 (MARINHA DO BRASIL, 2007). O texto da Convenção AFS, que visa a redução ou eliminação dos efeitos nocivos ao ambiente marinho e à saúde humana causados pelos sistemas anti-incrustantes, foi promulgado e entrou em vigor após a assinatura do Decreto Legislativo nº 8.345, assinado em 13 de novembro de 2014. Além desta convenção, a Resolução CONAMA Nº 454/2012 estabelece valores que devem ser comparados com os resultados de caracterização química do material a ser dragado, sendo classificados em níveis

1 e 2 -  $100^5$  e  $1000^5$   $\mu\text{g kg}^{-1}$  de TBT em águas salinas/salobras, respectivamente (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2012).

Embora a legislação referente aos biocidas anti-incrustantes de terceira geração esteja restrita a alguns poucos países, é importante ressaltar que processos naturais, como correntes marítimas e ventos, e atividades antrópicas, como o tráfego de embarcações, podem transportar os contaminantes para locais distantes da fonte (LOPES *et al.*, 2019).

### 1.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

As tintas anti-incrustantes podem conter até 04 biocidas de reforço em sua composição, resultando numa mistura química que varia de acordo com o fabricante, o país de origem da tinta e a legislação vigente nos países (ABREU, 2016). Visto que sua aplicação é indispensável nos cascos das embarcações, regiões com elevada densidade de embarcações (marinas, iates clubes, estaleiros e portos) estão sujeitas a maiores concentrações de biocidas anti-incrustantes no ambiente. As regiões portuárias e costeiras estão expostas a uma maior variedade de compostos químicos, oriundos das diferentes atividades desenvolvidas nestas áreas. Esta mistura de contaminantes se torna um grande desafio para os pesquisadores, seja do ponto de vista ambiental quanto analítico. Do ponto de vista ambiental, os contaminantes podem interagir entre si, causando efeitos sinérgicos, aditivos ou antagônicos às espécies aquáticas (BAO *et al.*, 2013; KOTTUPARAMBIL *et al.*, 2017; WANG, H. *et al.*, 2011); do ponto de vista analítico-operacional, a detecção simultânea de vários compostos é uma alternativa interessante para reduzir os custos e os tempos necessários para execução das análises, mas a diversidade molecular torna a análise quali e quantitativa bastante complexa.

No final da década de 1990, Voulvoulis; Scrimshaw; Lester (1999, 2000) propuseram métodos analíticos para determinação simultânea de biocidas anti-incrustantes em amostras de sedimento e água. Com o passar dos anos, a disponibilidade de informações acerca desses compostos motivou o desenvolvimento de uma variedade de métodos (Tabela 2).

Tabela 2 – Métodos analíticos para detecção simultânea de biocidas anti-incrustantes

<b>Analitos</b>	<b>Extração</b>	<b>Deteção</b>	<b>Referência</b>
<b>ÁGUA</b>			
Irgarol, diclofluanida, diuron e DCOIT	UE + SPE	HPLC-APCI-MS	MARTÍNEZ; BARCELÓ, 2001
Irgarol, clorotalonil, diclofluanida e DCOIT	SPE	GC-ECD e GC-FTD	SAKKAS <i>et al.</i> , 2002
Irgarol, clorotalonil, diclofluanida, DCOIT e TCMTB	SPE	GC-PCI-NCI-MS-MS	HERNANDO <i>et al.</i> , 2001
<b>ÁGUA E SEDIMENTO</b>			
Irgarol, DCOIT, DMSA e DMST	SPE + ASE	HPLC-MS/MS	KONING; BOLLMANN; BESTER, 2020
<b>SEDIMENTO</b>			
Diclofluanida, diuron, Irgarol, DCOIT e TCMTB	VA-MSPD + UAE + SPE	LC-ESI-MS/MS	CALDAS <i>et al.</i> , 2018
Clorotalonil, diclofluanida, Irgarol, DCOIT e TCMTB	FUSE + SBSE	TD-GC-MS/MS	GARCÍA <i>et al.</i> , 2020
Diclofluanida, diuron, Irgarol, DCOIT e TCMTB	VA-MSPD	HPLC-MS/MS	SOARES <i>et al.</i> , 2021b

Fonte: A autora (2021).

Uma das etapas mais críticas na análise de biocidas anti-incrustantes é o processo de extração dos analitos e preparação para identificação e quantificação. Essa etapa envolve os processos de extração, purificação e pré-concentração dos analitos que, por fim, serão separados e determinados através de cromatografia (SOARES *et al.*, 2021a).

No ambiente marinho, os biocidas são encontrados normalmente em concentrações traço, levando à necessidade da pré-concentração das amostras e redução dos limites de detecção (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2012). Para as amostras de água, as técnicas de extração mais utilizadas são a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE). Para o sedimento, as técnicas mais frequentes são agitação mecânica, extração utilizando Soxhlet, extração assistida por micro-ondas (MAE) ou ultrassom (UAE) e, mais recentemente, dispersão em matriz em fase sólida (MSPD) (GATIDOU *et al.*, 2005; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2012; SOARES *et al.*, 2021a).

A etapa de purificação, também chamada de clean-up, consiste na remoção de interferentes ou compostos indesejados que possam dificultar a detecção e quantificação dos analitos de interesse. A técnica mais comum é a extração em fase sólida (SPE), que pode ser realizada com uma variedade de cartuchos, tais como florisil, Oasis HLB e C18 (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2012; SOARES *et al.*, 2021a).

A separação e determinação dos analitos de interesse são realizadas via cromatografia, considerando as propriedades físico-químicas de cada composto para a escolha do detector mais adequado. Na cromatografia gasosa, o sistema de detecção mais utilizado é o espectrômetro de massas, apesar de os detectores por captura de elétrons e por ionização de chama também serem bastante utilizados (SOARES *et al.*, 2021a). Na cromatografia líquida, o espectrômetro de massas também é o mais utilizado, embora também sejam utilizados a ionização por eletropulverização e a ionização química de pressão atmosférica (SOARES *et al.*, 2021a). A maior frequência no uso do espectrômetro de massas deve-se à sua elevada capacidade de confirmação dos compostos de interesse através da relação massa/carga ( $m/z$ ).

#### 1.4 PROPOSTA DA DISSERTAÇÃO

A problemática ambiental envolvendo biocidas de terceira geração está muito aquém de ser totalmente elucidada. Propostas de regulação, monitoramento e mitigação precisam de subsídios que somente a comunidade científica pode fornecer através de metodologias analíticas adequadas, informações da presença e quantificação destes compostos em matrizes ambientais e experimentos ecotoxicológicos. O presente trabalho realizou uma análise minuciosa dos estudos desenvolvidos na América Latina e Caribe e reuniu as informações disponíveis na literatura quanto à presença no ambiente aquático, os efeitos tóxicos sobre a biota e as metodologias utilizadas para detecção e quantificação desses compostos em amostras ambientais.

Esta revisão identificou que nenhum estudo de contaminação por biocidas de terceira geração foi realizado no Estado de Pernambuco, que abriga diversos organismos marinhos distribuídos em um rico mosaico de ecossistemas. O Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC) é uma importante região estuarina localizada no Nordeste e que, apesar da intensa degradação, ainda é considerado um importante ecossistema do ponto de vista ecológico, turístico e socioeconômico para a cidade. Alguns estudos reportam a presença de metais, hidrocarbonetos, compostos organoclorados, esteróis e outros contaminantes provenientes de atividades antrópicas no SERC (FERNANDES *et al.*, 1999; MACIEL, 2015; MACIEL *et al.*,

2016; MOURA, 2016; RÉGIS *et al.*, 2018; SILVA; MACEDO; BRAYNER, 2010), sendo que apenas um (MACIEL *et al.*, 2018) investigou a presença de agentes anti-incrustantes de 2ª geração na região. Diante do exposto, este estudo investigou a presença dos biocidas de terceira geração clorotalonil, diclofluanida e Irgarol no SERC, visto que esse sistema estuarino apresenta uma intensa atividade portuária e náutica (recreação e pesca) que podem ser fontes consideráveis destes compostos para o ambiente.

Neste estudo, as hipóteses testadas foram: (i) diferentes compartimentos do SERC estão contaminados por biocidas de terceira geração usados em tintas anti-incrustantes; e (ii) as concentrações são diferentes em regiões específicas do SERC, com as maiores concentrações nas proximidades de iates clubes e marinas.

## 2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença de três biocidas anti-incrustantes de terceira geração (clorotalonil, diclofluanida e Irgarol) em matrizes ambientais (água, material particulado em suspensão e sedimento) coletadas no Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC), Recife – Pernambuco.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Compilar informações sobre as metodologias disponíveis, ocorrência ambiental e toxicidade dos biocidas de terceira geração na América Latina e Caribe;
- Implantar e validar uma metodologia adequada para determinação simultânea de clorotalonil, diclofluanida e Irgarol em amostras ambientais;
- Analisar e quantificar esses compostos em amostras do SERC;
- Identificar as áreas do SERC mais contaminadas por esses biocidas anti-incrustantes;
- Identificar o atual estado de contaminação do SERC quanto à presença desses compostos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

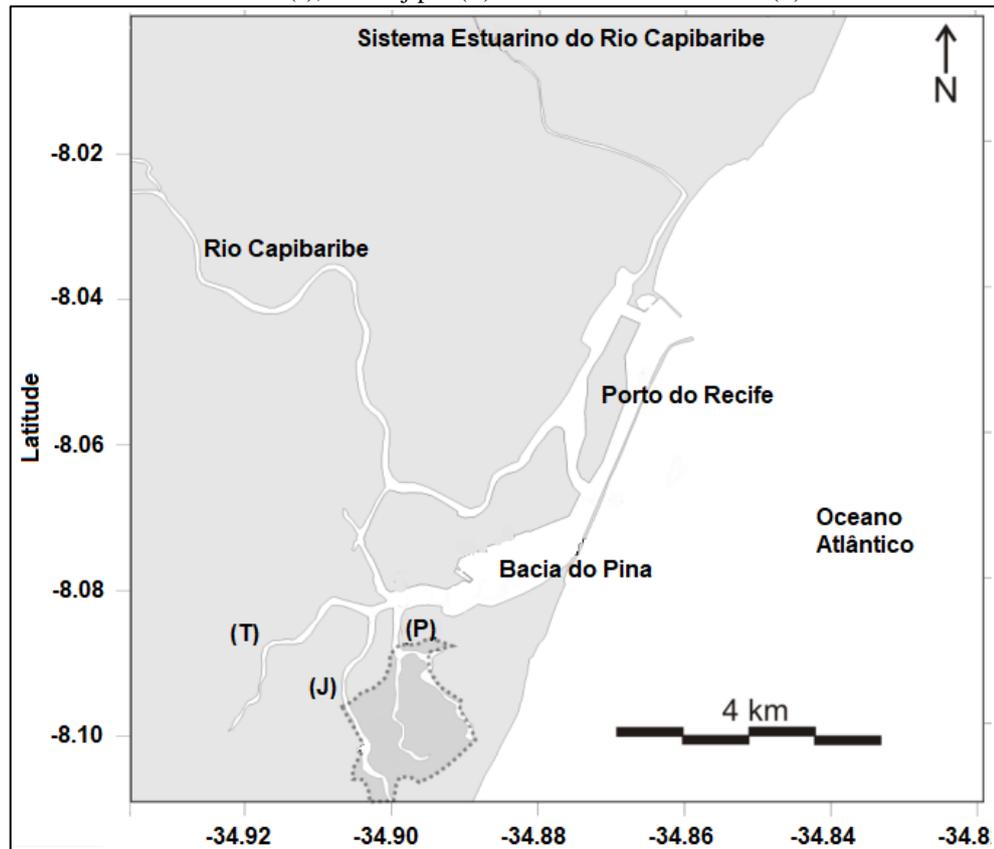
Esta seção está dividida em nove subtópicos que descrevem e detalham a área de estudo (3.1), a localização dos pontos de coleta (3.2), os procedimentos de coleta e preparo das amostras ambientais (3.3), os padrões analíticos e solventes utilizados durante as análises (3.4), a etapa de preparo das soluções analíticas (3.5), os parâmetros avaliados para validação do método analítico (3.6), o controle de qualidade adotado (3.7), as técnicas utilizadas para extração dos biocidas em amostras de água, sedimento e material particulado em suspensão (3.8) e quais foram as análises estatísticas empregadas no tratamento dos dados (3.9).

#### 3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O Rio Capibaribe é considerado um dos maiores e mais importantes rios do estado de Pernambuco, com cerca de 250 km de extensão desde sua nascente na Serra do Jacarará, na divisa dos municípios de Jataúba e Poção, até a sua foz. A Bacia Hidrográfica do Rio Capibaribe possui uma área de drenagem de 7.557,41 km<sup>2</sup> (CPRH, 2019) e engloba 43 municípios, dentre os quais se destaca Recife, com população estimada em 1.653.461 habitantes (IBGE, 2020). Próximo à sua foz, o Rio Capibaribe contribui para a formação da Bacia do Pina, um importante sistema do ponto de vista econômico, ambiental e social para a cidade do Recife.

A Bacia do Pina é formada pela confluência de três rios – Capibaribe, Jordão e Tejió – e pelo Canal de Maré do Pina. Estes rios atravessam a região metropolitana do Recife e recebem uma grande quantidade de efluentes domésticos e industriais. Segundo dados da Companhia Pernambucana de Saneamento, 75% dos efluentes do Recife e 44% da Região Metropolitana do Recife passam por coleta e tratamento antes de serem lançados nos corpos d'água (comunicação pessoal com a ouvidoria da Compesa; COMPESA, 2020). Este corpo d'água flui em paralelo ao canal do Capibaribe e do Oceano Atlântico. Antes da sua foz, abriga um dos mais importantes portos do Brasil, o Porto do Recife. A este mosaico de rios e corpos d'água, dá-se o nome de "Sistema Estuarino do Rio Capibaribe" (SERC) (Figura 1).

Figura 1 - Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC) e seus principais contribuintes: Rio Capibaribe, Rio Jordão (J), Rio Tejipió (T) e Canal de Maré do Pina (P)



Fonte: adaptado de Maciel *et al.* (2016).

Do ponto de vista climático, a região é caracterizada como tropical do tipo As' (úmido e quente) e apresenta dois padrões climáticos: período seco (setembro a fevereiro) e período chuvoso (março a agosto) (PARDAL *et al.*, 2019; XAVIER *et al.*, 2017). A precipitação média é de  $2.200 \text{ mm ano}^{-1}$  (OLIVEIRA, T. *et al.*, 2014) e a temperatura média anual é de  $25,5^{\circ}\text{C}$ .

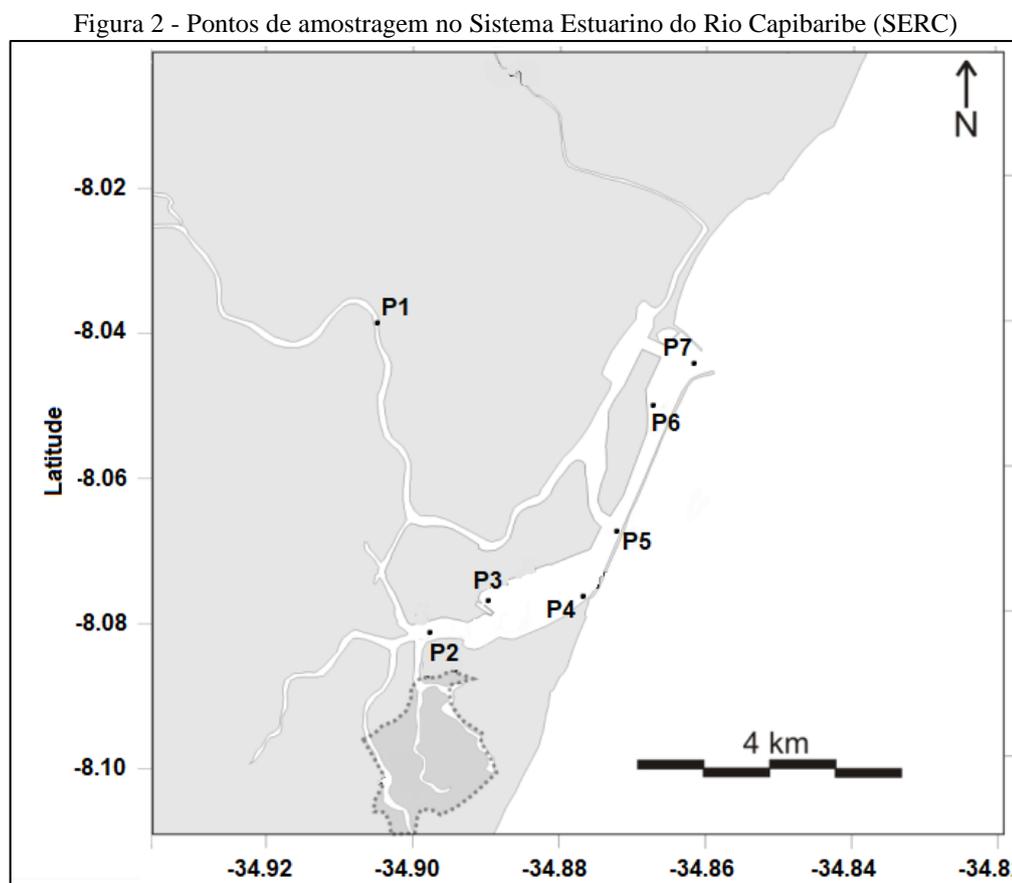
Em termos oceanográficos, o SERC é classificado como parcialmente misturado, com vazão média de aproximadamente  $11 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  (SCHETTINI *et al.*, 2016a) e meso-maré do tipo semidiurna com alturas entre 1,0 e 2,7 m (XAVIER *et al.*, 2017). A circulação estuarina é controlada principalmente pelas marés e influenciada pela descarga fluvial durante o período chuvoso (XAVIER *et al.*, 2017). A batimetria da região e a sua forma influenciam diretamente os padrões de circulação, auxiliando o transporte e/ou deposição de poluentes. Para a região de interesse, Silva (2003) encontrou profundidades entre 4 e 9 metros; para o canal portuário, foram observadas profundidades entre 8 e 14 metros (OLIVEIRA, T. *et al.*, 2014).

O SERC está localizado na zona urbana do Recife e o aporte de poluentes ocorre por fontes difusas (galerias de esgotos e águas pluviais, por exemplo) e/ou pontuais (efluentes oriundos das atividades do Porto do Recife, marinas e algumas indústrias localizadas no seu

entorno) (ZANARDI-LAMARDO *et al.*, 2016). Neste complexo estuarino está localizado o Porto do Recife, um dos principais portos do país, que recebe navios estrangeiros para importação e exportação de cargas, bem como cruzeiros turísticos. Nos seus arredores, é possível observar a presença de marinas e locais para reparos e manutenção de barcos menores, gerando um fluxo considerável de embarcações que, conseqüentemente, podem atuar como fontes de contaminação local (KOTRIKLA, 2009; MATTOS *et al.*, 2017).

### 3.2 DESCRIÇÃO DOS PONTOS AMOSTRAIS

Para a coleta das amostras, foram selecionados locais que pudessem se comportar como fontes potenciais dos biocidas como iates clubes, marinas e regiões com tráfego de embarcações de portes e atividades distintas (ex.: embarcações pesqueiras, transporte de pessoas e atividades turísticas), com exceção de P1 e P2. Os pontos de amostragem estão representados na Figura 2 e as coordenadas geográficas com uma breve descrição referente a cada ponto estão descritas na Tabela 3.



Fonte: adaptado de Maciel *et al.* (2016).

Tabela 3 - Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem no SERC

<b>Ponto</b>	<b>Latitude (S)</b>	<b>Longitude (O)</b>	<b>Breve descrição</b>
<b>P1</b>	08°02'31,4"	34°54'17,0"	Pier do Jardim do Baobá (ZTM)
<b>P2</b>	08°04'57,5"	34°53'54,2"	Confluência dos rios (Capibaribe, Tejipió, Jordão e Canal de Maré do Pina)
<b>P3</b>	08°04'44,3"	34°53'24,4"	Cabanga Iate Clube
<b>P4</b>	08°04'42,3"	34°52'37,8"	Iate Clube do Recife
<b>P5</b>	08°04'09,9"	34°52'20,6"	Pernambuco Iate Clube
<b>P6</b>	08°03'10,9"	34°52'03,7"	Porto do Recife (berço 05)
<b>P7</b>	08°02'48,8"	34°51'46,2"	Porto do Recife (saída)

Fonte: A autora (2021).

O ponto P1, descrito como o pier do Jardim do Baobá, foi escolhido por estar localizado próximo à zona onde ocorre a máxima turbidez estuarina do Rio Capibaribe (SCHETTINI *et al.*, 2016b). Esta região é caracterizada pela elevada concentração de material particulado em suspensão e é uma região importante para a dinâmica de poluentes no estuário (SCHETTINI *et al.*, 2016b).

O ponto P2 está localizado na região de encontro dos rios que formam a Bacia do Pina. Este ponto foi escolhido pela possibilidade da ocorrência de um acúmulo de biocidas nesse local como consequência da contribuição dos rios e da força da maré, que tende a reter os contaminantes na porção mais interna deste corpo d'água (MACIEL, 2015; MACIEL *et al.*, 2016).

Os pontos P3, P4 e P5 representam iates clubes e marinas, locais com uma quantidade relevante de embarcações atracadas que podem liberar biocidas anti-incrustantes na coluna d'água de forma contínua. Esses locais foram escolhidos a fim de avaliar a contribuição de pequenas embarcações no aporte de biocidas de reforço e, consequentemente, a influência da proximidade de fontes nas concentrações ambientais observadas. É importante destacar que nestes pontos, a coleta foi realizada em áreas mais abrigadas e com menos fluxo de água, possibilitando a distribuição dos contaminantes nas diversas matrizes ambientais.

Os pontos localizados na região portuária (P6 e P7) foram escolhidos devido ao tráfego de embarcações de grande porte, provenientes de vários lugares do mundo, o que pode resultar numa variedade de contaminantes. O ponto mais externo (P7) também foi escolhido para avaliar a influência da maré na presença e dispersão dos biocidas, visto que o P6 está localizado numa área mais abrigada do Porto do Recife.

### 3.3 COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS

As amostras de água, MPS e sedimento foram coletadas nos 07 pontos descritos acima, ao longo do SERC. Foram realizadas três campanhas, sendo 2 em outubro de 2020 e uma em fevereiro de 2021. As amostras de água foram coletadas em todas as campanhas; o MPS foi coletado nas campanhas 2 e 3, e os sedimentos foram coletados durante as campanhas 1 e 3 (apenas uma amostra por ponto). As coletas foram realizadas na baixa-mar e durante as marés de sizígia para verificar a presença dos compostos na água sob menor influência oceânica.

A proposta inicial deste trabalho era avaliar a ocorrência de biocidas de reforço em águas estuarinas, mas durante as análises laboratoriais optou-se pela coleta e análise exploratória de outras matrizes ambientais – material particulado em suspensão (MPS) e sedimento – para obtenção de dados complementares.

#### 3.3.1 Água e Material Particulado em Suspensão (MPS)

Amostras de água estuarina foram coletadas numa profundidade média de 0,5 m utilizando garrafas de vidro âmbar de 1L, previamente limpas e descontaminadas. As amostras, coletadas em triplicata, foram acondicionadas em caixas térmicas com gelo até o laboratório, onde foram filtradas a vácuo e submetidas à extração em fase sólida (SPE), respeitando o prazo máximo de 30 h após a coleta. Após a filtração, as membranas foram congeladas para posterior análise dos biocidas no material particulado em suspensão.

Durante a coleta, os parâmetros salinidade e temperatura foram medidos com o auxílio de um refratômetro portátil (MRC, modelo REF-211) e termômetro de mercúrio. As coordenadas geográficas foram obtidas utilizando um GPS portátil (Garmin, modelo eTrex 30).

#### 3.3.2 Sedimento

As amostras de sedimento foram coletadas durante as campanhas 1 (outubro/2020, pontos P1, P2, P6 e P7) e 3 (fevereiro/2021, P3, P4 e P5). Por um problema logístico, não foi possível coletar todos os sedimentos no mesmo momento. Entretanto, por se tratar de uma matriz mais estável (comparada com a água) e por ser um período de menor perturbação dos sedimentos (verão), acredita-se que o conjunto de resultados representa a contaminação do SERC no período seco e não compromete a qualidade dos resultados gerados. As amostras do

P1 e do P2 foram coletadas próximo às margens devido a presença de baroneras (plantas aquáticas, P1) e mariscos (P2), que impossibilitaram a coleta na região central do rio.

