

Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Instituto de Oceanografia

Programa de Pós-Graduação em Oceanologia

**Metais traço potencialmente biodisponíveis
na água de áreas de estaleiros na costa
sudeste e sul do Brasil e a avaliação do
risco ecológico do cobre**

KARELYS MILAGROS UMBRÍA SALINAS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Oceanologia, como parte dos
requisitos para a obtenção do Título
de Mestre.

Orientador: *Prof. Dra.* Mônica Wallner-Kersanach

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil.

Coorientador: *Prof. Dra.* Samantha Eslava Martins

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil.

Rio Grande, RS, Brasil

Setembro, 2019

Metais traço potencialmente biodisponíveis na água de áreas de estaleiros na costa sudeste e sul do Brasil e a avaliação do risco ecológico do cobre

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Oceanologia, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de
Mestre**

por

KARELYS MILAGROS UMBRÍA SALINAS

Rio Grande, Brasil

2019

© A cópia parcial e a citação de trechos desta tese são permitidas sobre a condição de que qualquer pessoa que a consulte reconheça os direitos autorais do autor. Nenhuma informação derivada direta ou indiretamente desta obra deve ser publicada sem o consentimento prévio e por escrito do autor.

UMBRÍA-SALINAS, KARELYS M.

Metais traço potencialmente biodisponíveis na água de áreas de estaleiros na costa sudeste e sul do Brasil e a avaliação do risco ecológico do cobre./ Karelys Milagros Umbría Salinas. – Rio Grande: FURG, 2019.

99p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande. Mestrado em Oceanologia. Área de concentração: Oceanografia Química; Monitoramento Ambiental; Poluição e Ecossistemas Marinhos.

1. DGT; 2. Metais traço; 3. Estaleiros; 4. Ambiente costeiro; 5. Concentração Previsivelmente sem Efeitos (PNEC, *siglas em inglês*); 6. Biodisponibilidade.

Agradecimientos

Primero agradecer a Dios, por cada experiencia vivida e cada aprendizaje, por siempre iluminar nuestros pasos.

Agradecer a Astolfo, que además de ser mi esposo y ser mi roca es mi compañero de metas y logros, por siempre tomarme de la mano y apoyar en cada paso. Gracias por hacer tuyas mis metas, y compartir las tuyas conmigo. Este logro, obtenido juntos, representa un paso más en nuestro largo camino. Amén por todas las cosas buenas que están por venir.

Agradecer a mi mamá, por estar siempre en su ventana esperándonos cada día. Por ser la mejor mamá del mundo, por apoyarnos cuando necesario, y regañarnos de vez en cuando. Por vivir cada experiencia a nuestro lado. Soy lo que soy gracias a ti. Gracias a mi papá y mi madrina por su amor infinito. Gracias a mis hermanos por siempre estar ahí para mí. Gracias a mis suegros por su amor y apoyo siempre, por enseñarnos a seguir siempre adelante.

Agradecer a nuestra *familia en Brasil*, Elias², Karly, Karen, César, Manuel, María y Russell, por su amistad, por las experiencias y aprendizaje. Unos un poco más cercanos que otros, pero gracias a todos por estar siempre. Gracias por ser parte de nuestro crecimiento como personas.

Agradecer à professora Mônica por nos aceitar a cegas, por dizer que sim. Obrigada por ser uma nova mãe para nós. Obrigada pelo conhecimento, pela confiança, pelas experiências, mas também pelo amor e carinho. Obrigada por aceitar ser nossa madrinha. Agradecer ao professor Ralf por também nos brindar sua mão, sua boa disposição e ajuda.

Agradecer a Thayná, quem além de se virar nossa amiga, foi nossa grande ajuda e apoio no laboratório. Obrigada por nos escutar, por sempre estar quando precisámos e pelo mutuo aprendizado.

Agradecer a minha coorientadora Samantha, por todo o conhecimento brindado, pelos conselhos e toda ajuda prestada na realização deste trabalho. Agradecer aos professores Julio e Katia pelo auxílio em campo, à professora

Josefa na realização de algumas análises do presente trabalho. Muito obrigada pela ajuda brindada.

Agradecer á professora Graça, por todo o aprendizado, por seus conselhos e sugestões fora e dentro das aulas. Agradecer ao professor Luis Felipe por sua boa disposição com nós, por brindar sua mão amiga. Agradecer ao professor Carlos, professora Eunice, Edi, Vandeco, Juliana por toda sua ajuda ao longo destes dois anos. Agradecer a Camila, Isadora e a galera do Laboratório de Hidroquímica por sua amizade, seus conselhos e toda a ajuda na realização deste projeto.

