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

BRUNA SANTANA DE MORAIS

BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE 3ª GERAÇÃO EM SEDIMENTOS DO SISTEMA ESTUARINO DO RIO FORMOSO (SERF)

Recife
2025

BRUNA SANTANA DE MORAIS

BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE 3ª GERAÇÃO EM SEDIMENTOS DO SISTEMA ESTUARINO DO RIO FORMOSO (SERF)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Oceanografia. Área de concentração: Oceanografia Química

Orientador Principal (a): Prof. Dra. Eliete Zanardi Lamardo

Orientador (a): Dra. Fiamma Eugênia Lemos de Abreu

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Morais, Bruna Santana de.
Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos do Sistema Estuarino Do Rio Formoso (SERF) / Bruna Santana de Morais. - Recife, 2025.
100f.: i1.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, 2025.
Orientação: Eliete Zanardi Lamardo.
Coorientação: Fiamma Eugênia Lemos Abreu.
Inclui referências.

1. Análise de risco ambiental; 2. Diclofluanida; 3. Irgarol; 4. Clorotalonil; 5. DCOIT. I. Lamardo, Eliete Zanardi. II. Abreu, Fiamma Eugênia Lemos. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

BRUNA SANTANA DE MORAIS

BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE 3ª GERAÇÃO EM SEDIMENTOS DO SISTEMA ESTUARINO DO RIO FORMOSO (SERF)

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 Química

Aprovado em: 27/02/2025

BANCA EXAMINADORA

_____

Profª Dra. Eliete Zanardi Lamardo
Universidade Federal de Pernambuco - DOCEAN

_____

Dra. Fiamma Eugênia Lemos Abreu
Universidade Federal de Pernambuco – DOCEAN

_____

Prof. Dr. Roberto Lima Barcellos , (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - DOCEAN

_____

Prof. Dra. Teresa Cristina Rodrigues Dos Santos Franco, (Examinador externo)
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA

_____

Prof. Dr. Pedro Augusto Mendes De Castro Melo (suplente)
Universidade Federal de Pernambuco – DOCEAN

_____

Prof. Dra. Daniele Claudino Maciel, (suplente)
Instituto Federal de Pernambuco – Pesqueira, PE

Ao meu filho João Pedro por ser, mesmo sem saber, minha força para continuar todos os dias.

AGRADECIMENTOS

À Deus por, por toda sabedoria e força constante.

Aos meus pais, Andréa e Silvio por todo amor, incentivo, apoio e confiança. Sou imensamente grata por tudo. Sem vocês, nada disso seria possível. Essa conquista é nossa. Amo vocês!

Ao meu companheiro de vida, Luís, que sempre esteve ao meu lado. Por todo amor, companheirismo e paciência para encarar nossa jornada dupla de pais de João e acadêmicos.

Ao meu filho, João Pedro, que é a minha fortaleza, e o meu gás para continuar todos os dias. Ser sua mãe me deu ainda mais força, vontade de continuar e ir em busca dos meus sonhos. Sempre será por nós!

Às minhas familiares, Vovó Lena, Tia Lu, Carol, Marja, Isabela e Tia Mônica. Por todo apoio com João, confiança, incentivo nos estudos e na vida. Vocês são fundamentais na minha jornada!

Aos meus amigos de vida, Bruna, Stéfane, Sandy, Vanessa, Luana, Manuela, André, Thalita, Pedro, Iasmin, Cindy, Samanta e Joana por sempre serem uma válvula de escape em meio a rotina, que foi por muitas vezes cansativa. Vocês são demais!

As amizades que construí durante o mestrado, Alexandre, Cinthya, Marcelle, Liana, Pedro e Walter. Nossos almoços e pós expediente foram a melhor parte do meu dia em muitos dias, rsss, dividir a rotina com vocês tornou tudo mais leve.

Aos que estiveram comigo desde o início Nycolle, Júlia, Roxanny e Gustavo. Aprendi demais com vocês! Obrigada por fazerem meus dias mais alegres e pelo suporte e pela paciência, rssss.

Aos meus companheiros de laboratório, Beth, Emmanoel, Thaysa, Duda, Samya e Daywison por toda ajuda durante as extrações e pelo dia a dia. Em especial, agradeço a Robson, que me ajudou MUITO durante quase todas as extrações desde que entrou no laboratório e a Bruno que sentou comigo inúmeras vezes com toda paciência do mundo para me ensinar e esclarecer minhas dúvidas. Sem a ajuda de vocês teria sido muito difícil!

À minha segunda orientadora Fiamma, que confiou em mim desde a primeira reunião quando eu disse que não saberia se daria conta de começar algo “novo”. Que foi muito mais que uma orientadora durante o mestrado. Por toda compreensão, conhecimento, paciência e conselhos. Fi, você é uma referência para mim! Quero levar sua amizade para vida. E, ainda tenho muito que aprender com você! Você me mostrou que a ciência é muito mais do que conhecimento, é uma via de mão dupla de persistência e paixão. MUITO OBRIGADA!

À minha orientadora Eliete, que abriu as portas do Organomar e confiou que eu era capaz quando nem eu sabia se era (e eu fui, uhuu). Por toda compreensão, acolhimento, aprendizado, paciência, oportunidade, carinho com João e puxões de orelha. A senhora foi muito importante em tudo que consegui aprender até aqui. Saiba que me senti MUITO acolhida. Agradeço a Deus por ter a senhora como orientadora. Fizemos uma parceria tão boa que temos mais quatro anos pela frente e QUE BOM!

Por fim, acho válido ressaltar que ser mãe no meio acadêmico torna tudo um pouco mais complicado... mais trabalho, mais responsabilidade, uma logística MUITO maior. E por isso, agradeço IMENSAMENTE a todos, não conquistaria nada se não fosse o apoio e paciência de vocês.

Aos professores do PPGO pelos conhecimentos.

À capes pela bolsa fornecida.

“Acima de tudo, não tema os momentos difíceis.

O melhor vem deles.”

Rita Levi-Montalcini

RESUMO

Os biocidas anti-incrustantes são substâncias químicas orgânicas utilizados na composição de algumas tintas, com o objetivo de evitar o processo de bioincrustação em estruturas metálicas submersas. No ambiente são encontrados, em sua maioria, em locais de manutenção e reparo de embarcações. Dentre os compostos mais utilizados estão o Irgarol, o DCOIT, a diclofluanida e o clorotalonil. Apesar do uso frequente desses biocidas nas últimas décadas, não há legislação e monitoramento para esses contaminantes no Brasil. Com isso, a falta de informações sobre a presença desses compostos no ambiente pode dificultar o entendimento do seu impacto nos ecossistemas aquáticos. A fim de caracterizar a contaminação dos sedimentos do Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) e no Sistema Estuarino Mamucabas e Ilhetas (SEMI) por biocidas anti-incrustantes, o presente trabalho investigou quatro biocidas em 8 pontos nos períodos chuvoso e seco. A metodologia proposta incluiu, extração por ultrassom, limpeza por extração de fase sólida e injeção no cromatógrafo a gás acoplado a um espectômetro de massas, foi otimizada para matriz sedimentar, e implantada no Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR). Todos os biocidas apresentaram resposta linear na faixa de concentração entre 1 e 500 ng g^{-1}, com coeficiente de correlação (r^2) acima de 0,999. O método apresentou precisão <20% (repetibilidade) e exatidão entre 40% e 120% para todos os compostos. A análise do DCOIT ainda precisa ser melhor investigada pois, em concentrações muito baixas, não foi possível validar a metodologia e, por essa razão, neste estudo é classificada como semi-quantitativa. O clorotalonil foi quantificado apenas no período chuvoso e em um ponto de coleta, 5,2 ng g^{-1}. O Irgarol, o DCOIT e a diclofluanida apresentaram concentrações de 1,8 a 107 ng g^{-1}, 14,8 a 26,8 ng g^{-1} e 6,7 a 38,3 ng g^{-1} respectivamente, no mesmo período. No período seco, as concentrações quantificadas foram de 2,1 a 22,1 ng g^{-1}, 6,67 e 9,3 ng g^{-1} e 3 a 31 ng g^{-1} para Irgarol, DCOIT e diclofluanida, respectivamente. As maiores concentrações dos biocidas foram observadas próximas a marinas, áreas de tráfego intenso de embarcações e atividades de agricultura e aquicultura. O Irgarol e o DCOIT apresentaram alto risco potencial à biota (quociente de risco, QR ≥ 1) em todos os sedimentos que foram quantificados, enquanto a diclofluanida apresentou risco potencial à biota em cinco pontos. O clorotalonil QR ≤ 0,1, indicou pouco ou nenhum risco à biota. Deste modo, as informações fornecidas no presente estudo são

fundamentais para compreensão das possíveis fontes e o comportamento dos biocidas anti-incrustantes em sistemas estuarinos. As informações geradas servirão de subsídios para estudos futuros para agências governamentais, para que estabeleçam regulamentações para mitigação de áreas impactadas, que certamente implicará na redução de efeitos sobre a biota local.

Palavras chave: Análise de risco ambiental. Irgarol. DCOIT. Diclofluanida. Clorotalonil

ABSTRACT

Antifouling biocides are organic chemical compounds used in the formulation of certain paints, aimed at preventing biofouling on submerged metal structures. In the environment, they are predominantly found in areas related to the maintenance and repair of vessels. Among the most commonly used compounds are Irgarol, DCOIT, diclofluanid, and chlorothalonil. Despite the widespread use of these biocides in recent decades, there is no legislation or monitoring for these contaminants in Brazil. Consequently, the lack of information regarding the presence of these compounds in the environment may hinder the understanding of their impact on aquatic ecosystems.

To characterize the contamination of sediments in the Estuarine System of Rio Formoso (SERF) and the Estuarine System of Mamucabas and Ilhetas (SEMI) by antifouling biocides, this study investigated these four compounds at 8 sampling sites during both the rainy and dry periods. The proposed methodology, which involved ultrasound extraction, solid-phase extraction cleanup, and injection into a gas chromatograph coupled with a mass spectrometer, was optimized for sediment matrices and implemented at the Laboratory of Organic Compounds in Coastal and Marine Ecosystems (OrganoMAR). All biocides exhibited a linear response within the concentration range of 1 to 500 ng g-1, with a correlation coefficient (r^2) exceeding 0.999. The method showed precision of less than 20% (repeatability) and accuracy between 40% and 120% for all compounds. The analysis of DCOIT still requires further investigation, as it was not possible to validate the methodology at very low concentrations; for this reason, it is classified as semi-quantitative in this study.

Chlorothalonil was quantified only during the rainy season at a single sampling point, with a concentration of 5.2 ng g-1. Irgarol, DCOIT, and diclofluanid exhibited concentrations ranging from 1.8 to 107 ng g-1, 14.8 to 26.8 ng g-1, and 6.7 to 38.3 ng g-1, respectively, during the same period. During the dry period, quantified concentrations ranged from 2.1 to 22.1 ng g-1, 6.67 to 9.3 ng g-1, and 3 to 31 ng g-1 for Irgarol, DCOIT, and diclofluanid, respectively. The highest concentrations of the biocides were observed near marinas, areas with intense vessel traffic, and agricultural and aquaculture activities. Irgarol and DCOIT showed a high potential risk to the biota (risk quotient, QR ≥ 1) in all quantified sediments, while diclofluanid presented a potential risk to the biota at five points. Chlorothalonil, with a QR ≤ 0.1, indicates little to no risk to the biota.

Thus, the information provided in this study is crucial for understanding the potential sources and behavior of antifouling biocides in estuarine systems. The findings will serve as a foundation for future studies and governmental agencies, promoting the regulation of these compounds' use and the mitigation of impacted areas, which will likely lead to a reduction in effects on local biota.

Keywords: Environmental risk assessment. Irgarol. DCOIT. Diclofluanid. Chlorothalonil.

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Cálculo do coeficiente de variação 43
Equação 2 - Recuperação dos analitos fortificados 43
Equação 3: Recuperação dos padrões internos 44
Equação 4 -Recuperação dos analitos 45

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura molecular Irgarol 1051 21
Figura 2- Estrutura molecular da diclofluanida e seu produto de degradação 23
Figura 3- Estrutura molecular clorotalonil 25
Figura 4 - Estrutura molecular DCOIT 26
Figura 5- Estado de Pernambuco e localização doSistema estuarino do Rio Formoso e seus contribuintes: 1- Rio Formoso, 2- Rio dos passos, 3- Rio Porto das Pedras, 4- Rio Lemenho e 5- Rio Arinquindá 33
Figura 6 - Pontos de amostragem e as suas principais atividades antrópicas no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) 36
Figura 7 - Climatologia média mensal dos últimos 30 anos do município de Tamandaré – Pernambuco. 37
Figura 8 - Espectômetro de massas de razão isotópica 39
Figura 9- Fluxograma da metodologia utilizada para extração dos biocidas anti-incrustantes em amostras de sedimento 47
Figura 10- Cromatógrafo a gás acoplado a um espectômetro de massas 48
Figura 11- Sobreposição dos cromatogramas obtidos para uma mistura dos padrões de biocida (100 ng g^{-1}) e do solvente n-hexano 52
Figura 12- Curvas analíticas preparadas para os quatro biocidas anti-incrustantes analisados nos sedimentos do sistema estuarino do Rio Formoso *(Faixa cinza representa o intervalo de confiança 95%*) 53
Figura 13 - Classificação granulométrica dos sedimentos do Sistema Estuarino do Rio Formoso e Sistema Estuarino Mamucabas e Ilhetas 61
Figura 14 - Correlação linear entre o teor lamoso (%) e o carbono orgânico total (%) em amostras de sedimento coletados no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF). 63
Figura 15- Pontos de coleta agricultura e aquicultura (P3 e P4) 67
Figura 16- Ponto de coleta Mamucabas (P7) 68
Figura 17 - Ponto de amostragem Marina (P6) 70
Figura 18 - Níveis de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração nos pontos amostrais SERF e SEMI nos períodos chuvoso e seco 71
Figura 19 – Distribuição espacial das concentrações do Irgarol e diclofluanida em fevereiro de 2023 - período seco 73

Figura 20 - Correlação de postos de Spearman entre concentração dos compostos (ng g $^{-1}$) e teor de finos (%) no período chuvoso 74
Figura 21- Correlação de postos de Spearman entre concentração dos compostos (ng g $^{-1}$) e teor de finos (%) no período de estiagem 75
Figura 22 - Teste de Mann-Whitney entre as concentrações encontradas nos períodos agosto/22 e fevereiro/23 76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas de biocidas de tintas anti-incrustantes de terceira geração 19
Tabela 2- Toxicidade de quatro biocidas anti-incrustantes para organismos aquáticos 21
Tabela 3 - Tabela composta por PNEC de cada biocida anti-incrustante de terceira geração 28
Tabela 4 - Aspectos do Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) 34
Tabela 5 - Breve descrição e cooordenadas geográficas dos pontos de amostragem de sedimentos no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF).....35
Tabela 6 -Materiais utilizados nas análises químicas.....39
Tabela 7 - Massa dos padrões primários utilizados no preparo das soluções mãe ..41
Tabela 8 - Parâmetros cromatográficos utilizados para determinação dos biocidas de 3ª geração e informações sobre os analitos.....49
Tabela 9 - Tempos de retenção e fragmentos característicos através da razão massa/carga (m/z) dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração.....50
Tabela 10 - Níveis de fortificação e seus respectivos resultados de repetitividade (%) e recuperação dos 4 compostos analisados 55
Tabela 11 - Teor de Carbono Orgânico Total e concentrações dos compostos analisados no presente estudo nos períodos de estiagem (Fevereiro de 2023) e chuvoso (Agosto de 2022) 59
Tabela 12 - Concentrações (ng g-1) de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos estuarinos e marinhos do Brasil e do mundo 65
Tabela 13 - Quocientes de risco calculados para cada biocida nos pontos de amostragem nos períodos seco e chuvoso.....79

LISTA DE ABREVIATURAS

AF	Areia fina
AG	Areia grossa
AM	Areia média
AMF	Areia muito fina
AMG	Areia muito grossa
AMP	Área Marinha Protegida
APA	Área de Proteção Ambiental
CA	Controle analítico
CE_S	Contaminantes emergentes
COT	Carbono orgânico total
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
EC	Concentração de efeito (do inglês: *Effect concentration*)
EM	Efeito matriz
GC	Cromatografia gasosa (do inglês *gas chromatographic*)
GC-MS	Cromatógrafo a gás acoplado a um espectômetro de massas (do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*)
GSH	Glutationa celular (do inglês: *Cellular glutathione)*
K_{OC}	Coeficiente de partição Carbono orgânico/água
K_{OW}	Coeficiente de partição octanol/água
LC	Concentração letal (do inglês: *Lethal concentration*)
LD	Limite de detecção
LOEC	Concentração de efeito observado mais baixo (do inglês: *Lowest Observed-Effect Concentration*)
LQ	Limite de quantificação
LRA	Limite de risco ambiental
m/z	Razão massa/carga
MEPC	Comitê de proteção do meio ambiente marinho (do inglês Marine *Environment Protection Committee*)
MO	Matéria orgânica
NOEC	Concentração que não se observou efeito (NOEC) (do inglês: *no Observed Effect Concentration*)
OMI	Organização Marítima Internacional

PI	Padrão interno
PICG	Padrão interno cromatográfico
PNEC	Concentração sem efeito previsível (do inglês: *Predicted No Effect Concentration*)
QR	Quociente de risco
RESEX	Reserva Extrativista
RNEA	Rede Nacional de Estudos Anti-Incrustantes
SEMI	Sistema Estuarino Mamucabas e Ilhetas
SERF	Sistema Estuarino do Rio Formoso
SESS	Sistema Estuarino Santos - São Vicente
SIM	Modo de monitoramento de íons selecionados
ST	Solução trabalho
TBT	Tributilestanho
TL	Teor lamoso
TMA	Tamanho médio da areia
UAE	Extração assistida por ultrassom
USEPA	Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (do inglês: *United States Environmental Protection Agency)*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

1.1 PROBLEMÁTICA 13
1.2 BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE 3ª GERAÇÃO 18
1.2.1 Irgarol 20
1.2.2 Diclofluanida 23
1.2.3 Clorotalonil 24
1.2.4 DCOIT 25
1.3 ANÁLISE DE LIMITE DE RISCO AMBIENTAL 27
1.4 PROPOSTA E JUSTIFICATIVA DA DISSERTAÇÃO 29

2. HIPÓTESE 31

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 31

4. METODOLOGIA 32

4.1 ÁREA DE ESTUDO 32
4.2 PONTOS AMOSTRAIS 34
4.3 COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS 36
4.4 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA 37
4.5 ANÁLISE DO TEOR DE MATÉRIA ORGÂNICA 38
4.6 PADRÕES ANALÍTICOS E SOLVENTES 39
4.7 PREPARO DE VIDRARIAS PARA USO 40
4.8 PREPARO DAS SOLUÇÕES 40
4.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO 41
4.9.1 Linearidade, curva analítica e faixa de aplicação 42
4.9.2 Precisão e Exatidão 42
4.9.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) 43
4.9.4 Controle de qualidade 44
4.9.5 Branco analítico 44
4.9.6 Ensaio de fortificação 45
4.10 ANÁLISE QUÍMICA DOS BIOCIDAS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS 45
4.11 INSTRUMENTAÇÃO E PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS 47

4.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS....50

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO....51

5.1 DIFICULDADES ANALÍTICAS....51
5.2 VALIDAÇÃO DA ANÁLISE DE BIOCIDAS ANTIINCRUSTANTES EM SEDIMENTOS MARINHOS....52
5.2.1 Seletividade....52
5.2.2 Curva analítica e linearidade....53
5.2.3 Precisão....55
5.2.4 Exatidão....56
5.3 ANÁLISES QUÍMICAS....57
5.3.1 Caracterização do sedimento....58
5.3.2 Determinação dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração em sedimentos.....62
5.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS....73
5.5 RISCOS AMBIENTAIS ASSOCIADOS A CONCENTRAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES NO SEDIMENTO DO SISTEMA ESTUARINO DO RIO FORMOSO E SISTEMA ESTUARINO MAMUCABAS E ILHETAS....77

6 CONCLUSÃO....80

7. REFERÊNCIAS....81

1. INTRODUÇÃO

1.1 PROBLEMÁTICA

Ao longo da história, as embarcações desempenharam um papel fundamental na sociedade mundial, sendo utilizadas como o principal meio de transporte por muitos anos. Desde meados do século XVII, as embarcações comerciais têm sido fundamentais para a economia global, contribuindo significativamente através do transporte de mercadorias e atividades recreativas. O transporte marítimo apresenta menor emissão de poluentes, quando comparado aos outros meios de transporte, como por exemplo a emissão de dióxido de carbono (CO_2).Apesar disso, ainda causa problemas ambientais (Lusseau; Bejder, 2007).

As navegações contribuem com a poluição marinha, seja pela queima de combustíveis fósseis e emissão de CO_2, colaborando para as mudanças climáticas ou pelo lançamento inadequado de resíduos e a disseminação de espécies invasoras (Libes, 2009; Lusseau; Bejder, 2007). Outro aspecto relevante sobre as atividades portuárias é o efeito em ecossistemas adjacentes sensíveis, como os estuários. Esses locais apresentam baixa hidrodinâmica, com grande capacidade de retenção de resíduos e contaminantes, que podem gerar impactos significativos e prejudicar todo o ecossistema. Atualmente, cerca de 90% do comércio mundial é realizado a partir do transporte marítimo (IMO, 2006). O fluxo contínuo de embarcações intensifica o aporte de contaminantes associados a atividades marítimas, como os hidrocarbonetos e biocidas. Os hidrocarbonetos estão presentes na atmosfera, no lançamento de efluentes domésticos, na queima de combustíveis fosseis, no escoamento superficial e em atividades portuárias (Parra *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2018; Zanardi; Bícego; Weber, 1999). Em paralelo, a indústria naval enfrenta um desafio persistente: o combate a bioincrustação. Por esta razão, substâncias biocidas são adicionadas na formulação de tintas anti-incrustantes aplicadas nos cascos das embarcações, com o objetivo de prevenir a fixação e/ou o crescimento de organismos nestas estruturas (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Almeida *et al.*, 2023; Yebra; Kiil; Dam-Johansen, 2004). Apesar de ser uma problemática antiga, a bioincrustação tem recebido mais atenção nas últimas décadas, tanto por parte de pesquisadores quanto de indústrias marítimas, devido aos seus impactos significativos na preservação ambiental, no aumento dos custos operacionais e na eficiência das embarcações, além da preocupação crescente com os efeitos ecológicos das substâncias químicas utilizadas

no controle desse fenômeno (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007; Kaluza *et al.*, 2010).

A bioincrustação é um fenômeno biológico caracterizado pelo acúmulo de microorganismos, algas e/ou animais em superfícies submersas, de origem naturais, como rochas, ou artificiais como cascos de embarcações e plataformas (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007; Dafforn; Lewis; Johnston, 2011). A bioincrustação envolve organismos de diferentes níveis tróficos, como diatomáceas, bactérias, cracas, mexilhões e macroalgas (Chen; Lam, 2017). Os bioincrustantes nas superfícies de embarcações podem gerar diversos riscos e prejuízos a esses meios de transporte, tais como o aumento da fricção entre o casco e a água, que tem como consequência a redução da velocidade das embarcações e, consequentemente,um aumento no consumo de combustível (Abbott *et al.*, 2000; Kotrikla, 2009; Yebra; Kiil; Dam-Johansen, 2004). Algumas espécies exóticas também são incrustantes, o que pode gerar um desequilíbrio no ecossistema em que forem inseridas, uma vez que fixadas nas embarcações e levadas para locais que podem eliminar populações de organismos nativos. A ausência desses organismos podem afetar a economia da região, devido ao impacto na produtividade de pescadores devido a manutenção de embarcações, e, consequentemente na fonte alimentar de regiões (Kotrikla, 2009; Yebra; Kiil; Dam-Johansen, 2004). Portanto, enfrentar a bioincrustação e mitigar os impactos ambientais causados nas atividades marítimas e ao ambiente são desafios essenciais para a indústria naval e, principalmente, para a preservação ambiental.

Os biocidas anti-incrustantes foram desenvolvidos para a proteção dos cascos de navios e evitar a bioincrustação, que gera diversos impactos estruturais, logísticos e ambientais. Historicamente, os fenícios (1500 – 300 a.c) são os pioneiros na prevenção da bioincrustação, pois utilizavam compostos de cobre e chumbo no revestimento das embarcações. Estes compostos continuaram sendo utilizados ao longo dos anos, junto a outros compostos, como arsênio e zinco, que vinham sendo buscados como mais eficientes para combater o fenômeno da bioincrustação (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007). Nos século XVIII e XIX, o mercúrio, arsênio e cobre eram os componentes mais comuns no revestimento do casco das embarcações (Dafforn; Lewis; Johnston, 2011). No século XX, por volta de 1950, surgiu uma linha de tintas anti-incrustantes, que apresentava, na sua composição, substâncias capazes de inibir o processo de incrustação. Essa ideia proporcionou a

aceitação das tintas anti-incrustantes, que passaram a ser utilizadas durante a fabricação e, posteriormente manutenção dos navios. Entre os agentes químicos anti-incrustantes mais utilizados, pode-se citar o diclorodifeniltricloroetano (DDT), estanho, chumbo e mercúrio, (Abreu, 2016; Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007; Dafforn; Lewis; Johnston, 2011). Ao longo da história, esses biocidas foram substituídos por compostos mais eficazes, dando origem a três gerações de tintas anti-incrustantes. São elas: primeira geração, em méados do século XX, no qual englobava compostos insolúveis a base de cobre e óxidos de zinco; a segunda geração surgiu na década de 1960 e era composta por compostos à base de organoestânicos, como o tributilestanho (TBT); e então a partir de 1987, a terceira geração ganha destaque incluindo compostos orgânicos e organometálicos e, excluindo os organoestânicos (Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Fernandez; Pinheiro, 2007).