Para a coleta, utilizou-se uma draga do tipo van Veen, onde apenas a camada superficial (2 a 3 centímetros) foi retirada com uma colher de inox e acondicionada em formas de alumínio previamente calcinadas (450°C/8 horas). As amostras foram mantidas em caixas térmicas com gelo até o laboratório e armazenadas em freezer à -20°C. Após congeladas, foram liofilizadas (72 horas), maceradas com auxílio de um almofariz e pistilo e transferidas para frascos de vidro até o momento da extração. Infelizmente não foi possível fazer as análises granulométricas e nem quantificar os teores de matéria orgânica, sendo realizada apenas a detecção e quantificação dos co-biocidas.

### 3.4 PADRÕES ANALÍTICOS E SOLVENTES

Os solventes e os padrões analíticos utilizados neste estudo apresentam grau de pureza elevado (Tabela 4) a fim de minimizar quaisquer interferências nos resultados obtidos, visto que os analitos se encontram em baixas concentrações (ng L<sup>-1</sup> ou ng g<sup>-1</sup>).

Tabela 4 - Solventes utilizados nas análises químicas

<b>Padrão/Solvente (CAS)</b>	<b>Pureza</b>	<b>Fabricante</b>
Clorotalonil (1897-45-6)	98%	Sigma-Aldrich
Diclofluanida (1085-98-9)	98%	Sigma-Aldrich
Irgarol (28159-98-0)	98%	Sigma-Aldrich
Terbutrin (886-50-0)	98%	Sigma-Aldrich
p-terfenil-d <sub>14</sub> (1718-51-0)	98%	Sigma-Aldrich
Acetato de etila (141-78-6)	99,9%	Riedel-de Haën
Acetonitrila (75-05-8)	99,8%	PanReac AppliChem
Diclorometano (75-09-2)	99,8%	Riedel-de Haën
Metanol (67-56-1)	99,9%	Macron Fine Chemicals
n-hexano (110-54-3)	95%	Riedel-de Haën
Água ultrapura (7732-18-5)	<99%	Merck

Fonte: A autora (2021).

### 3.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Os padrões analíticos foram utilizados para o preparo das soluções necessárias à construção da curva analítica e fortificação de amostras. As soluções mãe dos padrões individuais ( $200.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ) foram preparadas a partir da solubilização de 0,010 g de cada analito em 50 mL de metanol. A solução estoque mista (SEM) foi preparada em n-hexano, contendo os três biocidas de interesse (clorotalonil, diclofluanida e irgarol), numa concentração de  $10.000 \text{ ng mL}^{-1}$  de cada analito. A partir desta solução, preparou-se uma solução trabalho mista (STM,  $1.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ) também em n-hexano – esta solução foi utilizada para fortificação das amostras nos ensaios de fortificação e para construção da curva analítica. Todas as soluções utilizadas neste trabalho foram armazenadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração a  $-20^\circ\text{C}$ .

### 3.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

A avaliação do método analítico proposto para análise em água utilizou como referência alguns parâmetros recomendados pelos órgãos regulatórios INMETRO e ANVISA em seus respectivos guias de validação. Os parâmetros de desempenho avaliados foram linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), exatidão (ensaios de recuperação) e precisão (repetitividade).

#### 3.6.1 Linearidade, curva analítica e faixa de trabalho

A linearidade é definida como a capacidade apresentada pelo método em fornecer respostas diretamente proporcionais à concentração do analito em uma determinada faixa (BRITO *et al.*, 2003). Nesse estudo, a linearidade foi avaliada através das curvas analíticas individuais, dos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e das equações de regressão linear. As curvas analíticas foram preparadas em n-hexano a partir da solução trabalho mista (STM,  $1.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ) contendo 9 concentrações ( $n = 9$ ): 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 500 e  $800 \text{ ng mL}^{-1}$ . O terbutrin foi utilizado como padrão interno (*surrogate*, PI), sendo adicionado em todos os pontos da curva na concentração de  $100 \text{ ng mL}^{-1}$  (método de padronização interna).

A faixa de trabalho é o intervalo entre a menor e a maior concentração do analito em uma amostra onde o método analítico empregado apresenta um nível aceitável de linearidade, exatidão e precisão (ICH, 1995). A faixa de trabalho utilizada equivale a menor e maior

concentração da curva analítica, ou seja, 1 – 800 ng mL<sup>-1</sup> para diclofluanida e Irgarol e 2,5 – 800 ng mL<sup>-1</sup> para clorotalonil.

### 3.6.2 Exatidão

A exatidão refere-se à concordância entre o valor medido e o valor de referência aceito como verdadeiro, sendo comumente determinada através de ensaios de recuperação, comparações interlaboratoriais e utilização de materiais de referência certificados (MRC) (INMETRO, 2020). Devido à inexistência de material de referência certificado para análise de biocidas anti-incrustantes de terceira geração, a exatidão foi estimada através da recuperação dos analitos em amostras previamente fortificadas (AF).

As amostras foram fortificadas com quantidades conhecidas dos analitos de interesse, em três níveis de concentração – 25, 100 e 500 ng mL<sup>-1</sup>. Para avaliar a repetitividade do procedimento analítico (discutida no item 3.6.3), cada nível de fortificação foi analisado em triplicata, conforme metodologia descrita no item 3.7.3.

A recuperação de cada analito foi calculada para cada concentração segundo a Equação 1 (INMETRO, 2020). Os intervalos de recuperação aceitáveis para análises de resíduos encontram-se entre 70 e 120%, podendo ser de 50 a 120%, a depender da complexidade da matriz e das análises propostas (RIBANI *et al.*, 2004).

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde: C<sub>1</sub> é a concentração do analito encontrado na amostra fortificada;

C<sub>2</sub> é a concentração do analito no branco analítico;

C<sub>3</sub> é a concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

### 3.6.3 Precisão

A precisão consiste no grau de concordância entre as medições realizadas e é usualmente expressa por meio da repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade (INMETRO, 2020). Este estudo avaliou apenas a repetitividade, definida como a concordância entre medições repetidas de um mesmo método, realizadas sob as mesmas condições de medição - mesmo instrumento utilizado nas mesmas condições, mesmo procedimento, analista, local e curto espaço de tempo (RIBANI *et al.*, 2004).

Ensaio com amostras fortificadas, em três níveis de concentração e em triplicata foram conduzidos para avaliar a precisão, a qual foi estimada por meio do desvio padrão relativo (também conhecido como coeficiente de variação, %CV), calculado através da Equação 2 (INMETRO, 2020). Para análise de traços ou impurezas em amostras ambientais, a recomendação é que a precisão seja em torno de 20% a depender da complexidade da amostra (RIBANI *et al.*, 2004).

$$CV(\%) = \frac{s}{X_{média}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:  $s$  é a estimativa do desvio padrão absoluto;

$X_{média}$  é a média de uma série de medições (ou seja, réplicas).

### 3.6.4 Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método

O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito que pode ser identificada numa análise cromatográfica, mas não necessariamente quantificada com confiabilidade. Neste estudo, o limite de detecção foi considerado como três vezes o ruído da linha de base, observado visualmente durante a integração dos picos cromatográficos. O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada quantitativamente com um nível aceitável de precisão e exatidão (INMETRO, 2020). Neste estudo, o LQ foi considerado como a menor concentração da curva analítica ( $1 \text{ ng mL}^{-1}$  para Irgarol e diclofluanida e  $2,5 \text{ ng mL}^{-1}$  para o clorotalonil) dividido pelo volume/massa analisado.

## 3.7 CONTROLE DE QUALIDADE

Esta seção detalha como foram preparadas as amostras para avaliação do controle de qualidade das análises realizadas.

### 3.7.1 Controle analítico

O controle analítico (CA) é utilizado para calcular a recuperação dos padrões internos na amostra, bem como avaliar a qualidade das soluções utilizadas. Para cada lote analítico, foi preparado um CA, que é constituído por  $100 \mu\text{L}$  do terbutrin (*surrogate*, PI,  $1.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ),  $100 \mu\text{L}$  do p-terfenil- $\text{d}_{14}$  (*internal standard*, PICG,  $1.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ) e  $100 \mu\text{L}$  da STM (solução trabalho mista,  $1.000 \text{ ng mL}^{-1}$ ) utilizada para fortificação das amostras. Após a adição das soluções, o volume final foi ajustado para  $1 \text{ mL}$  com n-hexano e o CA foi injetado diretamente

no cromatógrafo a gás, sem passar por nenhum procedimento analítico. Os resultados são considerados como uma recuperação de 100%. A recuperação dos padrões internos adicionados nas amostras antes dos procedimentos analíticos foi calculada em relação aos resultados obtidos no CA, segundo a Equação 3:

$$\text{Recuperação}(\%) = \frac{\left(\frac{PI}{PICG}\right)_{AM}}{\left(\frac{PI}{PICG}\right)_{CA}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:  $\left(\frac{PI}{PICG}\right)_{AM}$  é razão entre as áreas dos padrões adicionados às amostras;

$\left(\frac{PI}{PICG}\right)_{CA}$  é razão entre os as áreas dos padrões do CA.

### 3.7.2 Branco analítico

Os brancos analíticos são utilizados para avaliar se houve contaminação durante algum procedimento laboratorial ou decorrente da vidraria, materiais e/ou solventes utilizados. Nesse estudo, foram preparados dois brancos analíticos para cada lote de amostras analisadas.

Para as amostras de água e MPS, os brancos foram preparados utilizando amostras de água marinha sem os analitos de interesse - no caso do MPS, as análises foram feitas utilizando as membranas filtrantes. Os brancos do sedimento foram preparados utilizando sulfato de sódio previamente queimado em mufla à 450°C, por 6 horas. Em cada branco, adicionou-se o PI (*surrogate*, 1.000 ng mL<sup>-1</sup>) e, na sequência, foram submetidos aos mesmos procedimentos analíticos aplicados às amostras, conforme descrito nos itens 3.8.1 a 3.8.3. Os extratos foram ressuspensos em n-hexano e após adição do PICG (*internal standard*, 1.000 ng mL<sup>-1</sup>), foram injetados no cromatógrafo a gás para quantificação dos contaminantes, se presentes.

### 3.7.3 Amostras fortificadas

Com o intuito de verificar a precisão e exatidão entre os resultados obtidos, foram utilizadas amostras fortificadas (AF) para avaliar a repetibilidade do método proposto. A exatidão foi investigada comparando os resultados obtidos com os esperados. Para cada lote analítico, preparou-se uma amostra fortificada adicionando quantidades conhecidas dos analitos de interesse.

Assim como o branco analítico, as amostras fortificadas de água e MPS foram preparadas utilizando alíquotas de água marinha limpa, enquanto que as AF de sedimento foram preparadas utilizando um sedimento onde se esperava baixa ou nenhuma concentração dos biocidas. Para isso, as AF foram fortificadas com 100 µL da STM (1.000 ng mL<sup>-1</sup>) e 100 µL do PI (*surrogate*, 1.000 ng mL<sup>-1</sup>), a fim de se obter uma concentração de 100 ng mL<sup>-1</sup> de cada composto de interesse. Na sequência, as amostras foram submetidas aos procedimentos analíticos aplicados às demais amostras (itens 3.8.1 a 3.8.3). O cálculo da recuperação dos analitos foi feito segundo a Equação 1:

$$\text{Recuperação(\%)} = \frac{C_1}{C_2} \times 100 \quad (1)$$

Onde:  $C_1$  é a concentração do analito na amostra;

$C_2$  é a concentração real do analito.

### 3.8 EXTRAÇÃO DOS BIOCIDAS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Esta seção apresenta e descreve as metodologias empregadas para extração dos biocidas de terceira geração em três matrizes ambientais – água superficial, sedimento e material particulado em suspensão. Além disso, também estão apresentados os parâmetros cromatográficos e informações sobre tempo de retenção e abundância relativa dos biocidas anti-incrustantes.

#### 3.8.1 Amostras de água

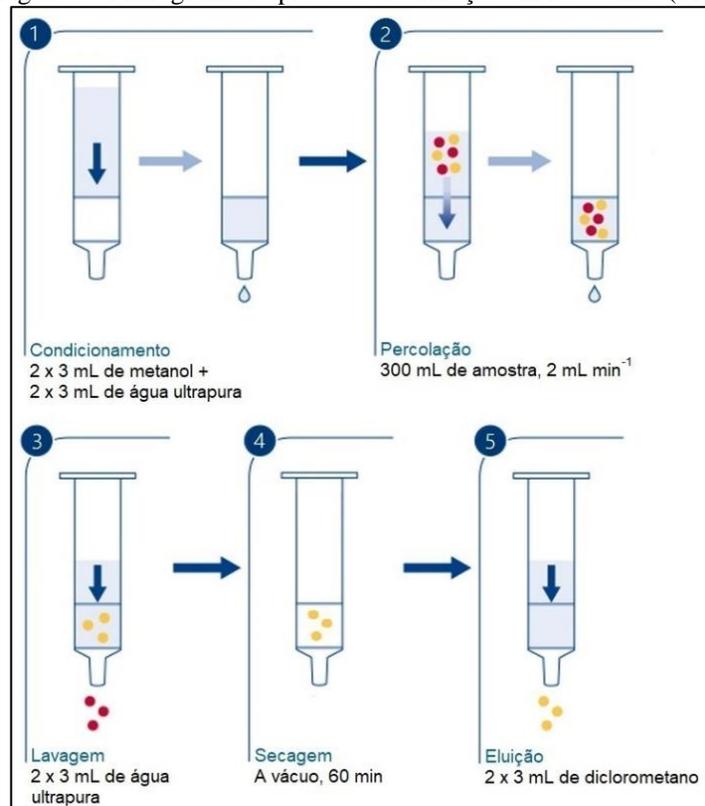
Para as análises dos biocidas de 3ª geração, a literatura reporta métodos analíticos que normalmente empregam etapas de extração e pré-concentração, seguida pela análise cromatográfica (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2012). Dentre as técnicas já reportadas, a extração em fase sólida (SPE) é uma das mais utilizadas em amostras aquosas (SOARES *et al.*, 2021a), pois utiliza menos solventes orgânicos, reduzindo os custos e a quantidade de resíduos gerados (DINIZ, L., 2016). Com base nisso, a extração em fase sólida foi escolhida para quantificação dos biocidas e considerou testes prévios conduzidos no OrganoMAR.

Inicialmente, as amostras foram filtradas à vácuo para remoção do material particulado em suspensão (MPS). Para isso, foi utilizado um kit de filtração (Sartorius, modelo 16307)

composto por kitassato, funil de placa porosa, pinça de alumínio e copo de vidro, que foi acoplado a uma bomba à vácuo (Tecnal, modelo TE0581). As membranas filtrantes foram de fibra de vidro (Whatman®, diâmetro de 47 mm e porosidade de 1.6  $\mu\text{m}$ ) e, após a filtração, foram mantidas sob refrigeração até a extração do MPS. Após a filtração, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  do PI (*surrogate*, 1.000  $\text{ng mL}^{-1}$ ) nas amostras de água como padrão de recuperação, para avaliar as possíveis perdas dos analitos durante os procedimentos de laboratório.

A extração em fase sólida (SPE) foi realizada com o cartucho Chromabond PP C18 EC (3 mL/500 mg, Macherey-Nagel®). Os cartuchos foram condicionados com metanol e água ultrapura, e as amostras foram percoladas num fluxo aproximado de 2  $\text{mL min}^{-1}$ . Na sequência, os cartuchos foram lavados com água ultrapura para remoção de interferentes, secos a vácuo e os analitos foram eluídos com diclorometano (Figura 3). Os eluatos foram evaporados sob fluxo de nitrogênio até a secura, ressuspensos em n-hexano e, após a adição de 100  $\mu\text{L}$  do PICG (*internal standard*, 1.000  $\text{ng mL}^{-1}$ ), os extratos foram injetados em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. O LQ do método foi 3,3  $\text{ng L}^{-1}$  para Irgarol e diclofluanida e 8  $\text{ng L}^{-1}$  para o clorotalonil. As concentrações dos analitos encontrados nos brancos foram subtraídas das amostras dos respectivos lotes.

Figura 3 - Fluxograma do processo de extração em fase sólida (SPE)



Fonte: adaptado de Macherey-Nagel (c2021)

### 3.8.2 Amostras de MPS e sedimento

As análises dos biocidas de terceira geração no material particulado em suspensão (MPS) e no sedimento foram realizadas via extração assistida por ultrassom (UAE), com purificação via extração em fase sólida (SPE), segundo métodos validados por Martínez e Barceló (2001), Harino *et al.* (2005), Soroldoni *et al.* (2018) e Abreu *et al.* (2020), com pequenas modificações.

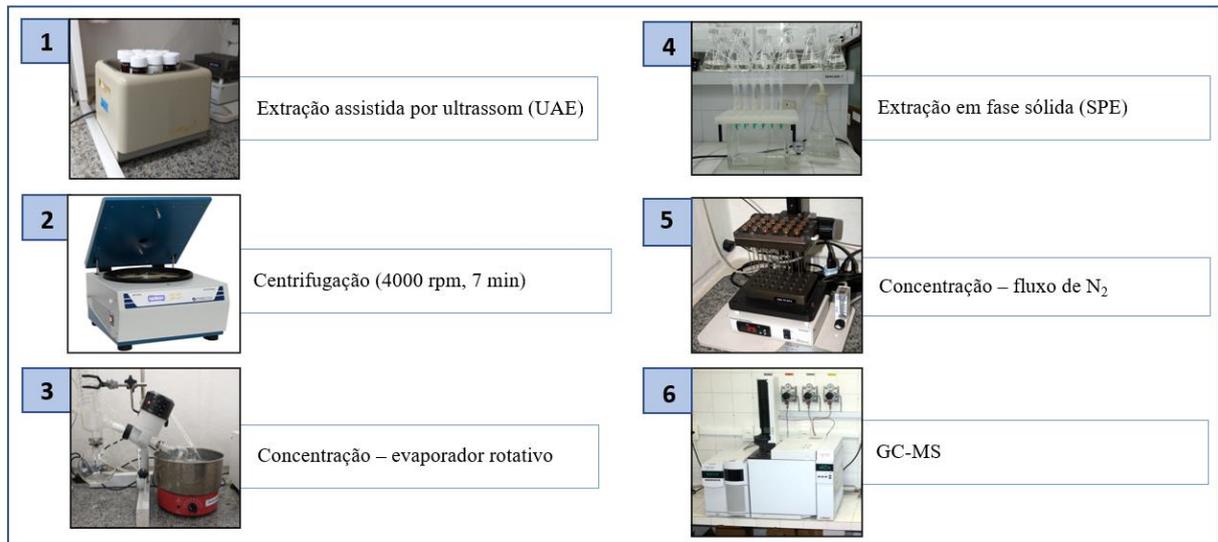
Para a análise do MPS, as membranas filtrantes foram pesadas em balança analítica (Shimadzu, modelo AY220) antes e após a filtração à vácuo para calcular a massa do MPS. Após a secagem (realizada no dessecador para evitar perda dos analitos via degradação térmica) e pesagem, as membranas foram acondicionadas em vials de 40 mL e fortificadas com 100 µL do PI (*surrogate*, 1.000 ng mL<sup>-1</sup>). Para o sedimento, alíquotas de 1 g foram pesadas e fortificadas com o mesmo padrão interno.

As próximas etapas descritas são idênticas para ambas as matrizes (Figura 4). Adicionou-se 15 mL de acetonitrila em todas as amostras, que foram agitadas por 1 minuto no vórtex (Logen Scientific, modelo LSM56/4-BIV), sonicadas em banho ultrassônico (50°C por 30 minutos) e centrifugadas (Nova Instruments, modelo NI 1831) durante 7 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico e o processo foi repetido mais uma vez. Os sobrenadantes de cada amostra foram combinados, concentrados até 1 mL no evaporador rotativo (Fisatom, modelo 801) e, após adição de cobre ativado, foram mantidos por uma noite para posterior extração e purificação. No dia seguinte os extratos foram transferidos para outro balão, diluídos com 50 mL de água ultrapura e submetidos a SPE.

O cartucho foi condicionado com 2 x 2 mL de acetato de etila e 2 x 2 mL de água ultrapura. As amostras foram percoladas, os cartuchos foram lavados novamente com 2 x 2 mL de água ultrapura e secos a vácuo durante 1 hora. Os analitos foram eluídos com 4 mL de uma solução de acetato de etila:hexano (1:1) e o extrato foi seco sob fluxo de nitrogênio e ressuspenso em 1 mL de n-hexano. Após a adição de 100 µL do PICG (*internal standard*, 1.000 ng mL<sup>-1</sup>) e homogeneização, 1 µL do extrato final foi analisado por GC-MS.

O LQ para as amostras de MPS foi 3,3 ng L<sup>-1</sup> para Irgarol e diclofluanida e 8 ng L<sup>-1</sup> para o clorotalonil. O LQ para as amostras de sedimentos foi 1 ng g<sup>-1</sup> para Irgarol e diclofluanida e 2,5 ng g<sup>-1</sup> para o clorotalonil. As concentrações dos analitos encontrados nos brancos foram subtraídas das amostras dos respectivos lotes.

Figura 4 - Fluxograma da metodologia utilizada para extração dos biocidas em sedimento e no MPS



Fonte: A autora (2021).

### 3.8.3 Instrumentação e parâmetros cromatográficos

A identificação e quantificação dos analitos foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (Agilent Technologies®, modelos 7820A e 5975C, respectivamente) no modo de monitoramento de íons selecionado (SIM). Os parâmetros cromatográficos para determinação dos biocidas de reforço utilizados nesse estudo foram previamente otimizados pelo grupo do OrganoMAR (BEZERRA, 2016) e estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros cromatográficos utilizados para determinação dos biocidas de 3ª geração

Parâmetros do Cromatógrafo a Gás (CG)	
<b>Coluna</b>	HP-5MS: 30 m x 250 µm x 0,25 µm
<b>Injeção</b>	Volume injetado: 1 µL; Modo de injeção: Splitless Temperatura do injetor: 280 °C
<b>Programação do forno</b>	80 °C (1 min) → Δ20 °C min <sup>-1</sup> até 200 °C → Δ8 °C min <sup>-1</sup> até 300 °C
<b>Gás de arraste</b>	He 5.0 analítico; Vazão: 1mL min <sup>-1</sup>
Parâmetros do Espectrômetro de Massas (EM)	
<b>Modo de análise</b>	SIM
<b>Temp. da interface</b>	280 °C
<b>Temp. da fonte</b>	230 °C
<b>Temp. do quadrupólo</b>	150 °C
<b>Modo de ionização</b>	Impacto de elétrons (IE)

Fonte: Bezerra, 2016.

Os tempos de retenção, os fragmentos característicos e a abundância relativa dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração estão listados na Tabela 6.

Tabela 6 - Tempos de retenção, fragmentos característicos e abundância relativa dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração

<b>Analito</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>	<b>Fragmentos característicos (m/z)</b>	<b>Abundância relativa (%)</b>
<b>Clorotalonil</b>	9,483	268	100,0
		264	82,5
		266	47,5
		109	17,0
<b>Diclofluanida</b>	10,627	123	100,0
		224	35,0
		167	34,7
		226	18,1
<b>Irgarol</b>	11,536	253	100,0
		182	69,70
		238	46,10
		196	25,60
<b>p-Terfenil-d<sub>14</sub></b> <i>(internal standard, PICG)</i>	12,612	244	100,0
		243	32,4
		245	19,3
		240	10,7
<b>Terbutrin</b> <i>(surrogate, PI)</i>	10,374	226	100,0
		185	83,5
		241	60,8
		170	51,0

Fonte: A autora (2021).