Ao programa de Oceanologia, à FURG e ao Brasil pela grande oportunidade de aprendizado, pela oportunidade de seguir fazendo pesquisa e seguir nos formando.

Índice

Agradecimentos	iv
Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	x
Lista de Anexos	xi
Lista de Acrônimos e Abreviações	xii
RESUMO	15
ABSTRACT	17
CAPÍTULO I: Introdução	18
CAPÍTULO II: Objetivos	23
1. Geral.....	24
2. Específicos	24
CAPÍTULO III: Resultados e Discussão (Cobre e avaliação de risco do Cobre)	25
1. Introduction.....	28
2. Materials and Methods	31
2.1. Study area.....	31
2.2. DGTs assembly	34
2.3. Sample collection.....	34
2.4. Chemical Analysis.....	36
2.4.1. Copper labile (Cu-DGT).....	36
2.4.2. Total dissolved copper (Cu-Diss)	36
2.5. Toxicity data.....	37
2.6. Derivation of Predicted No Effect Concentrations (PNEC): Probabilistic Approach using Species Sensitivity Distributions (SSD).....	38
2.7. Risk characterization.....	39
2.8. Statistical analysis.....	39

3.	Results	39
3.1.	Chemical Analysis.....	39
3.1.1.	Physicochemical parameters of estuarine water	39
3.1.2.	Copper labile (Cu-DTG) and total dissolved copper (Cu-Diss).....	41
3.2.	Species Sensitivity Distributions (SSD) curve and Predicted No Effect Concentrations (PNEC) derivation	42
3.3.	Risk characterization.....	44
4.	Discussion	45
4.1.	Copper content in shipyard areas: labile and total dissolved fractions.....	45
4.2.	Risk characterization.....	48
5.	Conclusion and recommendations	52
	CAPÍTULO IV: Resultados e Discussão (Cromo, Níquel e Vanádio).....	54
1.	Introdução	57
2.	Materiais e Métodos	59
2.1.	Montagem das unidades DGT	59
2.2.	Área de estudo e exposição das unidades DGT.....	60
2.3.	Análises Químicas	62
2.3.1.	Fração lábil de metais traço (M-DTG)	62
2.4.	Análises estatísticas.....	63
3.	Resultados e discussão.....	63
3.1.	Parâmetros físico-químicos da água.....	63
3.2.	Fração de metal lábil (M-DTG).....	64
4.	Conclusões e recomendações	71
	CAPÍTULO V: Síntese da Discussão e Conclusões	73
	Síntese da Discussão e Conclusões	74
	Referências bibliográficas.....	76

Anexos.....96

Lista de figuras

- Figure 1.** Study sites in estuarine areas in the southeastern and southern coast of Brazil: A) TM Shipyard (TMS) located at the Conceição Island in Guanabara Bay (RJ); B) P Shipyard (PS) in the margins of the Itajaí-Açu River (SC); C) GFF Shipyard (GFFS), S Shipyard (SS) and Reference Area (Marinheiros Island, MI) in Rio Grande city, located in the southern region of the Patos Lagoon estuary (RS). Satellite images were extracted from Google Earth® in 2019 July. 32
- Figure 2.** (A) Cu-DGT (deployment 48 h) and (B) Cu-Diss concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) in S_1 (■) and S_2 (■) in: TM Shipyard (TMS), P Shipyard (PS), GFF Shipyard (GFFS), S Shipyard (SS) and reference area (Marinheiros Island, MI). Values are reported as mean \pm SE. Samples from each data set (Cu-DGT e Cu-Diss) were compared by t-test ($p<0.05$); the same letters indicate not significant difference, while different letter indicate difference. 42
- Figure 3.** Species Sensitivity Distribution (SSD) curve of dissolved copper for different species inhabiting the Brazilian coastal ecosystem. The toxicity data include only acute values (LC_{50}), and they are reported using the log-normal of toxicity data. 43
- Figura 4.** Concentração lábil ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de Cr-DGT, Ni-DGT and V-DGT nos períodos amostrais S_1 (■) e S_2 (■) nos estaleiros TM (TMS), P (PS), GFF (GFFS) e S (SS), e na área de referência (Ilha dos Marinheiros, MI). Os valores são reportados em média \pm ES. Os valores obtidos para os dois períodos amostrais em cada local foram comparados mediante teste t ($p<0,05$); letras iguais indicam que não existe diferença significativa, enquanto letras diferentes indicam que si existe diferença. 65