Apesar de ser eficaz no combate aos organismos incrustantes, a primeira geração destes biocidas apresentava baixa durabilidade, de no máximo um ano, sendo necessário uma constante manutenção das embarcações para reposição das tintas. Como consequência, houve uma necessidade de tintas mais eficientes para o combate a bioincrustação (Castro; Westphal; Fillmann, 2011). Em contrapartida, a segunda geração das tintas anti-incrustantes apresentou, maior durabilidade e alta eficiência contra os organismos incrustantes. Em 1980, mais de 80% das embarcações em todo o globo estavam revestidas com tintas anti-incrustantes a base de organoestânicos (Castro; Westphal; Fillmann, 2011). Infelizmente, as tintas apresentaram problemas relacionados à elevada toxicidade à organismos não-alvos. A ação tóxica dos biocidas de segunda geração foi comprovada na Baía de Arcachon, na França que é cercada de portos e marinas. Nesta baía, foram observados efeitos nos estágios larvais e alterações nas conchas de ostras, *Crassostrea gigas* (Alzieu *et al.*, 1982). A propensão à bioacumulação em mamíferos e alteração no sistema imunológico de peixes também foi reportada (Nakayama; Segner; Kawai, 2009). Além disso, a exposição à compostos organoestânicos também causa o impossex, definida como uma modificação morfofisiológica sexual em fêmeas de gastrópodes (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007; Fernandez; Pinheiro, 2007). A partir da elevada ação tóxica causada por esses compostos, a Organização Marítima Internacional (OMI) criou uma medida regulatória na qual proibiu novas aplicações de tintas anti-incrustantes à base de organoestânicos a partir de 1º de janeiro de 2003, e,

posteriormente, o banimento mundial dessas tintas anti-incrustantes a base desses compostos a partir de setembro de 2008 (IMO, 2020; Sonak *et al.*, 2009).

Devido à baixa durabilidade observada nas tintas anti-incrustantes de primeira geração e ao posterior banimento global do TBT em tintas anti-incrustantes em que se comprovou graves impactos ambientais, surgiu a necessidade do desenvolvimento de uma nova geração de biocidas (Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Yebra; Kiil; Dam-Johansen, 2004). Atualmente, a terceira geração de tintas anti-incrustantes compreende cerca de 30 biocidas, incluindo compostos orgânicos e inorgânicos. Foi desenvolvida com o intuito de causar menor prejuízo ao ambiente, quando comparada às tintas das gerações anteriores. Na formulação dessas tintas podem ser utilizados simultaneamente até quatro tipos de biocidas (Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021). Devido ao grupo de compostos que são adicionados a estas tintas com o intuito de melhorar o desempenho na prevenção de colonização de organismos nos cascos de embarcações, esses biocidas também são conhecidos como co-biocidas ou biocidas de reforço (Thomas; McHugh; Waldock, 2002). Apesar da menor toxicidade, ainda apresentam efeitos negativos a algumas espécies marinhas não-alvos tais como os peixes, invertebrados, corais e crustáceos (Bao *et al.*, 2011; Bellas, 2006; Graceli *et al.*, 2013; Owen *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2011).

Além disso, os compostos que estão presentes nas tintas anti-incrustantes podem se dissociar das embarcações, durante o processo de limpeza e pintura dos cascos, liberando partículas de tintas anti-incrustantes (PTAs). As PTAs podem se ligar a materiais orgânicos e inorgânicos, e assim, gerar um acúmulo de substâncias em áreas costeiras de baixa energia como os estuários (Soroldoni *et al.*, 2018). Essas partículas foram reconhecidas como altamente tóxicas, que atuam como fontes secundárias de biocidas para ambientes aquáticos (Soroldoni *et al.*, 2017). As regiões estuarinas têm mostrado concentrações relevantes de biocidas na matriz aquosa e sedimentar que podem gerar impactos ambientais, principalmente à biota local (Abreu, 2016; Amara *et al.*, 2018; de Castro; Perina; Fillmann, 2012; Guerreiro *et al.*, 2020). A Concentração Letal (CL_{50}) do Irgarol em sedimento, para *Tiburonella viscana,* é 54,2 ng g^{-1} (Perina *et al.*, 2023). De acordo com os autores, os valores determinísticos da concentração prevista sem efeito (PNEC), sugerem que os valores observados representam uma ameaça aos organismos planctônicos e bentônicos. A CL_{50} e CL_{10} do DCOIT para o *T. viscana* são 565 ng g^{-1} e 24 ng g^{-1}, repectivamente

(Campos *et al.*, 2023). O copépode *Nitrokra sp* apresentou valores de CL_{50} e CL_{10} de 215 ng g^{-1} e 9 ng g^{-1}, respectivamente. A maior concentração de DCOIT que não se observa efeito (NOEC) para o *T. viscana* foi de 60 ng g^{-1}, enquanto a menor concentração que em que se observa efeito (LOEC) foi de 100 ng g -1. Utilizando o copépode *Nitokra sp.*, a LOEC calculada foi de 111,4 ng g^{-1} e a NOEC foi de 15,5 ng g^{-1} (Campos *et al.*, 2023).

No Brasil, em 2010 uma rede de estudos foi criada a fim de investigar a contaminação ambiental pelos biocidas de 2ª e 3ª geração – A Rede Nacional de Estudos em Anti-Incrustantes (RNEA). Os pesquisadores verificaram a persistência do TBT em áreas portuárias e marinas no Brasil (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Castro; Rossato; Fillmann, 2012). Uma avaliação da ocorrência e impacto dos organoestânicos foi feita em sedimentos de dois estuários de Pernambuco e em populações de *Stramonita rustica.* Não foi constatada a presença de impossex nos organismos analisados, entretanto, as concentraçõesde TBT variaram de <3 a 339 ng Sn g^{-1} de peso seco nos sedimentos (Maciel *et al.*, 2018). Na baía de São Marcos, Maranhão, caracterizada por ser a maior baía estuarina da costa do Brasil, foram encontradas concentrações de 0,5 a 9,2 ng g^{-1} de Irgarol na matriz sedimentar (Viana *et al.*, 2020). Estudos realizados no Sistema Estuarino Santos - São Vicente (SESS), onde abriga o maior porto do País, quantificou-se níveis de biocidas e partículas de tintas anti-incrustantes no sedimento desse sistema. As concentrações de biocidas no sedimento foram de <0,5 ng g^{-1} de Irgarol, <0,2 a 74,6 ng g^{-1} de DCOIT, <0,7 a 16 ng g^{-1} de diclofluanida e <0,1 a 9,2 ng g^{-1} de clorotalonil. As partículas de tintas anti-incrustantes encontradas nessa região variaram entre 1,496 µg g^{-1} a 664 µg g^{-1} (Abreu *et al.*, 2020). Através da obtenção desses dados, é possível afirmar que áreas de zonas costeiras e portuárias precisam de mais atenção, devido a contaminação por biocidas anti-incrustantes, que podem gerar desequilíbrio ambiental.

Os compostos que oferecem risco ambiental à biota, são estimados através de índices, ou limites ecotoxicológicos, considerados não prejudiciais. O limite de risco ambiental (LRA) representa o limite acima do qual as substâncias apresentam risco ao ambiente, e sendo determinados através da toxicidade, persistência e bioacumulação da substância. O LRA varia de acordo com o composto e ecossistema envolvido (Van Wezel; Van Vlaardingen, 2004).

Devido a crescente demanda do uso dos biocidas, mais estudos ambientais com ênfase nas áreas portuárias ao redor do mundo se faz necessário. Na América do Sul, o número de pesquisas sobre os biocidas anti-incrustantes de terceira geração ainda é limitada (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Almeida *et al.*, 2023). Pesquisas realizadas em áreas estuarinas de São Luís (MA), Vitória (ES), Recife (PE), Lagoa dos Patos (RS) e Santos - São Vicente (SP) apontam que essas regiões de estudo estão contaminadas com biocidas de tintas anti-incrustantes (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Abreu *et al.*, 2020; Almeida, 2021; Viana *et al.*, 2020). Embora as concentrações detectadas sejam consideravelmente baixas, ainda são motivos de preocupação, pois têm o potencial de prejudicar a biota local (Abreu, 2016; Almeida, 2021). Os autores enfatizam a importância do monitoramento contínuo dessas áreas estuarinas, de forma que sejam abordadas a problemática de contaminação.

1.2 BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE 3ª GERAÇÃO

Os biocidas de 3ª geração ou, como são conhecidos, co-biocidas ou biocidas de reforço, são compostos orgânicos que se combinam com uma matriz solúvel acrílica com o objetivo de serem utilizados na formulação de tintas anti-incrustantes. Estes biocidas desempenham um papel crucial na eficácia das tintas-anti-incrustantes para prevenir a formação de incrustações em superfícies submersas (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007). Durante a fabricação das tintas anti-incrustantes dos biocidas de reforço, é comum a presença de 4 a 6 biocidas de forma simultânea. Essa simultaneidade da presença dos biocidas serve para aumentar a eficácia da proteção contra incrustações e melhorar a durabilidade das tintas (Okamura; Mieno, 2006; Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021). Os biocidas de terceira geração surgiram em alternativa ao uso do TBT, um biocida amplamente utilizado anteriormente, mas, devido a sua alta toxicidade, foi banido mundialmente. A literatura já documentou mais de 30 tipos de co-biocidas em uso atualmente, os quais são utilizados com intuito de apresentar um impacto reduzido em comparação aos biocidas a base de estanho. Os biocidas de terceira geração apresentam baixo potencial biomagnificativo e bioacumulativo, além de apresentar baixos níveis de toxicidade quando comparados aos da geração anterior (Almeida; Diamantino; De Sousa, 2007; Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021).

Os biocidas de tintas anti-incrustantes de terceira geração são encontrados, em sua maioria, em locais utilizados para manutenção e reparo de embarcações. Esses

locais são fontes de partículas de tintas anti-incrustantes (PTAs), originadas através da limpeza, manutenção, raspagem, remoção da pintura dos cascos de embarcações de pequeno e grande porte (Turner, 2010). À medida que essas partículas são descartadas e inseridas no ambiente aquático, a hidrodinâmica local interfere diretamente no seu destino, direcionando a deposição ou o transporte dessas PTAs. Quando depositadas no sedimento, as PTAs podem atuar como fonte local de metais e contaminantes orgânicos que afetam organismos epibentônicos (Singh; Turner, 2009; Soroldoni *et al.*, 2018).

As propriedades físico-quimicas desses compostos são fundamentais para compreender o seu destino, comportamento e mobilidade no ambiente. Além da avaliação estrutural dos compostos, é necessário avaliar características como a solubilidade, o logaritmo do coeficiente de partição água-carbono orgânico (K_{oc}), o logaritmo do coeficiente de partição água-octanol (K_{ow}), solubilidade e o tempo de meia vida. Essas propriedades são extremamente importantes para informações sobre o seu comportamento no meio ambiente: se ele tende a adsorver a matéria orgânica do sedimento (K_{oc} >3), se tem uma tendência de acumular nos tecidos dos organismos (K_{ow}>3) ou se é transportado pela água (Baird C., 2011).

O presente estudo investigou quatro biocidas específicos clorotalonil, 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona (DCOIT), diclofluanida e Irgarol 1051. Estudos recentes têm focado na investigação desses biocidas, avaliando sua ocorrência, particionamento e toxicidade em matrizes ambientais (Abreu *et al.*, 2020; Campos *et al.*, 2023; Perina *et al.*, 2023; Viana *et al.*, 2020). As propriedades físico-químicas e estruturais desses biocidas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas de biocidas de tintas anti-incrustantes de terceira geração .

COMPOSTO	Log K_{ow}	Log K_{oc}	S.A (ng mL^{-1})	M.M.	P.E. (ºC)	Tempo de ½ vida
Irgarol 1051	3,9	3,3	7000	253,4	428,0	100 a 265 dias
Diclofluanida	3,7	3,1	6	333,3	336,8	1 a 3 horas
Clorotalonil	2,9	2,6	600	265,9	350,5	Até 3 meses
DCOIT	2,8	4,2	6,5	213,3	322,6	<0.5 dias

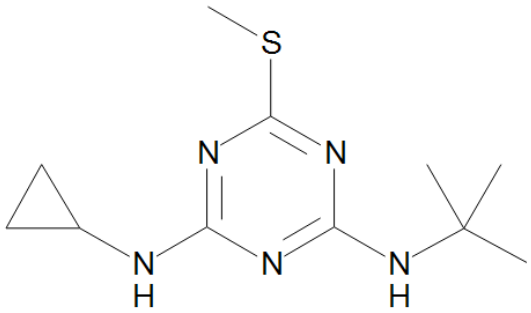
Kow: coeficiente de partição octanol-água; Koc: coeficiente de água-carbono; S.A: Solubilidade em água; M.M: massa da molécula; P.E: Ponto de ebulição

Fonte : Adaptado de Almeida (2021) ; Castro; Westphal; Fillmann (2011); Hamwijk *et al.*, 2005; Soares *et al.*, (2021); Thomas; McHugh; Waldock, (2002) ; Voulvoulis; Scrimshaw; Lester, (2000).

1.2.1 Irgarol

Entre os biocidas de terceira geração, o Irgarol 1051 (2-metiltio-4-*terc*-butilamino-6-ciclopropilamino-*s*-triazina) (Figura 1) é um dos compostos mais estudados, e é o biocida mais utilizado na composição de tintas anti-incrustantes (Castro; Westphal; Fillmann, 2011). O Irgarol 1051 é um herbicida que pertence ao grupo das triazinas e sua estrutura química contém enxofre e nitrogênio ($C_{11}H_{19}N_5S$). Possui solubilidade moderada em água (7000 ng mL^{-1}), K_{ow} de 3,9 e K_{oc} de 3,3, apresentando características hidrofóbicas (Tabela 1). O tempo de meia vida do Irgarol varia entre 100 e 265 dias no sedimento, sendo de degradação mais lenta em condições anaeróbicas (Abreu, 2016; Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Soares *et al.*, 2021a).

Figura 1- Estrutura molecular Irgarol 1051



Fonte: https://www.lgcstandards.com/AI/en/

O Irgarol apresenta toxicidade para organismos não-alvo (Tabela 2) (Amara *et al.*, 2018), atuando de diferentes formas no sistema biológico, tais como a inibição da fotossíntese, bloqueando o transporte de elétrons no fotossistema II, que pode diminuir a eficiência da função fotossintética e afetar os produtores primários. É considerado mais tóxico a estes organismos do que o próprio TBT (Bao *et al.*, 2011; Chesworth; Donkin; Brown, 2004; Karlsson; Ytreberg; Eklund, 2010). Devido à sua ação inibidora da fotossíntese, apresenta uma significativa toxicidade para algas, principalmente para *Chaetoceros Gracilis*, que possui alta sensibilidade a esse composto. A espécie de peixe *Oncorhynchus mykiss* também é altamente sensível para o Irgarol, com CL50 de 790 ng mL^{-1} (Amara *et al.*, 2018; Hall Jr *et al.*, 1999). O Irgarol apresenta o LRA, limite acima do qual as substâncias apresentam risco ao ambiente, de 1,4 ng g^{-1} na matriz sedimentar (Van Wezel; Van Vlaardingen, 2004).

No Brasil, o Irgarol foi primeiramente identificado em amostras de água no Rio Paraíba do Sul (138 mg L^{-1}), em Campo dos Goitacazes, Rio de Janeiro, em uma área de passagem de barcos (Azevedo; Gerchon; Reis, 2004). Outros estudos citam o potencial risco ambiental diante das diferentes concentrações observadas em sedimentos (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Viana *et al.*, 2020).

Tabela 2- Toxicidade de quatro biocidas anti-incrustantes para organismos aquáticos

COMPOSTO	ESPÉCIE	EFEITO	CONCENTRAÇÃO DE EFEITO OU LETALIDADE (ng mL^{-1}) ou (ng g^{-1})	REFERÊNCIA
IRGAROL	*Scenedesmus vacuolatus*	92% da redução da atividade fotossintética	EC_{50} = 1,1	Fernandez-Alba *et al.*, 2002
	Elasmopus rapax	Mortalidade juvenil em 96h	LC_{50} = 1000	Bao *et al.*, 2011
	Artemia salina	Mortalidade em 24h	LC_{50} > 40,103	Okamura *et al.*, 2000
	Oncorhynchus mykiss	Mortalidade em 96h	LC_{50} = 790	Hall Jr. *et al.*, 1999
	Ampelisca abdita	Mortalidade	NOEC = 44*	ECHA, 2014
DICLOFLUANIDA	*Strongylocentrotus Intermedius*	Redução em 50% da embriogênese	EC_{50} = 549,15	Wang *et al.*, 2011
	Paracentrotus lividus	Desenvolvimento embrionário	EC_{50} = 627	Bellas, 2006
	Mytilus edulis	Desenvolvimento embrionário	EC_{50} = 81	Bellas, 2006
CLOROTALONIL	*Ciona intestinalis*	Inibição do desenvolvimento embrionário após 48h	EC_{50} = 33	Bellas, 2006
	Daphnia Magna	Mortalidade em 48h	LC_{50}=130–200	Fernandez-Alba *et al.*, 2002
	Cyprinodon variegatus	Mortalidade	LC_{50} = 33	Bellas, 2006
	Pseudaphritis urvillii	Morte de metade da população juvenil em 10 dias	LC_{50} = 8,2	Davies et al. 1994
	Chironomus dilutus	Mortalidade	NOEL = 8.500*	EPA (MRID 49524602)
DCOIT	*Enteromorpha intestinali*	Mortalidade para germinação de esporos	LD_{50} = 2	Jacobson; Willingham, 2000
	Balanus amphitrite	Mortalidade larval	LC_{50} = 340	Jacobson; Willingham, 2000
	Glyptocidaris crenularis	50% da população de embriões apresenta efeito	EC_{50} = 0,65	Xue Xu *et al.*, 2011
	Daphnia Magna	50% da população de embriões apresenta efeito após 48h	EC_{50} = 4 ± 0,7	Hernando *et al.*, 2003
	Perinereis nuntia	Inibição do desenvolvimento	NOEC = 9,7*	Onduka *et al.*, 2013

LC - Concentração letal; EC - Concentração de efeito; NOEC – Concentração em que não se observou efeito; NOEL – Concentração sem nível de efeito observado; (*) coluna 4 – toxicidade analisada em sedimento quantificada em ng $g^{-1.}$

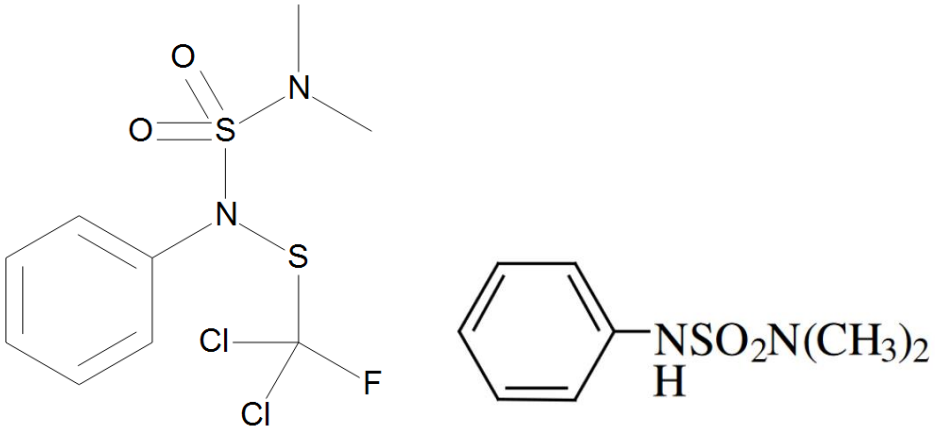
Fonte: A autora (2025)

Como consequência dos diversos estudos relatando o seu potencial tóxico, o Irgarol foi adicionado à lista dos “48 poluentes prioritários a serem monitorados na Europa” e, em 2016, foi proibido em diversos países europeus para comercialização e uso (EUROPEAN COMISSION, 2016, 1992). Em julho de 2017, o Comitê de Proteção do Meio Ambiente Marinho (MEPC) da Organização Marítima Internacional (OMI), aprovou uma medida sobre o uso do Irgarol, baseado em estudos que mostram efeitos significativos ao meio ambiente. Durante a 76ª sessão do MEPC, em junho de 2021, foi estabelecido que os navios não deveriam utilizar ou reaplicar sistemas anti-incrustantes que possuíssem o Irgarol na sua composição a partir de 1º de Janeiro de 2023 (IMO, 2023).

1.2.2 Diclofluanida

A diclofluanida (N-diclorofluorometiltio-N’,N’-dimetil-N-fenilsulfamida) (Figura 2) é um composto fungicida do grupo dos organoclorados que é utilizado na agricultura, além de ser utilizado na composição de tintas anti-incrustantes (Hamwijk *et al.*, 2005). Esse composto apresenta baixa solubilidade em água (6 ng mL^{-1}), e moderado valor de K_{ow} de (3,7) e K_{oc} (3,1), sugerindo seu particionamento para sedimentos e/ou organismos (Tabela 1). A diclofluanida apresenta um baixo tempo de meia vida quando comparado aos outros compostos de 1 a 3 horas em sedimento, e uma alta taxa de degradação (Tabela 1) (Thomas; McHugh; Waldock, 2002).

Figura 2- Estrutura molecular da diclofluanida e seu produto de degradação



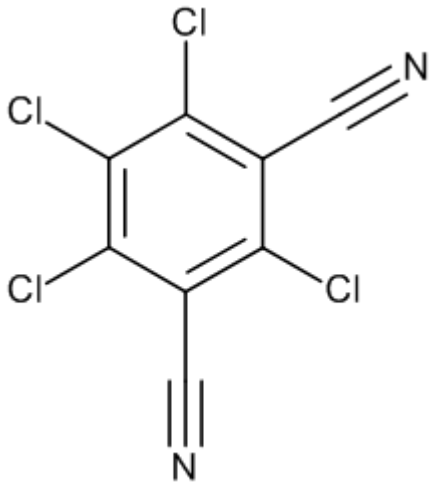
Fonte: https://www.lgcstandards.com/AI/en/ e Hamwijk et al. 2005

Ao ser inserido em ambientes aquáticos, a diclofluanida se degrada para o DMSA (N'-dimetil-N-fenil-sulfamida), através da hidrólise, fotodegração e degradação anaeróbica (Figura 2). A rápida degradação da diclofluanida é umas dificuldades na quantificação desse analito nas matrizes sedimentares e aquosas (Hamwijk *et al.*, 2005). Em relação aos outros biocidas, a diclofluanida apresenta uma toxicidade relativamente menor (Tabela 2) (Bellas, 2006). Embora seus efeitos mutagênicos e carcinogênicos sejam menores, a diclofluanida ainda apresenta toxicidade para organismos de ciclo de vida rápido, como o bivalve *Mytilus edulis* e o ouriço do mar *Paracentrotus lívidos,* reduzindo o sucesso da embriogênese, crescimento larval e fixação larval, em concentrações de 49 a 81 µg L^{-1} (Bellas, 2006). A diclofluanida também causa efeitos. A diclofluanida também causa efeitos para algas da espécie *Selenastrum capricornotum* e microcrustáceo *Daphnia magna* obtendo uma CE_{50}de 21 µg L^{-1} e 1330 µg L^{-1}, respectivamente (Fernandez-Alba *et al.*, 2002)

1.2.3 Clorotalonil

O clorotalonil (2,4,5,6-tetracloroisoftalonitrila) (Figura 3) é um composto organoclorado pertencente ao grupo das isoftalonitrilas. Esse composto vem sendo utilizado há mais de 3 décadas na agricultura contra a ação de fungos, e é utilizado para controlar doenças nas folhas de hortaliças (Castro; Westphal; Fillmann, 2011; DeLorenzo; Fulton, 2012). O modo de ação do clorotalonil nos fungos tem sido atribuído à ligação com a glutationa celular (GSH), onde reduzindo significativamente sua atividade; também pode se ligar e inibir o gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), uma enzima necessária para a glicólise (Caux *et al.*, 1996). O clorotalonil apresenta toxicidade para alguns grupos de organismos aquáticos, apresentados em ordem decrescente do potencial tóxico: rotíferos > diatomáceas > equinodermos > microalgas > anelídeos > crustáceos > bivalves > peixes > dinoflagelados (De Campos *et al.*, 2022).