### 3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A normalidade dos dados foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para avaliar diferenças significativas entre três ou mais médias. Os pontos amostrais foram divididos em quatro grupos: zona de turbidez (P1), confluência dos rios (P2), marinas (P3, P4 e P5) e porto (P6 e P7). A análise de variância (ANOVA) foi realizada

para testar a hipótese de que as concentrações de diclofluanida eram diferentes nos quatro grupos amostrais. O teste post-hoc de Tukey foi realizado para estimar o tamanho médio do efeito nas concentrações de biocidas anti-incrustantes dissolvidos. Todas as análises estatísticas foram feitas no software R (versão 3.2.0) e com nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados a seguir e foram divididos em três subtópicos, considerando os objetivos específicos propostos no item 2.1. O subtópico 4.1 apresenta, na forma de um manuscrito, algumas informações reportadas na literatura sobre os biocidas de terceira geração na América Latina e Caribe; o subtópico 4.2 apresenta os resultados referentes à avaliação dos parâmetros analíticos adotados para validação da metodologia; e o subtópico 4.3 refere-se aos dados gerados através da análise das amostras ambientais coletadas do Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC).

### 4.1 MANUSCRITO: BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO NA AMÉRICA LATINA E CARIBE: UMA REVISÃO

#### 4.1.1 Introdução

A bioincrustação marinha é um fenômeno biológico caracterizado pela acumulação indesejada de microrganismos, plantas e animais em superfícies naturais ou artificiais expostas à água. Sistemas de proteção como tintas antivegetativas e *primers* são comumente aplicados nessas superfícies para evitar danos, principalmente à indústria naval (DAFFORN; LEWIS; JOHNSTON, 2011; KOTRIKLA, 2009), como o comprometimento estrutural da embarcação (TURNER, 2010). As tintas anti-incrustantes são utilizadas para (i) reduzir a fricção entre o casco do navio e a água, evitando o aumento no consumo de combustível e no tempo de deslocamento; (ii) evitar o aumento da frequência entre docagens e o aumento dos custos das operações e da quantidade de resíduos gerados; e (iii) evitar a introdução não intencional de espécies exóticas (CHAMP, 2000; KOTRIKLA, 2009).

As primeiras tintas anti-incrustantes contendo biocidas na sua formulação surgiram em meados do século XIX e utilizavam óxidos de zinco e cobre como agentes anti-incrustantes (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007; FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007). Essas tintas eram eficientes no combate de ascídias, moluscos e cracas, porém sua eficácia era baixa para algumas espécies de algas que apresentavam resistência ao cobre (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007; OMAE, 2003). Outra desvantagem descrita para esses produtos foi a rápida perda da eficiência, sendo necessária a reaplicação da tinta em, no máximo, um ano (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011).

Visando solucionar as limitações impostas pela geração anterior, foram desenvolvidas tintas à base de compostos organoestânicos (COEs) como trifenilestanho (TPhT) e tributilestanho (TBT). Essas tintas utilizam copolímeros associados aos biocidas, proporcionando uma taxa de liberação constante e mais lenta dos biocidas e aumentando sua eficiência e durabilidade (ABREU, 2016; GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003; HUGGETT *et al.*, 1992). Por volta de 1980, 90% das embarcações mundiais eram revestidas com tintas à base de COEs (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011) e logo os efeitos tóxicos do TBT começaram a ser observados como anomalias nas larvas e *imposex* (ALZIEU *et al.*, 1986) e efeitos deletérios sobre organismos não alvo como bivalves, gastrópodes e mamíferos (ALZIEU, 2000; ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007).

Com base em tais efeitos, a aplicação dessas tintas foi proibida em embarcações menores que 25 metros em países europeus como Noruega, Alemanha e França – este último permitia a utilização em embarcações com cascos de alumínio (CASTRO; PERINA; FILLMANN, 2012). Além disso, a Organização Marítima Internacional (IMO) propôs, em 2001, o banimento mundial dessas tintas através da Convenção Internacional sobre o Controle de Sistemas Anti-incrustantes Nocivos em Navios (Convenção AFS). Novas aplicações ou reaplicações foram proibidas a partir de 2003 e o ano de 2008 foi estabelecido como prazo limite para que as embarcações e estruturas em operação não fossem revestidas com tintas contendo COEs (IMO, 2008).

Simultaneamente à ocorrência dos primeiros efeitos tóxicos causados pelo TBT, novos sistemas anti-incrustantes começaram a ser fabricados e utilizados a partir de 1987 (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011). O desenvolvimento e uso desses produtos surgiu da necessidade de revestimentos de alta eficiência e que causassem menor impacto ambiental, principalmente em organismos não-alvo. Apesar de ser uma alternativa, a aceitação dessas tintas não ocorreu de imediato, sendo popularizada somente em 2008 com o banimento total das tintas à base de COEs.

Alguns desses biocidas são adicionados às tintas anti-incrustantes a fim de potencializar o efeito de metais já existentes (ALMEIDA; DIAMANTINO; DE SOUSA, 2007) e podem representar até 5% da sua composição (AGÜERA *et al.*, 2000). Por esta razão, os biocidas de terceira geração são conhecidos como biocidas de reforço, biocidas alternativos ou co-biocidas. Atualmente, os biocidas de terceira geração englobam pelo menos 23 compostos químicos com menor persistência ambiental e, supostamente, com menores efeitos tóxicos à biota aquática (ABREU *et al.*, 2020; THOMAS; BROOKS, 2010).

Esses compostos são divididos em dois grupos: 1) biocidas não metálicos - Busan (TCMTB), clorotalonil, diclofluanida, diuron, Irgarol 1051, Sea-Nine 211 (DCOIT), TCMS piridina, tiram e trifenilbornano piridina – e 2) biocidas metálicos - cobre piritiona, maneb, naftenato de cobre, óxido cuproso, tiocianato de cobre, zinco piritona e ziram (IMO, 2005; CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011; GUARDIOLA *et al.*, 2012). Os mais utilizados no mundo em tintas anti-incrustantes são Irgarol 1051, clorotalonil, diclofluanida, DCOIT e TCMTB (GARCÍA *et al.*, 2020).

#### **4.1.2 Biocidas de reforço em ambientes aquáticos**

Regiões costeiras com atividade portuária e intenso fluxo marítimo estão susceptíveis a impactos ambientais relevantes, visto que as embarcações podem se comportar como fontes de hidrocarbonetos do petróleo, metais, compostos orgânicos e agentes anti-incrustantes (MORO *et al.*, 2018; SUN *et al.*, 2016; TALVITIE *et al.*, 2015). Além da perda de biodiversidade local, esse desequilíbrio ecológico pode causar depreciação da paisagem, resultando em perdas na economia e no turismo. Alguns desses impactos são resultantes do descarte dos resíduos gerados pelas embarcações, do abastecimento e queima de combustíveis fósseis, da poluição por emissões atmosféricas e da introdução de espécies exóticas (via água de lastro ou por bioincrustação) (BOLLMANN *et al.*, 2010; ANTAQ, c2021).

Associado aos portos comerciais, é comum observar a presença de marinas, píeres e estaleiros, compondo a “estrutura portuária”. Esses empreendimentos têm sido recentemente apontados como responsáveis por aportes consideráveis de substâncias nocivas como os biocidas anti-incrustantes de terceira geração (BATISTA-ANDRADE *et al.*, 2018). Apesar de serem prioritárias, não são regiões exclusivas para os estudos quanto à ocorrência de biocidas em sistemas aquáticos, dado que esses biocidas podem atingir os sistemas costeiros através do escoamento superficial pois alguns desses compostos também são utilizados como herbicidas e/ou fungicidas (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011; YEBRA; KIIL; DAM-JOHANSEN, 2004).

O banimento de tintas à base de TBT resultou na intensificação do uso dos biocidas de reforço (KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004), aumentando a presença e distribuição desses compostos em ambientes aquáticos e costeiros ao longo dos anos. Alguns estudos já avaliaram os efeitos dos biocidas de reforço em organismos não-alvo (BAO *et al.*, 2013; BELLAS, 2006; OWEN *et al.*, 2002), mas a maioria desses compostos ainda não foram amplamente estudados e caracterizados quanto ao seu potencial tóxico. Assim, as lacunas de informação sobre a

ocorrência ambiental, destino, toxicidade e persistência de biocidas de reforço precisam ser esclarecidas.

Estudos que avaliaram a presença desses contaminantes em ambientes naturais reportam concentrações entre  $\text{ng L}^{-1}$  e  $\mu\text{g L}^{-1}$  para água (ANSANELLI *et al.*, 2017; KÖCK-SCHULMEYER *et al.*, 2019; LAM *et al.*, 2017), e  $\text{ng g}^{-1}$  e  $\mu\text{g g}^{-1}$  para sedimento (GARCÍA *et al.*, 2020; KONING; BOLLMANN; BESTER, 2020; LEE, S; LEE, Y., 2017) (Tabela 10, Material Suplementar). Diante da escassez de dados sobre a ocorrência e os efeitos dos biocidas em organismos locais e da importância da América Latina e região caribenha no contexto mundial, este estudo compilou as informações reportadas sobre (i) as metodologias analíticas utilizadas para detecção e quantificação dos biocidas de terceira geração em matrizes ambientais; (ii) a ocorrência ambiental desses compostos em países da América Latina e Caribe; e (iii) os estudos referentes à toxicidade dos biocidas anti-incrustantes sobre a biota aquática.

#### 4.1.3 Materiais e métodos

A fim de avaliar a ocorrência e distribuição dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração na América Latina e no Caribe, foi adotada uma abordagem estruturada dividida em seis etapas: (i) delimitação da área de interesse; (ii) pesquisa bibliográfica; (iii) elaboração da tabela de atributos; (iv) inserção dos dados no SIG; (v) análise da distribuição e ocorrência dos biocidas anti-incrustantes em áreas costeiras; e (vi) levantamento sobre os efeitos adversos à biota decorrentes da exposição aos biocidas de reforço.

##### 4.1.3.1 Levantamento bibliográfico

A pesquisa bibliográfica foi conduzida em duas bases de dados - Web Of Science (<https://www.webofknowledge.com/>) e Science Direct (<http://www.sciencedirect.com/>) considerando as publicações em periódicos revisados por pares. Devido a escassez de dados, alguns estudos considerados como “literatura cinza” também foram considerados. Os argumentos de busca utilizados em cada plataforma incluíram diferentes combinações dos termos “*booster biocides*” e (i) nome do país; (ii) *marine sediment*; (iii) *seawater*; (iv) *contamination Latin America*; (v) *South America*; e (vi) *Latin America*. Dentre os artigos disponíveis, foram considerados apenas aqueles que propuseram metodologias analíticas para identificação e quantificação dos biocidas em amostras ambientais, avaliaram a ocorrência em

diferentes matrizes ambientais e/ou os efeitos tóxicos sobre organismos marinhos. No total, foram compilados dados de estudos publicados e/ou cujas amostras foram coletadas entre o período de 2001 e 2021.

#### 4.1.3.2 Elaboração da tabela de atributos e inserção dos dados no SIG

Após uma revisão de literatura detalhada e tendo como base os artigos selecionados, algumas informações como coordenadas geográficas (latitude e longitude), ano e país de amostragem e as concentrações detectadas foram extraídas e incluídas na tabela de atributos (Tabela 7). Apenas os dados apresentados no corpo do texto ou em tabelas foram considerados. Em seguida, os dados compilados nesta tabela foram importados para o QGis, um software GIS livre e com código aberto, para representação geoespacial dos dados.

Tabela 7 - Atributos analisados para inclusão dos artigos

<b>Atributo</b>	<b>Descrição</b>
<b>Latitude e longitude</b>	Localização geográfica
<b>Código atribuído ao ponto</b>	Código padronizado para cada ponto de coleta
<b>Nome original do ponto</b>	Nome originalmente informado pelos autores
<b>País</b>	País onde as amostras foram coletadas
<b>Mês e ano</b>	Data de obtenção das amostras
<b>Matrizes</b>	Amostras de sedimentos e água
<b>Link para trabalho consultado</b>	Baseado na plataforma DOI

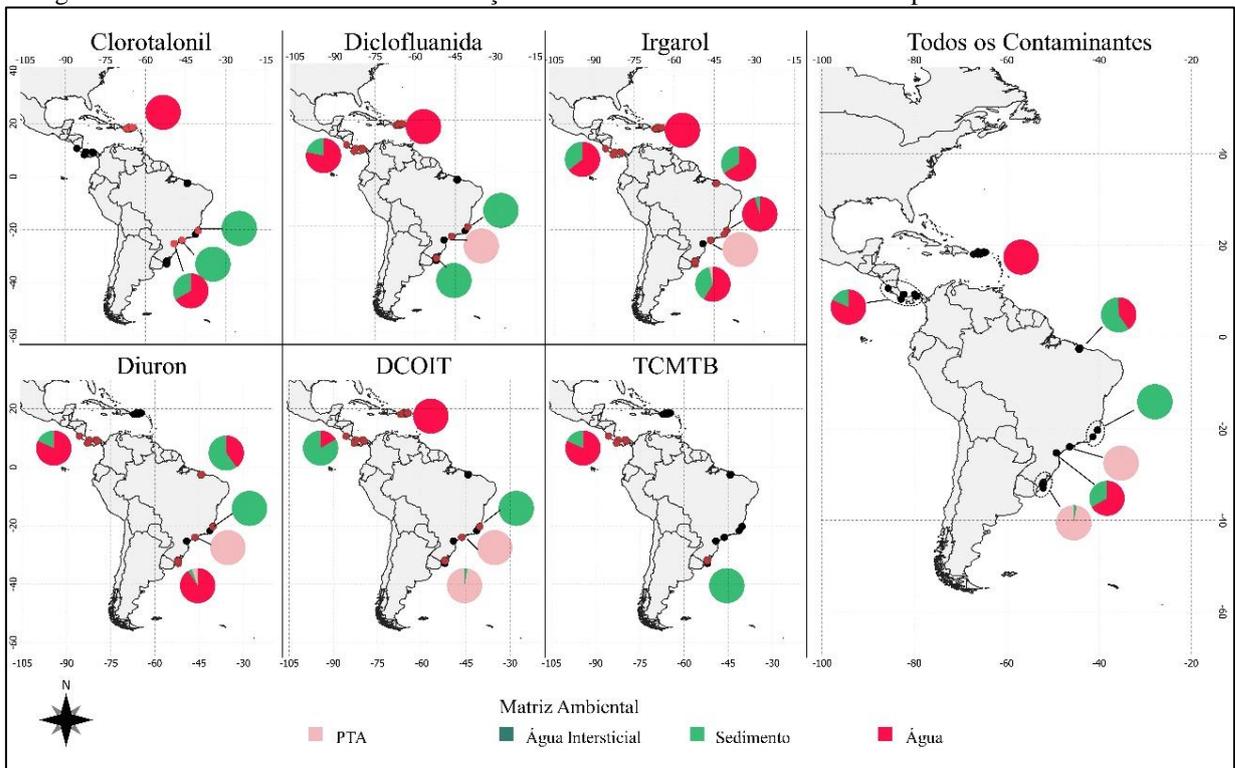
#### 4.1.4 Resultados e discussão

##### 4.1.4.1 Biocidas de reforço em matrizes ambientais

Poucos estudos foram realizados utilizando amostras ambientais coletadas em países da América Latina e Caribe. O levantamento bibliográfico resultou em 797 artigos, porém alguns artigos não cumpriram os requisitos apresentados na Tabela 7, resultando em apenas 33 artigos válidos publicados ou cujas amostras foram coletadas entre 2001 e 2021. Estudos acadêmicos (trabalhos de conclusão de curso, dissertações e teses) também foram considerados, totalizando 43 publicações de 4 países.

A base de dados gerou 420 registros considerando amostras de água, água intersticial, sedimento e partículas de tintas anti-incrustantes (PTA), e a maioria dos registros são referentes a amostras coletadas no Brasil (71% - 300 registros). Destes, 227 registros são relativos a amostras de água, 149 a amostras de sedimento, 34 a partículas de tintas anti-incrustantes, e 10 a amostras de água intersticial. Nestas matrizes, os principais biocidas analisados foram clorotalonil, diclofluanida, Irgarol, diuron, DCOIT e TCMTB. A distribuição relativa do número de estudos realizados em cada matriz, nas regiões costeiras da América Latina e Caribe, está apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Ocorrência de biocidas de reforço em diferentes matrizes ambientais e países da América Latina.



O Brasil é o país com o maior número de estudos sobre os biocidas de reforço na América Latina. Neste país, a primeira ocorrência de Irgarol foi reportada em amostras de água do rio Paraíba do Sul, na cidade de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro (AZEVEDO; GERCHON; DOS REIS, 2004). Concentrações de  $138 \text{ ng L}^{-1}$  foram detectadas em uma região com atividade de barcos de pequeno porte, sugerindo a utilização de tintas anti-incrustantes. Desde então, vários outros estudos foram realizados, mas a maioria se concentrou nos estados do Rio Grande do Sul e Maranhão.

Os biocidas diuron, diclofluanida, Irgarol, DCOIT e TCMTB foram investigados nos sedimentos de diversos locais no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) (ABREU, 2016; CALDAS

*et al.*, 2018; DOMINGUEZ, 2010; SOARES *et al.*, 2021b; SOROLDONI *et al.*, 2018a). O DCOIT foi o composto mais abundante ( $<0,1$  e  $1636 \text{ ng g}^{-1}$ ), enquanto os demais apresentaram concentrações entre  $<0,1$  e  $17,8 \text{ ng g}^{-1}$  (Tabela 11, Material Suplementar). As maiores concentrações foram detectadas próximas à estaleiros e, provavelmente, estão associadas à presença de partículas de tintas anti-incrustantes (PTAs) originadas da raspagem do revestimento dos cascos. A composição, a forma, a densidade e o tamanho das PTAs são influenciados pela variedade de tintas e o método de remoção, e a combinação dessas características e a hidrodinâmica interferem no transporte dessas partículas, resultando numa distribuição espacial bastante heterogênea (SOROLDONI *et al.*, 2018a). É importante destacar que, após a liberação, as PTAs podem atuar como fontes secundárias de biocidas para o ambiente aquático.

Ainda na região do ELP, alguns estudos investigaram a ocorrência de diuron e Irgarol em áreas portuárias (ao longo do ELP) e em águas superficiais (Canal de São Gonçalo) (CALDAS *et al.*, 2019; DEMOLINER *et al.*, 2010; DOMINGUEZ *et al.*, 2014). Em 2009, baixas concentrações de diuron ( $21 \text{ ng L}^{-1}$ ) e Irgarol ( $6 \text{ ng L}^{-1}$ ) foram detectadas em amostras de água coletadas em regiões sob a influência de instalações portuárias (DOMINGUEZ *et al.*, 2014). Segundo os autores e de acordo com informações reportadas em outros estudos (MOCHIDA; FUJII, 2009; PERINA *et al.*, 2011), estes valores têm baixa probabilidade de causar danos às espécies aquáticas. Entre 2011 e 2014, as águas superficiais apresentaram concentrações entre  $50$  e  $790 \text{ ng L}^{-1}$  e  $4$  e  $10 \text{ ng L}^{-1}$  para diuron e Irgarol, respectivamente (Tabela 11, Material Suplementar) (CALDAS *et al.*, 2019).

No estado de São Paulo (região sudeste do Brasil), as concentrações dos biocidas clorotalonil, diuron, Irgarol e tiram foram medidas em amostras de água do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS), apresentando concentrações entre  $<70$  e  $2330 \text{ ng L}^{-1}$  (DINIZ, L., 2016). Diuron e Irgarol foram detectados mais frequentemente, enquanto Tiram foi apenas detectado em duas estações, e o clorotalonil não foi detectado em nenhuma amostra. A presença de diuron e Irgarol podem estar associadas ao maior uso desses biocidas em tintas anti-incrustantes ou a suas propriedades físico-químicas como persistência, meia-vida e biodegradabilidade (DINIZ, L., 2016). Além disso, a ausência do biocidas Tiram e clorotalonil pode ser resultado do uso recente desses compostos em tintas anti-incrustantes.

Ainda em São Paulo, a ocorrência de clorotalonil, diuron, diclofluanida, Irgarol e DCOIT foram investigadas em sedimentos coletados na região próxima ao Porto de Santos em 2015 (ABREU, 2016; ABREU *et al.*, 2020; SOARES *et al.*, 2021b) (Tabela 11, Material Suplementar). O DCOIT foi o biocida detectado em maiores concentrações em ambos os

estudos (74,6 e 41,1 ng g<sup>-1</sup>) e os autores reportam que a influência de atividades marítimas (presença de portos e yachts) e o tráfego de embarcações de lazer revestidos com tintas anti-incrustantes que possuem este biocida podem ser as principais justificativas para tais concentrações

Na região Nordeste do Brasil, os estudos sobre os biocidas de reforço avaliaram a ocorrência de Irgarol, diuron, clorotalonil e Tiram em diversas matrizes ambientais do estado do Maranhão (DINIZ, L., 2016; DINIZ, L. *et al.*, 2014; DINIZ, M., 2017; VIANA *et al.*, 2019, 2020). Em águas estuarinas e costeiras, diuron e Irgarol foram detectados em concentrações que variaram entre <0,05 e 7,80 µg L<sup>-1</sup> e <0,02 a 4,80 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente (DINIZ, L. *et al.*, 2014; DINIZ, M., 2017; VIANA *et al.*, 2020). Concentrações ainda menores foram detectadas em amostras de água intersticial (<0,05 – 0,47 µg L<sup>-1</sup> para diuron e <0,003 – 0,083 µg L<sup>-1</sup> para Irgarol) (VIANA *et al.*, 2019). Nos sedimentos, níveis relevantes de Irgarol (<1,0 a 45,6 ng g<sup>-1</sup>) e diuron (<5 a 55,2 ng g<sup>-1</sup>) foram detectados em áreas costeiras próximas à fontes potenciais de contaminação e podem estar associadas à presença de PTAs (VIANA *et al.*, 2019, 2020). Segundo os autores, estas concentrações são preocupantes, visto que podem induzir efeitos deletérios à organismos não-alvo de acordo com diretrizes internacionais de qualidade ambiental (BAKKE *et al.*, 2010; VAN WEZEL; VAN VLAARDINGEN, 2004).

Recentemente, a ocorrência de biocidas de reforço (clorotalonil, diclofluanida, diuron, Irgarol e DCOIT), de PTAs e de resíduos desses biocidas nas PTAs foi investigada em sedimentos de regiões sob influência de atividades marítimas distintas no Sistema Estuarino de Vitória, no estado do Espírito Santo (ABREU *et al.*, 2021). DCOIT e diuron foram os biocidas detectados com maior frequência, em concentrações variando de <0,2 a 63,6 ng g<sup>-1</sup> e <0,5 e 2,7 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. Clorotalonil, diclofluanida e Irgarol foram detectados em pelo menos uma amostra e, com exceção do primeiro, as concentrações observadas podem causar risco à biota (BAKKE *et al.*, 2010; VAN WEZEL; VAN VLAARDINGEN, 2004). As PTAs foram detectadas em todas estações, exceto na porção interna do sistema estuarino e, portanto, mais distante de fontes dessas partículas. Quando são liberadas para o ambiente, essas partículas ainda contêm biocidas anti-incrustantes em sua composição, podendo causar efeitos tóxicos à biota.

Embora o Brasil seja o país com o maior número de estudos com biocidas de reforço na América Latina, alguns estudos foram realizados na região caribenha (CARBERY *et al.*, 2006) e no Panamá (BATISTA-ANDRADE *et al.*, 2016, 2018). As águas caribenhas foram investigadas quanto à ocorrência de clorotalonil, diclofluanida, Irgarol e DCOIT em regiões próximas a marinas e portos. Apenas o Irgarol foi detectado em concentrações variando entre

<1 e 51 ng L<sup>-1</sup> em Porto Rico e entre <1 e 1300 ng L<sup>-1</sup> nas Ilhas Virgens Americanas (CARBERY *et al.*, 2006). Os autores destacam que as concentrações detectadas em alguns locais podem representar um risco agudo aos corais e às algas da região.