Lista de tabelas

Table 1. Mean values of the physicochemical parameters in the water column during every sample period S_1 and S_2 at the different sites.	41
Table 2. Calculated Risk quotients (RQ) during each sample period S_1 and S_2 of the different sites, using the Cu-DGT (RQ_1) and Cu-Diss (RQ_2) fractions as MEC values.	44
Tabela 3. Concentração de metais traço ($\mu\text{g.L}^{-1}$, valores mínimos e máximos) na coluna de água de cada área de estaleiro estudada, comparados com outros locais no mundo.	70

Lista de Anexos

Anexo 1. Concentrações de metais lábeis (fração DGT) na coluna de água. Período amostral 1 (S ₁ ; fevereiro-março 2018).....	96
Anexo 2. Concentrações de metais lábeis (fração DGT) na coluna de água. Período amostral 2 (S ₂ ; julho-setembro 2018).	97
Anexo 3. Concentrações de cobre dissolvido total na coluna de água nos períodos de amostragem 1 (S ₁ ; fevereiro-março 2018) e 2 (S ₂ ; julho- setembro 2018).	99
Anexo 4. Dados ecotoxicológicos utilizados na derivação do PNEC e elaboração da curva SSD.	100

Lista de Acrônimos e Abreviações

A-B-C

AC₅₀ – Concentração de atividade Média-Máxima (Half-Maximal Activity Concentration)

AF – Fator de Avaliação (Assessment Factor)

ATP – Trifosfato de adenosina (Adenosine triphosphate)

Ba – Bário (Barium)

Ca²⁺ – Cátion cálcio (Calcium cation)

Cd – Cadmio (Cadmium)

Cl⁻ – Íon cloreto (Chloride ion)

Cr – Cromo (Chromium)

Cr-DGT – Cromo lábil (DGT) (Labile chromium)

Cu – Cobre (Copper)

Cu₂O – Óxido de cobre (I) (Copper oxide (I))

Cu-DGT – Cobre lábil (DGT) (Labile copper)

Cu-Diss – Cobre dissolvido total (Total dissolved copper)

D-E-F

DGT – Gradiente Difusivo de Fina Membrana (Diffusive Gradients in Thin Films)

DL – Limite de detecção (Detection limit)

EC_x – Concentração de Efeito (Effect Concentration)

Eh – Potencial redox (Redox potential)

ERA – Avaliação de Risco Ecológico (Ecological Risk Assessment)

G-H-I

GF-AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)

HNO₃ – Ácido Nítrico (Nitric acid)

IC – Concentração Inibidora (Inhibitory Concentration)

ICP-OES – Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)

J-K-L

LC_x – Concentração Letal (Lethal Concentration)

LOEC – Concentração de Menor Efeito Observado (Lowest Observed Effect Concentration)

M-N

MEC – Concentração Ambiental Medida (Measured Environmental Concentration)

MDEC – Concentração de Mínimo Efeito Detectável (Minimum Detectable Effect Concentration)

M-DGT – Metal lábil (DGT) (Labile metal)

MI – Ilha dos Marinheiros; área de referência (Marinheiros Island; reference area)

Na⁺ – Cátion sódio (Sodium cation)

NE – Nordeste (Northeast)

Ni – Níquel (Nickel)

Ni-DGT – Níquel lábil (DGT) (Labile nickel)

NOEC – Concentração de Efeito Não Observável (No Observed Effect Concentration)

NTU – Unidade Nefelométrica de Turbidez (Nephelometric Turbidity Unit)

O-P-Q

Pb – Chumbo (Lead)

PNEC – Concentração Previsivelmente Sem Efeitos (Predicted No Effect Concentration)

PS – Estaleiro P (P Shipyard)

R-S-T

RJ – Estado Rio de Janeiro (Rio de Janeiro state)

RQ – Cociente de risco (Risk Quotient)

RQ₁ – Quociente de risco feito com Cu-DGT (Risk quotient made with Cu-DGT)

RQ₂ – Quociente de risco feito com Cu-Diss (Risk quotient made with Cu-Diss)

RS – Estado Rio Grande do Sul (Rio Grande do Sul state)

S – Sul (South)

S₁ – Período amostral 1 (Sampling period 1)

S₂ – Período amostral 2 (Sampling period 2)