Figura 3- Estrutura molecular clorotalonil



Fonte: https://www.lgcstandards.com/AI/en/

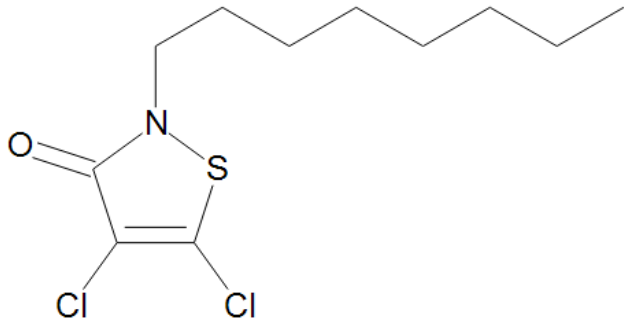
O clorotalonil apresenta o K_{oc} igual a 2,6 (Tabela 1), baixa solubilidade em água (600 ng mL^{-1}) e é vulnerável a fotodegradação (Almeida, 2021; Castro; Westphal; Fillmann, 2011; Caux *et al.*, 1996). Na água apresenta meia vida de poucas horas (Caux *et al.*, 1996). Esta característica dificulta, em parte, a quantificação desse composto nas matrizes ambientais. O limite de risco ambiental (LRA) para esse composto em sedimento é igual a 50,6 µg g^{-1} sugerindo uma menor toxicidade em relação ao Irgarol e ao DCOIT (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Van Wezel; Van Vlaardingen, 2004). Por apresentar um curto tempo de meia vida, esperava-se que este biocida utilizado como aditivo em tintas anti-incrustantes, apresentasse riscos mínimos à vida marinha. Essa informação foi refutada quando estudos ecotoxicológicos de exposição a curto prazo investigaram os efeitos tóxicos e observaram uma redução na funcionalidade de hemócitos, sendo comparável ou até maior que a do TBT (Cima; Bragadin; Ballarin, 2008). Efeitos no desenvolvimento embrionário de *Mytilus edulis* com CE_{10} e CE_{50} 4,5 e 8,8 ng mL^{-1}, respectivamente, apontaram que os efeitos causados pelo clorotalonil foi 7 vezes mais tóxico do que a diclofluanida e 170 vezes mais tóxico que o Irgarol (Bellas, 2006).

1.2.4 DCOIT

O 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona (DCOIT) (Figura 4), conhecido comercialmente como Sea-nine® 211 ou Kathon 5287, é um biocida que foi introduzido no mercado como um agente anti-incrustante no ano de 1996. Este composto vem sendo amplamente utilizado devido à sua rápida degradação tanto na

água quanto no sedimento, com tempo de meia vida equivalente a <0,5 dia na matriz sedimentar (Chen; Lam, 2017; Cima; Bragadin; Ballarin, 2008; Fonseca, 2020; Jacobson; Willingham, 2000). Sua estrutura química é constituída por átomos de cloro, nitrogênio e enxofre ($C_{11}H_{17}Cl_2NOS$). Devido a sua eficácia e rápida degradação em matrizes ambientais, atualmente o DCOIT é o biocida de reforço mais utilizado (Almeida *et al.*, 2023; Amara *et al.*, 2018; Konstantinou; Albanis, 2004).

Figura 4 - Estrutura molecular DCOIT



Fonte: https://www.lgcstandards.com/AI/en/

Apesar da sua alta taxa de degradação, este composto pode ser considerado um contaminante pseudo-persistente, definido assim quando é introduzido de forma continua no ambiente (Barceló; Petrovic, 2007; Campos *et al.*, 2023). A literatura documenta efeitos tóxicos do DCOIT sobre diferentes espécies de algas, tais como a *Enteromorpha intestinalis, Fucus serratus* e *Scenedesmus vacuolatus*, que demonstraram sensibilidade ao composto, mesmo em concentrações baixas: 2 ng mL^{-1}, 31 ng mL^{-1}, 137,25 ng mL^{-1}, respectivamente. (Amara *et al.*, 2018). A alga *Hormosira banksii* apresentou uma sensibilidade notável ao crescimento dos seus esporos quando exposta à concentrações que variaram de 340 ng mL^{-1} a 460 ng mL^{-1} (Amara *et al.*, 2018).

Além disso, concentrações de 0,1 e 10 ng g^{-1} de DCOIT exerceram efeitos citotóxicos nos hemócitos de mexilhões nas primeiras 24 horas de exposição (Fonseca, 2020) e cardiológicos em embriões de ostras, *Oryzias melastigma* (Liu, 2024). A literatura aponta que o DCOIT apresenta extrema toxicidade para a embriogênese, processo de formação e desenvolvimento do embrião, para o ouriço do mar *Anthocidaris crassispina*, cuja CE_{50} é igual a 2 ng mL^{-1}. Em peixes, o Sea-nine 211 (formulação que contém cerca de 30% de DCOIT) reduziu a sobrevivência de

50% do *Cyprinodon variegatus* após 96h de exposição em concentração baixa, 33 ng ml^{-1} (Amara *et al.*, 2018). Em diversas regiões ao redor do mundo, o DCOIT tem sido quantificado em concentrações variando de 0,2 ng mL^{-1} a 3,7 ng mL^{-1}, (Chen; Lam, 2017; Martínez *et al.*, 2001; Steen *et al.*, 2004). Apesar de ser um composto que também é encontrado na matriz aquosa, o DCOIT tem uma tendência significativa de se particionar para os sedimentos, evidenciada por um coeficiente de partição água-carbono orgânico (K_{oc}) de 4,2 (Callow and Willingham, 1996; Fonseca, 2020; Jacobson e Willingham, 2000).

O uso do DCOIT é amplamente reconhecido pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA, principalmente devido a sua rápida degradação ambiental (USEPA). No entanto, em 2004 foi reconhecido que sua toxicidade é mais alta quando comparada a outros biocidas, como o Irgarol 1051 (Konstantinou; Albanis, 2004). Um estudo realizado ao longo de 178 zonas costeiras e portos da Coreia revelou uma grave contaminação por esse composto, com concentrações alcançando até 281 ng g^{-1} de peso seco (Chen; Lam, 2017). No Brasil, investigações na costa litorânea têm reportado DCOIT em 77% das amostras analisadas, com concentrações de <0,2 a 75 ng g^{-1} (Abreu *et al.*, 2020). Com isso, sugere-se um risco significativo para a maioria dos ambientes estudados, tendo em vista que já foi reportado valores intermediários aos encontrados na costa litorânea do Brasil, como 9,7 ng g^{-1} (Onduka *et al.*, 2013)

A crescente frequência com que os co-biocidas são encontrados em amostras ambientais reforça a urgente necessidade de estudos focados na identificação e quantificação dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração bem como a avaliação dos seus efeitos sobre a biota (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Almeida *et al.*, 2023).

1.3 ANÁLISE DE LIMITE DE RISCO AMBIENTAL

As avaliações de risco ambiental investigam a probabilidade de ocorrer efeitos através da exposição a contaminantes e estressores que são relacionados a ação antrópica (Burgman, 2005). Esses efeitos se referem a mortalidade de um organismo individual ou ao desequilíbrio ecossistêmico. A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) tem utilizado a Avaliação de Risco Ambiental como base para decisões, avaliando potenciais impactos de substâncias químicas e atividades humanas no meio

ambiente, a fim de estabelecer limites seguros para exposição e mitigar riscos para organismos e ecossistemas (Abernathy; Roberts, 1994). A avaliação de risco deve seguir diferentes fases até que seja determinada: A identificação e formulação do problema, a avaliação da exposição e dose resposta em relação aos efeitos ambientais e a caracterização de risco (ECHA, 2017). A análise da exposição é feita através da medida de concentração ambiental ou da concentração prevista, e os de efeitos ecológicos são derivados através de uma concentração previsível sem efeitos (PNEC) (Tabela 3) (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; ECHA, 2017). Os quocientes de risco (QR) são calculados através da fórmula:

$$QR = MEC/PNEC$$

onde,

QR= quociente de risco

MEC= Concentração ambiental medida

PNEC = Concentração previsível sem efeito

Após o cálculo dos quocientes de risco dos compostos, o QR é dividido em duas categorias: baixo risco (QR ≤ 0,1), e risco potencial, com QR ≥1, podendo causar efeitos adversos a biota (Tabela 3). O risco oferecido pelos biocidas depende de uma combinação de exposição ao composto tóxico e a sensibilidade da comunidade presente nos sedimentos (Abreu; Fillmann; Martins, 2021). Estuários de diferentes regiões brasileiras indicaram alto risco ambiental em, pelo menos, um ponto de cada um dos 9 locais amostrados no estudo. DCOIT, Irgarol, clorotalonil e diclofluanida apresentam alto risco em 47%, 15%, 1% e 1% dos locais analisados, respectivamente (Abreu; Fillmann; Martins, 2021).

Tabela 3 - Tabela composta por PNEC de cada biocida anti-incrustante de terceira geração

Composto	**PNEC**
Clorotalonil	9,5
Diclofluanida	16,6
Irgarol	0,4
DCOIT	0,97

Adaptado de (Abreu; Fillmann; Martins, 2021)

1.4 PROPOSTA E JUSTIFICATIVA DA DISSERTAÇÃO

Nos últimos anos, a presença e os efeitos dos Contaminantes Emergentes (CEs) têm ganhado destaque considerável entre pesquisadores e agentes ambientalistas. A persistência e o comportamento desses poluentes ainda não são completamente compreendidos (Geissen *et al.*, 2015; Mijangos *et al.*, 2019; Nieto *et al.*, 2017; Sauvé, 2014). Quando liberados no ambiente marinho, observa-se que os CEs têm tendência a impactar mais intensamente as áreas costeiras do que as regiões de mar aberto, em razão das descargas associadas às atividades humanas ao longo da costa e o poder de diluição das águas oceânicas (Branchet *et al.*, 2021; Ghosn, 2019). Muitos desses compostos não possuem monitoramento adequado, tendo em vista que não há legislação que regulamente o uso e descarte desses contaminantes. Os biocidas anti-incrustantes clorotalonil, diclofluanida, Irgarol 1051 e DCOIT, avaliados nesse trabalho classificam-se como compostos emergentes, devido à sua presença crescente no ambiente aquático e à falta de regulamentações rigorosas sobre seu uso e descarte.

O estado de Pernambuco, localizado no litoral nordeste do Brasil, possui uma extensa área costeira que abrange diversos rios e estuários. Muitas dessas áreas são vulneráveis devido à pressão antrópica intensa, tornando-se locais suscetíveis à contaminação (Arruda-Santos *et al.*, 2018). Um exemplo, é o estuário do Rio Formoso, que foi designado como Área de Proteção Ambiental (APA). Esta designação visa orientar a gestão das atividades na região por meio de um processo participativo, proteger os ecossistemas e promover o uso sustentável dos recursos naturais (Barbosa *et al.*, 2016; CPRH, 2013).

O potencial turístico do estuário do Rio Formoso (SERF) é substancial, especialmente durante o verão, o que resulta em um aumento populacional e, concomitantemente, um aumento no fluxo de embarcações. Esse crescimento gera uma preocupação crescente com relação à contaminação por biocidas. Desde o século XIX, têm sido realizados estudos com uma frequência crescente para entender a ocorrência, o destino e os efeitos dos biocidas. No entanto, a maioria desses estudos tem se concentrado na comunidade europeia, que tem adotado medidas para um uso consciente do meio ambiente, impondo restrições ao uso de biocidas em alguns países (Thomas; Brooks, 2010). Entretanto, há uma carência significativa de estudos sobre biocidas de terceira geração no Brasil, e não existem pesquisas específicas

sobre esses compostos no SERF. Isso torna a realização deste trabalho fundamental para diagnosticar a situação real da contaminação na área.

A crescente conscientização sobre os impactos ambientais causados por biocidas em tintas anti-incrustantes, junto à ausência de estudos sobre o tema na região nordeste do país, reforçou ainda mais a importância desta pesquisa. Propostas de leis, medidas de mitigação e programas de monitoramento necessitam ser validadas pela comunidade científica por meio de estudos como este, para que possam ser desenvolvidas de forma adequada, considerando a necessidade ambiental para enfrentar problemas de contaminação.

2. HIPÓTESE

Os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração são detectados nos sedimentos do Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) em maiores concentrações nos períodos de estiagem e nas proximidades de locais que apresentam fontes potenciais.

3. OBJETIVO GERAL

Caracterizar a contaminação em sedimentos do Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) por biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (clorotalonil, diclofluanida, Irgarol 1051 e DCOIT).

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimização da metodologia para análise dos biocidas anti-incrustantes em sedimento;
- Análise da ocorrência dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração (clorotalonil, diclofluanida, Irgarol 1051 e DCOIT) no período chuvoso (agosto de 2022) e no período de estiagem (fevereiro de 2023);
- Classificação do grau de contaminação do SERF quanto a presença destes biocidas em relação aos limites de segurança propostos na literatura;
- Inserção do atual estado de contaminação desse importante estuário tropical dentro de um panorama brasileiro e mundial.

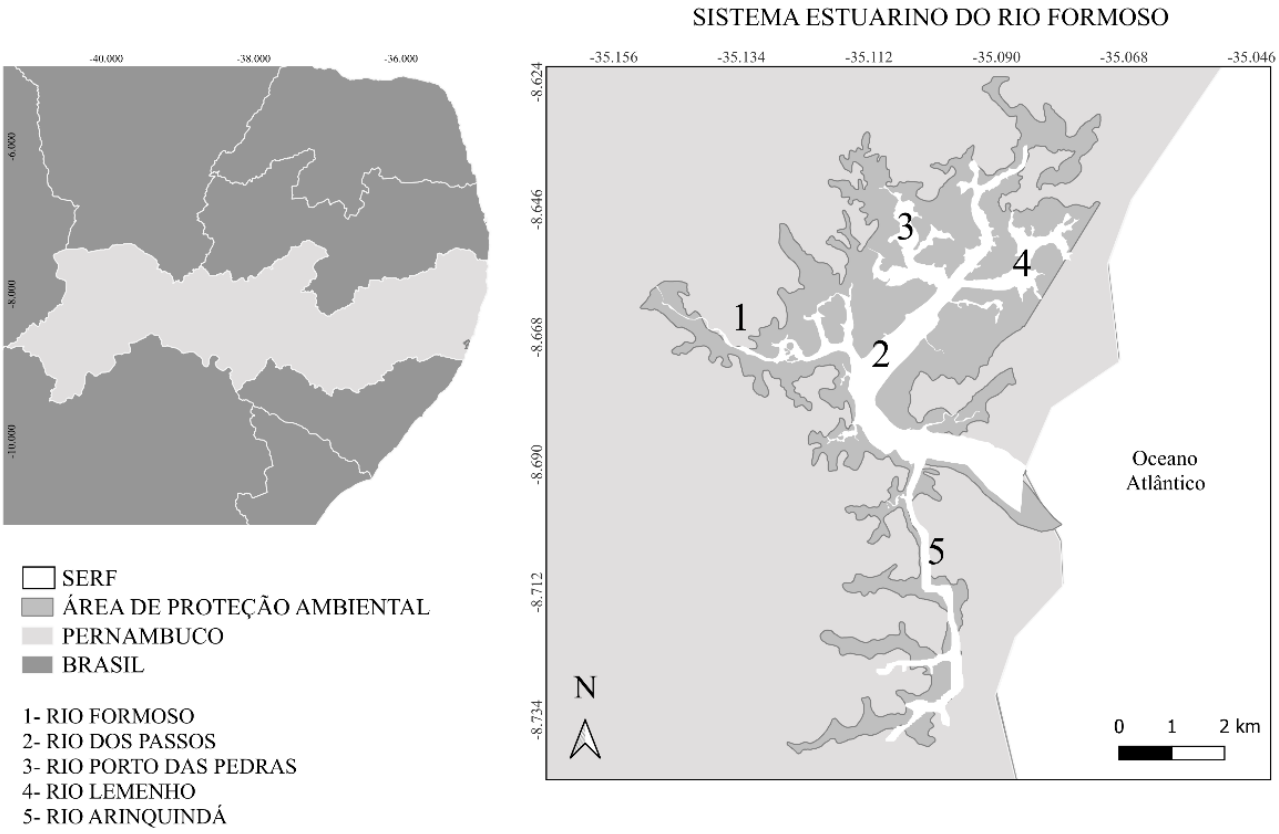
4. METODOLOGIA

4.1 ÁREA DE ESTUDO

Rio Formoso é um município situado no litoral sul de Pernambuco (8º39’- 8º42’S e 35º10’- 35º05’W), localizado a cerca de 100km de distância de Recife, capital pernambucana. Este município localiza-se nas bacias hidrográficas dos rios Sirinhaém e Una, e recebe influência dos rios litorâneos, com área total aproximada de 27,2 Km^2 (CPRH, 2011).

O Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) (Figura 5), está localizado no município de Rio Formoso. Esse sistema está incluído na Área de Preservação Ambiental (APA) de Guadalupe , no litoral sul de Pernambuco. A APA, localizada nas proximidades do Porto de Suape, onde há um fluxo constante de embarcações de carga navegando pela costa, é constituída por 32.135ha de área continental e 12.664ha de área marítima (CPRH, 2011). De acordo com o artigo 2º do Decreto Estadual Nº 19.635 de 13 de março de 1997, a APA tem a responsabilidade de “proteger e conservar os sistemas naturais essenciais à biodiversidade, especialmente os recursos hídricos, visando a melhoria da qualidade de vida da população local, a proteção dos ecossistemas e o desenvolvimento sustentável” (Feitosa; Xavier, 2010). Atualmente, vem sendo debatida a criação de uma reserva extrativista (RESEX) para o Rio Formoso, uma iniciativa que pode revelar uma estratégia significativa para a proteção dos recursos naturais da região (Magalhães, 2022).

Figura 5 - Estado de Pernambuco e localização do Sistema estuarino do Rio Formoso e seus contribuintes: 1- Rio Formoso, 2- Rio dos passos, 3- Rio Porto das Pedras, 4- Rio Lemenho e 5- Rio Arinquindá



Fonte: A autora (2024)

O SERF está localizado entre a Praia dos Carneiros e o Pontal de Guadalupe, e é composto pelos rios Formoso, dos Passos, Lemenho, Porto da Pedra e Ariquindá. O mosaico de rios recebe, durante seus cursos, descarte de efluentes não tratados, como esgotos e fertilizantes, além de efluentes de atividades agropecuárias, que se tornam mais intensos no período chuvoso (CPRH, 2011; Craveiro, 2016; Silva, *et al.*, 2022).

Esse sistema é caracterizado por ser do tipo de planície costeira com salinidade variando entre 1,33 no alto estuário e 36,30 no médio e baixo estuário (CPRH, 2011). Quanto às estações sazonais, no sistema estuarino do Rio Formoso, os períodos mais chuvosos ocorrem entre março e agosto enquanto os meses mais secos são de setembro a fevereiro (CPRH, 2011; Silva *et al.*, 2009). Além do SERF, o Sistema Estuarino Mamucabas e Ilhetas (SEMI), também está localizado no litoral sul de

Pernambuco e pertence a uma área de proteção ambiental (APA) (Araújo, 2014). Na tabela abaixo, Tabela 4, pode-se observar alguns parâmetros da região do SERF:

Tabela 4 - Aspectos do Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF)

Aspectos da área de estudo	
Clima	Trópical úmido
Temperatura média	26ºC com amplitude térmica anual de 4ºC
Hidrodinâmica	Dominado por marés
Geomorfologia	Origem tectônica (devido a expressão de falhas geológicas)
Classificação do estuário	Verticalmente homogêneo e bem misturado
Batimetria	Relevo vertical positivo (bancos arenosos) e negativo (depressões e canal mais profundos)
Temperatura da água	28 a 32,9ºC (variação de acordo com a intensidade da radiação solar e com variação de marés)
pH	6,50 a 7,80

Fonte: A autora, 2025 - Adaptado de Santos; Barcellos, 2017

4.2 PONTOS AMOSTRAIS

A seleção dos pontos de amostragem foi baseada em áreas próximas às fontes potenciais de biocidas anti-incrustantes, sejam ligadas a atividades de marinas, estaleiros, agricultura ou fazendas de aquicultura, como descrito na Tabela 4.

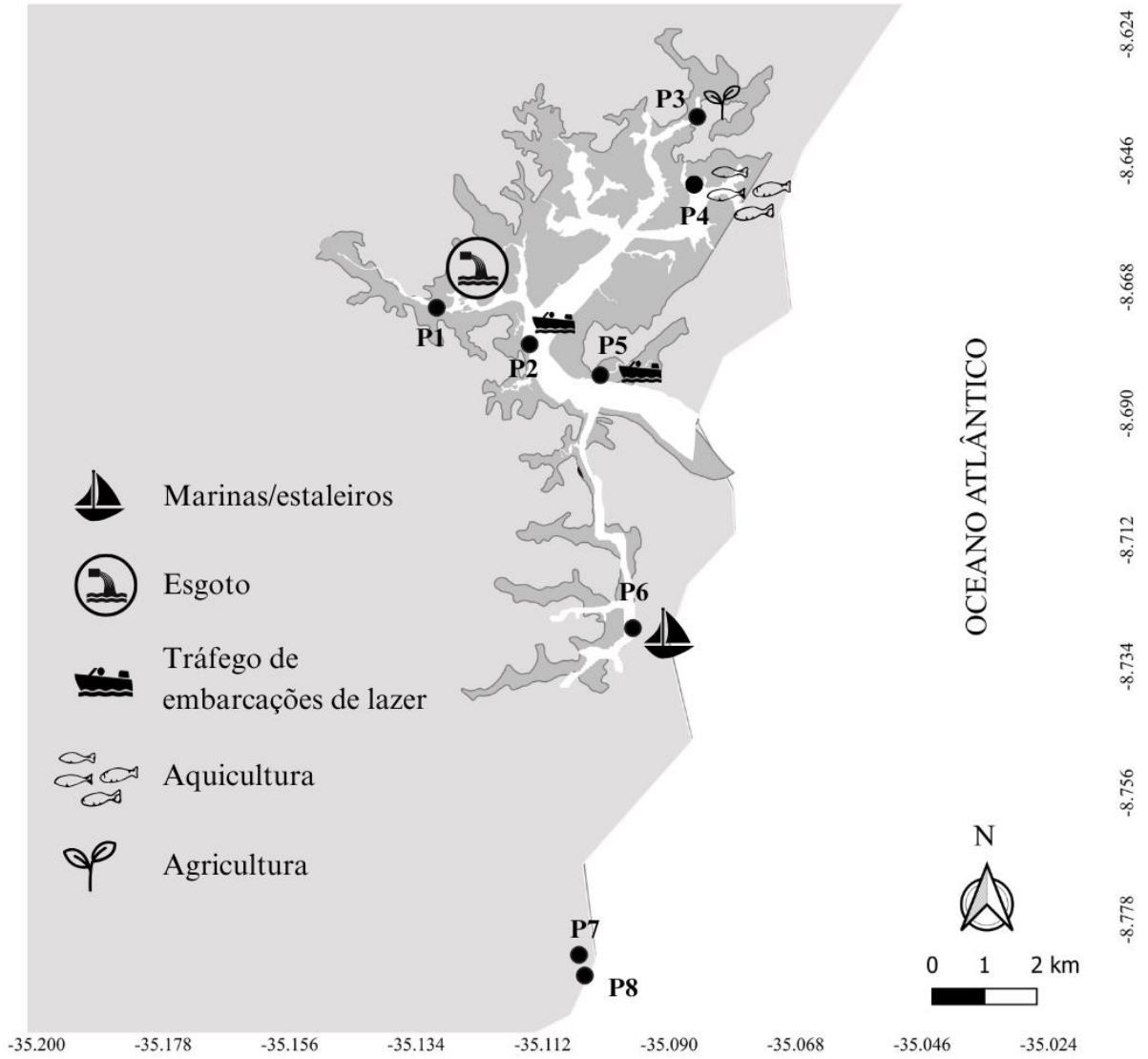
Tabela 5 - Breve descrição e cooordenadas geográficas dos pontos de amostragem de sedimentos no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF)

Ponto	Descrição breve	Latitude	Longitude
P1	Rio Formoso – Saída Compesa	8°40'17.68"S	35° 7'49.54"O
P2	Rio Formoso - Praia da Pedra	8°40'40.50"S	35° 6'51.40"O
P3	Rio dos Passos - Agricultura	8°38'18.10"S	35° 5'6.40"O
P4	Rio Lemenho - Aquicultura	8°39' 4.42"S	35° 5'6.69"O
P5	Rio Formoso - Mariassú	8°40'59.90"S	35° 6'7.10"O
P6	Rio Arinquindá - Marina	8°43'38.30"S	35° 5'46.70"O
P7	Rio Mamucabas - Foz	8°47' 2.96"S	35° 6'20.46"O
P8	Ilhetas - Foz	8°47'15.90"S	35° 6'16.83"O

Fonte: A autora (2025)

Na Figura 6 estão indicados os pontos de amostragem e suas respectivas atividades antrópicas. O P1 está localizado no Rio Formoso, próximo à saída de esgoto da cidade de mesmo nome; O P2 situa-se numa região estuarina amplamente utilizada para tráfego de lanchas, iates e *jet-ski.* Atividades de agricultura e aquicultura são observadas nas proximidades dos pontos P3 e P4 e podem significar aporte secundário de biocidas como Irgarol 1051, clorotalonil e diclofluanida (Castro *et al.*, 2022; Dellamatrice; Monteiro, 2014; Kaonga; Takeda; Sakugawa, 2015). Próximo ao P6 encontra-se uma marina de atraque de embarcações de lazer sendo possíveis fontes de biocidas anti-incrustantes devido às atividades de manutenção ou lixiviação das embarcações (Abreu et al. 2021). Os pontos P7 e P8, localizados no sistema estuarino dos rios Ilhetas e Mamucabas, foram escolhidos como complemento ao estudo, uma vez que esta região, apesar das atividades antrópicas, é influenciada diretamente pelas condições oceanográficas da zona costeira e mar aberto.