Águas costeiras e sedimentos superficiais próximos a marinas, portos, e na entrada do Canal do Panamá foram analisadas quanto à presença de cinco biocidas - diclofluanida, diuron, Irgarol, DCOIT e TCMTB (BATISTA-ANDRADE *et al.*, 2016, 2018). Na água, apenas o Irgarol e diuron foram detectados com concentrações que variaram de <0,3 a 5 ng L<sup>-1</sup> e <2,7 a 70 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente (BATISTA-ANDRADE *et al.*, 2016). Segundo os autores, as baixas concentrações detectadas sugerem pouca contribuição dos navios que cruzam o Canal do Panamá no aporte de biocidas para a coluna d'água. Entretanto, a exposição prolongada à baixas concentrações pode causar efeitos adversos à biota aquática. No sedimento, Irgarol (<0,08 a 2,8 ng g<sup>-1</sup>), diuron (<0,75 a 14 ng g<sup>-1</sup>) e DCOIT (<0,38 a 81,6 ng g<sup>-1</sup>) foram detectados e as maiores concentrações foram reportadas em áreas de intenso tráfego de embarcações e baixa renovação de água (BATISTA-ANDRADE *et al.*, 2018). Os níveis detectados em alguns pontos indicam, de acordo com as diretrizes norueguesa e holandesa (BAKKE *et al.*, 2010; VAN WEZEL; VAN VLAARDINGEN, 2004), a possibilidade de efeito tóxico à biota aquática, incluindo organismos bentônicos, peixes demersais, plantas aquáticas e recifes de corais.

#### 4.1.4.2 Efeitos tóxicos dos biocidas sobre a biota aquática

Alguns estudos avaliaram os efeitos tóxicos dos biocidas de reforço sobre organismos aquáticos em condições experimentais. Para isso, foram analisados organismos de diversos níveis tróficos como bivalves, poliquetas, peixes, ouriços-do-mar, copépodes, anfípodos, crustáceos e assembleias de nematódeos. O levantamento bibliográfico resultou em 19 artigos que realizaram experimentos em laboratório utilizando amostras de água e sedimento fortificadas com concentrações variáveis de clorotalonil, Irgarol, DCOIT, diclofluanida, diuron e cobre piritiosa (Tabela 8).

Tabela 8 - Principais informações dos estudos que avaliaram a toxicidade de biocidas anti-incrustantes de terceira geração sobre a biota aquática

<b>Grupo (espécie)</b>	<b>Concentração testada</b>	<b>Efeitos</b>	<b>Referências</b>
<b>CLOROTALONIL</b>			
Bivalve ( <i>P. perna</i> )	0,1; 10 µg L <sup>-1</sup>	Afeta respostas imunes e reduz a capacidade de sobrevivência do ar	GUERREIRO <i>et al.</i> , 2017
Bivalve ( <i>P. perna</i> )	0,1; 10 µg L <sup>-1</sup>	Altera o sistema de defesa antioxidante, causa desequilíbrio no estado redox e as brânquias podem estar atuando como primeira linha de defesa	GUERREIRO <i>et al.</i> , 2020
Poliqueta ( <i>L. acuta</i> )	0,1; 10; 100 µg L <sup>-1</sup>	Altera parâmetros bioquímicos e fisiológicos e induz ao estresse oxidativo	DA SILVA BARRETO <i>et al.</i> , 2018
Peixe ( <i>P. vivípara</i> )	1; 10 µg L <sup>-1</sup>	Danifica o DNA, reduz a qualidade espermática e induz ao estresse oxidativo	LOPES <i>et al.</i> , 2020
<b>IRGAROL</b>			
Peixe ( <i>M. beryllina</i> )	0,1; 10 mg L <sup>-1</sup>	Induz efeitos de desregulação da tireoide	MOREIRA <i>et al.</i> , 2018
<b>DCOIT</b>			
Bivalve ( <i>P. perna</i> )	0,1; 10 µg L <sup>-1</sup>	Modula alguns componentes do sistema de defesa antioxidante e as brânquias podem estar atuando como primeira linha de defesa	GABE; GUERREIRO; SANDRINI, 2021
Bivalve ( <i>A. mactroides</i> )	0.01; 0.13 mg L <sup>-1</sup>	Juvenis mostraram maior atividade basal de enzimas antioxidantes e o DCOIT reduziu as atividades GST, SOD e CAT nas brânquias e glândulas digestivas	DA SILVA <i>et al.</i> , 2021
<b>DICLOFLUANIDA</b>			

Bivalve ( <i>P. perna</i> )	0,1; 10; 100 µg L <sup>-1</sup>	Altera as atividades das enzimas antioxidantes, reduz o conteúdo de água e bisso e aumenta o consumo de oxigênio	ROLA <i>et al.</i> , 2020
Ouriço-do-mar ( <i>E. lucunter</i> ) e copépodo ( <i>Nitocra</i> sp),	0,1; 1; 10; 100; 1000 µg L <sup>-1</sup>	<i>Nitocra</i> sp: causa anormalidades embrionárias e reduz a fecundidade <i>E. lucunter</i> : causa anomalias em larvas em baixas concentrações	CRUZ, 2019
Bivalves ( <i>P. perna</i> e <i>A. flexuosa</i> )	0,01; 0,1; 1; 10; 100; 1000 µg L <sup>-1</sup> 1; 10; 100; 1000; 10000 µg g <sup>-1</sup>	Água: perda da estabilidade lisossômica e modificações nas glândulas digestivas e brânquias em concentrações mais altas Sedimento: efeitos mais expressivos em sedimentos com alto teor de matéria orgânica	CRUZ, 2019
Anfípodo ( <i>T. viscana</i> ) e copépodo ( <i>Nitocra</i> sp)	1; 10; 100; 1000; 10000 µg g <sup>-1</sup>	<i>Nitocra</i> sp: não foram observados efeitos tóxicos e a fecundidade foi similar para ambos sedimentos (alto e baixo teor de matéria orgânica) <i>T. viscana</i> : mortalidade aumentou nas concentrações 1000 e 10000 µg g <sup>-1</sup> e o teor de matéria orgânica influencia na toxicidade	CRUZ, 2019
<b>IRGAROL E DIURON</b>			
Ouriço-do-mar ( <i>L. variegatus</i> )	125; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000 µg L <sup>-1</sup>	Causa atrasos e algumas anormalidades esqueléticas. Irgarol é mais tóxico que o diuron e a embriogênese é interrompida mais cedo em organismos expostos ao Irgarol	PERINA <i>et al.</i> , 2011
Assembléias de nemátodos	5, 10, 50, 400, 500; 1600 µg kg <sup>-1</sup>	Reduz a densidade da meiofauna, a riqueza de espécies de nemátodos e a diversidade, altera a estrutura multivariada da comunidade e causa mortalidade precoce	GALLUCCI <i>et al.</i> , 2015
Copépodo ( <i>A. tonsa</i> ) e crustáceos ( <i>M. juniae</i> e <i>K. schubartii</i> )	200, 400, 800, 1600, 3200 µg L <sup>-1</sup> ( <i>A. tonsa</i> e <i>M. juniae</i> )	Biocidas apresentaram o mesmo padrão de toxicidade: Irgarol é mais tóxico que o diuron. <i>M. juniae</i> é mais sensível e <i>K. schubartii</i> é menos sensível	PERINA, 2009

	500; 1000; 5000; 10000; 20000 $\mu\text{g L}^{-1}$ ( <i>K. schubartii</i> )		
Ouriço-do-mar ( <i>L. variegatus</i> )	250; 500; 2000; 4000; 8000 $\mu\text{g L}^{-1}$	Toxicidade crônica na água: aumento progressivo na concentração resulta em efeitos mais pronunciados causados pelo Irgarol. Efeitos causados pelo diuron começam a ser sentidos em concentrações menores	PERINA, 2009
Anfípodo ( <i>T. viscana</i> )	3; 30; 300; 3000; 30000 $\mu\text{g L}^{-1}$	Toxicidade aguda no sedimento: <i>T. viscana</i> é mais sensível em comparação com a fase aquosa	PERINA, 2009
<b>CLOROTALONIL E DICLOFLUANIDA</b>			
Peixe ( <i>P. vivípara</i> )	10, 25, 50; 75 $\mu\text{g L}^{-1}$	Efeitos no fígado, intestino e pâncreas. Clorotalonil é mais tóxico que a diclofluanida	DE PAULO, 2018
<b>COBRE PIRITONA</b>			
Peixe ( <i>D. rerio</i> )	12; 64 $\mu\text{g L}^{-1}$	Causa anormalidades na notocorda (o que pode modificar os padrões de natação e locomoção), degeneração da fibra muscular e redução na capacidade antioxidante total	ALMOND; TROMBETTA, 2017
Peixe ( <i>S. fontinalis</i> )	2; 4; 8; 18; 32; 64 $\mu\text{g L}^{-1}$	Nas brânquias, aumenta a concentração de Cu e induz modificações ultra estruturais. Esgota as defesas antioxidantes celulares	BORG; TROMBETTA, 2010

Além dos estudos que avaliaram os efeitos tóxicos sobre a biota em condições experimentais, dois estudos reportaram o potencial risco ecológico dos biocidas de terceira geração nas matrizes água e sedimento (ABREU; MARTINS; FILLMANN, 2021; VIANA *et al.*, 2020). As concentrações sem efeito previsto (PNEC) calculadas para água foram 2,4 ng L<sup>-1</sup> e 1,5 ng L<sup>-1</sup> para Irgarol e diuron, respectivamente. Os quocientes de risco foram superiores a 1 para ambos os compostos, indicando alto risco à biota em concentrações superiores à 18,1 ng L<sup>-1</sup> de Irgarol e 3,2 ng L<sup>-1</sup> de diuron (VIANA *et al.*, 2020). Nos sedimentos, as PNEC reportadas foram 0,15 ng g<sup>-1</sup> para diuron, 0,97 ng g<sup>-1</sup> para DCOIT, 9,5 ng g<sup>-1</sup> para clorotalonil e 16 ng g<sup>-1</sup> para Irgarol. As análises ao longo da costa brasileira indicaram alto risco, com possibilidade de agravamento do impacto causado pelo DCOIT especialmente em portos, marinas, estaleiros e zonas de tráfego marítimo (ABREU; MARTINS; FILLMANN, 2021).

Devido a relevância das PTAs no aporte dos biocidas de reforço para os ambientes aquáticos, seu risco potencial sobre organismos bentônicos foi avaliado pela primeira vez recentemente utilizando sedimento fortificado com as PTAs e soluções elutriadas (SOROLDONI *et al.*, 2017, 2020). A presença de PTAs pode oferecer um risco ao copépode *Nitokra sp* – em baixas concentrações, foi observado uma redução significativa na sua fecundidade, enquanto que em altas concentrações, não houve sobrevivência (SOROLDONI *et al.*, 2017). O outro estudo reportou que as interações entre os organismos e o sedimento pode influenciar a toxicidade e alterar o comportamento dos organismos, colocando em risco a sobrevivência da população (SOROLDONI *et al.*, 2020). Além disso, os maiores níveis de mortalidade foram observados no teste realizado com sedimento em comparação com o teste com solução elutriada, sugerindo que a sensibilidade dos organismos está associada à matriz analisada (Soroldoni *et al.*, 2020).

Ambos os estudos enfatizam que mesmo após a retirada dos cascos de navios e embarcações, as PTAs podem conter níveis relevantes de compostos químicos que podem ser liberados no ambiente aquático. Assim, atuam como fontes contínuas e locais de metais e contaminantes orgânicos, afetando organismos epibentônicos e planctônicos. Conforme mencionado anteriormente, o Brasil não possui recomendações nem legislação quanto ao uso de biocidas de reforço em sistemas aquáticos. O primeiro passo necessário é o desenvolvimento de regulamentações e/ou restrições para alguns desses compostos, uma vez que os efeitos tóxicos causados por alguns deles já foram relatados (Tabela 8). Também é urgente a criação de programas de monitoramento e mitigação, principalmente em regiões com intenso tráfego de embarcações e navios e com presença de manutenção de embarcações, a fim de evitar a dispersão de contaminantes e manter a saúde dos ambientes aquáticos.

Soroldoni et al. (2018b) também avaliou a toxicidade de metais comumente encontrados em PTA sobre o copépode *Acartia tonsa*, testando diferentes salinidades e concentrações dos metais. Os resultados indicaram que os compostos tóxicos liberados pelas PTAs são tóxicos para esse organismo (até 100% de mortalidade), que a toxicidade está relacionada a presença do metal utilizado como biocida e que a salinidade afeta tanto a toxicidade quanto a liberação dos metais na água, com as maiores concentrações de Cu sendo observadas em salinidades mais altas (SOROLDONI *et al.*, 2018b).

#### 4.1.4.3 Metodologias analíticas

Várias metodologias têm sido propostas para investigar os biocidas de reforço em matrizes ambientais, visto que ainda não existe um método analítico padrão (SOARES *et al.*, 2021a). A detecção simultânea de múltiplos biocidas é uma alternativa interessante tanto para a redução dos custos envolvidos nas análises quanto para a redução do tempo de execução. De uma perspectiva analítica-operacional, as características físico-químicas de cada composto e a diversidade molecular faz com que as análises qualitativas e quantitativas sejam complexas. Além disso, os biocidas de reforço são frequentemente detectados em concentrações traço no ambiente, representando uma dificuldade que deve ser levada em conta durante o desenvolvimento do método analítico, visto que são necessários baixos limites de quantificação e detecção para garantir resultados mais robustos.

De forma geral, a metodologia mais utilizada em estudos ambientais emprega a extração em fase sólida (SPE) para concentração dos analitos e cromatografia líquida para identificação e quantificação. A SPE é uma das etapas mais importantes, pois promove a extração e a pré-concentração dos analitos, além de remover os interferentes (JARDIM, 2010). A maioria dos biocidas de reforço possui polaridade intermediária, com o log Kow entre 2 e 4 – compostos não polares possuem log Kow > 4 e compostos polares, o log Kow varia entre <1 e 1,5. Por esta razão, a cromatografia líquida é a mais indicada, além de permitir a análise de produtos de degradação (SOARES *et al.*, 2021a).

Neste tópico estão apresentados apenas os estudos brasileiros pois não foram encontrados estudos de outros países latino-americanos e região caribenha. Esses métodos propõem a análise simultânea de alguns biocidas em amostras de sedimento e/ou água e diferem principalmente quanto ao método de extração e sistema de detecção. Informações como biocidas e matrizes analisadas, os limites de quantificação do método e as metodologias empregadas nos estudos estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Metodologias analíticas para determinação de biocidas de reforço anti-incrustantes em matrizes ambientais na América Latina

Extração	Instrumentação analítica	Limite de quantificação (LOQ)							Referência
		Clorotalonil	Diclofluanida	Diuron	DCOIT	Irgarol	TCMTB	Tiram	
<b>SEDIMENTO (ng g<sup>-1</sup>)</b>									
USE e SPE	LC-MS/MS	NA	NA	1	5	1	1	NA	ABREU, 2016
USE e SPE	HPLC-ESI-SQ-MS	NA	NA	ND	NA	0,5	NA	NA	VIANA, 2017
VA-MSPD	LC-MS/MS	NA	1	1	5	1	1	NA	CALDAS <i>et al.</i> , 2018
VA-MSPD	HPLC-MS/MS	NA	2,48	2,87	1,78	1,44	NA	NA	SOARES <i>et al.</i> , 2021b
<b>ÁGUA (ng L<sup>-1</sup>)</b>									
SPE	LC-ESI-MS-MS	NA	NA	40	NA	4	NA	NA	DEMOLINER <i>et al.</i> , 2010
SPE	LC-ESI-MS-MS	NA	NA	4	NA	4	NA	NA	DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 2014
SPE	LC-ESI-MS-MS e HPLC-DAD	NA	NA	4 <sup>(a)</sup> e 100 <sup>(b)</sup>	NA	20 <sup>(a)</sup> e 50 <sup>(b)</sup>	NA	NA	DINIZ, L. <i>et al.</i> , 2014
SPE	HPLC-DAD	200	NA	70	NA	500	NA	1040	DINIZ, L., 2016
<b>BIOTA (ng g<sup>-1</sup>)</b>									
MAE e USE	LC-ESI-MS/MS	NA	NA	3,6	NA	0,3	NA	NA	DINIZ, L. <i>et al.</i> , 2017
VA-MSPD	LC-MS/MS	NA	NA	50	NA	5	NA	NA	VIEIRA <i>et al.</i> , 2018a
VA-MSPD	GC-ECD	125	625	NA	625	NA	625	NA	VIEIRA <i>et al.</i> , 2018b

<sup>(a)</sup>LC-ESI-MS-MS; <sup>(b)</sup>HPLC-DAD; NA: não analisado

USE - extração por ultrassom; SPE - extração em fase sólida; VA-MSPD - dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex; MAE - extração assistida por microondas; LC-MS/MS - cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial; HPLC-ESI-SQ-MS - cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas com fonte de ionização em eletrospray e analisador de massas quadrupolar simples; HPLC-MS/MS - cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial; LC-ESI-MS-MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial; HPLC-DAD - cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos; GC-MS - cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; GC-ECD - cromatografia gasosa acoplada ao detector de captura de elétrons

#### 4.1.5 Considerações finais

A limitação de informações disponíveis para países tropicais foi evidenciada, visto que a maioria dos estudos estão restritos aos países europeus e asiáticos. Neste sentido, vale ressaltar que as peculiaridades de cada região (condições climáticas e oceanográficas, diversidade biológica, ocorrência de atividades marítimas) devem ser levadas em consideração na interpretação dos resultados obtidos. Por exemplo, uma região com atividades marítimas (presença de portos e estaleiros) e com condições hidrodinâmicas que facilitam a adsorção dos contaminantes na fração particulada provavelmente terá maiores concentrações de biocidas anti-incrustantes em comparação com uma área com baixa circulação de água e poucas fontes potenciais destes compostos.

Um grande desafio para a comunidade científica mundial que ainda persiste é a ausência de um método analítico padrão para as análises simultâneas dos diversos biocidas de reforço nas diferentes matrizes ambientais. Essa lacuna, associada à ausência de legislação na maioria dos países latino-americanos e na região caribenha, representam uma limitação ao desenvolvimento de estudos sobre a ocorrência destes biocidas em ambientes naturais e a viabilidade econômica e de infraestrutura para implantação de programas de monitoramento ambiental.

Embora a literatura reporte estudos em várias matrizes ambientais (água, sedimento, PTAs, água intersticial e biota), esses estudos ainda estão restritos a poucos países da América Latina, sendo mais predominantes nas regiões sul e sudeste do Brasil. Mais estudos devem ser realizados em outros países da América Latina e região caribenha, a fim de obter um banco de dados mais completo e representativo quanto à ocorrência de biocidas anti-incrustantes nestas regiões.

Quanto aos estudos utilizando matrizes biológicas, é importante compreender o modo de ação individual dos biocidas, porém os organismos estão frequentemente expostos a uma mistura de contaminantes no ambiente natural. As tintas anti-incrustantes são compostas por mais de um elemento potencialmente tóxico, sendo essencial que os estudos de toxicidade simulem condições mais realistas. Experimentos com dois ou mais biocidas, em concentrações ambientalmente relevantes, devem ser conduzidos para avaliar a ocorrência de efeitos antagônicos, aditivos ou sinérgicos. O papel dos biocidas nos diferentes grupos tróficos também deve ser investigado.

A integração dos dados sobre ocorrência ambiental e os efeitos toxicológicos são fundamentais para o entendimento da extensão da contaminação ambiental, e certamente

servirão de subsídios para o desenvolvimento de ações regulatórias, sejam para mitigação ou proteção do ambiente. Espera-se que, desta forma, o primeiro passo seja dado para a criação de leis referentes ao uso de tintas anti-incrustantes contendo os biocidas de reforço, principalmente na América Latina, onde estas ações são nulas.

## 4.1.6 Material suplementar

Tabela 10 - Ocorrência mundial de alguns biocidas de reforço em amostras de água e sedimento

Analito	Localização	Matriz	Ano de coleta	Concentração	Referências
<b>Clorotalonil</b>	Coréia	Sedimento	2013	10,4 (média)	LEE, S; LEE, Y., 2017
	Grécia	Sedimento	1999-2000	<8 – 165	ALBANIS <i>et al.</i> , 2002
	Coréia	Água	2009	ND – 67,96	LEE, S. <i>et al.</i> , 2010
	Grécia	Água	1999-2000	<5,2 – 163	SAKKAS <i>et al.</i> , 2002
	Huelva, Espanha	Água	2010	<10	GIRÁLDEZ <i>et al.</i> , 2013
<b>TCMTB</b>	Coréia	Sedimento	2013	<21,22 (média)	LEE, S; LEE, Y., 2017
	Huelva, Espanha	Sedimento	2018	ND	GARCÍA <i>et al.</i> , 2020
	Huelva, Espanha	Água	2010	<900	GIRÁLDEZ <i>et al.</i> , 2013
	Gran Canária, Espanha	Água	2008	ND	SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2011
<b>Diclofluánida</b>	Coréia	Sedimento	2013	0,2 (média)	LEE, S; LEE, Y., 2017
	Grécia	Sedimento	2003	<5	HAMWIJK <i>et al.</i> , 2005
	Malásia	Sedimento	2005-2006	<0,1	HARINO <i>et al.</i> , 2009
	Vietnã	Sedimento	2012	<0,10 – 13	HARINO <i>et al.</i> , 2006
	Grécia	Água	2003	<3	HAMWIJK <i>et al.</i> , 2005
	Coréia	Água	2009	ND – 74,79	LEE, S. <i>et al.</i> , 2010
	Golfo de Napoli, Itália	Água	2010	<1	ANSANELLI <i>et al.</i> , 2017
	Coréia	Água	2006-2009	8,50 – 21,77	LEE, S. <i>et al.</i> , 2011
<b>DCOIT</b>	Huelva, Espanha	Sedimento	2018	2,1 ± 0,1	GARCÍA <i>et al.</i> , 2020
	Baía Gwangyang, Coréia	Sedimento	2014-2015	<0,06 – 117	LAM <i>et al.</i> , 2017
	Baía Maizuru, Japão	Sedimento	2007	<0,04 – 7,2	EGUCHI; HARINO; YAMAMOTO, 2010
	Baía Gwangyang, Coréia	Água	2014-2015	<0,16 – 2,44	LAM <i>et al.</i> , 2017

	Huelva, Espanha	Água	2010	<8	GIRÁLDEZ <i>et al.</i> , 2013
<b>Diuron</b>	Mar Interior de Seto, Japão	Sedimento	2012-2014	897 ± 215 (média)	KAONGA; TAKEDA; SAKUGAWA, 2016
	Baía Gwangyang, Coréia	Sedimento	2014-2015	<0,06 – 144	LAM <i>et al.</i> , 2017
	Califórnia, EUA	Sedimento	2008	<0,3 – 4,2	SAPOZHNIKOVA <i>et al.</i> , 2013
	Baía Maizuru, Japão	Sedimento	2007	<0,08 – 9,6	EGUCHI; HARINO; YAMAMOTO, 2010
	Golfo de Napoli, Itália	Água	2010	1,6 – 34,8	ANSANELLI <i>et al.</i> , 2017
	Catalunha, Espanha	Água	2015	0,3 – 20	KÖCK-SCHULMEYER <i>et al.</i> , 2019
	Baía Gwangyang, Coréia	Água	2014-2015	<0,31 – 96,2	LAM <i>et al.</i> , 2017
	Califórnia, EUA	Água	2008	<2 – 68	SAPOZHNIKOVA <i>et al.</i> , 2013
<b>Irgarol</b>	Ilha Sjaelland, Dinamarca	Sedimento	2019	<0,1 - 21,95 ± 3,07	KONING; BOLLMANN; BESTER, 2020
	Bushehr, Irã	Sedimento	2013	<2,04 – 35,4	SALEH <i>et al.</i> , 2016
	Huelva, Espanha	Sedimento	2018	2,02 – 9	GARCÍA <i>et al.</i> , 2020
	Baía Gwangyang, Coréia	Sedimento	2014-2015	<0,02 – 7,79	LAM <i>et al.</i> , 2017
	Califórnia, EUA	Sedimento	2008	<0,3 – 8,9	SAPOZHNIKOVA <i>et al.</i> , 2013
	Baía Maizuru, Japão	Sedimento	2007	<0,08 – 9,8	EGUCHI; HARINO; YAMAMOTO, 2010
	Ilha Sjaelland, Dinamarca	Água	2019	ND – 1,44 ± 0,34	KONING; BOLLMANN; BESTER, 2020
	Golfo de Napoli, Itália	Água	2010	0,8 – 134,5	ANSANELLI <i>et al.</i> , 2017
	Catalunha, Espanha	Água	2015	0,2 – 85	KÖCK-SCHULMEYER <i>et al.</i> , 2019
	Baía Gwangyang, Coréia	Água	2014-2015	<0,12 – 2,05	LAM <i>et al.</i> , 2017
	Malásia	Água	2011-2012	ND – 2021	ALI <i>et al.</i> , 2013
	Califórnia, EUA	Água	2008	2 – 254	SAPOZHNIKOVA <i>et al.</i> , 2013
	Oahu, Havai	Água	2005-2007	<17 – 283	KNUTSON; DOWNS; RICHMOND, 2012
	Baía Maizuru, Japão	Água	2007	2 – 18	EGUCHI; HARINO; YAMAMOTO, 2010