SC – Estado de Santa Catarina (Santa Catarina state)

Sn – Estanho (Tin)

SPM – Material Particulado em Suspensão (Suspended Particulate Matter)

SS – Estaleiro S (S Shipyard)

SSD – Distribuição de Sensibilidade das Espécies (Species Sensitivity Distributions)

SW – Sudoeste (Southwest)

TEC – Concentração de Efeito Limiar (Threshold-Effect Concentration)

TGD – Documento de Orientação Técnica (Technical Guidance Document)

TMS – Estaleiro TM (TM Shipyard)

U-V-W

V – Vanádio (Vanadium)

V-DGT – Vanádio lábil (DGT) (Labile vanadium)

W – Oeste (West)

WQC – Critério de Qualidade da Água (Water Quality Criterium)

X-Y-Z

Zn – Zinco (Zinc)

RESUMO

Áreas estuarinas são afetadas por estaleiros, capazes de liberar metais traço que podem permanecer na sua fração potencialmente biodisponível (lábil) em função das mudanças das condições físico-químicas do ambiente. Esta fração representa um maior risco ecológico devido os metais nesta forma serem mais facilmente acumulados pelos organismos. O acúmulo excessivo dos metais, como o Cu, pode gerar efeitos deletérios. Nesse sentido, é importante quantificar a referida fração lábil e combinar estes resultados com os dados de possíveis efeitos em espécies-chave dos ecossistemas, a fim de estimar o possível risco ecológico. Conseqüentemente, no presente estudo foi determinada a fração lábil de Cr, Cu, Ni e V utilizando a técnica de Gradientes Difusivos de Fina Membrana (DGT; *siglas em inglês*) em águas estuarinas de áreas de estaleiros na costa sudeste e sul do Brasil, com condições físico-químicas variáveis. Adicionalmente foi realizada uma Avaliação de Risco Ecológico (ERA; *siglas em inglês*) do Cu integrando dados de exposição (técnica DGT e medidas de Cu dissolvido total na água) com dados ecotoxicológicos e com a derivação da Concentração Previsivelmente Sem Efeito (PNEC) de Cu para espécies aquáticas que ocorrem naturalmente na costa brasileira. As variações nas condições físico-químicas, especialmente salinidade influenciam nas concentrações lábeis dos metais determinadas. Apesar disto, foi possível observar uma relação direta destes metais e as atividades desenvolvidas em áreas de estaleiros como: a aplicação de tintas anti-incrustantes (Cr e Cu) e produtos derivados do petróleo (Ni e V), e a intensidade das atividades desenvolvidas. Adicionalmente, as concentrações lábeis de Cu ultrapassaram o valor de PNEC derivado, representando um alarmante risco ecológico, destacando as áreas de estaleiros como *hotspots* de metais traço. Finalmente, a aplicação da técnica DGT permitiu o desenvolvimento de uma avaliação de risco mais precisa, pelo qual a sua utilização deve ser considerada nas legislações futuras do Brasil.

Palavras-Chave: DGT, metais traço, estaleiros, ambiente costeiro, Concentração Previsivelmente Sem Efeitos (PNEC), biodisponibilidade.

ABSTRACT

Estuarine areas are affected by sites such as shipyards, capable of releasing trace metals that may remain in their potentially bioavailable (labile) fraction due to changes in the environment physicochemical conditions. This fraction represents a greater ecological risk because metals in this form are more easily accumulated by organisms. Excessive accumulation of metals, such as Cu, may generate deleterious effects. In this sense, it is important to quantify this labile fraction and combine these results with the data of possible effects on key ecosystem species to estimate the potential ecological risk. Consequently, in the present study, the labile fraction of Cr, Cu, Ni, and V was determined using the Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) technique in estuarine waters of shipyards areas from the southeast and south coast of Brazil, with varying physicochemical conditions. Additionally, an Ecological Risk Assessment (ERA) of Cu was performed integrating exposure data (DGT technique and total dissolved Cu measurements in water) with ecotoxicological data and with the Cu Predicted No Effect Concentration (PNEC) derivation for naturally occurring aquatic species of the Brazilian coast. Variations in physicochemical conditions, especially salinity, influenced the labile concentrations of the determined metals. Despite this, it was possible to observe a direct relationship between these metals and the activities developed in shipyard areas such as the application of antifouling paints (Cr and Cu) and petroleum products (Ni and V), and the intensity of the activities developed. Additionally, labile Cu concentrations exceeded the derived PNEC value, representing an alarming ecological risk, highlighting shipyard areas as trace metal hotspots. Finally, the application of the DGT technique allowed the development of a more accurate risk assessment, whereby its use should be considered in future Brazilian legislation.