Figura 6 - Pontos de amostragem e as suas principais atividades antrópicas no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF)

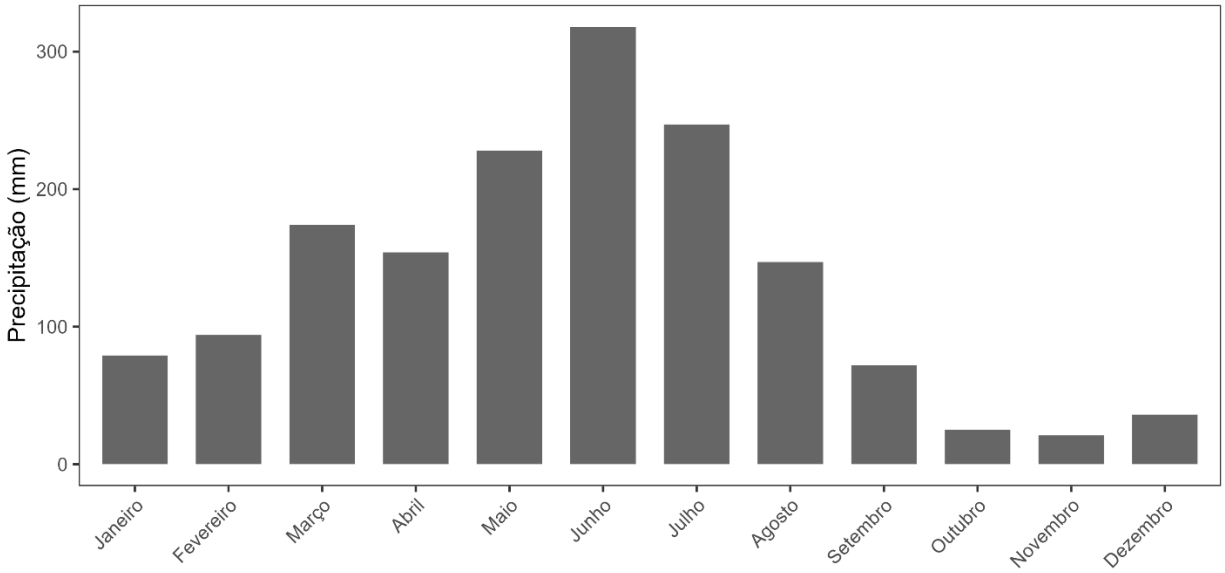


Fonte: A autora (2025)

4.3 COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS

As amostras de sedimento foram coletadas em 8 pontos ao longo do SERF e no Sistema estuarino do Rio Mamucabas e Ilhetas (SEMI) (Figura 6), nos meses agosto/2022 (período chuvoso) e fevereiro/2023 (período de estiagem). Dados climatológicos dos últimos 30 anos (1994 – 2024) foram obtidos a fim de avaliar os períodos de maior e menor precipitação (Figura 7).

Figura 7 - Climatologia média mensal dos últimos 30 anos do município de Tamandaré – Pernambuco.



Dados obtidos (https://www.apac.pe.gov.br/193-climatologia/521-climatologia-por-municipio)

Fonte: A autora (2025)

A camada superficial dos sedimentos (2 centímetros) foi coletada manualmente com uma colher de aço-inox, previamente descontaminada em laboratório. O material coletado foi armazenado em formas de alumínio previamente calcinadas (450°C/4 h). As amostras foram mantidas com gelo no isopor durante o transporte para o Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, OrganoMAR, e, em seguida, foram colocadas em freezer a -20ºC. Antes das análises, as amostras foram secas em estufa, desagregadas e transferidas para frascos de vidro para que fossem feitas as extrações e as análises granulométricas.

4.4 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A granulometria das amostras foi determinada para a caracterização do tipo do sedimento de acordo com o tamanho do grão. O peneiramento dos sedimentos foi realizado no OrganoMAR e segundo a metodologia descrita por Suguio (1973). As amostras secas em estufa foram homogeneizadas e uma alíquota desta foi pesada em um béquer para determinar a massa inicial. Um peneiramento úmido foi realizado para promover a separação da fração grossa (>63 μm) da fração lamosa (<63 μm). A fração grossa, foi seca em estufa a 60 ºC por cerca de 1 dia e a fração lamosa foi

descartada. Após secos, os sedimentos maiores que 63 μm foram separados de acordo com o tamanho do grão com o auxílio do agitador de peneiras eletromagnético (modelo AGMAGB 220V). O equipamento possui peneiras de diferentes gramaturas, que permite classificar os sedimentos de acordo com os tamanhos: areia muito grossa (>1 mm), grossa (>500 μm), média (>250 μm), fina (>125 μm) e areia muito fina (>63 μm). Após a separação, cada fração foi pesada individualmente e expressa em porcentagem. O cálculo da fração lamosa foi feito a partir da diferença entre a massa inicial do sedimento (peso inicial) e o que foi perdido no peneiramento úmido (<63 μm) (peso final) somado a fração < 63 μm.

4.5 ANÁLISE DO TEOR DE MATÉRIA ORGÂNICA

A análise do teor de matéria orgânica (MO) foi realizada no OrganoMAR, através de analisador elementar EuroVector (modelo EA3000 Single) acoplado a um espectrômetro de massa de razão isotópica Thermo (modelo Delta V Advantage) (EA-CF-IRMS) (Figura 8). Inicialmente os sedimentos foram descarbonatados com HCl (1M) por 24 horas (Costa *et al.*, 2021; de Arruda-Santos, 2023). Na sequência, as amostras foram sujeitas à combustão seca da MO com redução dos óxidos de nitrogênio no IRMS. Os gases gerados foram introduzidos numa coluna cromatográfica para a separação do gás carbônico e gás nitrogênio, e, posteriormente submetidos a uma ionização, seguido de uma separação dos isotopólogos desses gases de acordo com a massa carga dos íons moleculares detectando em sequência os isotopólogos. Todas as reações foram submetidas sob fluxo contínuo (~100 mL $^{-1}$) do gás hélio (pureza 99,99%). Para quantificação foi utilizado um material de referência com teor conhecido de e C = 7,45% (Microanálise Elementar).

Figura 8 - Espectômetro de massas de razão isotópica

Fonte: https://www.ufpe.br/organomar/infraestrutura/instrumentos-analiticos

4.6 PADRÕES ANALÍTICOS E SOLVENTES

Os padrões analíticos e solventes que foram utilizados no desenvolvimento do trabalho, como Irgarol 1051, clorotalonil, DCOIT, diclofluanida, água ultrapura, metanol, n-hexano foram de grau de pureza elevado, uma vez que as concentrações investigadas dos componentes nas amostras são muito baixas (ng mL^{-1} ou ng g^{-1}). Desta forma o risco de interferência nos resultados é minimizado. Os solventes, padrões, cartuchos e padrões utilizados encontram-se na tabela abaixo (Tabela 5).

Tabela 6 -Materiais utilizados nas análises químicas

Padrão/Reagentes (CAS)	Pureza	Fornecedor
Acetato de etila (141-78-6)	99,7%	Riedel-de-Haën
Acetonitrila (75-05-8)	< 99,9%	Sigma Aldrick
Água ultrapura (7732-18-5)	100,0%	Supelco
Cartucho C18	500mg - 3mL	Supelco
Clorotalonil (36791)	90,0%	Merck
DCOIT (CDS003259)	90,0%	Merck
Diclofluanida (45433)	90,0%	Merck
Diclorometano (75-0-92)	99,8%	Supelco
Irgarol 1051 (46105)	90,0%	Merck
Metanol (6756-1)	99,9%	Riedel-de-Haën
n-hexano (110-54-3)	97,0%	Riedel-de-Haën
p-terfenil d_{14} (364630)	90,0%	Merck
PCB 112 (74472-36-9)	90,0%	Dr. Ehrenstofer
Tolueno (108-88-3)	≥ 99,5%	Mallinckrodt Chemicals

Fonte: A autora (2025)

4.7 PREPARO DE VIDRARIAS PARA USO

As vidrarias utilizadas no presente estudo foram previamente lavadas em solução de Extran alcalino (5%), onde ficaram imersas durante 24h. Posteriormente, a vidraria foi enxaguada vigorosamente com água destilada e levada a estufa até que ficassem totalmente secas. Na sequência, as vidrarias foram mufladas à 450ºC por 4 horas. Imediatamente, antes de serem utilizadas, as vidrarias foram novamente limpas com o solvente, seja ele metanol ou hexano a depender da etapa a ser processada na sequência.

4.8 PREPARO DAS SOLUÇÕES

As soluções dos padrões analíticos dos biocidas analisados no presente trabalho (Irgarol, DCOIT, diclofluanida e clorotalonil) foram preparadas para a construção da curva analítica e fortificação das amostras. As soluções “mãe” foram preparadas individualmente para cada composto (200.000 ng mL^{-1}) a partir da diluição

do sal do analito em 5mL de tolueno. Na Tabela 6, estão as massas dos padrões primários utilizados em cada uma das soluções “mãe”. A partir desta, foram preparadas as Soluções Trabalho (ST), contendo a mistura dos biocidas em concentração 5.000 ng mL^{-1}. Foram adicionados 62,5 μL de cada solução mãe dos analitos individuais (DCOIT, diclofluanida, Irgarol 1051 e clorotalonil) e diluídas para um volume final de 25mL de n-hexano. Uma nova ST de concentração menor (100 ng mL^{-1}) foi preparada para que pudesse ser analisada concentrações mais baixas da solução de 5.000 ng mL^{-1}. Para isso, uma alíquota de 0,2 mL da solução de 5.000 ng mL^{-1} foi dilúida em 10 mL de n-hexano. As soluções utilizadas foram devidamente armazenadas em frascos âmbar, identificadas em um livro de registro e colocadas sob refrigeração a -20 °C.

Tabela 7 - Massa dos padrões primários utilizados no preparo das soluções mãe

Padrão primário	**Massa**
DCOIT	9,5 mg
Diclofluanida	9,5 mg
Irgarol	9,8 mg
Clorotalonil	10,5 mg
p-terphenyl d14	1,0 mg
PCB 112	2,0 mg

Fonte: A autora (2024)

4.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

A validação do método analítico proposto para matriz sedimentar teve como referência parâmetros estabelecidos pelos órgãos regulatórios INMETRO, ICH (Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano) e ANVISA, tendo como base seus guias de validação. Parâmetros como exatidão (ensaios de recuperação), precisão (repetitividade), linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), foram utilizados para validação do método analítico neste trabalho.

4.9.1 Linearidade, curva analítica e faixa de aplicação

A linearidade é definida como a capacidade do método em apresentar resultados que sejam proporcionais à concentração dos analitos, dentro de uma faixa previamente determinada (Ribani *et al.*, 2004). Para o cálculo da linearidade, é preparada uma curva analítica, que consiste em análise de soluções com concentrações conhecidas e a obtenção de uma equação de reta, correlacionando as concentrações e as respostas do instrumento analítico utilizado, dentro de uma faixa específica de calibração (González *et al.*, 2014). Em sua construção, a curva deve ser elaborada com ao menos 5 concentrações e deve demonstrar boa sensibilidade (INMETRO, 2020). O coeficiente de correlação (linearidade) calculado pela curva analítica através dos pontos pré-estabelecidos é representado pela letra r^2. Esse coeficiente possibilita uma avaliação da qualidade da curva: quanto mais próximo de 1,0 menos dispersão dos dados (Ribani *et al.*, 2004). Neste estudo, foram elaboradas 2 curvas analíticas, sendo divididas em Curva Baixa contendo 6 concentrações: 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 ng mL^{-1}, e Curva Alta, contendo também 6 concentrações: 10; 25; 50; 100; 250; 500 ng mL^{-1}. Como padrão interno (PI) (ou padrão surrogado), foi utilizado o PCB 112 e, como padrão interno cromatográfico (PICG) (ou padrão de recuperação), o p-terphenyl d14. Em todos os pontos da curva foram adicionados os dois padrões, numa concentração de 100 ng mL^{-1}. A adição do PI permite o cálculo das concentrações dos analitos através do método de padronização interna; a adição do PICG permite o cálculo da recuperação do PI, inferindo a recuperação dos analitos.

A faixa de aplicação da curva consiste no intervalo entre o maior e menor valor de concentração do analito que atenda as premissas da exatidão e precisão (Ribani *et al.*, 2004). A faixa de aplicação utilizada neste estudo foi de 1 a 50 ng mL^{-1} para curva baixa e de 10 a 500 ng mL^{-1} para a curva alta.

4.9.2 Precisão e Exatidão

A precisão retrata a dispersão dos resultados entre a repetitividade de ensaios da mesma amostra, ou amostras similares com condições estabelecidas. Expressa o grau de concordância entre medidas realizadas (Ribani *et al.*, 2004). A exatidão refere-se a quão próximo de um valor de referência os ensaios individuais reportaram suas concentrações e serão aceitos como verdadeiros. Segundo a ANVISA, há uma determinação de ensaios em triplicada para os ensaios em três níveis de

concentração distintas para que seja obtido um nível de confiança (ANVISA, 2017; Ribani *et al.*, 2004).

Para a análise da precisão e exatidão do método foi utilizada uma amostra do período seco de fevereiro de 2023, do ponto Mariassu, devido a quantidade de massa amostral. As amostras foram fortificadas em triplicata em dois níveis de concentração, 10 e 100 ng mL^{-1}, e analisadas seguindo o protocolo estabelecido no laboratório (Ver item 4.9.6. Um estudo realizado anteriormente no OrganoMAR, implementou a metodologia de biocidas anti-incrustantes, (Irgarol, clorotalonil e diclofluanida) em sedimentos, utilizando a concentração de 800 ng mL^{-1} para validação analítica, que foi utilizada como terceira amostra no presente estudo para corroborar a validação do método.

A precisão foi estimada através do coeficiente de variação, expresso em porcentagem (Equação 1, INMETRO, 2020). Devido a complexidade amostral, é aceitável que a precisão seja próxima de 20% (Ribani *et al.*, 2004).

Equação 1 - Cálculo do coeficiente de variação

$$\% \text{ CV} = \text{Desvio padrão das médias} / \text{média das concentrações} * 100$$

As amostras em triplicada foram fortificadas com dois níveis de concentração, para a recuperação dos analitos foi calculada segundo a Equação 2. Os intervalos aceitáveis para o cálculo da exatidão foram de 40 a 120% (Ribani *et al.*, 2004).

Equação 2 - Recuperação dos analitos fortificados

$$\% \text{ REC} = \text{Concentrações obtidas de analito} / \text{Concentrações esperadas de analito} * 100$$

4.9.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

A menor concentração do analito que pode ser identificada em um ensaio ou investigação, é chamada de limite de detecção (LD) (Ribani *et al.*, 2004), mesmo que sua quantificação não seja confiável. Existem alguns métodos estabelecidos para o cálculo de LD, mas neste estudo considerou-se como três vezes o ruído da linha de base, observado durante a análise cromatográfica de cada amostra (Almeida, 2021).

A menor concentração de um analito que pode ser quantificado com confiança analítica, é chamado de limite de quantificação (LQ). (Ribani *et al.*, 2004). No presente estudo, o critério utilizado para o LQ foi o primeiro ponto da curva analítica (curva baixa) (1 ng g^{-1}).

4.9.4 Controle de qualidade

Para cada lote analítico foi preparado um controle analítico (CA), contendo todos os padrões utilizados no processo de preparação das amostras e/ou ensaios de recuperação: 100 µL do PCB 112 (padrão interno, PI, 1.000 ng mL^{-1}), 100 µL do p-terfenil-d14 (padrão interno cromatográfico, PICG, 1.000 ng mL^{-1}) e 100 µL da STM (solução trabalho mista, 1.000 ng mL^{-1}). Em paralelo a todos os lotes das amostras de campo analisados, também foi incluído uma amostra escolhida aleatoriamente e fortificada com 100 µL da STM (solução trabalho mista, 1.000 ng mL^{-1}) para verificar a recuperação dos analitos. Após a adição das soluções citadas anteriormente, o volume final do CA foi ajustado para 1mL. Este frasco foi mantido em freezer à – 20 ºC para ser analisado juntamente com o lote analítico correspondente. As concentrações obtidas em cada CA foram consideradas como uma recuperação de 100% das amostras e utilizadas para calcular a recuperação dos padrões internos (PI = surrogado) na amostra e, no caso das amostras fortificadas, para o cálculo da recuperação dos analitos individuais (Ver item 4.9.6). O cálculo para recuperação dos padrões internos foi feito segundo a Equação 3.

Equação 3: Recuperação dos padrões internos

$$\text{Recuperação (\%)} = (\text{PI/PICG})\ \text{AM} / (\text{PI/PICG})\ \text{CA} \times 100$$

Sendo:

(PI/PICG) AM = razão das áreas dos padrões adicionados nas amostras.

(PI/PICG) CA = razão entre as áreas dos padrões obtidas no controle analítico

4.9.5 Branco analítico

O branco analítico é um procedimento realizado para rastreio da possível contaminação durante a limpeza do material ou no decorrer do processo analítico. Na análise das amostras ambientais, foram utilizados um branco para cada lote, preparados com sulfato de sódio previamente muflados à 450ºC durante 6 horas. Em cada branco foi adicionado o PI e seguiram o mesmo procedimento analítico que as

amostras. Ao final, o PICG foi adicionado assim como nas amostras, para o cálculo da recuperação do padrão interno. Para os testes de precisão e exatidão, foram separados dois brancos para cada uma das concentrações da solução (10 e 100 ng mL^{-1}).

4.9.6 Ensaio de fortificação

Os ensaios de fortificação consistiram na adição de uma quantidade conhecida dos analitos de interesse sobre uma amostra ambiental. As amostras foram preparadas utilizando sedimentos de um ponto específico, Mariassu – fev/ 23 (P5), onde se espera baixa concentração dos biocidas estudados. Sobre esse sedimento foram adicionados 100 µL da STM (100 ng mL^{-1}) e 100 µL do PI (1.000 ng mL^{-1}), objetivando uma concentração de 10 ng mL^{-1} de cada um dos compostos de interesse. Para se obter 100 ng mL^{-1} (segundo nível testado), foram adicionados 20 µL da STM (5000 ng mL^{-1}) e 100 µL do PI (1.000 ng mL^{-1}). Este ensaio foi utilizado para determinar a precisão e exatidão das amostras (Ver item 4.9.2).

O cálculo de recuperação dos analitos foi realizado de acordo com a Equação 4:

Equação 4 -Recuperação dos analitos

$$\text{Recuperação (\%)} = C1 - Cam / C2 \times 100$$

Sendo:

C1 Concentração inicial do analito na amostra

C2 Concentração do analito no CA

Cam – Concentração na amostra

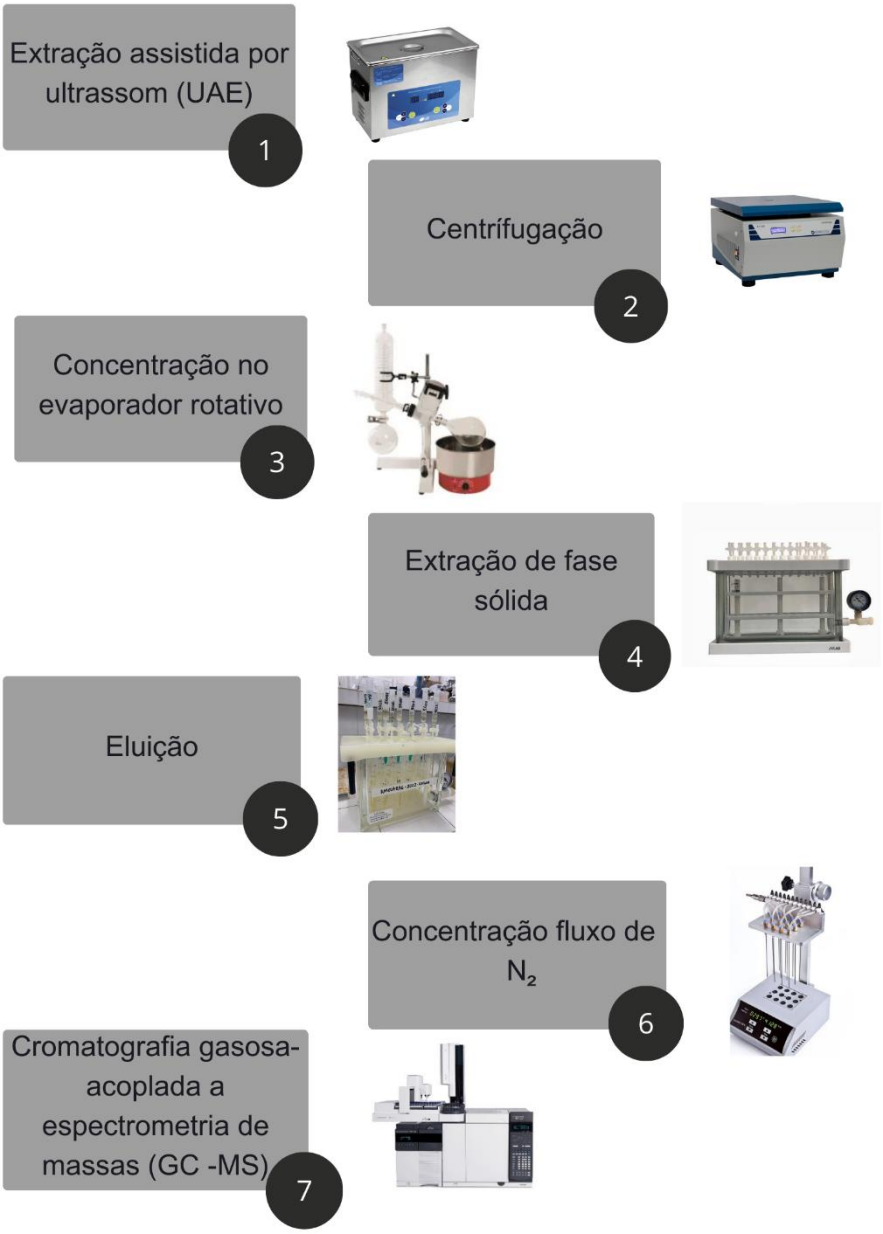
4.10 ANÁLISE QUÍMICA DOS BIOCIDAS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS

A extração dos biocidas anti-incrustantes nos sedimentos foi realizada através da extração assistida por ultrassom (EAU) com purificação dos extratos via extração de fase sólida (SPE) no laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos – OrganoMAR, de acordo com Abreu et al. (2020) e Almeida (2021).

Um grama (1g) de sedimento seco foi pesado em balança analítica (Shimadzu, modelo AY220) e, em seguida, as amostras foram fortificadas com 100 µL do PI (1.000 ng mL^{-1}). Após o tempo de estabilização, uma noite, foram adicionadas 15 mL de acetonitrila em todas as amostras com posterior agitação no sistema de agitação vórtex (Logen Scientific, modelo LSM56/4-BIV) por 1 minuto, sonificação em banho ultrassônico (50°C por 30 minutos) e centrifugação (Nova Instruments, modelo NI 1831) por 10 minutos à 4000 rpm. Esse processo foi repetido duas vezes, e os sobrenadantes foram combinados e transferidos para um balão volumétrico contendo cobre (Cu^{+}) previamente ativado, para remoção de compostos de enxofre do extrato. A ativação do cobre foi feita através da lavagem com ácido clorídrico, metanol, diclorometano e n-hexano. Posteriormente, os sobrenadantes foram transferidos para outros balões sem Cu^{+} e o volume concentrado à 1mL em um evaporador rotativo vertical com banho de aquecimento à 45 ºC (Fisatom). Na sequência, o extrato foi diluído com água ultrapura em balões volumétricos de 50 mL e submetido à extração em fase sólida para purificação. O fluxograma da metodologia utilizada está exemplificado na Figura 9.

Os cartuchos foram ativados com 2mL de metanol e 2 mL de água ultrapura. Em seguida, as amostras foram percoladas, os cartuchos lavados com água ultrapura e secos a vácuo por 1 hora. A eluição dos analitos foi realizada com 2 mL de acetato de etila por 2 vezes. O extrato foi levado à secura em fluxo de nitrogênio e suspenso novamente em 1mL de n-hexano. 100 µL do PICG (1.000 ng mL^{-1}) foram adicionados sobre cada extrato. Os extratos, bem como a curva analítica feita para cada lote de extração, foram analisados em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectômetro de massas. Mais detalhes a respeito do GC-MS podem ser vistos no próximo item 4.11.

Figura 9- Fluxograma da metodologia utilizada para extração dos biocidas anti-incrustantes em amostras de sedimento



Fonte: A autora (2023)

4.11 INSTRUMENTAÇÃO E PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

A quantificação dos analitos foi feita por meio de um cromatógrafo a gás (Agilent Technologies®, modelo 7820ª) acoplado a um espectômetro de massas (Agilent Technologies®, modelo 5975C) (Figura 10), com modo de monitoramento íons selecionados (SIM).