\*Concentrações nas águas estão expressas em ng L<sup>-1</sup> e nos sedimentos estão em ng g<sup>-1</sup>

Tabela 11 - Concentrações ambientais de biocidas anti-incrustantes de terceira geração em amostras de água, biota e sedimento

ÁGUA (ng L <sup>-1</sup> )								
Localização	Clorotalonil	Diclofluanida	Diuron	Irgarol	DCOIT	TCMTB	Tiram	Referências
Campos dos Goytacazes (RJ)	NA	NA	NA	138	NA	NA	NA	AZEVEDO; GERCHON; DOS REIS, 2004
Canal de São Gonçalo (RS)	NA	NA	50 – 790	4 – 10	NA	NA	NA	CALDAS <i>et al.</i> , 2019
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	NA	<1,3 – 20,9 ± 6	<1,3 – 6,2	NA	NA	NA	DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 2014
Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SP)	ND	NA	<70 – 1250	<500 – 2330	NA	NA	450 – 1300	DINIZ, L., 2016
Complexo Portuário de São Luis (MA)	ND	NA	<70 – 7400	<500 – 5700	NA	NA	<1040	DINIZ, L., 2016
Manguezal próximo ao Porto de Itaqui	NA	NA	<4,0 – 7,80	<0,02 – 4,80	NA	NA	NA	DINIZ, L. <i>et al.</i> , 2014
Costa da Ilha de São Luís (MA)	NA	NA	ND*	<0,4 – 3810	NA	NA	NA	DINIZ, M., 2017
Ilha de São Luís (MA)	NA	NA	<47 – 470	<3,0 – 83	NA	NA	NA	VIANA <i>et al.</i> , 2019
Baía de São Marcos (MA)	NA	NA	2,8 – 11,3	10,3 – 19	NA	NA	NA	VIANA <i>et al.</i> , 2020
Panamá	NA	ND	<2,7 – 70	<0,3 – 5	ND	ND	NA	BATISTA-ANDRADE <i>et al.</i> , 2016
Porto Rico <sup>a</sup> e Ilhas Virgens Americanas <sup>b</sup>	<1,0	<1,0	NA	1 – 51 <sup>a</sup> <1 – 1300 <sup>b</sup>	<1,0	NA	NA	CARBERY <i>et al.</i> , 2006

BIOTA (ng g <sup>-1</sup> )								
Localização	Clorotalonil	Diclofluanida	Diuron	Irgarol	DCOIT	TCMTB	Tiram	Referências
Gran Canária (Espanha) e Ilha de São Luis, MA	NA	NA	<3,6	13,1 ± 0,65	NA	NA	NA	DINIZ, L. <i>et al.</i> , 2017
Experimento	ND	NA	NA	ND	NA	NA	NA	VIEIRA <i>et al.</i> , 2018a(DINIZ <i>et al.</i> , 2014a)(DINIZ <i>et al.</i> , 2014a)(DINIZ <i>et al.</i> , 2014a)
Experimento	ND	ND	NA	NA	ND	ND	NA	VIEIRA <i>et al.</i> , 2018b
SEDIMENTO (ng g <sup>-1</sup> )								
Localização	Clorotalonil	Diclofluanida	Diuron	Irgarol	DCOIT	TCMTB	Tiram	Referências
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	NA	<0,1 – 7,8	<0,1 – 17,8	<0,1 – 213	<0,1 – 2,6	NA	ABREU, 2016
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	<5	<5,0	7.3 ± 3.5 – 5.5 ± 1.9	2,9 ± 0,2 – 1636 ± 312	<5,0	NA	CALDAS <i>et al.</i> , 2018
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	NA	<0,03 – 1,6	<0,03 – 0,2	NA	NA	NA	DOMINGUEZ, 2010
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	ND	ND	2,18	9,18	NA	NA	SOARES <i>et al.</i> , 2021b
Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	NA	NA	<0,1 – 7,7 ± 3,6	<0,1 – 17,8	<0,5 – 273,7 ± 3,1	<0,1 – 2,6 ± 0,1	NA	SOROLDONI <i>et al.</i> , 2018a
Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SP)	NA	NA	<1,0	<1,0	<5,0	<1,0	NA	ABREU, 2016

<b>Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SP)</b>	<0,1 – 9,2	<0,7 – 16	<0,5 – 9,9	<0,5	<0,2 – 74,6	NA	NA	ABREU <i>et al.</i> , 2020
<b>Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SP)</b>	NA	ND	ND	<0,43 – 1,6	5,0 – 41,1	NA	NA	SOARES <i>et al.</i> , 2021b
<b>Ilha de São Luís (MA)</b>	NA	NA	<5,0 – 55,2	<1,0 – 87,9	NA	NA	NA	VIANA <i>et al.</i> , 2019
<b>Baía de São Marcos (MA)</b>	NA	NA	<LOD a 15	<1,6 – 4,5	NA	NA	NA	VIANA <i>et al.</i> , 2020
<b>Costa da Ilha de São Luís (MA)</b>	NA	NA	ND	0,54 ± 0,21 e 4,66 ± 5,04	NA	NA	NA	VIANA, 2017
<b>Panamá</b>	NA	ND	<0,75 – 14	<0,08 – 28	<0,38 – 81,6	ND	NA	BATISTA-ANDRADE <i>et al.</i> , 2018

---

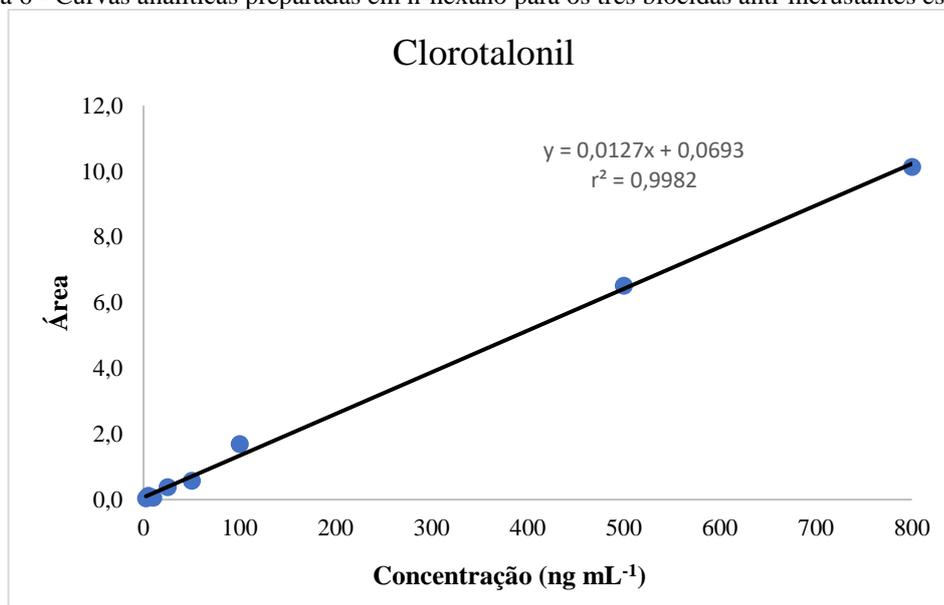
## 4.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS

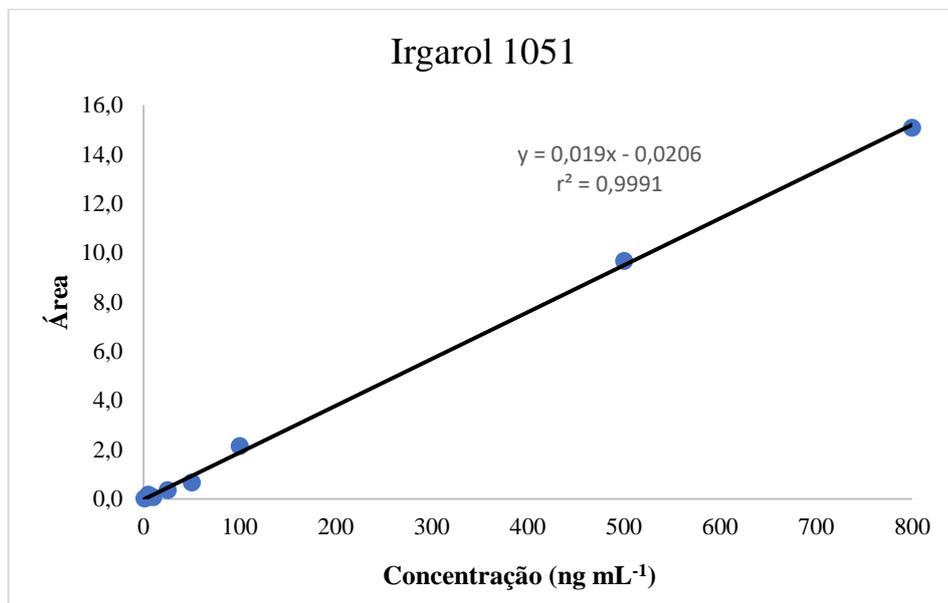
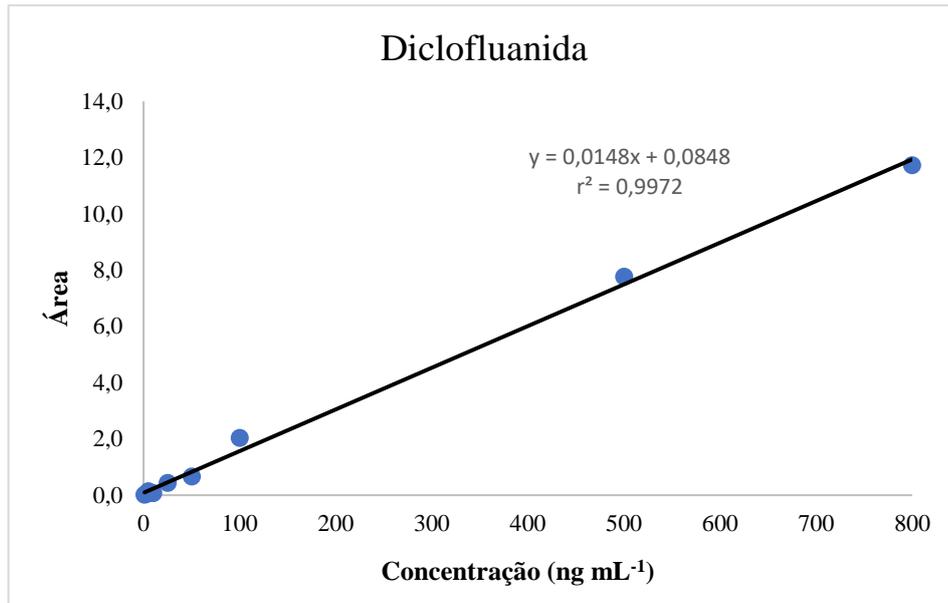
### 4.2.1 Linearidade, curva analítica e faixa linear

De acordo com o INMETRO (2020) e a ANVISA (2017), a curva analítica deve conter, no mínimo, 5 níveis de concentração. O modelo de regressão linear e o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) permitem estimar a qualidade da curva obtida - quanto mais próximo de 1, menores são a dispersão dos pontos e a incerteza da quantificação das amostras (RIBANI *et al.*, 2004). O INMETRO recomenda um coeficiente de determinação ( $r^2$ ) acima de 0,90 (INMETRO, 2020), enquanto a ANVISA recomenda um valor acima de 0,990 (ANVISA, 2017).

A linearidade da resposta dos analitos e as faixas lineares foram avaliadas por meio das curvas analíticas individuais (Figura 6), e observou-se que os coeficientes de determinação ( $r^2$ ) obtidos foram superiores a 0,99 para os três biocidas estudados. Os coeficientes de determinação estão de acordo com as orientações do INMETRO e da ANVISA e estão apresentados na Tabela 12, juntamente com as equações das retas.

Figura 6 - Curvas analíticas preparadas em n-hexano para os três biocidas anti-incrustantes estudados





Fonte: A autora (2021).

Tabela 12 - Equações de regressão linear, coeficientes de determinação ( $r^2$ ) e faixas lineares dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração estudados

<b>Analito</b>	<b>Equação da reta</b>	<b><math>r^2</math></b>	<b>Faixa linear (ng mL<sup>-1</sup>)</b>
<b>Clorotalonil</b>	$y = 1,27x + 0,0693$	0,9982	2,5 – 800
<b>Diclofluanida</b>	$y = 1,4814x + 0,0848$	0,9972	1 – 800
<b>Irgarol</b>	$y = 1,9023x - 0,0206$	0,9991	1 – 800

Fonte: A autora (2021).

#### 4.2.2 Precisão e exatidão

Os resultados obtidos para avaliar a precisão, aqui reportados como os valores do coeficiente de variação (CV), estão de acordo com as recomendações dos órgãos reguladores (INMETRO e ANVISA) – neste caso, inferiores a 20%, indicando que o método proposto é preciso. A recuperação dos analitos (exatidão) em amostras de água variou entre  $81 \pm 1,1\%$  e  $122 \pm 17\%$  para o clorotalonil,  $35 \pm 4,5\%$  e  $44 \pm 0,7\%$  para a diclofluanida e  $80 \pm 1,2\%$  a  $114 \pm 16\%$  para o Irgarol nas concentrações 25, 100 e 500 ng mL<sup>-1</sup> (Tabela 13).

A diclofluanida apresentou a menor recuperação entre os três analitos, embora os resultados estejam de acordo com as recomendações propostas. Este composto apresenta a menor solubilidade e tempo de meia vida (Tabela 1). Estes fatores podem contribuir para que a diclofluanida seja removida da coluna d'água mesmo antes da finalização do teste. Novos testes devem ser realizados otimizando o tempo de análise e utilizando maiores volumes de água (maior massa de diclofluanida a ser extraída) para obtenção de resultados mais satisfatórios.

Tabela 13 - Valores médios de repetitividade (CV) e recuperação (n = 3) do método utilizado para análise de biocidas anti-incrustantes em amostras de água fortificada

Analitos	Repetitividade (CV, %)			Recuperação (média ± DP, %)		
	25 ng mL <sup>-1</sup>	100 ng mL <sup>-1</sup>	500 ng mL <sup>-1</sup>	25 ng mL <sup>-1</sup>	100 ng mL <sup>-1</sup>	500 ng mL <sup>-1</sup>
<b>Clorotalonil</b>	5	2	3	$81 \pm 1,1$	$107 \pm 2,6$	$122 \pm 17$
<b>Diclofluanida</b>	6	2	5	$44 \pm 0,7$	$35 \pm 4,5$	$43 \pm 9,9$
<b>Irgarol</b>	6	3	3	$80 \pm 1,2$	$91 \pm 2,4$	$114 \pm 16$

Fonte: A autora (2021).

Foi realizado apenas um teste com amostras de sedimentos fortificadas, onde foram testados 3 níveis de fortificação: 2,5, 100 e 800 ng g<sup>-1</sup> em triplicata. Não houve recuperação de nenhum biocida no menor nível de fortificação (2,5 ng g<sup>-1</sup>) e a recuperação do clorotalonil na concentração de 100 ng g<sup>-1</sup> foi abaixo do limite inferior aceitável (40%). Os biocidas Irgarol e diclofluanida apresentaram recuperações dentro das recomendações do INMETRO e da ANVISA ( $64 \pm 4\%$  a  $100 \pm 14\%$ , respectivamente) (Tabela 14). Estes resultados são considerados preliminares pois apenas um lote analítico foi realizado, indicando a necessidade de novos testes para ajustes e aperfeiçoamento da metodologia aplicada, como a utilização de concentrações intermediárias entre a faixa de 2,5 e 100 ng g<sup>-1</sup> (por exemplo, 10 e 50 ng g<sup>-1</sup>).

Tabela 14 - Valores médios de repetitividade (CV) e recuperação (n = 3) dos biocidas anti-incrustantes em amostras de sedimento fortificado

Analitos	Repetitividade (CV, %)			Recuperação (média ± DP, %)		
	25 ng mL <sup>-1</sup>	100 ng mL <sup>-1</sup>	500 ng mL <sup>-1</sup>	25 ng mL <sup>-1</sup>	100 ng mL <sup>-1</sup>	500 ng mL <sup>-1</sup>
<b>Clorotalonil</b>	5	2	3	81 ± 1,1	107 ± 2,6	122 ± 17
<b>Diclofluanida</b>	6	2	5	44 ± 0,7	35 ± 4,5	43 ± 9,9
<b>Irgarol</b>	6	3	3	80 ± 1,2	91 ± 2,4	114 ± 16

Fonte: A autora (2021).

### 4.3 BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA GERAÇÃO EM MATRIZES AMBIENTAIS

A presença dos três biocidas anti-incrustantes (clorotalonil, diclofluanida e Irgarol) foi avaliada em amostras de água, material particulado em suspensão e sedimento e os resultados estão separados de acordo com a matriz analisada. O Irgarol foi detectado apenas no sedimento, a diclofluanida foi observada nas três matrizes e o clorotalonil não foi detectado em nenhuma amostra. A ausência do clorotalonil nas três matrizes analisadas não significa que este biocida não está sendo utilizado em embarcações que trafegam pelo SERC. Fatores como baixa solubilidade em água (0,6 a 1,2 mg L<sup>-1</sup>), meia-vida de apenas algumas horas e diminuição da concentração através de processos de bio ou fotodegradação (CASTRO; WESTPHAL; FILLMANN, 2011; CAUX *et al.*, 1996) dificultam a detecção desse composto em amostras ambientais. Esta dificuldade também foi observada no teste de recuperação realizado neste estudo, onde baixas concentrações não foram recuperadas e concentrações intermediárias (100 ng g<sup>-1</sup>) apresentaram baixa recuperação (~25%).

#### 4.3.1 Água

As amostras de água foram coletadas na maré vazante (sizígia) com o objetivo de investigar as concentrações residuais dentro do ambiente estudado (menor influência das águas oceânicas). Devido a problemas logísticos, as coletas não foram realizadas no mesmo momento da maré, o que reflete nas diferentes salinidades entre as cada campanha (Tabela 15). Na campanha 1, a coleta do P1 foi realizada sob chuva e após o estófo da maré, o que poderia ocasionar uma menor salinidade e diluição das concentrações. Em todo o período estudado, este foi o ponto/campanha que apresentou a menor salinidade e a menor concentração de diclofluanida (Tabela 16).

Tabela 15 - Salinidade e intervalo de tempo (min) entre a coleta e o estofa da maré vazante (valores negativos representam o intervalo antes do estofa da maré vazante e valores positivos representam o intervalo após o estofa da maré)

Ponto	Campanha 1 14/10/2020	Δ Maré (min)	Campanha 2 30/10/2020	Δ Maré (min)	Campanha 3 11/02/2021	Δ Maré (min)
P1	2,0	+149	6,0	-104	8,0	-107
P2	15,0	-98	6,0	-71	13,0	-72
P3	31,0	-56	24,0	-51	28,0	-54
P4	25,0	+90	20,0	-29	25,0	-30
P5	25,0	+38	25,0	+5	25,0	-2
P6	33,0	+14	28,0	+18	33,0	+11
P7	29,0	+1	22,0	+44	27,0	+29
Chuva	Sim	-	Não	-	Não	-

Fonte: A autora (2021).

Dentre as amostras de águas estuarinas analisadas, irgarol e clorotalonil não foram detectados e a diclofluanida apresentou concentrações entre  $4,6 \pm 0,1$  e  $24,2 \pm 6,8$  ng L<sup>-1</sup> em 84% (53 das 63 réplicas). Os valores médios e seus respectivos desvios foram calculados para cada campanha e ponto (Tabela 16). A recuperação média do padrão interno (*surrogate*, terbutrin) foi de  $85 \pm 18\%$ .

Tabela 16 - Concentrações médias (n = 3) (ng L<sup>-1</sup>) da diclofluanida em amostras de água do SERC

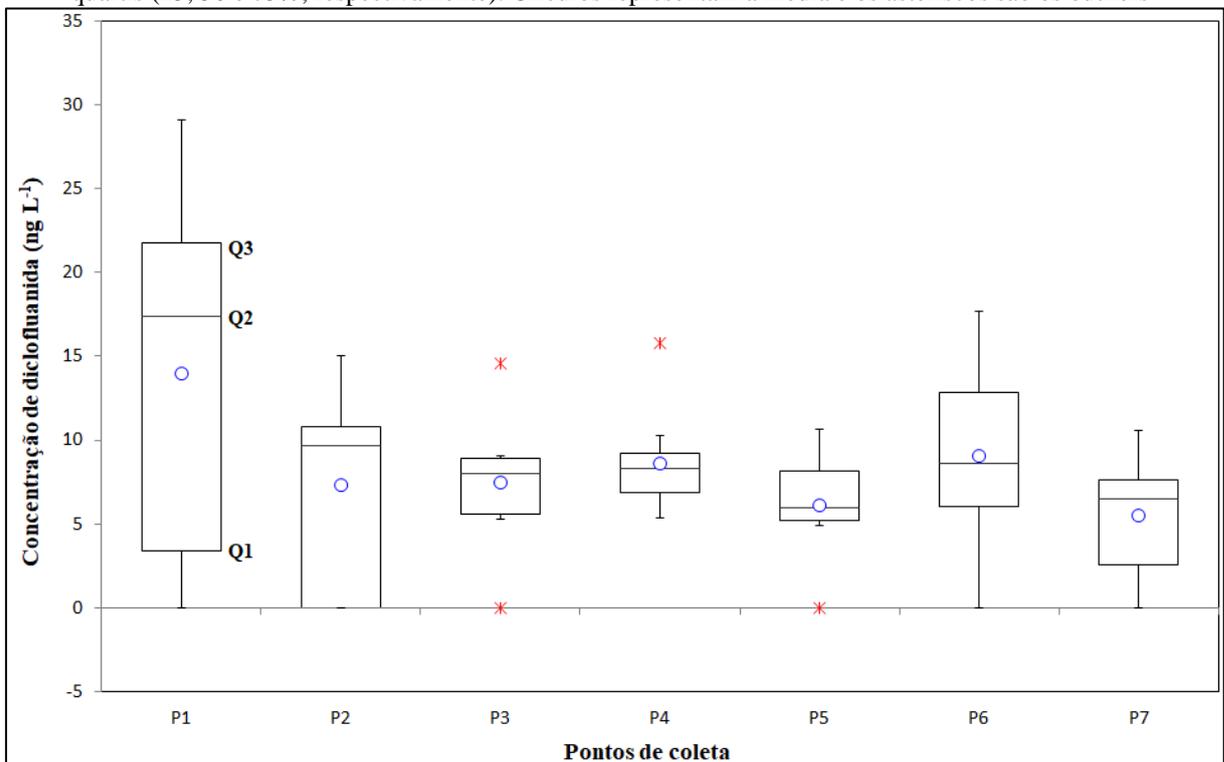
Ponto	Concentração (ng L <sup>-1</sup> ) ± desvio padrão		
	Campanha 1 14/10/2020	Campanha 2 30/10/2020	Campanha 3 11/02/2021
P1	4,6 ± 0,1*	24,2 ± 6,8*	21,7 ± 6,5
P2	12,2 ± 2,4	7,4 **	9,7*
P3	8,4 ± 1,0	10,0 ± 6,6*	7,3 ± 1,5
P4	7,3 ± 0,8	9,5 ± 5,6	9,2 ± 1,0
P5	7,5 ± 2,7	6,7 ± 1,7*	6,0 ± 2,0
P6	7,4 ± 1,5	10,0 ± 5,4*	13,3 ± 4,1
P7	5,6 ± 1,9	5,3**	8,7 ± 1,7

Fonte: A autora (2021). \*n = 2; \*\*n = 1.

Na coleta 1, o P1 apresentou a menor concentração ( $4,6 \pm 0,1 \text{ ng L}^{-1}$ ) em contraste com as coletas 2 e 3, cujas concentrações foram  $24,2 \pm 6,8$  e  $21,7 \pm 6,5 \text{ ng L}^{-1}$ , respectivamente. As chuvas no momento da coleta podem ter contribuído para a diluição das concentrações do biocida neste local. Além disto, este ponto dista aproximadamente 11 km da foz do Capibaribe e, mesmo sendo coletado 2h após o estófo da maré vazante (já em regime de maré enchente), as águas fluviais ainda predominam ( $S = 2$ ).