Figura 10- Cromatógrafo a gás acoplado a um espectômetro de massas

Fonte: A autora (2025)

A coluna utilizada para separação dos compostos foi a HP-5MS, de 30 m de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme. A injeção de 1 µL foi feita no modo splitless, e a temperatura do injetor foi 280º C (abertura da purga do divisor em 0,5 minutos) com amostrador automático. O gás de arraste utilizado foi o hélio analítico 5.0 (99,999% de pureza) com fluxo constante (0,9 mL min^{-1}), a pressão do gás de arraste na entrada da coluna foi de 9,9994 psi. A temperatura do forno seguiu a seguinte programação: 80 ºC por 1 minuto, aumento da temperatura de 20 ºC por min até chegar em 200 ºC, 8ºC por minuto até 300 ºC; a corrida é completa em 19,5 minutos. A espectrometria de massas utilizada foi o modo de ionização de elétrons (EI). A temperatura da interface, temperatura da fonte e temperatura do quadrupolo foi respectivamente, 280 ºC, 230 ºC e 150 ºC. A energia de elétrons na fonte de ions, a corrente de emissão de filamentos e a temperatura da fonte de íons foi de 69.992 Ev, 34.610 µA e 230 ºC, respectivamente. As informações dos parâmetros cromatográficos, parâmetros da espectrometria de massas, o tempo de retenção dos analitos e os fragmentos característicos (m/z) se encontram descritos nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 8 - Parâmetros cromatográficos utilizados para determinação dos biocidas de 3ª geração e informações sobre os analitos

PARÂMETROS DO CROMATÓGRAFO A GÁS (GC)

Coluna	HP-5MS: 30 m x 250 µm x 0,25 µm
Injeção	Volume injetado: 1 µL; Modo de injeção: Splitless Temperatura do injetor: 280 °C
Tipo de fase estacionária	HP- 5MS 5% Fenilmetilpolisiloxano
Programação do forno	80 °C (1 min) → ∆20 ºC min^{-1} até 200 ºC → ∆8 ºC min^{-1} até 300 ºC
Gás de arraste	He 5.0 analítico; Vazão: 1mL min^{-1}

PARÂMETROS DO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (EM)

Modo de análise	SIM
Temp. da interface	280 ºC
Temp. da fonte	230 ºC
Temp. do quadrupólo	150 ºc
Íons m/z monitorados por analito	4 (1 quantitativo e 3 qualitativos)

Fonte: A autora (2025)

Tabela 9 - Tempos de retenção e fragmentos característicos através da razão massa/carga (m/z) dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração

ANALITOS	TEMPO DE RETENÇÃO	FRAGMENTOS CARACTERÍSTICOS (M/Z)
Clorotalonil	9,279	266,264,268,109
Diclofluanida	10,399	123, 244, 167, 226
Irgarol	11,309	182, 257, 238, 196
DCOIT	11,125	169, 170, 171, 182
PCB 112 (PI)	12,079	326, 324, 328, 256
p - Terphenyl d14 (PICG)	12,369	244, 243, 245, 240

Fonte: A autora (2025)

4.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A estatística do trabalho foi realizada no software R (versão 3.2.0) e com significância de (α) igual 0,05, utilizando como principal biblioteca o pacote “Tydiverse”. Testes de correlação foram aplicados para identificar a relação do carbono orgânico e das concentrações dos biocidas com o teor de sedimentos finos no SERF para os dois períodos estudados. Como os dados não apresentaram os pressupostos exigidos de normalidade (Teste de Shapiro Wilk, $p<0,05$), o teste de correlação de postos de Spearman foi utilizado. Além disso, foi aplicado o teste de média de Mann-Whitney para investigar se existe um efeito nas concentrações dos biocidas presentes no SERF entre os períodos. Neste caso, para os compostos que apresentaram concentrações <LQ foi usado metade do valor do limite de quantificação para o teste estatístico (0,5).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DIFICULDADES ANALÍTICAS

A detecção simultânea de biocidas nas tintas anti-incrustantes é feita como alternativa para diminuição dos custos de análise e do tempo de realização. Entretanto, existem diversas dificuldades metodológicas que podem desencadear impedimentos quanto ao sucesso da detecção destes biocidas. Essas dificuldades metodológicas estão relacionadas, principalmente, às características químicas dos compostos, que são muito diferentes entre si (Fernandez; Pinheiro, 2007).

Alguns testes foram realizados para que o método e os padrões utilizados na validação metodológica fossem definidos. Inicialmente, o terbutryn foi utilizado como padrão interno (PI) para a quantificação dos analitos e cálculo da recuperação deste composto ao final do procedimento metodológico (Ribani, 2004; INMETRO, 2011). O terbutryn não apresentou boas recuperações dentro dos testes analisados, com valores entre 13,9% e 187,5%, que estão fora da faixa de trabalho (entre 40 e 120 %). Um teste foi realizado alterando o pH do solvente acetonitrila – esse teste foi feito objetivando investigar uma possível hidrólise e melhorar a extração dos analitos (Hamwijk, 2005). O ácido acético foi adicionado sobre a acetonitrila até atingir o pH 2 (1º teste) e pH 4 (2º teste), seguido do procedimento de extração já estabelecido (Item 4.10). As recuperações de PI para os testes não foram satisfatórias e ficaram fora da faixa pré-estabelecida, 13,9 a 187,5%. Um outro teste foi realizado para investigar a melhora na quantificação e recuperação dos analitos: Uma alíquota de 2 g (aumento de 100% da massa sedimentar) foi utilizada, mas os resultados também não foram satisfatórios, apresentando recuperações fora do aceitável. Portanto, decidiu-se seguir com a proposta inicial de 1g.

Alguns dos compostos analisados apresentam instabilidade e rápida degradação, como a diclofluanida e o DCOIT, dificultando sua detecção no sedimento (Chen; Lam, 2017; Lee *et al.*, 2015). Por exemplo, alguns estudos não detectaram a diclofluanida, mas o seu produto de degradação, o DMSA, foi encontrado em altas concentrações (Lee, *et al.,* 2015). Diante das características dos analitos estudados e objetivando a otimização metodológica, foi reduzido o tempo de análise para apenas um dia, eliminando a etapa de contato do cobre com o extrato durante a noite – este tempo foi limitado para um período de aproximadamente 2 horas. O método resultou em melhores recuperações do PI e dos analitos. O menor tempo de análise

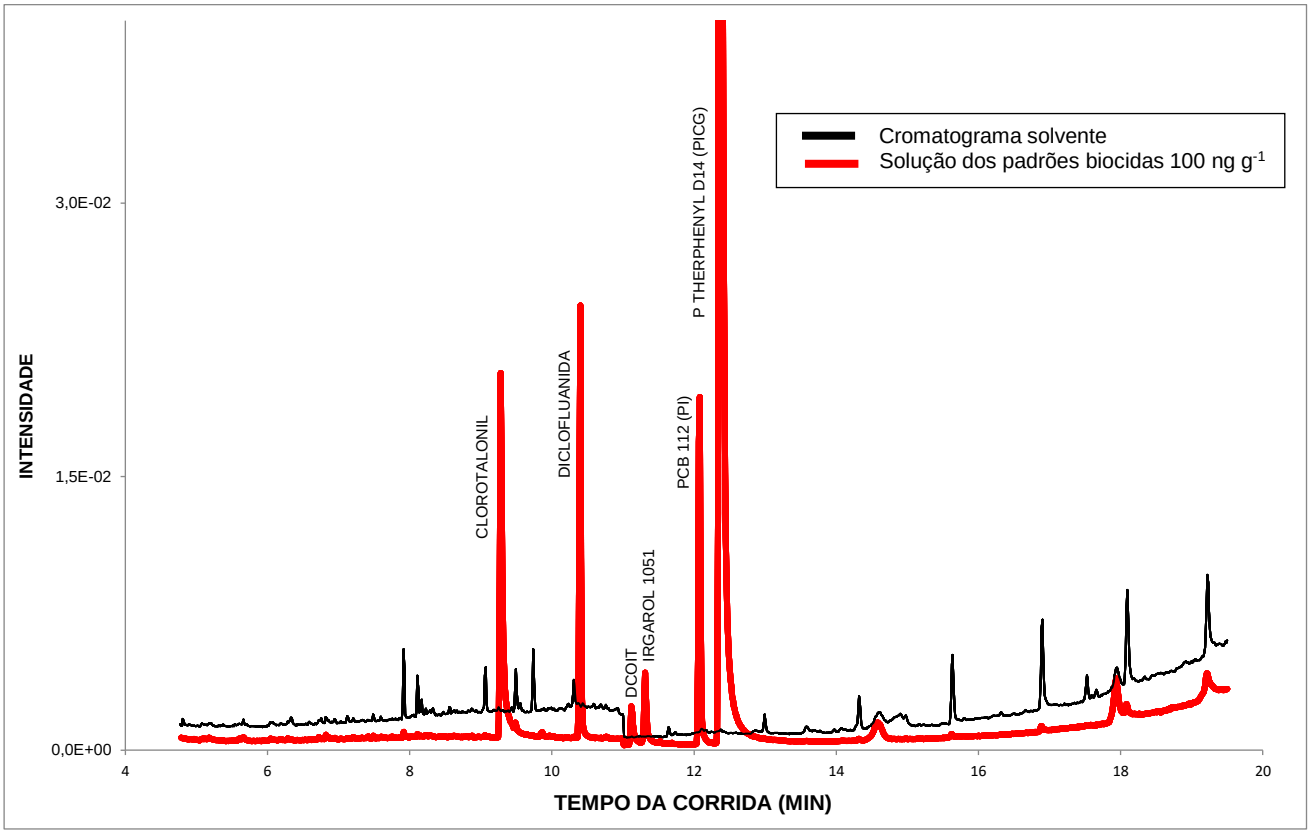
provavelmente evitou ou diminuiu a degradação de compostos, que possivelmente ocorreu na proposta metodológica testada inicialmente.

5.2 VALIDAÇÃO DA ANÁLISE DE BIOCIDAS ANTIINCRUSTANTES EM SEDIMENTOS MARINHOS

5.2.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada para verificar se há ou não interferências no pico de resposta do analito. A seletividade é o passo primordial para o desenvolvimento e validação de um método, de forma que, se houver dúvidas se o pico obtido no cromatograma é do composto de interesse, a precisão e a exatidão serão comprometidas e os dados não serão confiáveis (Ribani *et al.*, 2004). Neste estudo foi feito uma sobreposição dos cromatogramas do solvente (n-hexano) e de uma solução dos padrões (100 ng g^{-1}), observando a separação de todos os analitos e ausência de sobreposição de picos presentes no solvente e dos padrões (Figura 11), indicando uma boa seletividade do método.

Figura 11- Sobreposição dos cromatogramas obtidos para uma mistura dos padrões de biocida (100 ng g^{-1}) e do solvente n-hexano

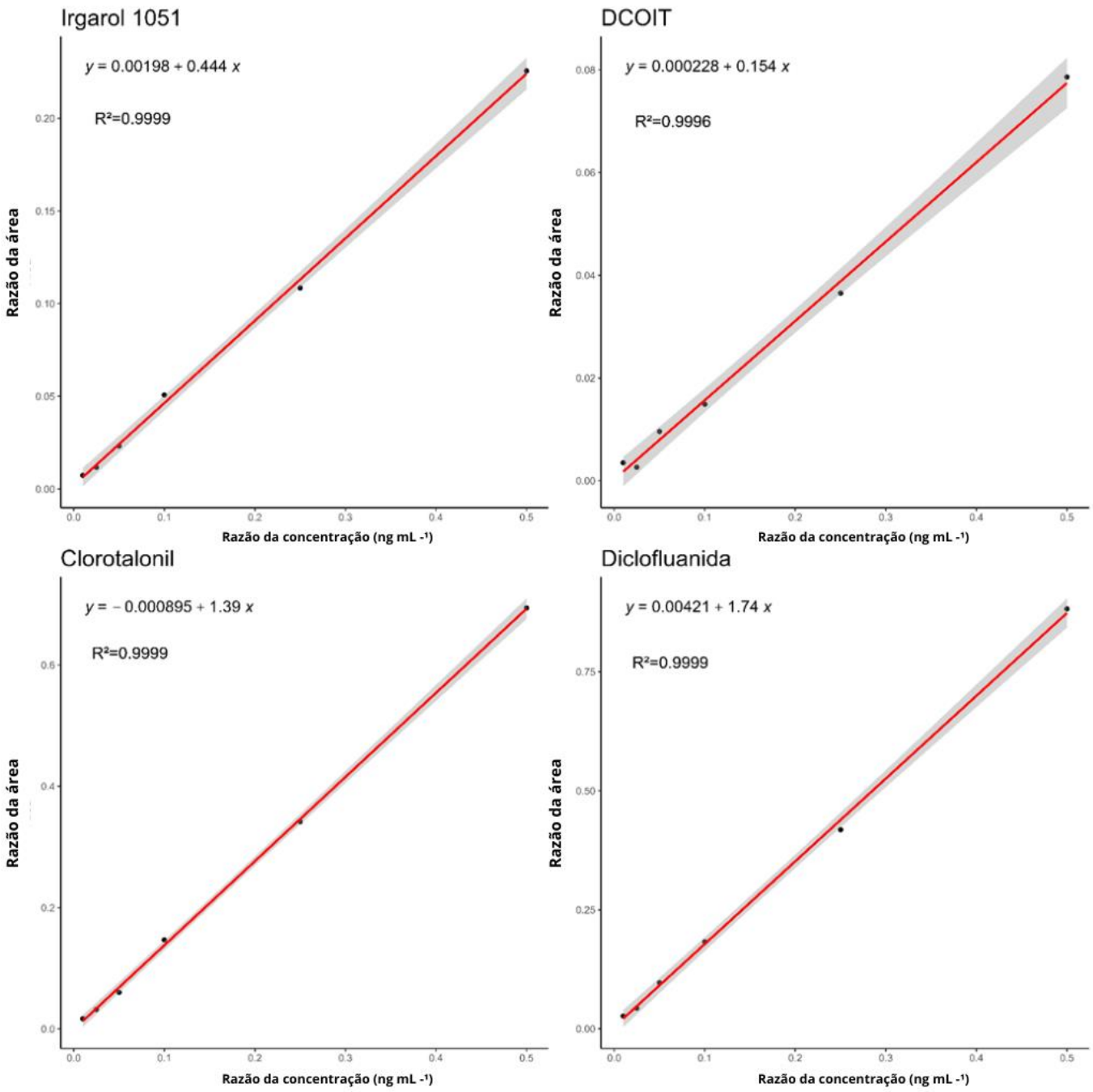


Fonte: A autora (2025)

5.2.2 Curva analítica e linearidade

A curva analítica foi preparada utilizando os analitos de interesse (Irgarol 1051, DCOIT, clorotalonil e diclofluanida) e n-hexano como solvente, a partir da STM (solução trabalho mista, 1.000 ng mL^{-1}). O PCB 112 foi utilizado como padrão interno (PI) e o p-terphenyl d14 utilizado como padrão interno cromatográfico (PICG) (item 4.9.1). O r^2, aceito pelos critérios da ANVISA (2003), é 0,99 e o do INMETRO (2011) é acima de 0,90. Neste estudo a linearidade dos métodos foram obtidas através de curvas analíticas individuais de cada analito, utilizando os coeficientes de regressão angular (a) e linear (b), bem como o coeficiente de correlação (r^2). Os coeficientes de correlação (r^2) foram superiores a 0,999 para os quatro biocidas estudados. Um exemplo de cada curva obtida com os respectivos coeficientes de correlação e equações da reta se encontram apresentados na Figura 12. Por se tratar da metodologia de padronização interna, no eixo x estão plotadas as razões das concentrações (Analito / concentração do PI (100 ng g-1)) e no eixo Y as razões das áreas obtidas nos picos (analito / PI).

Figura 12- Curvas analíticas preparadas para os quatro biocidas anti-incrustantes analisados nos sedimentos do sistema estuarino do Rio Formoso *(Faixa cinza representa o intervalo de confiança 95%*)



Fonte: A autora (2025)

A faixa linear para os compostos é de 1 a 50 ng mL $^{-1}$ na curva baixa (Figura 12 – reforçando que no eixo X visualiza-se o intervalo entre 0,01 e 0,5, porque as concentrações foram divididas por 100 ng g^{-1} – que é concentração do PI). Os biocidas de terceira geração usados em tintas-anti-incrustantes na matriz sedimentar normalmente encontram-se nessa faixa de concentração (Abreu *et al.*, 2020; Almeida *et al.*, 2023; Sapozhnikova *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2021b; Viana *et al.*, 2020). Entretanto, devido a possibilidade de encontrar concentrações mais elevadas em

amostras ambientais (10 a 500 ng mL^{-1}, Lee *et al.*, 2015; Tsunemasa; Yamazaki, 2014), uma curva com uma amplitude maior também foi preparada (Curva Alta), apresentando uma excelente linearidade, com r^2 variando entre 9,997 e 0,999.

5.2.3 Precisão

Na literatura recomenda-se que os coeficientes de variação (que caracterizam a precisão) sejam menores que 20% (González *et al.*, 2014). Os coeficientes de variação obtidos nas amostras analisadas para as concentrações de 10, 100 e 800 ng g^{-1} de clorotalonil estão dentro dessa variação (Tabela 9), indicando uma boa precisão do método para esse analito (Ribani *et al.*, 2004). A diclofluanida apresentou boa precisão para as concentrações de 10 e 800 ng g^{-1}, mas uma variação mais alta, de 42,1%, para a concentração de 100 ng g^{-1}. O Irgarol mostrou uma boa repetitividade nas concentrações de 100 e 800 ng mL^{-1}, enquanto o DCOIT apresentou precisão de acordo com o recomendado apenas na concentração de 100 ng g^{-1} (Tabela 9). Vale ressaltar que esse composto não foi analisado por Almeida (2021) e, por essa razão, não é apresentado a precisão e exatidão na concentração de 800 ng g^{-1} (Tabela 9). Estes resultados são corroborados pelas boas recuperações obtidas para o Irgarol, a diclofluanida e o DCOIT em concentrações menores que 10 ng g^{-1} (Martinez e Barceló, 2001; Abreu, 2016) 1, 5 e 10 ng g^{-1}), indicando boa precisão do método. Os resultados obtidos neste trabalho ainda são considerados preliminares e revelam a necessidade de aprimoramento dos testes, otimizando o tempo de extração e/ou uso de materiais mais apropriados, reduzindo o risco de perdas dos analitos e/ou contaminação das amostras. A proposta de testar novos solventes também tem sido considerada, objetivando encontrar uma maior eficiência na limpeza do sistema (antes do procedimento propriamente dito) bem como na extração dos analitos. Numa nova etapa, também será considerada a inclusão de concentrações intermediárias entre 10 e 100 ng mL^{-1}, para busca de maior precisão do método.

Tabela 10 - Níveis de fortificação e seus respectivos resultados de repetitividade (%) e recuperação dos 4 compostos analisados

Compostos	Nível de fortificação (ng g^{-1})	Repetitividade (%) (Precisão)	Recuperação (%) e desvio padrão (Exatidão)
DCOIT	10	56,6	-
	100	10,4	124% ± 0,1
	800*	-	-
Irgarol	10	71,8	201 ± 1,4
	100	13,6	117 ± 0,1
	800*	2,0	78 ± 1
Diclofluanida	10	12,8	59 ± 0,1
	100	33,3	57 ± 0,2
	800*	14	100 ± 14
Clorotalonil	10	11,5	121± 0,2
	100	10,5	101 ± 0,1
	800*	0	70 ± 32

(*) Resultados obtidos através da dissertação de Almeida, 2021.

Fonte: A autora (2025)

5.2.4 Exatidão

O cálculo da recuperação dos analitos em amostras fortificadas (item 4.8.2) indicam a exatidão da metodologia, pois confirma se o método é capaz de quantificar a concentração exata naquela determinada matriz. As recuperações (% REC) dos analitos no teste de fortificação variaram entre 57 ± 0,2 % e 201 ± 1%. O DCOIT foi testado na menor concentração, 10 ng g^{-1}, mas a recuperação obtida não fez sentido (453%) e, portanto, este teste foi descartado. Abreu (2016) descreve que há um elevado efeito-matriz para esse composto, o que pode ter influenciado a recuperação obtida no presente estudo; portanto, alguns testes deverão ser repetidos considerando esta característica preparando a curva analítica em amostras de sedimentos com características similares às das amostras estudadas. O teste cuja fortificação foi 100 ng g^{-1}, apresentou recuperação próxima ao limite aceitável (124 ± 0,1 %). Estes

resultados indicam que novos testes e/ou alterações metodológicas com o composto DCOIT precisam ser realizados. Os poucos dados obtidos na validação metodológica geram insegurança na confiabilidade analítica e, por essa razão, os procedimentos empregados para a análise deste biocida foram considerados semiquantitativos. A recuperação do Irgarol foi adequada para as concentrações de 100 ng g^{-1} e 800 ng g^{-1}. A baixa recuperação dos analitos Irgarol e DCOIT, na menor concentração testada, 10 ng g^{-1}, pode estar associada às suas características físico-químicas. O tempo de meia-vida do DCOIT é de <0,5 dias (Tabela 1); O Irgarol é um composto fotodegradante, onde a incidência de luz pode originar produtos de degradação, como o M1 (2-metiltio-4-terc-butilamino-6-amino-s triazina) e o M2 (2-amino-propanal-4-terc-butilamino-6-metiltio-s-triazina), respectivamente (Zhang *et al.*, 2008). O método se mostrou eficiente para os compostos diclofluanida e clorotalonil, com recuperações entre 57 ± 0,19 % e 121± 0,14 %, valores dentro do limite aceitável (INMETRO, 2011; Ribani *et al.*, 2004).

A precisão e exatidão de um método podem ser afetadas pela composição da matriz, nesse caso do sedimento, durante as etapas de extração e/ou eluição. Essas interferências resultam em alterações da resposta cromatográfica e incluem o mascaramento do pico do analito, o aumento ou a ausência do sinal do detector. Esses fenômenos são conhecidos como efeito matriz (EM) (Hajslová; Zrostlıková, 2003; Pinho *et al.*, 2009). As interferências decorrentes desse efeito podem ocorrer em diferentes fases do processo, dependendo do método de extração ou do tipo de detector utilizado, resultando em alterações nas recuperações dos analitos (Pinho *et al.*, 2009).

5.3 ANÁLISES QUÍMICAS

5.3.1 Caracterização do sedimento

A distribuição granulométrica e o teor de matéria orgânica nos sedimentos são informações fundamentais para determinar o comportamento e destino de algumas substâncias no ambiente aquático. Os sedimentos têm um papel de grande importância no diagnóstico da contaminação ambiental, desempenham papel de transporte de contaminantes e podem atuar como fontes de contaminação (Froehner; Martins, 2008; Jesus *et al.*, 2004).

Os sedimentos estuarinos são os principais sumidouros da matéria orgânica (MO), seja de origem terrestre ou marinha (Carreira *et al.*, 2002). Devido à sua alta capacidade de complexação, esta MO atua como um potente retentor de contaminantes no sedimento, influenciando a dinâmica de microcontaminantes no ambiente aquático, seja no transporte e/ou na biodisponibilidade destes compostos (Artifon; Zanardi-Lamardo; Fillmann, 2019; Chen; Hur, 2015). O principal constituinte da MO é o carbono orgânico total (COT), perfazendo cerca de 58% da matéria orgânica total. Através da medida do COT e essa relação entre a MO e o COT é possível estimar o quanto de matéria orgânica está presente nos solos e sedimentos (Peter, 2017). O percentual de sedimentos finos, está diretamente ligado ao teor de COT, estabelecendo uma correlação de forma direta com o teor de MO (Froehner; Martins, 2008). Portanto, esta influência significativa do COT sobre a dinâmica dos contaminantes no sedimento, torna extremamente relevante sua determinação em estudos de caracterização e avaliação ambiental (Schumacher, 2002).

O Carbono Orgânico Total (% COT), nas amostras do período chuvoso (agosto/2022), variou de 1,4% (P8, Ilhetas) a 8,2% (P3, Agricultura) (Tabela 10). No período seco (fevereiro/2023) a variação foi de 1,3% (P2, Praia da Pedra) a 9,0% (P3, Agricultura) (Tabela 10). De forma geral, sedimentos estuarinos raramente excedem 2% de COT e, valores acima deste são considerados altos para os sistemas aquáticos (Killops; Killops, 2013).

Tabela 11 - Teor de Carbono Orgânico Total e concentrações dos compostos analisados no presente estudo nos períodos de estiagem (Fevereiro de 2023) e chuvoso (Agosto de 2022)

Agosto de 2022 – período chuvoso					
PONTOS AMOSTRAIS	**COT (%)**	**DCOIT**	**IRGAROL**	**DICLOFLUANIDA**	**CLOROTALONIL**
COMPESA (P1)	6,7	ND	6,7	13,9	<LQ
PRAIA DA PEDRA (P2)	2,2	ND	8,1	13,3	<LQ
AGRICULTURA (P3)	8,2	19,1	6,2	35,6	<LQ
AQUICULTURA (P4)	2,4	ND	20,8	38,3	<LQ
MARIASSU (P5)	2,7	26,8	107,0	17,1	<LQ
MARINA (P6)	7,0	15,4	16,4	6,7	5,2
MAMUCABAS (P7)	2,5	14,9	36	ND	<LQ
ILHETAS (P8)	1,4	ND	1,8	<LQ	<LQ
Fevereiro de 2023 – período seco					
PONTOS AMOSTRAIS	**COT(%)**	**DCOIT**	**IRGAROL**	**DICLOFLUANIDA**	**CLOROTALONIL**
COMPESA (P1)	7,1	9,3	17,3	5,0	ND
PRAIA DA PEDRA (P2)	1,3	ND	ND	ND	ND
AGRICULTURA (P3)	9,0	ND	18,2	26,3	<LQ
AQUICULTURA (P4)	6,4	ND	22,1	31,0	<LQ
MARIASSU (P5)	2,6	6,7	5,2	13,6	<LQ
MARINA (P6)	3,4	ND	ND	ND	ND
MAMUCABAS (P7)	1,4	ND	ND	ND	ND
ILHETAS (P8)	1,8	ND	2,1	3,0	<LQ

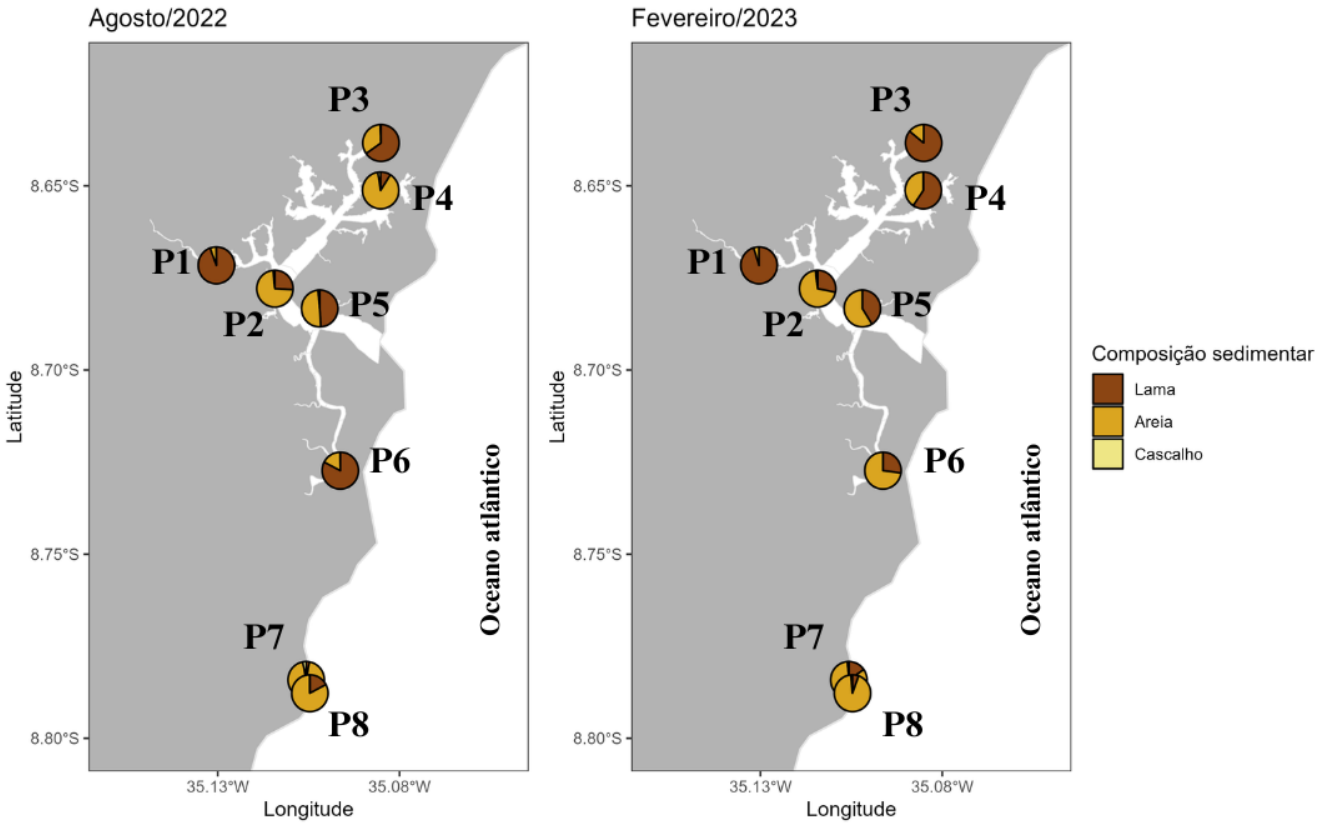
Fonte: A autora (2025)

Não foi observada uma grande diferença para os valores do COT, considerando cada local entre os períodos estudados. A exceção foi o P4 (Aquicultura), que apresentou mais do que o dobro do teor de COT entre os períodos (2,4 % no período chuvoso e 6,4% no período seco). Esse maior percentual do COT pode estar associado à uma diminuição do processo de lixiviação durante o período seco. A menor pluviometria (Figura 7) gera uma menor vazão e, devido a sua localização em uma região mais abrigada do estuário (Figura 6), uma baixa hidrodinâmica, favorecendo a deposição de compostos. Situação semelhante foi observada por Barcellos *et al.* (2009) no sistema estuarino-lagunar de Cananeia-Iguape (SP).

A distribuição granulométrica compreendeu 7 classes: cascalho (CA), areia muito grossa (AMG), areia grossa (AG), areia média (AM), areia fina (AF), areia muito fina (AMF) e teor lamoso (TL) (Figura 13), seguindo a divisão da escala Φ, de tamanho mediano da fração areia (Wentworth, 1922).

O P1 (Compesa) apresentou o maior teor lamoso nos dois períodos, chuvoso (94,4%) e seco (95,2%), seguido do P6, com 82,6 % (seco) e P3, com 86,0 % (chuvoso). Os menores teores de finos foram observados no P7 (Mamucabas – 2,87 %) e P8 (Ilhetas – 5,52 %) para os períodos chuvoso e de estiagem, respectivamente. Essa característica de sedimento mais fino do ponto 1 provavelmente está associada ao aporte recorrente de substâncias orgânicas, provenientes dos efluentes municipais e domésticos que são inseridos diretamente no sistema aquático próximo a esse ponto (Silva *et al.*, 2009). Além disso, este ponto está localizado na porção mais interna do sistema estuarino (Figura 6), onde há uma baixa influência de correntes e fluxo de maré. Os sedimentos coletados no SEMI (P7 e P8) estão localizados numa região próxima a foz, sob influência direta das correntes marítmas e do regime de maré. Além disso, como observado durante as coletas realizadas, é uma região sob constante erosão, principalmente no período chuvoso. Em abril de 2022, a prefeitura de Tamandaré aumentou o canal do Rio Mamucabas em 10 metros de largura gerando um aumento do carreamento de sedimentos e do volume de água que desemboca no mar, impactando a vegetação de manguezal que protege a margem desse rio (Messias *et al.*, 2023). Este procedimento aumentou o processo de erosão na região.

Figura 13 - Composição sedimentar do Sistema Estuarino do Rio Formoso e Sistema Estuarino Mamucabas e



Fonte: A autora (2025)

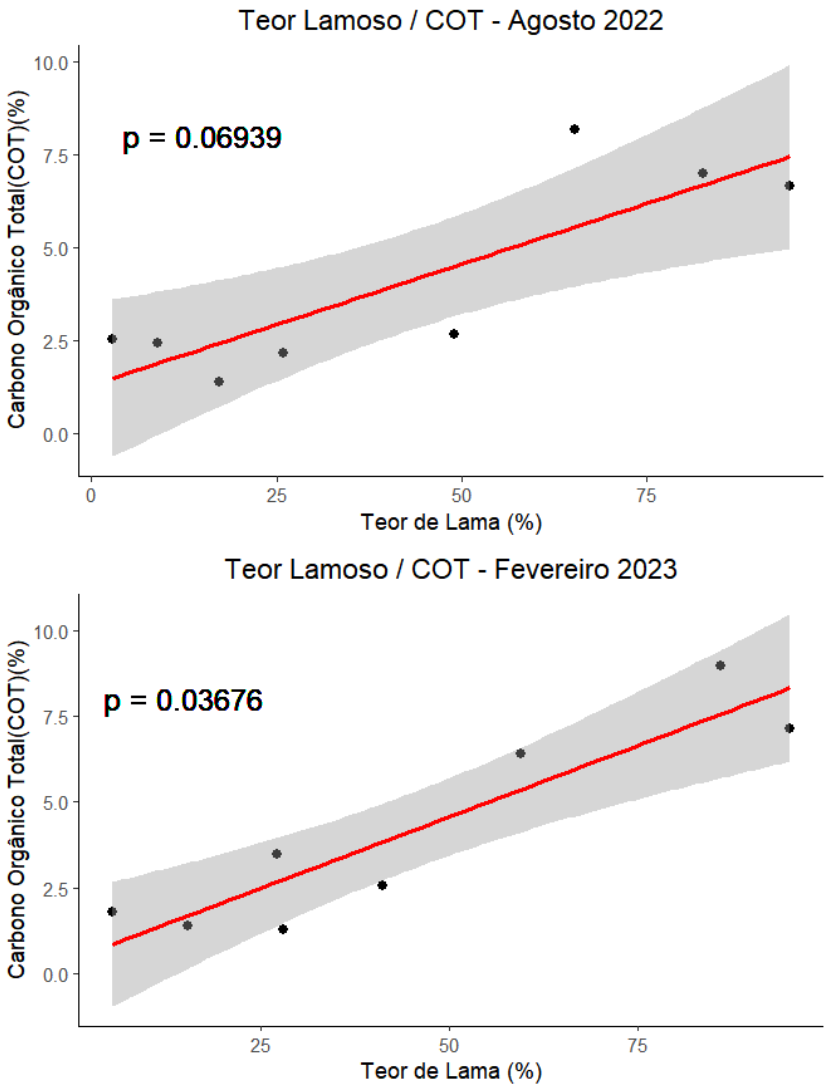
Características sedimentares com predominância de frações lamosas, como observado principalmente no P1, mas também no P3 e P6, podem implicar em um maior acúmulo de contaminantes nesses ambientes, uma vez que compostos orgânicos e metais têm maior afinidade por sedimentos mais finos (<63 µm) (Comber *et al.*, 2002; Froehner; Martins, 2008). As amostras do SERF apresentaram maior teor lamoso no período seco, comparado ao período chuvoso, em duas amostras (P3 e P4) e praticamente não alteradas nos sedimentos dos P1, P2 e P5. A hidrodinâmica do local pode ser um fator importante na deposição da MO, de forma que nos períodos de menor vazão, ou seja, período com menor pluviometria, esse processo de deposição seja favorecido, enquanto que em períodos de cheias (muitas chuvas), ocorre um maior arrasto de sedimentos finos produzido pelo aumento do aporte de água.

Para testar o nível de associação entre os teores de finos (<63 μm) e o carbono orgânico total (COT) foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os resultados obtidos nos testes para os finos em agosto de 2022 e fevereiro de 2023 foram de p = 0,450 e 0,453, respectivamente. Quanto à normalidade do COT, os valores foram de p = 0,042 e 0,152, respectivamente. Esses resultados indicam que os dados não têm uma distribuição normal, com exceção do COT de agosto de 2022. Através da correlação de postos de Spearman (p= 0,05), obteve-se o resultado de r = 0,690 e p = 0,069, r = 0,761 e p = 0,036, respectivamente para o período chuvoso e de estiagem (Figura 14). Esses resultados indicam que o teor de fino e de COT estão relacionados significativamente apenas no período de estiagem, o que sugere que a baixa hidrodinâmica (período de estiagem) favorece a adsorção do COT ao sedimento. Esta correlação positiva e significativa entre COT e teor lamoso, observadas no período chuvoso, também foi reportada em estudos realizados na região portuária de São Luís no Maranhão (r = 0,721), no Estuário de Lagoa dos Patos (RS) (r = 0, 42, p <0,005), Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (r = 0,78, p<0,05) (Abreu, 2016; Viana *et al.,* 2019).

5.3.2 Determinação dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração em sedimentos

A análise da presença de contaminantes nos sedimentos é fundamental para a caracterização da saúde do ambiente e a avaliação de risco ambiental. A matriz sedimentar ou, mais especificamente, a matéria orgânica associada ao sedimento, possui uma grande capacidade de complexação com diferentes compostos, tóxicos ou não, naturais ou antrópicos e, assim, atuar como reservatório desses elementos (Maletić *et al.*, 2019).

Figura 14 - Correlação linear entre o teor lamoso (%) e o carbono orgânico total (%) em amostras de sedimento coletados no Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF).



Fonte: A autora (2025)

Os biocidas anti-incrustantes podem chegar ao ambiente de diversas maneiras, entretanto, as mais comuns são através da liberação dos compostos presentes na formulação das tintas ou do lançamento das partículas de tintas anti-incrustantes, que tem ganhado destaque nos estudos relacionado aos biocidas anti-incrustantes nas últimas décadas (Singh; Turner, 2009; Soroldoni *et al.*, 2018; Turner, 2010). Dentre os quatro compostos analisados, o DCOIT, o Irgarol 1051 e a diclofluanida foram identificados e quantificados em várias amostras dos dois períodos, seco e chuvoso. O clorotalonil foi quantificado em apenas uma amostra no período chuvoso no P6 (5,2 ng g^{-1}) (Tabela 10). O Irgarol 1051 foi o biocida mais frequente, sendo quantificado

em todos os sedimentos do período chuvoso, com concentrações que variaram de 1,8 ng g^{-1} a 107 ng g^{-1}. Neste período, o DCOIT foi quantificado nas amostras P3 (19,1 ng g^{-1}), P5 (26,8 ng g^{-1}), P6 (15,4 ng g^{-1}) e P7 (14,8 ng g^{-1}). Este composto não foi quantificado nos demais pontos. A diclofluanida foi o segundo biocida mais frequente no período chuvoso, sendo quantificado em todos os pontos, exceto no P7 e P8. Interessante notar que, ainda neste período, a amostra coletada nas proximidades da marina (P6) foi a única que continha, simultaneamente, todos os quatro biocidas analisados: DCOIT (15, ng g^{-1}), Irgarol (16,4 ng g^{-1}), diclofluanida (6,7 ng g-1) e clorotalonil (5,2 ng g^{-1}) (Tabela 10).

O panorama geral foi diferente no período seco. O clorotalonil não foi detectado ou estava abaixo do limite de quantificação (LQ). Nenhum dos quatro biocidas analisados foi detectado nos pontos P2, P6 e P7 (Tabela 10). O DCOIT só foi observado nos pontos P1 e P5. O Irgarol e a diclofluanida foram identificados e quantificados nos demais pontos, com concentrações variando entre 2,1 ng g^{-1} (P8) e 22,1 ng g^{-1} (P4), e entre 3,0 ng g^{-1} (P8) a 31,0 ng g^{-1} (P4), respectivamente. O P5 (Mariassu) foi o único local a apresentar os três compostos, DCOIT, Irgarol e diclofluanida, nos dois períodos estudados, com concentrações maiores no período chuvoso.

A maior concentração de Irgarol (107 ng g^{-1}) foi no P5 (Mariassu), no período chuvoso. Esta concentração é relativamente alta em relação aos demais locais estudados no SERF e provavelmente é reflexo da baixa hidrodinâmica do local, o que a caracteriza como área de deposição. Os sedimentos deste local apresentaram 49 % de grãos finos e 2,6 % COT – o que favorece o acúmulo de contaminantes. Concentrações mais elevadas tendem a estar associadas a áreas fechadas com baixo fluxo de correntes e/ou locais que funcionam como ponto de atraque de embarcações (Harino *et al.*, 2005). O P5 é uma área de veraneio, que tem um fluxo elevado de embarcações, principalmente em períodos de férias. Vale ressaltar que, mesmo na estação chuvosa (março a agosto), o turismo é forte na região, período em que é evidente a presença de estrangeiros, principalmente do hemisfério norte, que viajam para o sul em suas férias de verão. Outros estudos em áreas estuarinas e costeiras reportaram concentrações maiores do que as observadas, como na França 689 ng g^{-1} e 222,3 ng g^{-1} (Cassi; Tolosa; Mora, 2008; Voulvoulis; Scrimshaw; Lester, 2000). Nas últimas décadas o uso do Irgarol tem sido associado a áreas de tráfegos de

embarcações (Azevedo; Gerchon; Reis, 2004), sendo quantificado em áreas costeiras e estuarinas ao redor do mundo. As concentrações observadas no presente estudo estão na mesma ordem de magnitude dos valores reportados em diversos trabalhos ao redor do mundo (Tabela 11).

Tabela 12 - Concentrações (ng g-1) de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos estuarinos e marinhos do Brasil e do mundo

LOCALIDADE	AMBIENTE	DCOIT	IRGAROL	DICLOFLUANIDA	CLOROTALONIL	REFERÊNCIA
Hong Kong, China	Marinas, estaleiros e iates	NA	0,2 a 21,3	NA	NA	Tsang; Lei; Lam, 2009
Otsuchi, Japão	Baía	<0,04 a 150	<0,05 a 100	<0,4 a 14	NA	Harino *et al.*, 2007
Indonésia	Baía de ilhas	<0,04 a 150	0,4 a 63	<0,4	NA	Harino *et al.*, 2012
Ilhas Canárias, Espanha	Marinas e portos de pesca	NA	0,7 a 26,4	2,1 a 16,6	NA	Sánchez-Rodríguez; Sosa-Ferrera; Santana-Rodríguez, 2011
Coreia	Baías	<LD - 269	< LD - 73	NA	1,2 a 1065	Lee *et al.*, 2015
Grécia	Portos e Marinas	NA	3 a 690	<8 a 195	<8 a 165	Albanis *et al.*, 2002
Rio Grande, Brasil	Estuário (com porto e estaleiros)	<LD a 214	< LD a 7,8	NA	NA	Abreu, 2016
Inglaterra	Estuário	ND	<3,1 a 222,3	<4,9 a 688,2	<4,1 a 46,5	Voulvoulis; Scrimshaw; Lester, 2000
Califórnia, EUA	Lago	NA	NA	NA	<0,1 a 8,9	Sapozhnikova; Bawardi; Schlenk, 2004
França	Portos	NA	< 1 a 689	NA	NA	Cassi; Tolosa; Mora, 2008
Rio Formoso, Brasil	Sistema estuarino	<ND a 26,81	<ND a 107	<LQ a 38,3	<LQ a 5,22	Presente estudo

NA: Não analisado; <LD abaixo do limite de detecção

Fonte: A autora (2025)

A diclofluanida, além de ser utilizada na formulação de tintas anti-incrustantes, é um fungicida utilizado para controle de deterioração das culturas por meio de ataques fúngicos (González *et al.*, 1997). A contribuição da agricultura como fonte de diclofluanida para ambientes aquáticos já foi reportada (Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021). Portanto, é possível que a diclofluanida observada nos P3 e P4 tenham origem em outras fontes que não as tintas anti-incrustantes, como biocidas utilizados na agricultura (P3) e aquicultura (P4). Nesta região são evidenciadas as plantações e estruturas de carcinicultura (Figura 15). No período chuvoso, a diclofluanida também foi quantificada em locais próximos a píers e marinas (P5 e P6), sugerindo a influência das atividades náuticas, provavelmente intensificada pelo processo de lixiviação causado pelas águas de chuva. Na tabela 11 podem ser observados estudos que reportaram a presença de diclofluanida em locais próximos a fontes potenciais, tais como na Baía de Otsuchi (< 0,4 a 14 ng g^{-1}) e nas marinas gregas (<8 e 195 ng g^{-1}) (Albanis *et al.*, 2002; García *et al.*, 2020; Harino *et al.*, 2007). Dentro de um cenário nacional os níveis de diclofluanida encontrados no Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC), de outubro de 2019 a fevereiro de 2020, (1,3 a 25,1 ng g^{-1}), foram semelhantes aos dados obtidos neste estudo (Almeida, 2021). No Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) a concentração reportada foi elevada (<0,7 a 16 ng g^{-1}) e, segundo os autores, esses resultados ocorrem devido a presença de estaleiros na região, associado ao intenso tráfego de embarcações (Abreu *et al.*, 2020). Os locais onde a diclofluanida não foi detectada, não indicam a ausência desse composto na região. Por ser muito instável em sedimentos, essa molécula pode ser degradada e passar para os seus derivados, como a DMSA e, no momento da coleta/análise, não ser detectada. Segundo Viana et al. (2019), a ausência da diclofluanida em áreas portuárias de São Luís, Maranhão está associada à sua rápida degradação.

Figura 15- Pontos de coleta agricultura e aquicultura (P3 e P4)

Fonte: Google Earth

Apesar da rápida degradação e a sua eficácia como ingrediente anti-incrustante, o DCOIT vem sendo considerado um contaminante pseudo-persistente, caracterizado pela entrada contínua no ambiente (Chen; Lam, 2017; Jacobson; Willingham, 2000). Esse composto é utilizado principalmente em barcos recreativos, e tem sido observado em sedimentos coletados em locais próximos a marinas e regiões portuárias (Harino *et al*, 2005). No presente estudo, as maiores concentrações de DCOIT foram observadas no período chuvoso nos pontos P5 e P6, áreas de intensa navegação e atracação de barcos de veraneio. O processo de erosão ocasionados principalmente pelas chuvas intensas está associado ao transporte de contaminantes e pode ser responsável pela introdução dos contaminantes presentes em solos adjacentes ao estuário (Câmara; Holanda; Costa, 2023; Silva *et al.*, 2011).

O ponto P7 está numa região de baixa hidrodinâmica e foi caracterizado por abrigar embarcações de pesca e veraneio (Figura 16). Além disso, a região do Mamucabas apresenta uma alta taxa de erosão, especialmente no período chuvoso. Essas características locais podem estar relacionadas com as concentrações

encontradas neste estudo, justificando os níveis mais elevados dos biocidas DCOIT e Irgarol observados em agosto de 2022 (período chuvoso), em comparação com a ausência desses compostos em fevereiro de 2023 (período seco).

Figura 16- Ponto de coleta Mamucabas (P7)

Fonte: Bruno Varella (2024)

O DCOIT, mesmo sendo encontrado com frequência nas atuais formulações de tintas anti-incrustantes, segundo Paz-Villarraga *et al.* (2021), ainda é um composto de custo elevado, quando comparado aos biocidas de segunda geração. Diante disso, é encontrado frequentemente em regiões com embarcações maiores e de luxo, com elevado poder aquisitivo. Provavelmente não é muito utilizado em regiões de tráfego de barcos de pesca artesanal, normalmente mais desfavorecidas financeiramente (Abreu *et al.*, 2020). Por isso supõe-se que este biocida não foi detectado em algumas amostras pelo baixa frequencia de uso e pelas dificuldades relacionadas à metodologia de identificação mencionadas anteriormente.

Em um cenário mundial, esse composto foi quantificado em concentrações variadas. Na Tabela 11, pode-se observar a presença do DCOIT que foi reportada na Indonésia (< 0,04 a 150 ng g $^{-1}$), e Japão (<0,04 a 150 ng g $^{-1}$) e Costa da Coreia (<LD a 269 ng g $^{-1}$) (Harino *et al.*, 2007, 2012; Lee *et al.*, 2015; Martínez; Barceló, 2001), o que coloca a presente área de estudo entre as de menor contaminação. A frequente

quantificação do DCOIT na região asiática provavelmente é devida às embarcações de luxo e a regulação mais flexível do local. No Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, em um estudo de investigação simultânea de biocidas anti-incrustantes de terceira geração, o DCOIT (<0,2 a 74,6 ng g^{-1}) foi o mais frequentemente encontrado (Abreu *et al.*, 2020). Este resultado sugere que o uso desse biocida tem se tornado interessante devido às suas propriedades degradantes. Apesar de ser uma vantagem ambiental, a rápida degradação desse composto e sua instabilidade no sedimento, dificultam a detecção desse composto em ambientes naturais (Thomas; Norway, 2009), dificultando sua avaliação quanto ao risco que causou à biota local.

O composto clorotalonil não foi quantificado em nenhuma das amostras dos dois períodos analisados, com exceção do P6 – Marina do Rio Arinquidá – no período chuvoso. Este dado sugere que a origem seja as tintas anti-incrustantes, uma vez que o P6 está localizado em uma área de grande fluxo de embarcações de veraneio (Figura 17). Este biocida também não foi detectado nos sedimentos do Sistema Estuarino do Rio Capibaribe (SERC), localizado na região metropolitana de Recife, Pernambuco (Almeida, 2021).

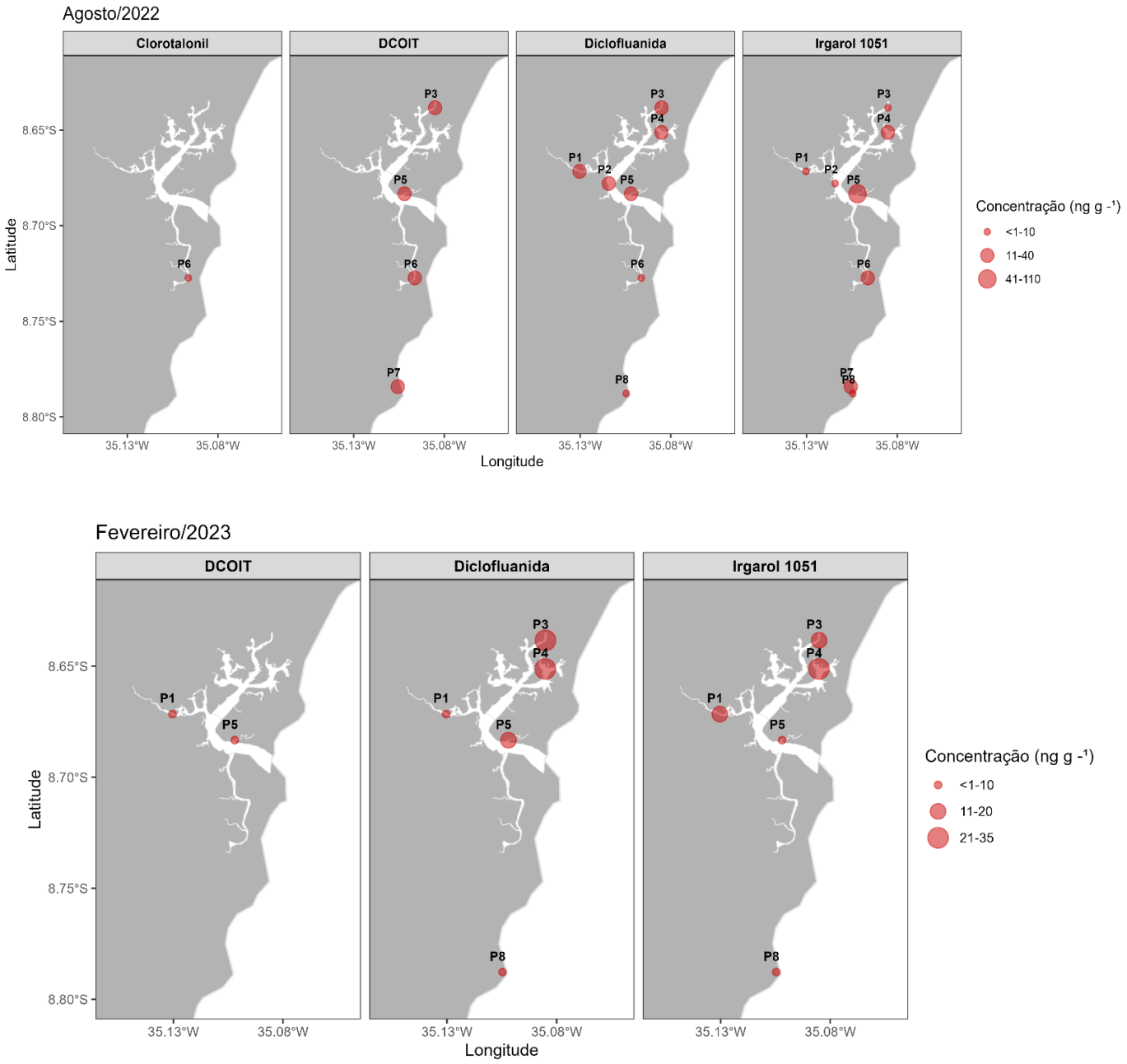
Apesar de apresentar uma rápida degradação em água do mar, a presença do clorotalonil foi reportada em portos e marinas da Grécia (Tabela 11), sendo encontrado em 78 % das amostras, com concentrações que variaram entre ND e 165 ng g^{-1} (Albanis *et al.*, 2002; Callow; Willingham, 1996). Na costa da Coreia o clorotalonil foi reportado com concentrações entre 1,2 a 1065 ng g^{-1}, sendo associado ao uso em áreas portuárias e estaleiros nas baías de Ulsan e liberados na água (Lee *et al.*, 2015). Nos Estados Unidos, em um lago designado para atuar como um reservatório de drenagem agrícola, foram observadas concentrações de <0,12 a 8,9 ng g^{-1} (Sapozhnikova; Bawardi; Schlenk, 2004). Em um estuário do Reino Unido, a maior concentração do clorotalonil ocorreu no período do ano de maior lixiviação desse composto para o ambiente aquático, sendo encontradas concentrações de <4,1 a 47 ng g^{-1} (Voulvoulis; Scrimshaw; Lester, 2000).