A diclofluanida apresenta elevada taxa de degradação e baixa solubilidade em água (Tabela 1), favorecendo o seu particionamento na fração particulada. Sua presença recorrente sugere um aporte recente e constante no ambiente aquático. Esta afirmação também é corroborada pelo fato de este composto ter um tempo de meia vida menor que um dia (Tabela 1), sugerindo que as concentrações observadas são recém introduzidas. A concentração mediana de cada ponto amostral para os 3 meses amostrados foi calculada para auxiliar na identificação de similaridade entre os pontos de coleta e facilitar a visualização dos resultados (Figura 7).

Figura 7 - Box-plot com as concentrações de diclofluanida ( $\text{ng L}^{-1}$ ) nas três campanhas. Q1, Q2 e Q3 são os quartis (25, 50 e 75%, respectivamente). Círculos representam a média e os asteriscos são os outliers



Fonte: A autora (2021).

As maiores concentrações medianas de diclofluanida foram detectadas nos pontos P1 e P2 –  $17,4 \text{ ng L}^{-1}$  e  $9,7 \text{ ng L}^{-1}$ , respectivamente. O P1 está localizado na ZTM, região onde há

acúmulo de material particulado em suspensão e de matéria orgânica, sendo importante para a dinâmica dos poluentes no estuário (SCHETTINI *et al.*, 2016b). As altas concentrações de diclofluanida nesta região provavelmente são resultantes da influência da maré, que traz contaminantes de fontes mais distantes (como portos e marinas) e que são acumulados na coluna d'água devido às características da ZTM. O SERC é um sistema interligado e a presença de contaminantes na ZTM confirma a alta eficiência de aprisionamento de compostos (DYER, 1995; SCHETTINI *et al.*, 2016b), corroborando com as altas concentrações de hidrocarbonetos observadas por Cabral (2014).

As concentrações medianas nas marinas foram  $8,0 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $8,3 \text{ ng L}^{-1}$  e  $5,9 \text{ ng L}^{-1}$  para os pontos P3, P4 e P5, respectivamente. Estes pontos estão localizados nas proximidades de iates clubes onde a densidade de embarcações é alta e a hidrodinâmica é relativamente menor. A presença da diclofluanida na água sugere uma introdução recente deste composto para o ambiente aquático, e que as prováveis fontes são as tintas anti-incrustantes utilizadas nas embarcações atracadas nesses locais. A contribuição individual de barcos menores talvez não seja tão relevante (área superficial menor), porém uma área confinada com a grande quantidade de embarcações observadas pode contribuir de forma significativa no aporte de diclofluanida para o ambiente aquático. Resultados similares foram observados em águas marinhas gregas, onde a maior concentração de diclofluanida foi detectada nas proximidades de uma marina, uma área fechada e com pouca renovação de água (SAKKAS *et al.*, 2002).

O P2 está localizado numa área de confluência de corpos hídricos (rios Jordão, Tejió e Capibaribe e Canal de Maré do Pina), e o fluxo de água doce neste local é relevante. Esta característica sugere que a diclofluanida pode ser aportada no SERC através da lixiviação de solos agrícolas que utilizam esse composto como fungicida. Além disto, a força da maré dentro do SERC alcança esta região e pode trazer os biocidas utilizados em tintas anti-incrustantes das embarcações que trafegam na área ou que estão atracadas nas marinas/iates clubes das proximidades. Esta influência da hidrodinâmica local sobre o P2 já foi reportada em estudos de hidrocarbonetos de petróleo nesta área (FAVROD, 2012; MACIEL *et al.*, 2015).

O Porto do Recife (P6) está sujeito a uma hidrodinâmica mais intensa devido à proximidade com o Oceano Atlântico. As águas marinhas, caracterizadas pela baixa contaminação, desempenham o importante papel de diluir/dispersar os contaminantes, como observado para os hidrocarbonetos de petróleo (FAVROD, 2012; MACIEL *et al.*, 2015). A presença da diclofluanida na área portuária sugere a introdução recente e contínua deste agente anti-incrustante através das tintas utilizadas principalmente por grandes embarcações, visto que estas permanecem atracadas durante a carga e descarga das mercadorias, liberando

diclofluanida na água. Além disto, nos arredores há uma intensa atividade de pequenas embarcações que atravessam turistas da área portuária ao Parque das Esculturas Francisco Brennand. Estes resultados apontam a proximidade das fontes como principal razão para as concentrações relativamente maiores observadas nesta região. Esta hipótese é corroborada pelos resultados observados no P7, ponto de encontro do estuário com águas oceânicas. As concentrações detectadas em P7 foram pouco menores e provavelmente são resultantes da maior diluição do contaminante pelas águas do oceano.

A análise individual dos pontos amostrados nas três campanhas mostrou diferença significativa apenas para P7, com maiores concentrações na campanha 3 ( $p < 0.028$ ). Esta campanha foi realizada no dia 11 de fevereiro de 2021, semana que antecedeu o Carnaval. Apesar das medidas restritivas adotadas devido à pandemia do COVID-19, dados do Fórum de Operadores Hoteleiros do Brasil (FOHB, 2021) indicaram um aumento na ocupação hoteleira e na quantidade de turistas no Recife neste período. É possível que o aporte desse biocida para o ambiente aquático tenha sido intensificado devido aos passeios turísticos que são realizados no Rio Capibaribe/Bacia do Pina. Maiores concentrações de diclofluanida durante e após a “boating season” (temporada onde o tráfego de embarcações de lazer é mais intenso) também foram observadas em águas britânicas, confirmando a contribuição das tintas anti-incrustantes no aporte para o ambiente aquático (VOULVOULIS; SCRIMSHAW; LESTER, 2000).

Apesar das dificuldades de detecção e da limitação da literatura quanto à ocorrência de diclofluanida em águas costeiras, alguns autores reportaram sua ocorrência nessa matriz. Em águas costeiras coreanas, concentrações ambientais variando entre não detectado (ND) e 74,79 ng L<sup>-1</sup> foram observadas (LEE, S. *et al.*, 2010). Com base na distribuição uniforme deste composto nas regiões estudadas, os autores concluíram que a proximidade de fontes potenciais, como grandes portos, e o aporte através de produtos agrícolas seriam as principais rotas de entrada para o ambiente aquático. Em águas marinhas gregas, Sakkas *et al.* (2002) detectaram concentrações médias de diclofluanida entre 36 e 186 ng L<sup>-1</sup>.

Estudos realizados em marinas, portos e estaleiros gregos (HAMWIJK *et al.*, 2005), britânicos (THOMAS; MCHUGH; WALDOCK, 2002), italianos (ANSANELLI *et al.*, 2017) e sul-ibéricos (GUERRA-GARCÍA *et al.*, 2021) não detectaram a diclofluanida em amostras de água. Os autores justificam a ausência deste composto devido sua elevada degradabilidade e seu curto tempo de meia-vida. Como alternativa, alguns pesquisadores optaram pela análise do principal metabólito da diclofluanida, o DMSA (HAMWIJK *et al.*, 2005; KONING; BOLLMANN; BESTER, 2020; VIANA *et al.*, 2019). Destes estudos, apenas um detectou o DMSA em concentrações entre <3 e 36 ng L<sup>-1</sup> (HAMWIJK *et al.*, 2005). No Brasil, não foram

encontrados estudos reportando a ocorrência de diclofluanida em águas costeiras e apenas um estudo detectou o DMSA em águas intersticiais, com concentrações variando de  $<0,008$  a  $0,263 \mu\text{g L}^{-1}$  (VIANA *et al.*, 2019).

#### 4.3.2 Material particulado em suspensão (MPS)

A diclofluanida foi detectada no material particulado em suspensão (MPS) de todos os pontos, com concentrações variando entre  $4,9 \pm 1,5$  e  $21,6 \pm 6,5 \text{ ng L}^{-1}$ , em ambas as coletas (Tabela 17). O Irgarol foi detectado em apenas uma das réplicas do P4 ( $5 \text{ ng L}^{-1}$ ) na primeira campanha, sendo que nas demais amostras não foi detectado ou apresentou concentrações abaixo do limite de quantificação ( $\text{LQ} = 3,3 \text{ ng L}^{-1}$ ). O clorotalonil não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. A recuperação média do PI (*surrogate*) foi de  $57 \pm 14\%$ .

Tabela 17 - Concentrações médias ( $n = 3$ ) ( $\text{ng L}^{-1}$ ) da diclofluanida em amostras de MPS

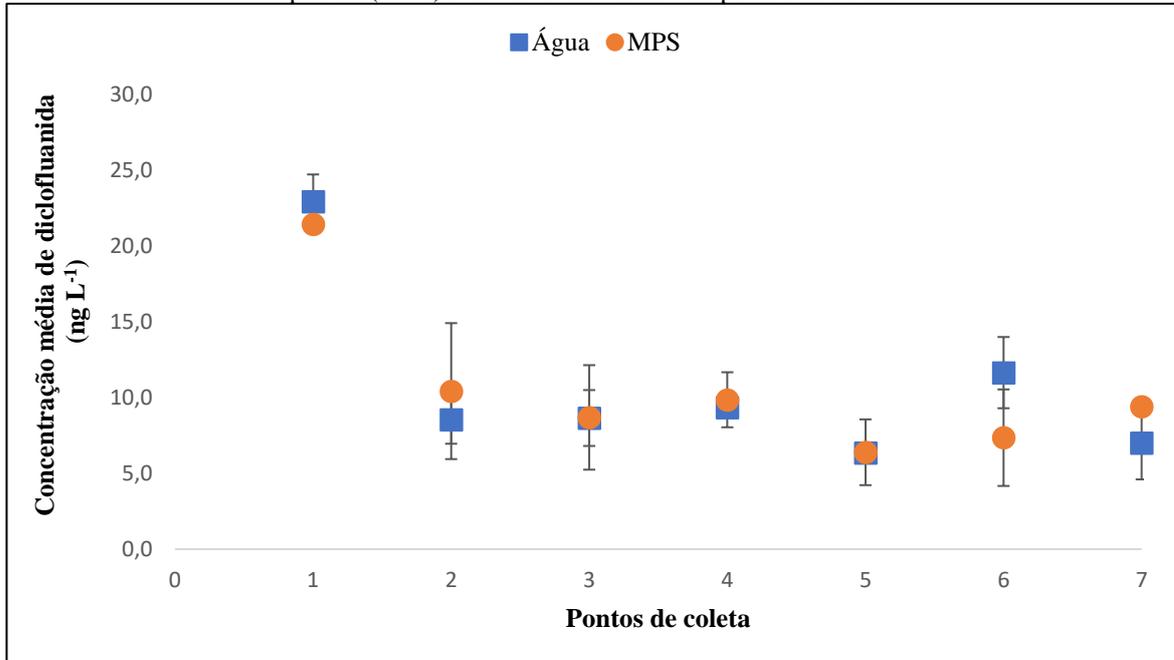
Ponto	Concentração ( $\text{ng L}^{-1}$ ) $\pm$ desvio padrão		
	Campanha 1 30/10/2020	Campanha 2 11/02/2021	Média das campanhas
P1	$21,2 \pm 5,4$	$21,6 \pm 6,5$	$21,4 \pm 0,3$
P2	$13,6 \pm 5,3$	$7,3 \pm 1,8^*$	$10,4 \pm 4,5$
P3	$11,1 \pm 0,9$	$6,3 \pm 1,8^*$	$8,7 \pm 3,4$
P4	$11,1 \pm 1,2$	$8,6 \pm 2,8^*$	$9,9 \pm 1,8$
P5	$7,9 \pm 2,0$	$4,9 \pm 1,5$	$6,4 \pm 2,2$
P6	$9,6 \pm 2,6$	$6,8 \pm 2,9^*$	$7,4 \pm 3,2$
P7	$9,4 \pm 1,8$	$9,4 \pm 5,1^*$	9,4

Fonte: A autora (2021). \* $n = 2$ .

A distribuição de diclofluanida no MPS ao longo do SERC é semelhante ao observado na água (Figura 8), o que sugere que as mesmas forçantes (influência da maré, proximidade das fontes e hidrodinâmica) controlam a distribuição deste composto no MPS. Também é importante destacar que estas matrizes (água e MPS) estão intimamente ligadas e o particionamento preferencial do contaminante em determinada matriz depende de suas propriedades físico-químicas. O alto  $\log K_{oc}$  (coeficiente de partição água-carbono orgânico, igual a 3,1) e a baixa solubilidade ( $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ ) da diclofluanida favorecem seu particionamento na fração particulada (YEBRA; KIIL; DAM-JOHANSEN, 2004). Segundo

estas características, era de se esperar que fossem observadas maiores concentrações no MPS em relação à água. Entretanto, este é um conceito termodinâmico, que considera a situação de equilíbrio final, e necessita de um determinado tempo para ser atingido.

Figura 8 - Distribuição da diclofluanida no MPS e na água em amostras do SERC. Barras indicam o desvio padrão (n = 6) e os números indicam os pontos de coleta



Fonte: A autora (2021).

A ZTM foi caracterizada como sendo a região de maior quantidade de MPS ao longo do estuário do Rio Capibaribe (SCHETTINI *et al.*, 2016b). Durante o presente estudo, nessa região também foram observadas as maiores concentrações de MPS ( $2,29 \text{ g L}^{-1}$ ) e de diclofluanida associada a este material ( $21,4 \pm 0,3 \text{ ng L}^{-1}$ ) (Figura 8), assim como observado nas amostras de água. A alta eficiência de aprisionamento de material particulado na ZTM (DYER, 1995), associada às propriedades físico-químicas citadas anteriormente, justificam as concentrações mais elevadas nesta área.

Não houve diferença significativa entre as campanhas ( $p < 0.001$ ) e entre os locais amostrados, exceto para P1 ( $T=16.9$ ,  $df=3.74$ ,  $p < 0.001$ ), sugerindo que a diclofluanida está distribuída de forma homogênea na coluna d'água, conforme apresentado na Figura 7.

A disponibilidade de informações quanto à ocorrência de biocidas anti-incrustantes de terceira geração no material particulado em suspensão é bastante limitada. Esse trabalho detectou e quantificou, pela primeira vez, a ocorrência da diclofluanida em amostras brasileiras de MPS. Na literatura, apenas quatro estudos avaliaram a ocorrência de biocidas no material particulado (ÖSTMAN *et al.*, 2017; PAIJENS *et al.*, 2020; VAN DE VOORDE *et al.*, 2012;

WIECK; OLSSON; KÜMMERER, 2018). Dentre estes, apenas dois investigaram os biocidas anti-incrustantes DCOIT, diuron e Irgarol, mas as concentrações foram inferiores ao LD e LQ ( $< 1 \text{ ng L}^{-1}$ ) (PAIJENS *et al.*, 2020; WIECK; OLSSON; KÜMMERER, 2018).

### 4.3.3 Sedimento

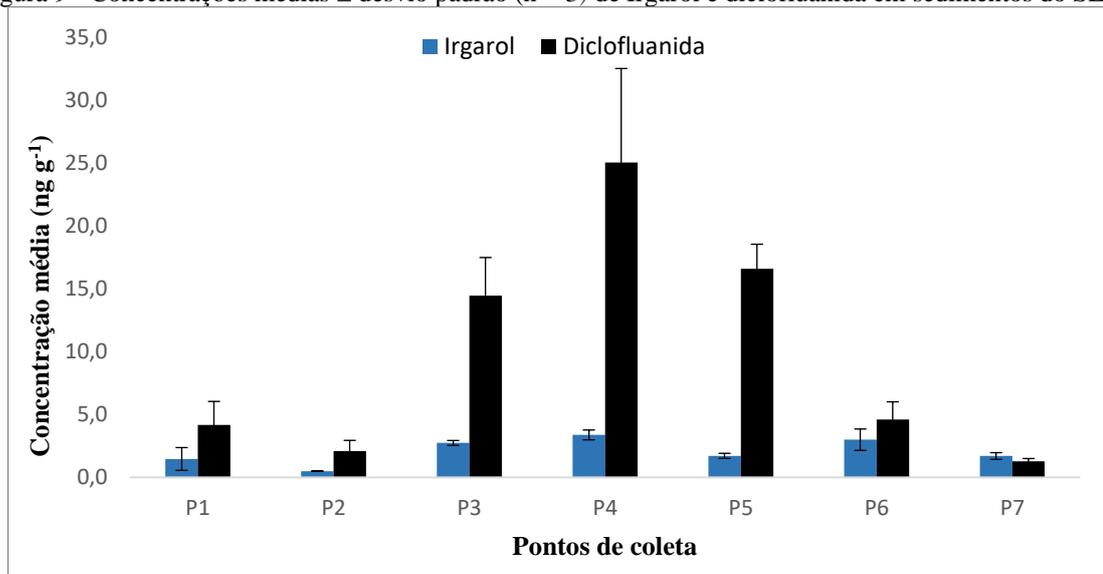
Os biocidas Irgarol e diclofluanida foram detectados em todos os pontos (Tabela 18), em contraste com o clorotalonil, que não foi detectado em nenhuma das amostras. As concentrações de Irgarol ao longo do SERC foram sistematicamente menores ( $< 1,0$  a  $3,4 \pm 0,4 \text{ ng g}^{-1}$ ) do que as de diclofluanida ( $1,3 \pm 0,2$  a  $25,1 \pm 7,5 \text{ ng g}^{-1}$ ), conforme ilustrado na Figura 9. A recuperação média do PI (*surrogate*) foi de  $69 \pm 20\%$ .

Tabela 18 - Concentrações médias ( $\text{ng g}^{-1}$ ) e desvio padrão ( $n = 3$ ) dos biocidas irgarol e diclofluanida em amostras de sedimento superficial do SERC

Ponto	Concentração $\pm$ desvio padrão ( $\text{ng g}^{-1}$ )	
	Irgarol	Diclofluanida
P1	$1,5 \pm 0,9$	$4,2 \pm 1,9$
P2	$<1$	$2,1 \pm 0,8$
P3	$2,7 \pm 0,2$	$14,5 \pm 3,0$
P4	$3,4 \pm 0,4$	$25,1 \pm 7,5$
P5	$1,7 \pm 0,2$	$16,6 \pm 2,0$
P6	$3,0 \pm 0,8$	$4,6 \pm 1,4$
P7	$1,7 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,2$

Fonte: A autora (2021).

Figura 9 - Concentrações médias  $\pm$  desvio padrão (n = 3) de Irgarol e diclofluanida em sedimentos do SERC



Fonte: A autora (2021).

Dentre as 21 amostras analisadas, 16 (76%) apresentaram concentrações de Irgarol acima do LQ e a maior concentração foi observada no P4 ( $3,4 \pm 0,4 \text{ ng g}^{-1}$ ). De acordo com os resultados observados, apenas os pontos P2 e P3 ( $p=0,02$ ), e P2 e P4 ( $p=0,003$ ) são estatisticamente diferentes. A concentração média nas proximidades das marinas e iates clubes (P3 – P5,  $\sim 2,5 \text{ ng g}^{-1}$ ) foi cerca de 5 vezes maior que na região de confluência dos rios, P2 (considerando metade do valor de LQ para esta estatística).

De acordo com a Agência Europeia de Substâncias Químicas, a concentração prevista sem-efeito (PNEC) para o Irgarol é de  $40 \text{ ng g}^{-1}$  (ECHA, 2014). As concentrações encontradas nos sedimentos do SERC foram inferiores ao valor proposto, sugerindo que este composto não oferece risco à biota aquática. Estes valores devem ser utilizados com cautela, pois fatores abióticos, como temperatura, salinidade, pH e oxigênio podem alterar a disponibilidade de contaminantes para a biota. Além disto, a fauna tropical possui sensibilidade diferenciada de outros organismos que habitam ambientes mais temperados, como é o caso da Europa, onde o estudo proposto foi realizado.

A diclofluanida foi encontrada em 100% das amostras analisadas, com concentrações médias entre  $1,3 \pm 0,2$  e  $25,1 \pm 7,5 \text{ ng g}^{-1}$  (Figura 9). O P4 apresentou concentrações de diclofluanida, em relação à P5, P6 e P7, 34% ( $p=0,04$ ), 82% ( $p=0,002$ ) e 95% ( $p<0,001$ ) maiores, respectivamente.

As concentrações de Irgarol e diclofluanida nos sedimentos do P1 ( $1,5 \pm 0,9$  e  $4,2 \pm 1,9 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente) e P2 ( $< 1 \text{ ng g}^{-1}$  e  $2,1 \pm 0,8 \text{ ng g}^{-1}$ , respectivamente) estão entre as menores encontradas no SERC. O P1 encontra-se na zona de turbidez máxima (ZTM) do

sistema estuarino do Rio Capibaribe, onde ocorre acúmulo de contaminantes na coluna d'água (CABRAL, 2014; SCHETTINI *et al.*, 2016b). O P2 está localizado na região onde ocorre a confluência de três rios e um canal de maré, e também recebe uma força contrária decorrente da ação da maré. Nesta região é esperado uma turbulência devido à estas forçantes associadas à baixa profundidade do local (cerca de 2 m). O sedimento predominantemente arenoso e a intensa turbulência nesses locais dificultam a adsorção e deposição dos contaminantes no sedimento.

Os sedimentos coletados nas proximidades dos iates clubes (P3, P4 e P5), apresentaram as maiores concentrações dos biocidas de Irgarol ( $1,7 \pm 0,2$  a  $3,4 \pm 0,4$  ng g<sup>-1</sup>) e diclofluanida ( $14,5 \pm 3,0$  ng g<sup>-1</sup> a  $25,1 \pm 7,5$  ng g<sup>-1</sup>). A ocorrência dos biocidas nestes locais sugere que (i) embarcações de pequeno e grande porte que trafegam pela região são revestidas por tintas anti-incrustantes contendo Irgarol e diclofluanida, sugerindo uma introdução recente; (ii) a presença de locais para reparo e manutenção de pequenos barcos e de embarcações com pintura desgastada pode ser uma fonte de PTA que ainda possuem estes compostos na sua composição; e (iii) a hidrodinâmica menos intensa nos iates clubes permite a deposição destes compostos/partículas no sedimento.

Nos sedimentos portuários (P6 e P7), Irgarol e diclofluanida foram detectados em concentrações variando entre  $1,7 \pm 0,3$  -  $3,0 \pm 0,8$  ng g<sup>-1</sup> e  $1,3 \pm 0,2$  -  $4,6 \pm 1,4$  ng g<sup>-1</sup>, respectivamente. O revestimento das grandes embarcações que atracam no Porto do Recife pode conter estes biocidas que, durante o período de carga e descarga de mercadorias, são liberados na coluna d'água, podendo ser adsorvidos e/ou depositados nas partículas de sedimento. Observa-se uma tendência de menores concentrações na região de confluência entre as águas do SERC e o Oceano Atlântico (P7), que podem ser consequência da hidrodinâmica local. A força da maré e correntes favorecem a dispersão e transportam os contaminantes presentes na água para regiões mais abrigadas do porto ou para locais mais internos do SERC, dificultando sua deposição no sedimento portuário mais externo.

As concentrações ambientais de Irgarol observadas no SERC são similares às detectadas nos sedimentos do Estuário da Lagoa dos Patos ( $5,5 \pm 1,9$  a  $7,3 \pm 3,5$  ng g<sup>-1</sup>, Caldas *et al.*, 2018), e dos Sistemas Estuarino de Vitória (<0,4 a 1,4 ng g<sup>-1</sup>, Abreu *et al.*, 2021), e de Santos-São Vicente (SESS) (<0,5 ng g<sup>-1</sup>, Abreu *et al.*, 2020 e <0,4 a 1,6 ng g<sup>-1</sup>, Soares *et al.* 2021b). Os portos de Santos e do Recife recebem grandes embarcações vindas de diversos países, estando sujeitos à uma variedade de contaminantes. O primeiro é o principal porto brasileiro e possui uma extensão de cais de aproximadamente 16 km (PORTO DE SANTOS, c2021), enquanto o segundo possui menos de 2 km de extensão de cais. Embora seja menos extenso e com menor

movimentação de grandes embarcações, o Porto do Recife está inserido numa área mais abrigada em relação ao Porto de Santos, o que poderia justificar as concentrações similares observadas. Além disso, a menor frequência de dragagens no Porto do Recife em relação ao Porto de Santos pode favorecer um acúmulo maior destes biocidas nos sedimentos. É importante ressaltar que, desde 2016, o Irgarol não possui aprovação para uso em tintas anti-incrustantes (EUROPEAN COMMISSION, 2016). Assim, com as restrições ao uso de Irgarol em tintas anti-incrustantes, espera-se que ocorram reduções nas concentrações desses compostos no ambiente em função da aplicação e eficácia dessas regulamentações em todo o mundo, principalmente em regiões que recebem navios internacionais como o Porto do Recife.