Figura 17 - Ponto de amostragem Marina (P6)

Foto: A autora (2024)

A Figura 18 representa, de forma sucinta, o padrão geral de distribuição espacial e temporal das concentrações dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração. O tamanho das esferas representa as faixas de concentrações e permitem uma comparação direta entre os pontos, identificando quais compostos estão presentes e suas proporções relativas em uma distribuição ao longo do SERF e SEMI, nos períodos chuvoso e seco. É evidente a predominância dos biocidas diclofluanida e Irgarol na porção mais interna do Sistema Estuarino do Rio Formoso, onde a região do P5 se caracterizou como uma área de deposição – 50 a 59% de teor de lama (Figura 13) e acúmulo de MO, com aproximadamente 2,5 % de COT. Através de parâmetros sedimentares, Santos (2016) também observou um maior acúmulo de MO (5 a 10%) para essa região, especialmente no período seco, corroborando com o presente estudo. É possível observar que predominam as maiores concentrações no período chuvoso, evidenciando uma contribuição significativa proveniente dos processos de lixiviação dos solos contaminados e maior transporte / distribuição dentro do SERF.

Figura 18 - Níveis de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração nos pontos amostrais SERF e SEMI nos períodos chuvoso (Agosto/2022) e seco (Fevereiro/2023)

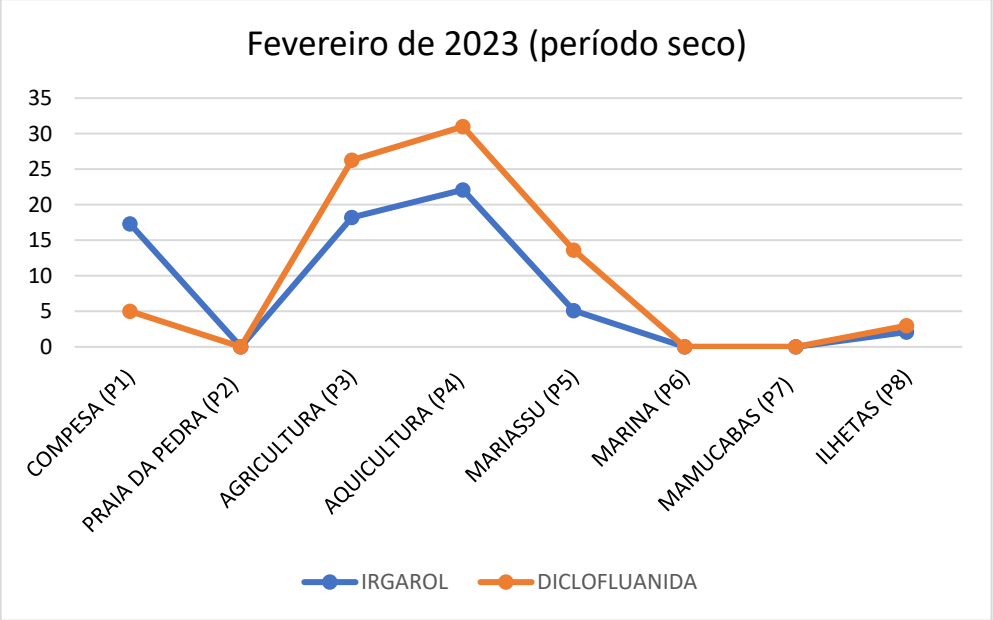


Fonte: A autora (2025)

Foi observado um padrão de distribuição espacial muito semelhante para os biocidas Irgarol e diclofluanida nos sedimentos coletados no período seco (Figura 19), com as maiores concentrações reportadas para os pontos P3 e P4. Este padrão pode estar associado ao uso desses biocidas na agricultura, tendo em vista que o Irgarol tem ação herbicida (Castro; Westphal; Fillmann, 2011) e a diclofluanida é frequentemente associada no combate aos fungos na agricultura (Hamwijk et al., 2005). Por outro lado, esse padrão de distribuição pode estar sendo regulado pela ação da maré, mais significativa no período seco, sendo presente também no P5. Os pontos que apresentaram concentrações menores ou não foram quantificados a diclofluanida e o Irgarol durante esse período, apresentam características relevantes que justificariam a ausência dos biocidas na região. O P2 está localizado em uma área aberta e de fluxo constante, sob forte influência da radiação solar (fotodegradação) e da força da maré, que poderia proporcionar uma remoção e/ou dispersão destes compostos. O P6 está localizado bem distante dos P3 e P4, no Rio Ariquindá, e que, embora abrigue muitas atividades náuticas, não foi detectado estes compostos, reforçando a hipótese que as atividades de agricultura e aquicultura são significativas como fonte destes biocidas para o SERF.

Em contrapartida, no período chuvoso essa tendência não foi observada, provavelmente em decorrência dos processos de lixiviação nessas áreas, que podem caracterizar um maior transporte e dispersão dos contaminantes no sedimento.

Figura 19 – Distribuição espacial das concentrações do Irgarol e diclofluanida em fevereiro de 2023 - período seco

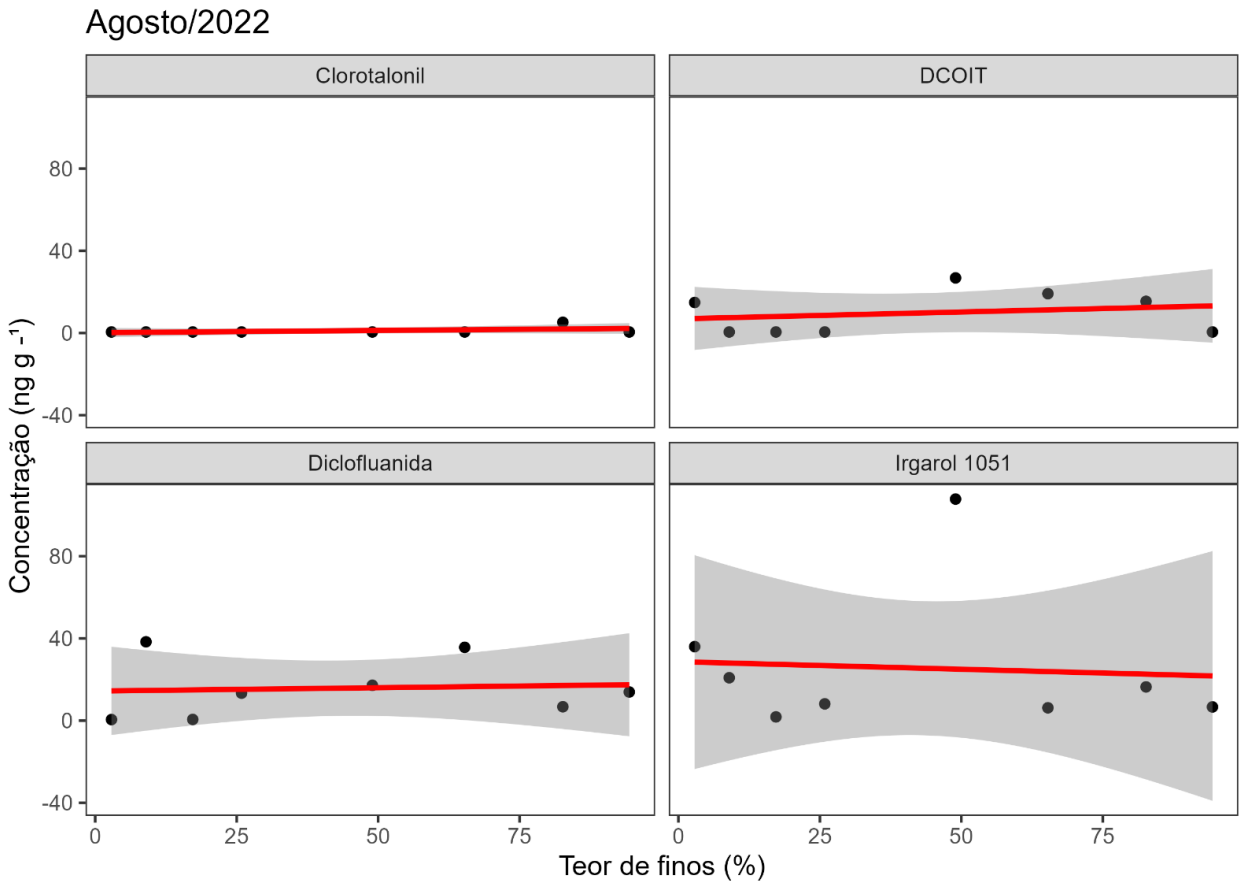


Fonte: A autora (2025)

5.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

No período chuvoso (agosto/2022), através do teste de correlação de postos de Spearman, observou-se que as concentrações do clorotalonil (r = 0,45; p = 0,25), DCOIT (r = 0,22; p=0,85), diclofluanida (r = 0,07; p = 0,85) e Irgarol (r = -0,07; p = 0,86) não apresentaram correlação significativa com o teor de sedimentos finos presentes no ambiente para este período (Figura 20).

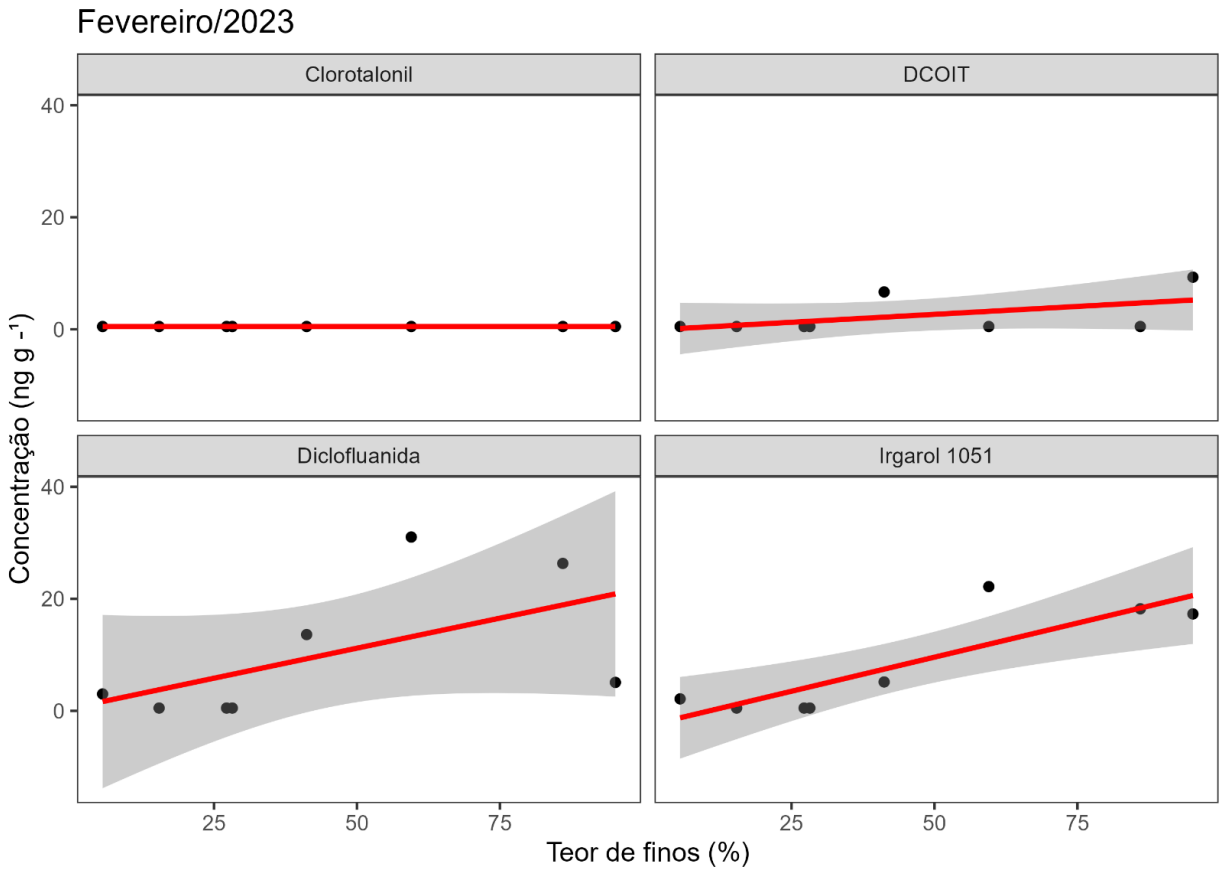
Figura 20 - Correlação de postos de Spearman entre concentração dos compostos (ng g $^{-1}$) e teor de finos (%) no período chuvoso



Fonte: A autora (2025)

No período seco (fevereiro de 2023), o clorotalonil apresentou valores abaixo do limite de detecção para todos os pontos, com isso, não foi possível estabelecer uma relação desse composto com o teor de finos. O DCOIT (r= 0,52; p= 0,18) e a diclofluanida (r= 0,56; p= 0,14) apesar de ter apresentado uma correlação positiva com o teor de finos, não foi significativa. Apenas o Irgarol (r= 0,85; p= 0,007) apresentou uma correlação estatisticamente significativa com o teor de sedimentos finos presente no ambiente (Figura 21).

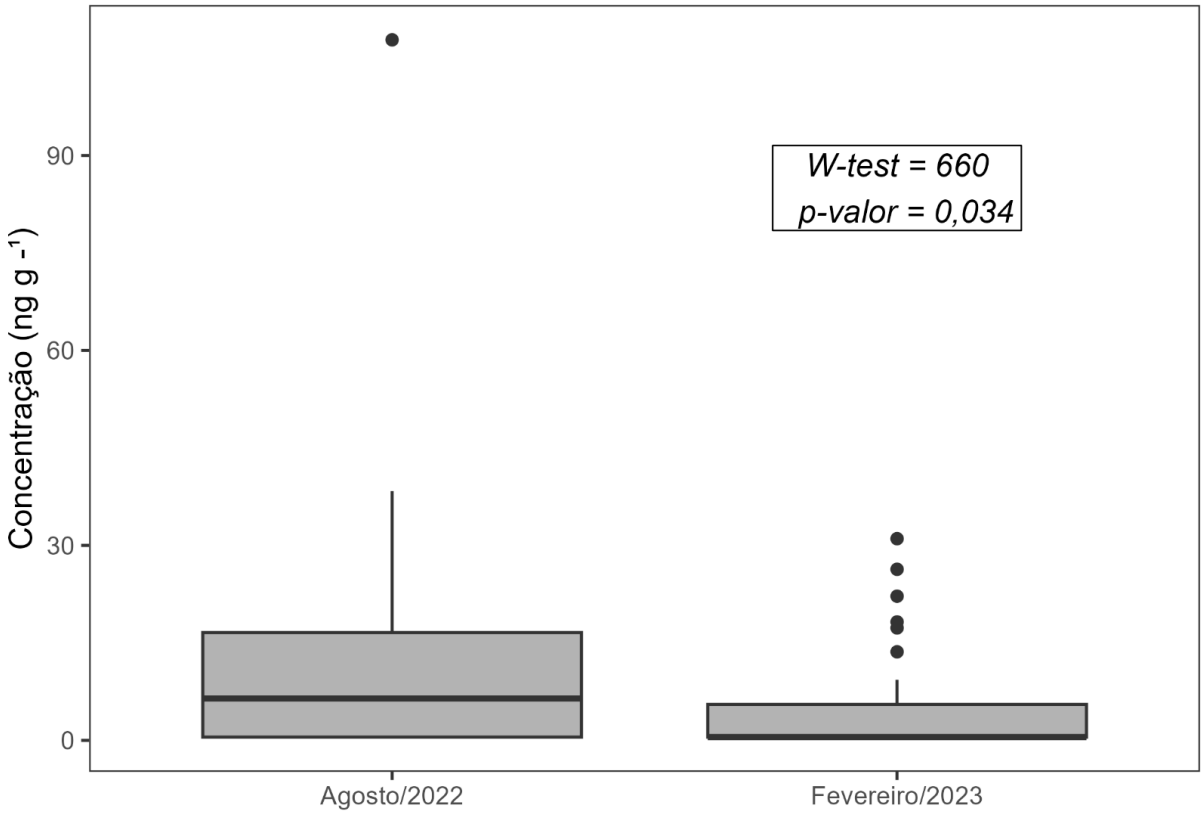
Figura 21- Correlação de postos de Spearman entre concentração dos compostos (ng g $^{-1}$) e teor de finos (%) no período de estiagem



Fonte: A Autora (2025)

As concentrações totais dos quatro biocidas apresentaram diferença significativa entre os períodos estudados no SERF (Teste de Main Whitney = 660, p-valor=0,034) (Figura 22). O período chuvoso (agosto/2022) apresentou concentração maior de contaminantes quando comparado ao período seco. O período seco (fevereiro de 2023) foi caracterizado pela presença de concentrações abaixo do limite de quantificação / detecção, ocasionando uma mediana menor do que a observada em agosto/2022.

Figura 22 - Teste de Mann-Whitney entre as concentrações encontradas nos períodos agosto/22 e fevereiro/23



Fonte: A Autora (2025)

Apesar do maior fluxo de embarcações durante o período de estiagem, as maiores concentrações e frequência dos biocidas foram no período chuvoso. Essa diferença significativa entre a somatória dos contaminantes e as estações do ano pode estar relacioanda à diversos fatores. O mais provável está relacionado com o aumento da pluviometria nos meses entre março e agosto (Figura 7). O aumento das chuvas intensifica o processo de lixiviação, refletindo num aumento do acúmulo dos contaminantes associados aos sedimentos. Locais com atividades do tipo Agricultura e Aquicultura, e que fazem uso de biocidas em plantações, são mais propensos a apresentar esses contaminantes nos seus arredores, uma vez que os mesmos são carreados pelos processos naturais de lavagem e erosão do solo intensificados no período chuvoso. Locais de atracação e/ou manutenção de embarcações, como os pontos P6 (Marina do Rio Ariquindá) e P5 (Mariassú) são potenciais contribuintes de biocidas presentes nas tintas anti-incrustantes. Da mesma forma que para áreas agrícolas, os resíduos provenientes das embarcações também podem ser lixiviados para os corpos aquáticos adjacentes, aumentando a concentração dos biocidas em

períodos chuvosos. As variações sazonais enriquecem o sedimento com contaminantes no período do inverno (Bancon-Montigny *et al.*, 2019). Portanto, diferenças entre períodos na precipitação podem afetar diretamente a dinâmica de contaminantes em regiões costeiras tropicais (Haarr *et al.*, 2021).

5.5 RISCOS AMBIENTAIS ASSOCIADOS A CONCENTRAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES NO SEDIMENTO DO SISTEMA ESTUARINO DO RIO FORMOSO E SISTEMA ESTUARINO MAMUCABAS E ILHETAS

Os biocidas anti-incrustantes de terceira geração avaliados no presente estudo foram quantificados em pelo menos um local no período chuvoso e um local no período seco. A exceção foi o clorotalonil que, em fevereiro de 2023 (seco), não foi quantificado em nenhuma amostra. O quociente de risco (QR) foi calculado para 13 das 16 amostras de sedimentos quantificados (Tabela 12).

No período chuvoso, todas as amostras com DCOIT apresentaram QR > 1, indicando alto risco potencial nos pontos P3, P5, P6 e P7. O QR do Irgarol, neste mesmo período, também indicou alto risco potencial em todos os pontos (P1 a P8), apresentando resultados QR >1. A diclofluanida apresentou QR >1 apenas para os pontos P3, P4 e P5, indicando que esses pontos podem apresentar riscos potenciais aos organismos que habitam estes locais. O QR do clorotalonil, calculado apenas no P6, indicou que esse composto apresenta risco ambiental moderado. No período de estiagem, as amostras que estavam contaminadas com DCOIT e/ou Irgarol apresentaram QR >1 sugerindo que estes compostos oferecem alto risco para a biota local. Apenas os sedimentos dos pontos P1, P2, P6 apresentaram QR >1 para a diclofluanida (Tabela 12).

Entre os biocidas analisados no presente estudo o DCOIT, atualmente, é um dos biocidas de reforço mais utilizado na formulação de tintas anti-incrustantes. Uma análise de banco de dados revelou que 9,3% das formulações de tintas contem DCOIT em sua composição (Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021), o Irgarol está presente em 4,5% e a diclofluanida e o clorotalonil, 1,9% e 0,4%, respectivamente (Paz-Villarraga; Castro; Fillmann, 2021). Essas informações justificam a alta frequencia dos compostos. O DCOIT e o Irgarol apresentaram alto risco para todas as amostras quantificadas nos dois períodos analisados.

O DCOIT apresenta uma toxicidade elevada a diversos níveis tróficos, como o fitoplâncton e zooplâncton (Martins *et al.*, 2018), o que justifica o alto risco mesmo em baixas concentrações (Tabela 12). Estudos realizados no Brasil já demontraram o risco potencial deste compostos para o ecossistema no Maranhão, Ceará, Pernambuco e Rio de Janeiro (Abreu; Fillmann; Martins, 2021; Abreu *et al.*, 2020). O Irgarol, recém proibido na formulação de tintas anti-incrustantes, no presente estudo, apresenta QR maior do que 1, em todas as amostras que permitiram o seu cálculo, reresentando um alto risco para a biota (IMO, 2023). Espera-se que a proibição resulte na diminuição da concentração desse composto nos sistemas aquáticos, e, consequentemente, redução no seu quociente de risco para essas áreas. A diclofluanida é um composto menos tóxico entre os biocidas alternativos anti-incrustantes, como observado na Tabela 2, e seu risco é minimizado devido a sua instabilidade ambiental. Entretanto, é um composto que não apresenta muitos estudos de toxicidade, principalmente com invertebrados (Amara *et al.*, 2018; Cima; Varello, 2020; Hamwijk *et al.*, 2005), limitando a discussão do seu potencial tóxico. Ainda não há dados de testes de toxicidade na matriz sedimentar para esse biocida (Abreu; Fillmann; Martins, 2021). O clorotalonil não apresenta alto risco para a biota do SERF e SEMI, tendo em vista que não foi quantificado na maioria dos pontos, assim como encontrado no trabalho de Abreu et al. (2021) que também não observou alto risco para os sistemas estuarinos e costeiros da costa brasileira.

Tabela 13 - Quocientes de risco calculados para cada biocida nos pontos de amostragem nos períodos seco e chuvoso

Período chuvoso - agosto de 2022				
Pontos Amostrais	**DCOIT**	**Irgarol 1051**	**Diclofluanida**	**Clorotalonil**
Compesa (P1)	-	16,6	0,8	-
Praia da Pedra (P2)	-	20,4	0,8	-
Agricultura (P3)	19,7	15,6	2,1	-
Aquicultura (P4)	-	52,0	2,3	-
Mariassu (P5)	27,6	267,5	1,0	-
Marina (P6)	15,9	41,0	0,4	0,6
Mamucabas (P7)	15,3	90,0	-	-
Ilhetas (P8)	-	4,5	-	-
Período de estiagem - fevereiro de 2023				
Pontos Amostrais	**DCOIT**	**Irgarol 1051**	**Diclofluanida**	**Clorotalonil**
Compesa (P1)	9,6	43,3	0,3	-
Praia da Pedra (P2)	-	-	-	-
Agricultura (P3)	-	45,5	1,6	-
Aquicultura (P4)	-	55,2	1,9	-
Mariassu (P5)	6,9	12,9	0,8	-
Marina (P6)	-	-	-	-
Mamucabas (P7)	-	-	-	-
Ilhetas (P8)	-	5,3	0,2	-

Fonte: A autora (2025)

6 CONCLUSÃO

A metodologia de análise do Irgarol, diclofluanida e clorotalonil via extração de fase sólida e quantificação através do GC-MS, foi implantada no Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR). A confiança analítica na determinação do DCOIT não foi alcançada e, portanto, os procedimentos empregados para a análise deste biocida foram considerados semi-quantitativos e deverão ser retomados. Alguns testes deverão ser repetidos e/ou ter suas condições alteradas para a obtenção de resultados ainda mais precisos e exatos.

Os Sistemas Estuarinos do Rio Formoso (SERF) e dos Rios Mamucabas / Ilhetas (SEMI) estão contaminados por biocidas anti-incrustantes de terceira geração. A distribuição espacial e temporal destes biocidas é influenciada por fatores como proximidade a fontes potenciais, hidrodinâmica e propriedades físico-químicas destes co-biocidas. O Irgarol e a diclofluanida foram o mais abundantes e frequentemente encontrados ao longo do estuário, sugerindo um aporte recente desses contaminantes através das tintas anti-incrustantes aplicadas em embarcações e/ou atividades de agricultura e a aquicultura, que utilizam estes compostos na formulação de pesticidas.

O cálculo do quociente de risco revelou que a saúde dos organismos está ameaçada. O Irgarol e o DCOIT apresentam alto risco à biota local, seguidos da diclofluanida. O clorotalonil, observado em apenas um local, não apresenta risco significativo.

As informações geradas são inéditas e apontam que pesquisas adicionais neste local são necessárias para melhor compreensão dos biocidas anti-incrustantes nesse sistema. É importante a inclusão de outras matrizes ambientais, como água e material particulado, para entender o ciclo desses biocidas no ambiente aquático bem como obter um cenário mais abrangente da contaminação local. Os resultados gerados nesta pesquisa podem auxiliar no desenvolvimento de medidas de controle para o uso desses contaminantes no revestimento de embarcações, como em ações de mitigação em áreas impactadas por biocidas de 3ª geração.

7. REFERÊNCIAS

ABBOTT, A *et al.* Cost**.**benefit analysis of the use of TBT: the case for a treatment approach., 2000.

ABERNATHY, Charles O.; ROBERTS, Welford C. Risk assessment in the Environmental Protection Agency. **Journal of Hazardous Materials**,=v. 39, n. 2, p. 135–142, 1994.

ABREU, Fiamma 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, Fiamma Eugênia Lemos. Biocidas Anti-Incrustantes De Terceira Geração Em Sedimentos Superficiais Da Costa Brasileira.,p. 104, 2016.

ABREU, F. E. L.; FILLMANN, G.; MARTINS, S. E. Ecological risk assessment of booster biocides in sediments of the Brazilian coastal areas. **Chemosphere**, v. 276, p. 130155, 2021.

ALBANIS, T.A *et al.* Antifouling paint booster biocide contamination in Greek marine sediments. **Chemosphere**, v. 48, n. 5, p. 475–485, 2002.

ALMEIDA, Júlia Cintra *et al.* Antifouling booster biocides in Latin America and the Caribbean: A 20-year review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 189, p. 114718, 2023.

ALMEIDA, Júlia Cintra. Biocidas De Terceira Geração No Sistema Estuarino Do Rio Capibaribe (Serc), Recife - Pernambuco.,p. 98, 2021.

ALMEIDA, Elisabete; DIAMANTINO, Teresa C.; DE SOUSA, Orlando. Marine paints: The particular case of antifouling paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 59, n. 1, p. 2–20, 2007.

ALZIEU, Claude *et al.* Influence Des Peintures Antisalissures A Base D'organostanniques Sur La Calcification De La Coquille De Vhuitre Crassostrea Gigas,1982.

AMARA, Intissar *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.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**.,, 2003.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC No 166, de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**.,2017. Disponível em: https://anvisalegis.datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&link=S&tipo=RDC&numeroAto=00000166&seqAto=000&valorAno=2017&orgao=RDC/DC/ANVISA/MS&cod_modulo=310&cod_menu=8542. Acesso em: 3 dez. 2024.

ARAÚJO, Maria Elisabeth. meio ambiente, recursos pesqueiros e tradição em Rio Formoso - Pernambuco., n. 1, p. 14–37, 2014.

ARRUDA-SANTOS, Roxanny Helen De *et al.* Sources and distribution of aromatic hydrocarbons in a tropical marine protected area estuary under influence of sugarcane cultivation. **Science of The Total Environment**, v. 624, p. 935–944, 2018.

ARTIFON, Vanda; ZANARDI-LAMARDO, Eliete; FILLMANN, Gilberto. Aquatic organic matter: Classification and interaction with organic microcontaminants. **Science of The Total Environment**, v. 649, p. 1620–1635, 2019.

AZEVEDO, Débora De A.; GERCHON, Elaine; REIS, Ederson O. Dos. 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.

BAIRD C., CANN, M. **Química Ambiental**. 4. ed.,2011. (, v. Cap 6).

BANCON-MONTIGNY, Chrystelle *et al.* Seasonal changes of chemical contamination in coastal waters during sediment resuspension. **Chemosphere**, v. 235, p. 651–661, 2019.

BAO, Vivien 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.

BARBOSA, Cátia Fernandes *et al.* Health environmental assessment of the coral reef-supporting Tamandaré Bay (NE, Brazil). **Marine Micropaleontology**, v. 127, p. 63–73, 2016.

BARCELLOS, R.L. *et al.* Sedimentary Organic Matter in Cores of the Cananéia-Iguape Lagoonal-Estuarine System, São Paulo State, Brazil. **Journal of Coastal Research, , Special Issue No. 56. Proceedings of the 10th International Coastal Symposium ICS 2009**, [*s. l.*], v. I, p. 1335–1339, 2009.

BARCELÓ, Damià; PETROVIC, Mira. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1141–1142, 2007.

BELLAS, Juan. 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.

BRANCHET, Perrine *et al.* Pharmaceuticals in the marine environment: What are the present challenges in their monitoring?. **Science of The Total Environment**, v. 766, p. 142644, 2021.

BURGMAN, Mark. Risks and Decisions for Conservation and Environmental Management. p. 488, 2005.

CALLOW, Maureen E; WILLINGHAM, G L. Degradation of antifouling biocides. **Biofouling**,, v. 10, n. 1–3, p. 239–249, 1996.

CÂMARA, Isaias Farias Da; HOLANDA, Tiago Fernando De; COSTA, Mirella Borba. Erosão e gestão costeira em praias protegidas por recifes no litoral sul de

Pernambuco. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 24, n. 1, 2023. Disponível em: https://rbgeomorfologia.org.br/rbg/article/view/2189. Acesso em: 20 jan. 2025.

CAMPOS, B.G. *et al.* Water and sediment toxicity and hazard assessment of DCOIT towards neotropical marine organisms. **Environmental Pollution**, v. 330, p. 121797, 2023.

CARREIRA, Renato S. *et al.* Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, Guanabara Bay, Brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. **Marine Chemistry**, v. 79, n. 3–4, p. 207–227, 2002.

CASSI, Roberto; TOLOSA, Imma; MORA, Stephen De. A survey of antifoulants in sediments from Ports and Marinas along the French Mediterranean coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 11, p. 1943–1948, 2008.

CASTRO, Muryllo Santos *et al.* Genotoxic and mutagenic effects of chlorothalonil on the estuarine fish Micropogonias furnieri (Desmarest, 1823). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 16, p. 23504–23511, 2022.

CASTRO, Italo Braga; ROSSATO, Martina; FILLMANN, Gilberto. Imposex reduction and residual butyltin contamination in southern Brazilian harbors. v. 31, n. Environmental Toxicology and Chemistry, p. 947–954, 2012.

CASTRO, Ítalo B.; WESTPHAL, Eliete; FILLMANN, Gilberto. 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.

CHEN, Meilian; HUR, Jin. Pre-treatments, characteristics, and biogeochemical dynamics of dissolved organic matter in sediments: A review. **Water Research**, v. 79, p. 10–25, 2015.

CHEN, Lianguo; LAM, James C.W. SeaNine 211 as antifouling biocide: A coastal pollutant of emerging concern. **Journal of Environmental Sciences**, v. 61, p. 68–79, 2017.

CHESWORTH, J.C; DONKIN, M.E; BROWN, M.T. The interactive effects of the antifouling herbicides Irgarol 1051 and Diuron on the seagrass Zostera marina (L.). **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 3, p. 293–305, 2004.

CIMA, Francesca; BRAGADIN, Marcantonio; BALLARIN, Loriano. Toxic effects of new antifouling compounds on tunicate haemocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 86, n. 2, p. 299–312, 2008.

CIMA, Francesca; VARELLO, Roberta. Immunotoxicity in Ascidians: Antifouling Compounds Alternative to Organotins—V. the Case of Dichlofluanid. **Journal of Marine Science and Engineering**, , v. 8, n. 6, p. 396, 2020.

COMBER, S.D.W *et al.* Partitioning of marine antifoulants in the marine environment. **Science of The Total Environment**, , v. 286, n. 1–3, p. 61–71, 2002.

COSTA, Bruno V.M. Da *et al.* Distribution and origin of sedimentary organic matter in an eutrophic estuary: Pina Sound – NE Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, , v. 93, n. 1, p. e20190638, 2021.

CPRH, Agência Estadual de Meio Ambiente. Área de proteção ambiental de Guadalupe: Análise da unidade de conservação., v. 3, p. 206, 2011.

CPRH, Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Diagnóstico Socioambiental do Litoral Norte de Pernambuco: Gerenciamento Costeiro.** , 2013.

CRAVEIRO, Nykon. Hidrocarbonetos no sedimento superficial do Sistema Estuarino do Rio Formoso, Nordeste do Brasil.p. 77, 2016.

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

DE ARRUDA-SANTOS, Roxanny Helen. Sewage contamination assessment in an urbanized tropical estuary in Northeast Brazil using elemental, isotopic and molecular proxies. **Environmental Pollution**, 2023.

DE CAMPOS, Bruno Galvão *et al.* Occurrence, effects and environmental risk of antifouling biocides (EU PT21): Are marine ecosystems threatened?. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**,v. 52, n. 18, p. 3179–3210, 2022.

DE CASTRO, Ítalo Braga; PERINA, Fernando Cesar; FILLMANN, Gilberto. Organotin contamination in South American coastal areas. **Environ Monit Assess**, 2012.

DELLAMATRICE, Priscila M.; MONTEIRO, Regina T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**,v. 18, n. 12, p. 1296–1301, 2014.

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

ECHA, European Chemicals Agency. **Guidance on the Biocidal Products Regulation**. Helsinki, Finland:, 2017. v. Volume IV Environment-Assessment and Evaluation

EUROPEAN COMISSION. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2016/ 107 - of 27 January 2016 - not approving cybutryne as an existing active substance for use in biocidal products for product-type 21., 2016.

FEITOSA, Alberto; XAVIER, Sérgio. **Revisão Do Plano De Manejo Da Área De Proteção Ambiental (Apa) De Guadalupe - Governo Do Estado De Pernambuco**., 2010.

FERNANDEZ, M.A.; 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, 2007.

FERNANDEZ-ALBA, A.R. *et al.* Toxicity of Single and Mixed Contaminants in Seawater Measured with Acute Toxicity Bioassays. **The Scientific World JOURNAL**, , v. 2, p. 1115–1120, 2002.

FONSECA, Amanda da Silveira Guerreiro Viviane Barneche. Effects of DCOIT (4,5-dichloro-2-octyl-4-isothiazolin-3-one) to the haemocytes of mussels Perna perna,, v. 232, 2020.

FROEHNER, Sandro; MARTINS, Raquel Fernandes. Avaliação da composição química de sedimentos do Rio Barigüi na região metropolitana de Curitiba. **Química Nova**, , v. 31, n. 8, p. 2020–2026, 2008.

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.

GEISSEN, Violette *et al.* Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 1, p. 57–65, 2015.

GHOSN, Micheline. Chemical contamination in different marine organisms along the Lebanese coast: Environmental implications and health risks. 2019.

GONZÁLEZ, Fj. Egea *et al.* Analyses of Chlorothalonil and Dichlofluanid in Greenhouse Air. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 80, n. 5, p. 1091–1097, 1997.

GONZÁLEZ, Oskar *et al.* Bioanalytical chromatographic method validation according to current regulations, with a special focus on the non-well defined parameters limit of quantification, robustness and matrix effect. **Journal of Chromatography A**, v. 1353, p. 10–27, 2014.

GRACELI, Jones Bernardes *et al.* Organotins: A review of their reproductive toxicity, biochemistry, and environmental fate. **Reproductive Toxicology**,v. 36, p. 40–52, 2013.

GUERREIRO, Amanda Da Silveira *et al.* Effects of chlorothalonil on the antioxidant defense system of mussels Perna perna. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 190, p. 110119, 2020.

HAARR, Ane *et al.* Seasonal rainfall affects occurrence of organohalogen contaminants in tropical marine fishes and prawns from Zanzibar, Tanzania. **Science of The Total Environment**, v. 774, p. 145652, 2021.

HAJSLOVÁ, Jana; ZROSTLIKOVÁ, Jitka. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matricesp. 181–197, 2003.

HALL JR, Lenwood W. *et al.* An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints (1999) Critical Reviews in Toxicology, 29 (4), pp. 367-437. Cited 168 times,n. Critical Reviews in Toxicology, p. 367–437, 1999.

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, Hiroya *et al.* Concentrations of Antifouling Biocides in Sediment and Mussel Samples Collected from Otsuchi Bay, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 52, n. 2, p. 179–188, 2007.

HARINO, Hiroya *et al.* Distribution of Antifouling Biocides and Perfluoroalkyl Compounds in Sediments From Selected Locations in Indonesian Coastal Waters. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 1, p. 13–21, 2012.

HARINO, Hiroya *et al.* Monitoring of Antifouling Booster Biocides in Water and Sedimentfrom the Port of Osaka, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**,v. 48, n. 3, p. 303–310, 2005.

HERNANDO, M.D *et al.* Combined toxicity effects of MTBE and pesticides measured with Vibrio fischeri and Daphnia magna bioassays. **Water Research**, v. 37, n. 17, p. 4091–4098, 2003.

IMO, International Maritime Organization. **International Convention on the Control of Harmful Anti-foulin Systems on Ships**., 2023. Disponível em: https://www.imo.org/en/OurWork/Environment/Pages/Anti-fouling.aspx. Acesso em: 3 jan. 2025.

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

IMO, International Maritime Organization. **STATUS OF IMO TREATIES - Comprehensive information on the status of multilateral Conventions and instruments in respect of which the International Maritime Organization or its Secretary-General performs depositary or other functions**. [*S. l.: s. n.*], 2020.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008)**., 2020. (, v. v. 25).

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOQ-CGCRE-008**, 2011.

JACOBSON, Andrew H; WILLINGHAM, Gary L. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants. **Science of The Total Environment**, v. 258, n. 1–2, p. 103–110, 2000.

JESUS, Honério Coutinho De *et al.* Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da Ilha de Vitória-ES. **Química Nova**,, v. 27, n. 3, p. 378–386, 2004.

KALUZA, Pablo *et al.* The complex network of global cargo ship movements. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 7, n. 48, p. 1093–1103, 2010.

KAONGA, Chikumbusko Chiziwa; TAKEDA, Kazuhiko; SAKUGAWA, Hiroshi. Diuron, Irgarol 1051 and Fenitrothion contamination for a river passing through an agricultural and urban area in Higashi Hiroshima City, Japan. **Science of The Total Environment**, v. 518–519, p. 450–458, 2015.

KARLSSON, Jenny; YTREBERG, Erik; EKLUND, Britta. Toxicity of anti-fouling paints for use on ships and leisure boats to non-target organisms representing three trophic levels. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 3, p. 681–687, 2010.

KILLOPS, Stephen D.; KILLOPS, Vanessa J. **Introduction to organic geochemistry**. : John Wiley & Sons, 2013.

KONSTANTINOU, 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, Anna. Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. **Journal of Environmental Management**, , 2009.

LEE, Mi-Ri-Nae *et al.* Assessment of organotin and tin-free antifouling paints contamination in the Korean coastal area. **Marine Pollution Bulletin**, , v. 99, n. 1–2, p. 157–165, 2015.

LIBES, Susan M. **Introduction to marine biogeochemistry**. 2nd eded. Amsterdam ; Boston: Academic Press, 2009.

LIU, Mengyuan. Developmental cardiotoxicity of 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in marine medaka (Oryzias melastigma). **Journal of Hazardous Materials**, , 2024.

LUSSEAU, David; BEJDER, Lars. The Long-term Consequences of Short-term Responses to Disturbance Experiences from Whalewatching Impact Assessment. **International Journal of Comparative Psychology**, v. 20, n. 2, 2007. Disponível em: https://escholarship.org/uc/item/42m224qc. Acesso em: 18 set. 2023.

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

MAGALHÃES, Karlilian. Criação da Resex do Rio Formoso é considerada uma importante estratégia para a conservação de estuários e manguezais no litoral sul de PE. , 13 maio 2022. Disponível em: https://semas.pe.gov.br/criacao-da-resex-do-rio-formoso-e-considerada-uma-importante-estrategia-para-a-conservacao-de-estuarios-e-manguezais-no-litoral-sul-de-pe/.

MALETIĆ, Snežana P. *et al.* State of the art and future challenges for polycyclic aromatic hydrocarbons is sediments: sources, fate, bioavailability and remediation techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 365, p. 467–482, 2019.

MARTÍNEZ, K. *et al.* Occurrence of Antifouling Biocides in the Spanish Mediterranean Marine Environment. **Environmental Technology**, v. 22, n. 5, p. 543–552, 2001.

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

MARTINS, Samantha Eslava *et al.* Review: ecotoxicity of organic and organo-metallic antifouling co-biocides and implications for environmental hazard and risk assessments in aquatic ecosystems. **Biofouling**, v. 34, n. 1, p. 34–52, 2018.

MARTINS T. L., Vargas V. M. F. Riscos à biota aquática pelo uso de tintas anti-incrustantes nos cascos de embarcações. v. 8, n. 1, 2013.

MESSIAS, Leonardo T. *et al.* **Análise de impactos decorrentes do alargamento do canal na várzea do rio Mamucabas, Tamandaré, PE**, 2023.

MIJANGOS, Leire *et al.* Multiresidue analytical method for the determination of 41 multiclass organic pollutants in mussel and fish tissues and biofluids by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 2, p. 493–506, 2019.

NAKAYAMA, A; SEGNER, H; KAWAI, S. Immunotoxic effects of organotin compounds in teleost fish. *In*: ECOTOXICOLOGY OF ANTIFOULING BIOCIDES. Springer, Tokyo, Japan: , 2009. p. 207–218.

NIETO, Elena *et al.* Effects of exposure to pharmaceuticals (diclofenac and carbamazepine) spiked sediments in the midge, Chironomus riparius (Diptera, Chironomidae). **Science of The Total Environment**, v. 609, p. 715–723, 2017.

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, Hideo; MIENO, Hirohisa. Present Status of Antifouling Systems in Japan: Tributyltin Substitutes in Japan. *In*: KONSTANTINOU, Ioannis K. (org.). **Antifouling Paint Biocides**.=: Springer Berlin Heidelberg, 2006. (The Handbook of Environmental Chemistry). v. 5O, p. 201–212. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/698_5_055. Acesso em: 12 jul. 2024.

ONDUKA, Toshimitsu *et al.* Toxicity of the antifouling biocide Sea-Nine 211 to marine algae, crustacea, and a polychaete, 2013.

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

PARRA, Yendry Jomolca *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and sediments in Southwest Nigeria. **Environmental Pollution**, v. 259, p. 113732, 2020.

PAZ-VILLARRAGA, César Augusto; CASTRO, Ítalo Braga; FILLMANN, Gilberto. **Biocides in Antifouling Paint Formulations Currently Registered For Use**: In

Review, 2021. preprint. Disponível em: https://www.researchsquare.com/article/rs-704342/v1. Acesso em: 22 out. 2023.

PERINA, Fernando Cesar *et al.* Toxicity of antifouling biocides on planktonic and benthic neotropical species. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 22, p. 61888–61903, 2023.

PETER, Prince Chinedu. Soil Organic Matter/Carbon Dynamics in Contrasting Tillage and Land Management Systems: A Case for Smallholder Farmers with Degraded and Marginal Soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 48, n. 17, p. 2013–2031, 2017.

PINHO, Gevany P. *et al.* Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987–995, 2009.

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

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Álvaro; SOSA-FERRERA, Zoraida; SANTANA-RODRÍGUEZ, José Juan. Applicability of microwave-assisted extraction combined with LC–MS/MS in the evaluation of booster biocide levels in harbour sediments. **Chemosphere**, v. 82, n. 1, p. 96–102, 2011.

SANTOS, Luciana Dantas Dos. Dinâmica sedimentar e o comportamento sazonal da matéria orgânica no Estuário do Rio Formoso - PE, 2016.

SANTOS, Luciana Dantas Dos; BARCELLOS, Roberto Lima. **Sedimentação atual do Estuário do Rio Formoso - PE (Brasil)**. 2017. v. 1

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

SAPOZHNIKOVA, Yelena; BAWARDI, Ola; SCHLENK, Daniel. Pesticides and PCBs in sediments and fish from the Salton Sea, California, USA. **Chemosphere**, v. 55, n. 6, p. 797–809, 2004.

SAUVÉ, Sébastien. A review of what is an emerging contaminant. **Chemistry Central Journal**, 8v. 8, n. 1, p. 15, 2014.

SCHUMACHER, Brian A. **METHODS FOR THE DETERMINATION OF TOTAL ORGANIC CARBON (TOC) IN SOILS AND SEDIMENTS**.2002. Disponível em: <http://bcodata.whoi.edu/LaurentianGreatLakes_Chemistry/bs116.pdf.

SILVA, Brenno Januario Da *et al.* Assessment of the trophic status in a tropical estuarine system. **Ocean and Coastal Research**, v. 70, p. e22030, 2022.

SILVA, Marcos Honorato Da *et al.* Estrutura sazonal e espacial do microfitoplâncton no estuário tropical do rio Formoso, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 2, p. 355–368, 2009.

SILVA, Janaina Barbosa Da *et al.* Geomorphologic Classification of Estuaries of the State of Pernambuco (Brazil) Based on Landsat 5 TM Images. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 1, p. 118–133, 2011.

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

SOARES, Karina Lotz *et al.* Analytical methods for antifouling booster biocides determination in environmental matrices: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 29, p. e00108, 2021a.

SOARES, Karina Lotz *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, 2021b.

SONAK, Sangeeta *et al.* Implications of the ban on organotins for protection of global coastal and marine ecology. **Journal of Environmental Management**, [*s. l.*], 2009.

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

SOROLDONI, Sanye *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.

STEEN, Ruud J.C.A. *et al.* Monitoring and evaluation of the environmental dissipation of the marine antifoulant 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in a Danish Harbor. **Chemosphere**, v. 57, n. 6, p. 513–521, 2004.

SUGUIO, Kenitiro. Introdução à sedimentologia (1973). n. Edgard Blücher, p. 317, 1973.

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

THOMAS, Kevin V; MCHUGH, Mathew; WALDOCK, Mike. 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.

THOMAS, K; NORWAY, N. The use of broad-spectrum organic biocides in marine antifouling paints. *In*: ADVANCES IN MARINE ANTIFOULING COATINGS AND TECHNOLOGIES. Elsevier, 2009. p. 522–553. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978184569386250020X. Acesso em: 21 jan. 2025.

TSANG, Vic Wing-Hang; LEI, Ngai-Yu; LAM, Michael Hon-Wah. 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, Andrew. Marine pollution from antifouling paint particles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 2, p. 159–171, 2010.

VAN WEZEL, Annemarie P; VAN VLAARDINGEN, P. Environmental risk limits for antifouling substances. **Aquatic Toxicology**, v. 66, n. 4, p. 427–444, 2004.

VIANA, José Lucas Martins *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. 730, p. 139026, 2020.

VIANA, José Lucas Martins. **Distribuição de agentes anti-incrustantes de 3ª geração em distintos compartimentos ambientais na região portuária de São Luís, Maranhão**. 2019.

VIANA, José Lucas Martins *et al.* Occurrence and partitioning of antifouling booster biocides in sediments and porewaters from Brazilian Northeast. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 112988, 2019.

VOULVOULIS, Nikolaos; SCRIMSHAW, Mark D; LESTER, John 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.

WANG, Di *et al.* Concentration and Potential Ecological Risk of PAHs in Different Layers of Soil in the Petroleum-Contaminated Areas of the Loess Plateau, China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 8, p. 1785, 2018.

WANG, Heng *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.

WENTWORTH, Chester K. A Scale of Grade and Class Terms for Clastic Sediments. **The Journal of Geology**, v. 30, n. 5, p. 377–392, 1922.

XUE XU *et al.* Acute toxicity and synergism of binary mixtures of antifouling biocides with heavy metals to embryos of sea urchin Glyptocidaris crenularis. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 8, p. 1009–1021, 2011.

YEBRA, Diego Meseguer; KIIL, Søren; DAM-JOHANSEN, Kim. 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, Eliete; BÍCEGO, Márcia Caruso; WEBER, Rolf Roland. Dissolved/dispersed Petroleum Aromatic Hydrocarbons in the São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 5, p. 410–413, 1999.

ZHANG, Amy 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.

Official Journal of the European Union. Framework for ecological risk assessment - Ecological risk assesment. , v. 11, p. 1663–1672, 1992.