Dentro de um cenário mundial, as concentrações de Irgarol observadas neste estudo são similares às reportadas em estudos realizados na Espanha (2 a 9 ng g<sup>-1</sup>, GARCÍA *et al.*, 2020), na costa mediterrânea da Península Ibérica (0,2 e 3,6 ng g<sup>-1</sup>, GUERRA-GARCÍA *et al.*, 2021) e na Califórnia (< 9 ng g<sup>-1</sup>, SAPOZHNIKOVA *et al.*, 2013). As concentrações do SERC também foram da mesma ordem de magnitude, porém inferiores às concentrações reportadas para sedimentos do Reino Unido (3 a 35 ng g<sup>-1</sup>, THOMAS; MCHUGH; WALDOCK, 2002), do Vietnã (5 a 40 ng g<sup>-1</sup>, HARINO *et al.*, 2006) e de áreas portuárias gregas (3 a 19 ng g<sup>-1</sup>) (ALBANIS *et al.*, 2002). Em contrapartida, concentrações significativamente maiores de Irgarol foram detectadas em sedimentos coletados em uma marina grega (690 ng g<sup>-1</sup>) (ALBANIS *et al.*, 2002). Todos estes autores associaram a presença do Irgarol com a proximidade de fontes potenciais, como marinas e portos, aliadas à baixa taxa de renovação de água nas marinas e aos intensos ciclos de maré na região portuária. Estes estudos corroboram a hipótese da importância da hidrodinâmica local/taxa de renovação de água, e densidade e tamanho de embarcações atracadas numa dada região para a presença e distribuição de biocidas que são encontrados no ambiente aquático.

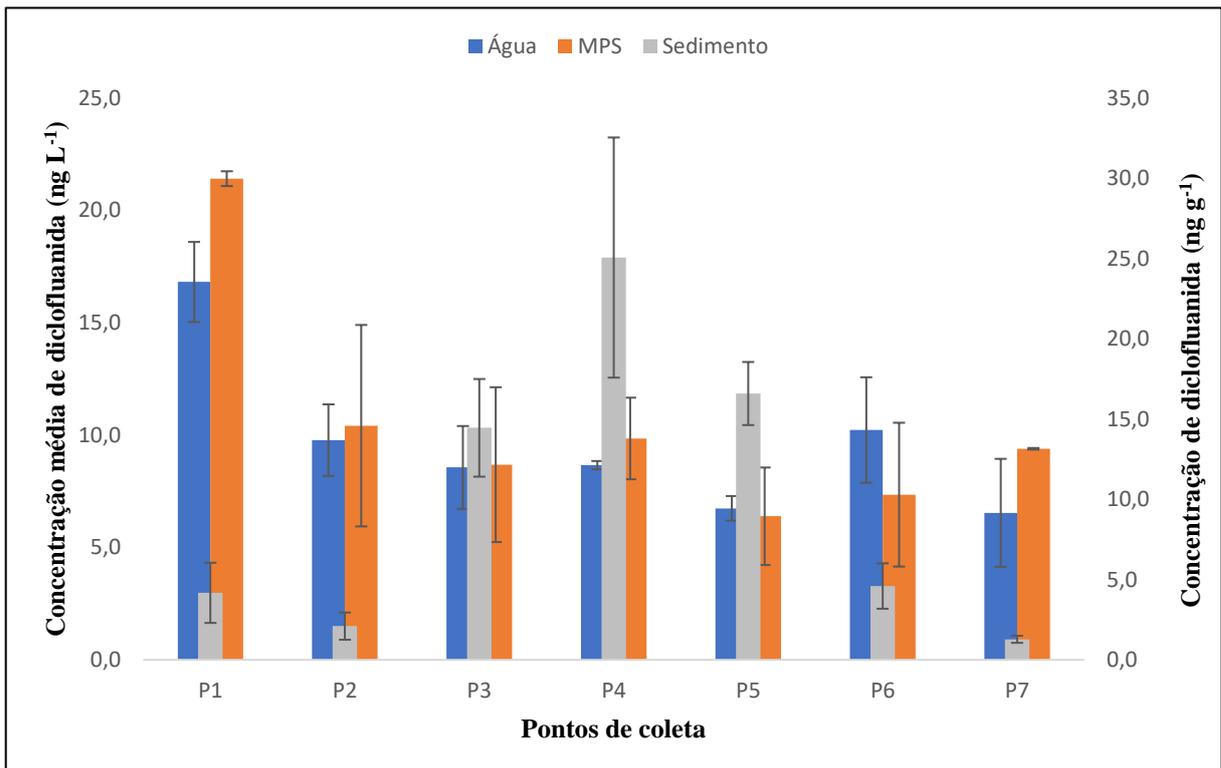
Com base na limitada disponibilidade de informações, pode-se afirmar que o Sistema Estuarino do Rio Capibaribe apresenta concentrações de diclofluanida similares à de outras regiões brasileiras como o Estuário da Lagoa dos Patos (<LQ, Caldas *et al.*, 2018) e os sistemas estuarinos de Santos-São Vicente (<0,7 - 16 ng g<sup>-1</sup>, Abreu *et al.*, 2020) e de Vitória (<0,7 - 6,5 ng g<sup>-1</sup>, Abreu *et al.*, 2021). A presença da diclofluanida pode estar associada (i) ao uso de tintas anti-incrustantes contendo diclofluanida por grandes e pequenas embarcações que trafegam pelo SERC; (ii) a hidrodinâmica que favorece a retenção ao longo do SERC, principalmente em marinas; (iii) a quantidade relevante de embarcações em marinas e estaleiros, que podem contribuir com o aporte de diclofluanida através das PTAs; e (iv) a presença do cordão recifal que protege o Porto do Recife da ação direta das ondas, resultando em um ambiente

relativamente abrigado. A contribuição das embarcações de lazer no aporte de diclofluanida para sedimentos superficiais foi confirmada em estudos realizados na Grécia (9 a 195 ng g<sup>-1</sup>, ALBANIS *et al.*, 2002) e no Reino Unido (<4,9 a 688,2 ng g<sup>-1</sup>, VOULVOULIS; SCRIMSHAW; LESTER, 2000).

#### 4.3.4 Diclofluanida no SERC: integração entre as matrizes ambientais

As concentrações de diclofluanida observadas nas diferentes matrizes ambientais estão apresentadas na Figura 10, considerando apenas os valores médios. Essa disposição gráfica sugere uma similaridade entre os locais amostrados e auxilia na compreensão dos processos que influenciam sua distribuição em diferentes compartimentos ambientais.

Figura 10 – Concentrações de diclofluanida em amostras de água (ng L<sup>-1</sup>), MPS (ng L<sup>-1</sup>) e sedimento (ng g<sup>-1</sup>) do SERC. Barras indicam o desvio padrão para água (n = 53), MPS (n = 37) e sedimento (n = 20)



Fonte: A autora (2021).

Baseado nas similaridades entre os pontos (proximidade de fontes e influência da maré) e a distribuição das concentrações nas diferentes matrizes foi proposto um agrupamento entre os pontos coletados: (i) P1 - ZTM); (ii) P2 - confluência dos rios; (iii) P3, P4 e P5 - marinas e iates clubes; e (iv) P6 e P7 - região portuária. Considerando as concentrações observadas na água, verificou-se que os grupos foram estatisticamente diferentes entre eles nas campanhas 1

( $H_{(3, 17)}$ ,  $p \geq 0.001$ ) e 3 ( $F_{(3, 17)}$ ,  $p < 0.001$ ). Na campanha 1, as concentrações médias de diclofluanida detectadas na confluência (P2) foram superiores em cerca de 62% em relação às encontradas na ZTM ( $p > 0.001$ ), 37% em relação às marinas ( $p = 0.001$ ) e 47% às concentrações portuárias ( $p = 0.002$ ). Na campanha 3, os valores médios encontrados na ZTM (P1) foram aproximadamente 55% maiores em relação à confluência de rios ( $p > 0.001$ ), 65% em relação às marinas ( $p < 0.001$ ) e 49% em relação aos portos ( $p = 0.005$ ). As concentrações de diclofluanida e Irgarol nos sedimentos foram diferentes entre os grupos ( $F_{(6, 14)} = 9,32$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{(6, 14)} = 4,99$ ,  $p = 0,006$ ), corroborando a hipótese de que proximidade de fontes e hidrodinâmica são relevantes nos processos de distribuição dos contaminantes dentro do SERC.

Os grupos compostos por P1, P2 e portuários (P6 e P7) apresentaram as maiores concentrações de diclofluanida na coluna d'água e MPS, e as menores no sedimento. Em contraposição, o grupo das marinas e iates clubes, que são locais mais abrigados, registraram as maiores concentrações nos sedimentos. Os resultados em P1 e P2 denotam a importância da presença da zona de turbidez máxima (ZTM) e da força da maré no acúmulo e distribuição de contaminantes na coluna d'água. Os processos turbulentos não favorecem a deposição de partículas e, conseqüentemente, dos contaminantes associados ao MPS.

O Porto do Recife (P6 e P7) recebeu, em 2021, uma média de 25 navios/mês provenientes de diversos países, contendo as mais variadas cargas e/ou com propósito de turismo (PORTO DO RECIFE, 2021). Estas grandes embarcações ficam atracadas por um período que pode variar entre horas e alguns dias, dependendo das atividades e/ou morosidade do processo de carga/descarga. Por apresentar baixa solubilidade em água ( $0,006 \text{ mg L}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ), a detecção de diclofluanida nessa matriz é um indicativo de aporte recente, o que reforça a hipótese de que tintas contendo diclofluanida estão sendo utilizadas por grandes embarcações. Nesta área também ocorrem atividades turísticas, envolvendo barcos de menor porte.

Os resultados observados na porção central do SERC, que abriga as marinas e os iates clubes, refletem a importância de fatores como a proximidade das fontes (embarcações atracadas e locais para reparo de pequenos barcos) e a baixa hidrodinâmica, na distribuição dos contaminantes. Além disto, também sugerem que pequenas embarcações pesqueiras que trafegam na região são revestidas com tintas contendo aditivos anti-incrustantes. As concentrações encontradas refletem um aporte crônico neste importante sistema estuarino.

A distribuição oposta e complementar observada entre os diferentes pontos do SERC mostram que existe um particionamento, uma dinâmica de troca, entre as diversas matrizes e que toda a biota, sejam organismos pelágicos ou bentônicos, estão potencialmente sujeitos aos efeitos tóxicos destes contaminantes.

## 5 CONCLUSÃO

As informações sobre a presença e distribuição de biocidas de terceira geração, e os efeitos sobre a biota, na América Latina e Caribe são bastante limitadas. Suprir esta necessidade é um grande desafio científico frente às dificuldades quanto à padronização de metodologias, viabilidade econômica e de infraestrutura para implantação de programas de monitoramento ambiental, e ausência de legislação na maioria dos países latino-americanos e na região caribenha.

A metodologia de análise de clorotalonil, diclofluanida e Irgarol na matriz aquosa, via SPE e GC-MS foi validada e implantada no Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (*OrganoMAR*), atendendo aos critérios estabelecidos pela ANVISA (2017) e INMETRO (2020). Alguns testes deverão ser conduzidos novamente nas matrizes MPS e sedimento para que se encaixem nos critérios acima mencionados, principalmente para o Irgarol.

Esse trabalho reporta as primeiras informações quanto à ocorrência da diclofluanida em águas estuarinas e no material particulado em suspensão no Brasil, além de ser o primeiro a avaliar a ocorrência de biocidas anti-incrustantes de terceira geração no SERC. Entre os biocidas investigados no SERC, a diclofluanida foi o composto mais frequente e detectado em maiores concentrações, sugerindo um aporte recente e constante a partir das tintas utilizadas por embarcações que trafegam no SERC.

Fatores como hidrodinâmica local, proximidade de fontes e propriedades físico-químicas dos biocidas, são fundamentais para a distribuição entre as regiões do SERC e o particionamento entre as diferentes matrizes analisadas. A presença dos biocidas e sua biodisponibilidade nos diversos compartimentos estudados sugere que a biota local (pelágica ou bentônica) está potencialmente sujeita a efeitos adversos.

As informações contidas no presente estudo certamente contribuirão para a compreensão da contaminação por biocidas anti-incrustantes de terceira geração em sistemas aquáticos brasileiros e poderão ser usados como ferramentas nas tomadas de decisão para projetos de mitigação do SERC.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. *et al.* TBT and its metabolites in sediments: survey at a German coastal site and the central Baltic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, 121, 404–410, 2017.
- ABREU, F. E. L. **Biocidas anti-incrustantes de terceira geração em sedimentos superficiais da costa brasileira. 2016. 104f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2016.** [s.l.: s.n.].
- ABREU, F. E. L. *et al.* Are antifouling residues a matter of concern in the largest South American port? **Journal of Hazardous Materials**, v. 398, p. 122937, 2020.
- ABREU, F. E. L. *et al.* Legacy and emerging antifouling biocide residues in a tropical estuarine system (Vitória state, SE, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, n. December 2020, 2021.
- ABREU, F. E. L.; MARTINS, S. E.; FILLMANN, G. Ecological risk assessment of booster biocides in sediments of the Brazilian coastal areas. **Chemosphere**, v. 276, p. 130155, 2021.
- AGÜERA, A. *et al.* Multiresidue method for the analysis of five antifouling agents in marine and coastal waters by gas chromatography-mass spectrometry with large-volume injection. **Journal of Chromatography A**, v. 889, n. 1–2, p. 261–269, 2000.
- ALBANIS, T. A. *et al.* Antifouling paint booster biocide contamination in greek marine sediments. **Chemosphere**, v. 48, n. 5, p. 475–485, 2002.
- ALI, H. R. *et al.* Occurrence and distribution of antifouling biocide Irgarol-1051 in coastal waters of Peninsular Malaysia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, n. 1–2, p. 253–257, 2013.
- ALMEIDA, E.; DIAMANTINO, T. C.; DE SOUSA, O. Marine paints: The particular case of antifouling paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 59, n. 1, p. 2–20, 2007.
- ALZIEU, C. *et al.* Tin contamination in Arcachon Bay: Effects on oyster shell anomalies. **Marine Pollution Bulletin**, v. 17, n. 11, p. 494–498, 1986.
- ALZIEU, C. Environmental impact of TBT: The French experience. **Science of the Total Environment**, v. 258, n. 1–2, p. 99–102, 2000.
- AMARA, I. *et al.* Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 57, p. 115–130, 2018.
- ANSANELLI, G. *et al.* Antifouling biocides (Irgarol, Diuron and dichlofluanid) along the Italian Tyrrhenian coast: Temporal, seasonal and spatial threats. **Regional Studies in Marine Science**, v. 16, p. 254–266, 2017.
- ANTAQ, c2021. Impactos Ambientais. Disponível em: <http://portal.antaq.gov.br/index.php/meio-ambiente/impactos-ambientais/>. Acesso em 23 de maio de 2021.

ANVISA. **Resolução RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**, 2017.

AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY, 2015. Public Chemical Registration Information System Search. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, Canberra, Austrália. Disponível em: <https://portal.apvma.gov.au/pubcris>. Acesso em: 05 de Abril de 2021.

AZEVEDO, D. DE A.; GERCHON, E.; DOS REIS, E. O. Monitoring of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in water from Paraíba do Sul River, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 2, p. 292–299, 2004.

BAKKE, T. *et al.* Development of sediment quality criteria in Norway. **J. Soils Sediments**, v. 10, p. 172–178. 2010.

BAO, V. W. W. *et al.* Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 5, p. 1147–1151, 2011.

BAO, V. W. W. *et al.* Acute and chronic toxicities of Irgarol alone and in combination with copper to the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1140–1148, 2013.

BARD, J; PEDERSEN, A. Ecotoxicological evaluation of the antifouling compound 2-(tert-butylamino)-4-(cyclopropylamino)-6-(methylthio)-1,3,5-triazine, Irgarol. Solna, Sweden: **Swedish National Chemicals Inspectorate (KEMI)**; 1992.

BATISTA-ANDRADE, J. A. *et al.* Antifouling booster biocides in coastal waters of Panama: First appraisal in one of the busiest shipping zones. **Marine Pollution Bulletin**, v. 112, n. 1–2, p. 415–419, 2016.

BATISTA-ANDRADE, J. A. *et al.* From TBT to booster biocides: Levels and impacts of antifouling along coastal areas of Panama. **Environmental Pollution**, v. 234, p. 243–252, 2018.

BELLAS, J. Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. **Science of the Total Environment**, v. 367, n. 2–3, p. 573–585, 2006.

BEZERRA, D. S. S. **Ocorrência de biocidas em sistemas estuarinos**, 2016.

BOLLMANN, M. *et al.* **World Ocean Review - Living with the oceans**. 1. ed. [s.l.] Maribus, 2010. v. 1

BRITO, N. M. *et al.* Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003.

CABRAL, C. B. **Variabilidade longitudinal e mareal das concentrações de hidrocarbonetos de petróleo no estuário do Rio Capibaribe**. 2014. 50f. Trabalho de

**Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas/Ambientais) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2014. [s.l: s.n].**

CALDAS, S. S. *et al.* Antifouling booster biocide extraction from marine sediments: a fast and simple method based on vortex-assisted matrix solid-phase extraction. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 8, p. 7553–7565, 2018.

CALDAS, S. S. *et al.* Occurrence of pesticides and PPCPs in surface and drinking water in southern Brazil: Data on 4-year monitoring. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 1, p. 71–80, 2019.

CARBERRY, K. *et al.* Contamination of Caribbean coastal waters by the antifouling herbicide Irgarol 1051. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, n. 6, p. 635–644, 2006.

CASTRO, Í. B. *et al.* TBT is still a matter of concern in Peru. **Chemosphere**, v. 205, p. 253–259, 2018.

CASTRO, Í. B.; PERINA, F. C.; FILLMANN, G. Organotin contamination in South American coastal areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 3, p. 1781–1799, 2012.

CASTRO, Í. B.; WESTPHAL, E.; FILLMANN, G. Tintas anti-incrustantes de terceira geração: novos biocidas no ambiente aquático. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1021–1031, 2011.

CAUX, P. Y. *et al.* Environmental fate and effects of chlorothalonil: A Canadian perspective. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 45–93, 1996.

CHAMP, M. A. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. **Science of the Total Environment**, v. 258, n. 1–2, p. 21–71, 2000.

CHEN, Z. *et al.* Organotin contamination in sediments and aquatic organisms from the Yangtze Estuary and adjacent marine environments. **Environmental Engineering Science**, 34, 227-235.

CIMA, F., BRAGADIN, M., BALLARIN, L. Toxic effects of new antifouling compounds on tunicate hemocytes I. Sea-Nine 211 and Chlorothalonil. **Aquatic Toxicology**, 86, 299–312.

CLARK, T.; WATKINS, D. A. M. Photolysis of Dichlofluanid. **Pesticide Science**, v. 9, n. 3, p. 225–228, 1978.

COMPANHIA PERNAMBUCANA DE ÁGUA E SANEAMENTO, COMPESA. Mensagem pessoal recebida de <[ouvidoriacompesa@compesa.com.br](mailto:ouvidoriacompesa@compesa.com.br)> em 12 jun. 2020.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. **Council Decision (EU) 2021/778 of 6 May 2021. The European Union**, 2021.

CPRH, 2019. Relatório Bacia Hidrográfica 2019. Agência Estadual de Meio Ambiente de Pernambuco, Recife, Brasil. Disponível em: <http://www2.cprh.pe.gov.br/relatorio-bacia-hidrografica-2019/>. Acesso em: 08 de julho de 2020.

CRISTEA, A. *et al.* Trade and the greenhouse gas emissions from international freight transport. **Journal of Environmental Economics and Management**, v. 65, n. 1, p. 153–173, 2013.

CRUZ, A. C. F. **Toxicidade e efeitos da diclofluanida sobre organismos marinhos**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2019.

DA SILVA, A. R. *et al.* DCOIT unbalances the antioxidant defense system in juvenile and adults of the marine bivalve *Amarilladesma mactroides* (Mollusca: Bivalvia). **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 250, n. July, p. 109169, 2021.

DA SILVA BARRETO, J. *et al.* Induction of oxidative stress by chlorothalonil in the estuarine polychaete *Laeonereis acuta*. **Aquatic Toxicology**, v. 196, n. December 2017, p. 1–8, 2018.

DAFFORN, K. A.; LEWIS, J. A.; JOHNSTON, E. L. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 3, p. 453–465, 2011.

DAVIES, P. E. Physiological, anatomic and behavioural changes in the respiratory system of *Salmo gairdneri* rich. on acute and chronic exposure to chlorothalonil. **Comp. Biochem. Physiol.**, n. 88C, p. 113–119, 1987.

DE PAULO, D. V. **Efeitos ecotoxicológicos do tributilestanho, clorotalonil e diclofluanida em estágios iniciais de vida de peixes**. 2018. 170 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

DELORENZO, M. E.; FULTON, M. H. Comparative risk assessment of permethrin, chlorothalonil, and diuron to coastal aquatic species. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 7, p. 1291–1299, 2012.

DEMOLINER, A. *et al.* Development and validation of a method using spe and LC-ESI-MS-MS for the determination of multiple classes of pesticides and metabolites in water samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1424–1433, 2010.

DINIZ, L. G. R. *et al.* First Appraisal of Water Contamination by Antifouling Booster Biocide of 3rd Generation At Itaqui Harbor (São Luiz - Maranhão - Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 2, p. 380–388, 2014.

DINIZ, L. G. R. **Análise cromatográfica de biocidas anti-incrustantes em amostras de água de mar e tecido de moluscos**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2016.

DINIZ, L. G. R. *et al.* Analysis of Biocides in Molluscs Using Different Extraction Methods and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. **Current Analytical Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 402–409, 2017.

DINIZ, M. S. **Determinação dos biocidas anti-incrustantes Irgarol e diuron em áreas portuárias da Ilha de São Luis, Maranhão**. [s.l.] Universidade Federal do Maranhão, 2017.

DOMINGUEZ, L. A. E. **Avaliação da contaminação da água e do sedimento da região estuarina de Rio Grande - RS e costa adjacente pelos anti-incrustantes diuron e irgarol.** [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande, 2010.

DOMINGUEZ, L. A. E. *et al.* The influence of salinity and matrix effect in the determination of antifouling biocides in estuarine waters of Patos Lagoon (Southern Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 7, p. 1302–1310, 2014.

DUPRAZ, V. *et al.* Combined effects of antifouling biocides on the growth of three marine microalgal species. **Chemosphere**, v. 209, p. 801–814, 2018.

DYER, K. R. Sediment transport processes in estuaries. In: PERILLO, G. M. E. (Ed.). **Geomorphology and Sedimentology of Estuaries: Developments in Sedimentology.** New York: Elsevier Science, 1995. p. 423-449.

ECHA. **Regulation (EU) n°528/2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products - Cybutryne Product type PT 21 (Antifouling).** [s.l.: s.n.]. 2014.

ECHA. **Biocidal Products Committee (BPC) Opinion on the application for approval of the active substance: Dichlofluanid.** [s.l.: s.n.]. 2016.

EGARDT, J.; NILSSON, P.; DAHLLÖF, I. Sediments indicate the continued use of banned antifouling compounds. **Marine Pollution Bulletin**, v. 125, n. 1–2, p. 282–288, 2017.

EGUCHI, S.; HARINO, H.; YAMAMOTO, Y. Assessment of antifouling biocides contaminations in Maizuru Bay, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 3, p. 684–693, 2010.

EPA. **Evaluation and Review Report: Antifouling Paints.** [s.l.: s.n.].

ERNST, W. *et al.* The toxicity of chlorothalonil to aquatic fauna and the impact of its operational use on a pond ecosystem. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 1–9, 1991.

EUROPEAN COMMISSION. Decision (EU) 2016/107 Not Approving Cybutryne As an Existing Active Substance for Use in Biocidal Products for Product-Type 21. **Official Journal of the European Union**, 2016.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Implementing Regulation (EU) 2019/677 concerning the non-renewal of the approval of the active substance chlorothalonil, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of pla. **Official Journal of the European Union**, 2019.

EUROPEAN PARLIAMENT. **Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market** **Official Journal of the European Communities**, 1998.

EUROPEAN PARLIAMENT. **Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council concerning the making available on the market and use of biocidal**

products, 2012.

EUROPEAN PARLIAMENT. **Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directive 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy**, 2013.

EVANS, S. M.; LEKSONO, T.; MCKINNELL, P. D. Tributyltin pollution: A diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. **Marine Pollution Bulletin**, v. 30, n. 1, p. 14–21, 1995.

FAVROD, N. **Determinação de hidrocarbonetos do petróleo dissolvidos e/ou dispersos nas águas do complexo estuarino da Bacia do Pina-Bacia Portuária (Porto de Recife). 2012. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas/Ambientais) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2012. [s.l: s.n].**

FERNANDES, M. B. *et al.* Sedimentary 4-desmethyl sterols and n-alkanols in an eutrophic urban estuary, Capibaribe River, Brazil. **The Science of Total Environment**, v. 231, p. 1–16, 1999.

FERNANDEZ, M. A. S.; PINHEIRO, F. M. New approaches for monitoring the marine environment: the case of antifouling paints. **International Journal of Environment and Health**, v. 1, n. 3, p. 427–448, 2007.

FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.R. *et al.* Toxicity of single and mixed contaminants in seawater measured with acute toxicity bioassays. **The Scientific World Journal**. 2, 1115-1120.

FOHB, c2021. Resultados do mês – Outubro 2020. Disponível em: <http://fohb.com.br/wp-content/uploads/2020/11/InFOHB-159-Outubro-2020-Apenas-Abertos.pdf>. Acesso em: 19 de julho de 2021.

GABE, H. B.; GUERREIRO, A. DA S.; SANDRINI, J. Z. Molecular and biochemical effects of the antifouling DCOIT in the mussel *Perna perna*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 239, n. August 2020, p. 108870, 2021.

GALLUCCI, F. *et al.* Ecological effects of Irgarol 1051 and Diuron on a coastal meiobenthic community: A laboratory microcosm experiment. **Ecological Indicators**, v. 58, p. 21–31, 2015.

GARCÍA, E. *et al.* Determination of booster biocides in sediments by focused ultrasound-assisted extraction and stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 152, p. 104445, 2020.

GATIDOU, G. *et al.* Determination of the antifouling booster biocides irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography–diode array detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 528, n. 1, p. 89–99, 2005.

GIRÁLDEZ, I. *et al.* Determination of five booster biocides in seawater by stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1271, n. 1, p. 17–26, 2013.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 708–716, 2003.

GUARDIOLA, F. A. *et al.* Risks of using antifouling biocides in aquaculture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 2, p. 1541–1560, 2012.

GUERRA-GARCÍA, J. M. *et al.* Assessing environmental pollution levels in marinas. **Science of the Total Environment**, v. 762, 2021.

GUERREIRO, A. S. *et al.* Antifouling biocides: Impairment of bivalve immune system by chlorothalonil. **Aquatic Toxicology**, v. 189, n. June, p. 194–199, 2017.

GUERREIRO, A. S. *et al.* Effects of chlorothalonil on the antioxidant defense system of mussels *Perna perna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 190, n. December 2019, p. 110119, 2020.

HALL Jr., L.W., GIDDINGS, J.M., SOLOMON, K.R., BALCOMB, R., 1999. An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints. **Critical Reviews in Toxicology**. 29, 367–437.

HAMWIJK, C. *et al.* Monitoring of the booster biocide dichlofluanid in water and marine sediment of Greek marinas. **Chemosphere**, v. 60, n. 9, p. 1316–1324, 2005.

HARINO, H. *et al.* Monitoring of antifouling booster biocides in water and sediment from the port of Osaka, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 303–310, 2005.

HARINO, H. *et al.* Concentrations of booster biocides in sediment and clams from Vietnam. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 86, n. 5, p. 1163–1170, 2006.

HARINO, H. *et al.* Contamination profiles of antifouling biocides in selected coastal regions of Malaysia. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, n. 3, p. 468–478, 2009.

HERNANDO, M. D. *et al.* Determination of traces of five antifouling agents in water by gas chromatography with positive/negative chemical ionisation and tandem mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1–2, p. 103–111, 2001.

HORIGUCHI, T. **Biological Effects by Organotins**. [s.l: s.n.].

HUGGETT, R. J. *et al.* ES&T Series: The marine biocide tributyltin. Assessing and managing the environmental risks. **Environmental Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 232–237, 1992.

IBGE, 2020. Cidades e Estados. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pe/recife.html>. Acesso em: 08 de julho de 2020.

ICH. **ICH Topic Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.** [s.l: s.n.].

IMO. **International Convention on the Control of Harmful Anti-Fouling Systems on Ships, 2001 Treaty Series No. 13.** Londres, 2001. Disponível em: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/236102/8284.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/236102/8284.pdf).

IMO, 2005. **International Concentration on the control of harmful antifouling systems (AES) on ships**, 2005 Edition. IMO, London, 69p.

IMO, 2006. International Maritime Organization. **International Shipping and World Trade: Facts and figures**, 2006.

IMO, 2008. Summary of the status of conventions as at 31 May 2007, in: Organization, I.M. (Ed.), (United Kingdom).

IMO. **Status of IMO Treaties**, 2021a.

IMO. **Consideration and adoption of amendments to mandatory instruments - Draft amendments fo the AFS Convention**, 2021b.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008)**, 2020.

JARDIM, I. C. F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13–25, 2010.

JAPAN PAINT MANUFACTURERS ASSOCIATION, 2021. Organotin-free Anti-fouling Systems. Japan Paint Manufacturers Association, Tóquio, Japão. Disponível em: <https://www.toryo.or.jp/eng/imo-e/index.html>. Acesso em: 05 de Abril de 2021.

KAONGA, C. C.; TAKEDA, K.; SAKUGAWA, H. Concentration and degradation of alternative biocides and an insecticide in surface waters and their major sinks in a semi-enclosed sea, Japan. **Chemosphere**, v. 145, p. 256–264, 2016.

KNUTSON, S.; DOWNS, C. A.; RICHMOND, R. H. Concentrations of Irgarol in selected marinas of Oahu, Hawaii and effects on settlement of coral larval. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 1, p. 1–8, 2012.

KÖCK-SCHULMEYER, M. *et al.* Medium to highly polar pesticides in seawater: Analysis and fate in coastal areas of Catalonia (NE Spain). **Chemosphere**, v. 215, p. 515–523, 2019.

KONING, J. T.; BOLLMANN, U. E.; BESTER, K. The occurrence of modern organic antifouling biocides in Danish marinas. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, n. May, p. 111402, 2020.

KONSTANTINOOU, I. K. **The Handbook of Environmental Chemistry.** [s.l: s.n.]. v. 5

KONSTANTINOOU, I. K.; ALBANIS, T. A. Worldwide occurrence and effects of antifouling

paint booster biocides in the aquatic environment: A review. **Environment International**, v. 30, n. 2, p. 235–248, 2004.

KOTRIKLA, A. Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 77–85, 2009.

KOTTUPARAMBIL, S. *et al.* Comparative assessment of single and joint effects of diuron and Irgarol 1051 on Arctic and temperate microalgae using chlorophyll a fluorescence imaging. **Ecological Indicators**, v. 76, p. 304–316, 2017.

KROON, F. J. *et al.* Sources, presence and potential effects of contaminants of emerging concern in the marine environments of the Great Barrier Reef and Torres Strait, Australia. **Science of the Total Environment**, v. 719, 2020.

LAGERSTRÖM, M. **Occurrence and environmental risk assessment of antifouling paint biocides from leisure boats**. [s.l.] Stockholm University, 2019.

LAM, K. H. *et al.* A study of the partitioning behavior of Irgarol-1051 and its transformation products. **Chemosphere**, v. 64, n. 7, p. 1177–1184, 2006.

LAM, N. H. *et al.* Organotins and new antifouling biocides in water and sediments from three Korean Special Management Sea Areas following ten years of tributyltin regulation: Contamination profiles and risk assessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 121, n. 1–2, p. 302–312, 2017.

LAW, R. J. *et al.* Butyltin compounds in liver of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the UK prior to and following the ban on the use of tributyltin in antifouling paints (1992-2005 & 2009). **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 11, p. 2576–2580, 2012.

LEE, S. *et al.* Study on the new antifouling compounds in Korean coasts. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 85, n. 5, p. 538–543, 2010.

LEE, S. *et al.* Analysis of antifouling agents after regulation of tributyltin compounds in Korea. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 2–3, p. 1318–1325, 2011.

LEE, S.; LEE, Y. W. Determination of five alternative antifouling agents in Korean marine sediments. **Environmental Earth Sciences**, v. 76, n. 17, p. 1–9, 2017.

LOPES, F. C. *et al.* Impacts of the biocide chlorothalonil on biomarkers of oxidative stress, genotoxicity, and sperm quality in guppy *Poecilia vivipara*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 188, p. 109847, 2019.

LOURENÇATO, L. *et al.* Effects on Water Quality of Pesticide use in Farmland Under Intensive Soil Management in Southern Brazil. **International Journal of Plant & Soil Science**, v. 5, n. 3, p. 155–166, 2015.

MACHEREY-NAGEL, c2021. Solid phase extraction (SPE). Disponível em: <https://www.mn-net.com/chromatography/solid-phase-extraction-spe-information/>. Acesso em: 13 de Agosto de 2020.

MACIEL, D. C. **Avaliação da contaminação do Sistema Estuarino do Rio Capibaribe**

através da tríade da qualidade do sedimento. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

MACIEL, D. C. *et al.* Avaliação da toxicidade dos sedimentos do sistema estuarino do rio Capibaribe (Pernambuco, Brasil) utilizando o copépodo bentônico *Tisbe biminiensis* Volkman Rocco (1973) *Tropical Oceanography*, 2015.

MACIEL, D. C. *et al.* Hydrocarbons in sediments along a tropical estuary-shelf transition area: Sources and spatial distribution. *Marine Pollution Bulletin*, v. 113, n. 1–2, p. 566–571, 2016.

MACIEL, D. C. *et al.* Assessment of organotins and imposex in two estuaries of the northeastern Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 126, p. 473–478, 2018.

MARINHA DO BRASIL. Normas da Autoridade Marítima para o Controle de Sistemas Antiincrustantes em Embarcações (NORMAM-23/DPC) Rio de Janeiro, 2007.

MARTÍNEZ, K.; BARCELÓ, D. Determination of antifouling pesticides and their degradation products in marine sediments by means of ultrasonic extraction and HPLC-APCI-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 370, n. 7, p. 940–945, 2001.

MATTOS, Y. *et al.* Butyltin contamination in Northern Chilean coast: Is there a potential risk for consumers? *Science of the Total Environment*, v. 595, p. 209–217, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2019. Agrofit: Consulta de Ingrediente Ativo. Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 16 de novembro de 2020.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2012. Resolução N° 454, de 01 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. (p. 17).

MIOLA, A. *et al.* External costs of Transportation Case study: maritime transport. [s.l.: s.n.].

MOCHIDA, K.; FUJII, K. In: Ecotoxicology of Antifouling Biocides; Arai, T.; Harino, H.; Ohji, M.; Langston, W. J., eds.; Springer: New York, 2009, chapter. 21.

MOHR, S. *et al.* Toxic and accumulative potential of the antifouling biocide and TBT successor Irgarol on freshwater macrophytes: A pond mesocosm study. *Environmental Science and Technology*, v. 43, n. 17, p. 6838–6843, 2009.

MOREIRA, L. B. *et al.* Changes in thyroid status of *Menidia beryllina* exposed to the antifouling booster irgarol: Impacts of temperature and salinity. *Chemosphere*, v. 209, p. 857–865, 2018.

MORO, L. *et al.* Fast pesticide pre-screening in marine environment using a green microalgae-based optical bioassay. *Marine Pollution Bulletin*, v. 129, n. 1, p. 212–221, 2018.

MOURA, J. A. S. **Poluentes orgânicos persistentes no sedimento do estuário do rio Capibaribe, Recife, Pernambuco.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

OKAMURA, H. *et al.* Fate and ecotoxicity of the new antifouling compound Irgarol 1051 in the aquatic environment. **Water Research**, v. 34, n. 14, p. 3523–3530, 2000.

OKAMURA, H.; SUGIYAMA, Y. Photosensitized degradation of Irgarol 1051 in water. **Chemosphere**, v. 57, n. 7, p. 739–743, 2004.

OLIVEIRA, T. S. *et al.* Processo sedimentar atual e distribuição da matéria orgânica em um complexo estuarino tropical, Recife, PE, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 14, n. 3, p. 3431–3448, 2014.

OMAE, I. General aspects of tin-free antifouling paints. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 9, p. 3431–3448, 2003.

ÖSTMAN, M. *et al.* Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. **Water Research**, v. 115, p. 318–328, 2017.

OWEN, R. *et al.* Inhibition of coral photosynthesis by the antifouling herbicide Irgarol 1051. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 7, p. 623–632, 2002.

PAIJENS, C. *et al.* Determination of 18 Biocides in Both the Dissolved and Particulate Fractions of Urban and Surface Waters by HPLC-MS/MS. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 5, 2020.

PARDAL, E. C. *et al.* Variabilidade sedimentológica e geoquímica em um sistema estuarino tropical sob forte influência antrópica (Rio Capibaribe, PE). **Pesquisas em Geociências**, v. 46, n. 3, p. e0852, 2019.

PERINA, F. C. **Avaliação da toxicidade de biocidas utilizados em titas anti-incrustantes.** [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande, 2009.

PERINA, F. C. *et al.* Comparative toxicity of antifouling compounds on the development of sea urchin. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 8, p. 1870–1880, 2011.

PORTO DE SANTOS, c2021. Infraestrutura portuária. Santos Port Authority, Brasil. Disponível em: <http://www.portodesantos.com.br/conheca-o-porto/o-porto-de-santos/>. Acesso em: 14 de julho de 2021.

PORTO DO RECIFE: Estatísticas. Disponível em: <https://www.portodorecife.pe.gov.br/arquivos/estatisticas/ckbf-sumario.pdf>. Acesso em: 04 de agosto de 2021.

READMAN, J. W. *et al.* Coastal Water Contamination from a trizine herbicide used in antifouling paints. **Environ. Sci. Technol.**, v. 27, p. 1940–1942, 1993.

RÉGIS, C. G. *et al.* Use of *Tisbe biminiensis* nauplii in ecotoxicological tests and geochemical analyses to assess the sediment quality of a tropical urban estuary in northeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 137, n. September, p. 45–55, 2018.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

ROLA, R. C. *et al.* Antifouling biocide dichlofluanid modulates the antioxidant defense system of the brown mussel *Perna perna*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, n. May, p. 111321, 2020.

SAKKAS, V. A. *et al.* Survey for the occurrence of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment of Greece. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 9, n. 5, p. 327–332, 2002.

SAKKAS, V. A.; KONSTANTINOOU, I. K.; ALBANIS, T. A. Photodegradation study of the antifouling booster biocide dichlofluanid in aqueous media by gas chromatographic techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 930, n. 1–2, p. 135–144, 2001.

SALEH, A. *et al.* Antifouling paint booster biocides (Irgarol 1051 and diuron) in marinas and ports of Bushehr, Persian Gulf. **Marine Pollution Bulletin**, v. 105, n. 1, p. 367–372, 2016.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Á.; FERRERA, Z. S.; RODRÍGUEZ, J. J. S. A preliminary assessment of levels of antifouling booster biocides in harbours and marinas of the island of Gran Canaria, using SPE-HPLC. **Environmental Chemistry Letters**, v. 9, n. 2, p. 203–208, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Á.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J. Analytical methods for the determination of common booster biocides in marine samples. **Central European Journal of Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 521–533, 2012.

SAPOZHNIKOVA, Y. *et al.* Antifouling biocides in water and sediments from California marinas. **Marine Pollution Bulletin**, v. 69, n. 1–2, p. 189–194, 2013.

SCHETTINI, C. A. F. *et al.* The circulation of the lower Capibaribe Estuary (Brazil) and its implications for the transport of scalars. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. 3, p. 263–276, 2016a.

SCHETTINI, C. A. F. *et al.* Observation of an Estuarine turbidity maximum in the highly impacted capibaribe estuary, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. 2, p. 185–190, 2016b.

SCHOUTEN, A. *et al.* Critical aspects in the determination of the antifouling compound dichlofluanid and its metabolite DMSA (N,N-dimethyl-N'-phenylsulfamide) in seawater and marine sediments. **Chromatographia**, v. 62, n. 9–10, p. 511–517, 2005.

SILVA, J. P. **Sedimentologia, batimetria, qualidade de água e vulnerabilidade do Rio Capibaribe na cidade do Recife.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

SINGH, N.; TURNER, A. Trace metals in antifouling paint particles and their heterogeneous contamination of coastal sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 4, p. 559–564, 2009.

SJÖDIN, A.; FLODSTRÖM, E. **Environmental Impact of Sea Transportation in the**

**North Sea Region.** [s.l: s.n.].

SOARES, K. L. *et al.* Rapid and cost-effective multiresidue analysis of pharmaceuticals, personal care products, and antifouling booster biocides in marine sediments using matrix solid phase dispersion. **Chemosphere**, v. 267, p. 129085, 2020.

SOARES, K. L. *et al.* Analytical methods for antifouling booster biocides determination in environmental matrices: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 29, 2021a.

SOON, Z. Y. *et al.* Zinc Pyrithione (ZnPT) as an Antifouling Biocide in the Marine Environment—a Literature Review of Its Toxicity, Environmental Fates, and Analytical Methods. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 230, n. 12, p. 1–18, 2019.

SOON, Z. Y. *et al.* Characterization of hazards and environmental risks of wastewater effluents from ship hull cleaning by hydroblasting. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, n. April 2020, p. 123708, 2021.

SOROLDONI, S. *et al.* Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment? **Journal of Hazardous Materials**, v. 330, p. 76–82, 2017.

SOROLDONI, S. *et al.* Antifouling paint particles: Sources, occurrence, composition and dynamics. **Water Research**, v. 137, p. 47–56, 2018a.

SOROLDONI, S. *et al.* Potential ecotoxicity of metals leached from antifouling paint particles under different salinities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, n. October 2017, p. 447–452, 2018b.

SOROLDONI, S. *et al.* Antifouling paint particles cause toxicity to benthic organisms: Effects on two species with different feeding modes. **Chemosphere**, v. 238, p. 1–9, 2020.

SRINIVASAN, M.; SWAIN, G. W. Managing the Use of Copper-based Antifouling Paints. **Environmental Management**, v. 39, n. 3, p. 423–441, 2007.

SUN, M. *et al.* Environmental and human health risks of antimicrobials used in *Fenneropenaeus chinensis* aquaculture production in China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 15, p. 15689–15702, 2016.

TALVITIE, J. *et al.* Do wastewater treatment plants act as a potential point source of microplastics? Preliminary study in the coastal Gulf of Finland, Baltic Sea. **Water Science and Technology**, v. 72, n. 9, p. 1495–1504, 2015.

THOMAS, K. V. *et al.* Increased persistence of antifouling paint biocides when associated with paint particles. **Environmental Pollution**, v. 123, n. 1, p. 153–161, 2003.

THOMAS, K. V.; BROOKS, S. The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. **Biofouling**, v. 26, n. 1, p. 73–88, 2010.

THOMAS, K. V.; MCHUGH, M.; WALDOCK, M. J. Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters: Inputs, occurrence and environmental fate. **Science of the Total**

**Environment**, v. 293, n. 1–3, p. 117–127, 2002.

TSANG, V. W. H.; LEI, N. Y.; LAM, M. H. W. Determination of Irgarol-1051 and its related s-triazine species in coastal sediments and mussel tissues by HPLC-ESI-MS/MS. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 10, p. 1462–1471, 2009.

TURNER, A. Marine pollution from antifouling paint particles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 2, p. 159–171, 2010.

UNCTAD. **Review of Maritime Transport 2020**, 2020. Disponível em: <[https://unctad.org/system/files/official-document/rmt2020\\_en.pdf](https://unctad.org/system/files/official-document/rmt2020_en.pdf)>

USEPA. **Reregistration Eligibility Decision (RED) - Chlorothalonil**, 1999.

VAN DE VOORDE, A. *et al.* Analysis of quaternary ammonium compounds in urban stormwater samples. **Environmental Pollution**, v. 164, p. 150–157, 2012.

VAN GESSELLEN, N., BOUWMAN, H., AVERBUJ, A. Imposex assessment and tributyltin levels in sediments along the Atlantic coast of South Africa. **Mar. Environ. Res.** 142, 32–39

VAN WEZEL, A.P., Van Vlaardingen, P. Environmental risk limits for antifouling substances. **Aquatic Toxicology**, v. 66, p. 427-444. 2004

VIANA, J. L. M. **Validação E Aplicação De Metodologia Analítica Para Análise De Traços De Biocidas Anti-Incrustantes De Terceira Geração Em Amostras De Sedimentos Via Hplc-Ms**. [s.l.] Universidade Federal do Maranhão, 2017.

VIANA, J. L. M. *et al.* Occurrence and partitioning of antifouling booster biocides in sediments and porewaters from Brazilian Northeast. **Environmental Pollution**, v. 255, 2019.

VIANA, J. L. M. *et al.* Antifouling biocides as a continuous threat to the aquatic environment: Sources, temporal trends and ecological risk assessment in an impacted region of Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 1–12, 2020.

VIEIRA, A. A. *et al.* Environmentally friendly procedure based on VA-MSPD for the determination of booster biocides in fish tissue. **Food Chemistry**, v. 242, n. September 2017, p. 475–480, 2018a.

VIEIRA, A. A. *et al.* Extraction of chlorothalonil, dichlofluanid, DCOIT, and TCMTB from fish tissues employing the vortex assisted matrix solid-phase dispersion. **Microchemical Journal**, v. 143, n. July, p. 92–98, 2018b.

VOULVOULIS, N. Antifouling paint booster biocides: Occurrence and partitioning in water and sediments. **Handbook of Environmental Chemistry, Volume 5: Water Pollution**, v. 5, n. PART O, p. 155–170, 2006.

VOULVOULIS, N.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Analytical methods for the determination of 9 antifouling paint booster biocides in estuarine water samples. **Chemosphere**, v. 38, n. 15, p. 3503–3516, 1999.

VOULVOULIS, N.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Occurrence of four biocides utilized in antifouling paints, as alternatives to organotin compounds, in waters and sediments of a commercial estuary in the UK. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 11, p. 938–946, 2000.

VOULVOULIS, N.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Partitioning of selected antifouling biocides in the aquatic environment. **Marine Environmental Research**, v. 53, n. 1, p. 1–16, 2002.

WANG, H. *et al.* Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides using the *Strongylocentrotus intermedius* sea urchin embryo test. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 3, p. 692–703, 2011.

WANG, X. *et al.* Distribution of butyltins at dredged material dumping sites around the coast of China and the potential ecological risk. **Marine Pollution Bulletin**, v. 138, n. September 2018, p. 491–500, 2019.

WIECK, S.; OLSSON, O.; KÜMMERER, K. Not only biocidal products: Washing and cleaning agents and personal care products can act as further sources of biocidal active substances in wastewater. **Environment International**, v. 115, n. January, p. 247–256, 2018.

XAVIER, D. A. *et al.* Determination of geochemical background values on a tropical estuarine system in a densely urban area. Case study: Capibaribe estuary, Northeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 123, n. 1–2, p. 381–386, 2017.

YEBRA, D. M.; KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K. Antifouling technology - Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 50, n. 2, p. 75–104, 2004.

ZANARDI-LAMARDO, E. *et al.* Fontes e níveis de contaminação do Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (Pernambuco/Brasil). **Tropical Oceanography**, v. 44, n. 2, p. 118–131, 2016.

ZHANG, A. Q. *et al.* Toxicities of antifouling biocide Irgarol 1051 and its major degraded product to marine primary producers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, n. 6–12, p. 575–586, 2008.

ZHANG, A. Q. *et al.* Toxicities of Irgarol 1051 derivatives, M2 and M3, to two marine diatom species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, n. May, 2019.