Keywords: DGT, trace metals, shipyard, costal environment, Predicted No Effect Concentration (PNEC), bioavailability.

CAPÍTULO I:

Introdução

Introdução

Os sistemas estuarinos e costeiros favorecem o desenvolvimento de infraestruturas e atividades que sustentam o estabelecimento de grandes populações nas suas margens e áreas adjacentes (Kjerfve, 1994). Conseqüentemente, tem sido demonstrado mundialmente que tais atividades geram uma entrada direta de metais traço nos sistemas aquáticos (Yebra *et al.*, 2004), destacando os processos de manutenção e reparação de embarcações, incluindo a raspagem de organismos dos cascos das embarcações (*biofouling*), lixamento de superfícies e recobrimentos com tintas anti-corrosão e anti-incrustantes (Turner, 2010; Choi *et al.*, 2014). Geralmente as tintas de nova geração contém cobre (Cu) e zinco (Zn) como principais biocidas (Turner *et al.*, 2009; Turner, 2010). Dependendo da tinta, o Cu pode representar entre 40-60% da sua composição total (Turner, 2010), embora, metais como Ba, Cd, Cr, Ni, Pb e Sn estão presentes nestas tintas em uma menor proporção (Turner 2010). Enquanto, que metais como Ni, Pb e V podem ser gerados da queima de combustíveis fósseis e aplicação de produtos derivados de petróleo como graxas e diesel naval, também utilizados na manutenção das embarcações (Pereira *et al.*, 2018).

Uma vez no ambiente aquático, os metais podem acumular-se em vários organismos e, conseqüentemente, gerar efeitos deletérios quando em excesso (Choi *et al.*, 2012). Mais especificamente o Cu (de maior proporção nas tintas), é de grande importância ecológica, principalmente por desempenhar um papel essencial nos processos fisiológicos e metabólicos dos organismos (Eisler, 2010; Pinheiro *et al.*, 2012; Braz-Mota *et al.*, 2018). No entanto, a exposição a altas concentrações de Cu pode ter importantes repercussões negativas aos organismos, como uma diminuição no consumo de oxigênio e na absorção de alguns macronutrientes como Ca^{+2} e Na^{+} (De Boeck *et al.*, 2006; Alsop & Wood, 2011). Portanto, este metal é de grande importância na avaliação de risco ecológico (ERA, siglas em inglês) nos sistemas estuarinos.

Porém, quantificar a concentração total de uma espécie química no ambiente não indica o grau de toxicidade que esta é capaz de gerar. O maior

risco ecológico do Cu e outros metais traço ocorre quando se encontram na sua fração lábil ou potencialmente biodisponível, devido que nesta forma são mais facilmente acumulados pelos organismos (Campbell, 1995).

Neste sentido, tem-se desenvolvido ferramentas precisas que facilitam a determinação da fração lábil dos metais traço, como é a técnica de Gradientes Difusivos de Fina Membrana (DGT, *siglas em inglês*). Essa ferramenta fornece dados integrados no tempo com boa resolução, economizando tempo e custos, quando comparados aos métodos analíticos tradicionais. Além de ter sido demonstrada como adequada para programas regulatórios de rotina (Uher *et al.*, 2017), assim como em locais com fonte localizada de metais traço, como os estaleiros (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009; Costa & Wallner-Kersanach, 2013). Atualmente, está sendo utilizada em ecotoxicologia, mostrando excelentes resultados na previsão da biodisponibilidade do metal e dos efeitos da exposição (Garmo *et al.*, 2003; Simpson & Batley, 2007; Chen *et al.*, 2012).

No entanto, a determinação da concentração da fração lábil, mesmo representando a forma mais potencialmente disponível, não indica se a comunidade biológica é afetada negativamente em um determinado ecossistema. Nesse sentido, é importante combinar a técnica DGT com outras ferramentas, na tentativa de entender a relação entre os níveis de um contaminante e seus efeitos adversos na biota local (Martins & Bianchini, 2011). Entre essas ferramentas, os testes de toxicidade são úteis para uma avaliação mais aprofundada do risco ecológico (Liang *et al.*, 2019; Vašíčková *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019). No entanto, estudos com foco em espécies metálicas são mais escassos e centralizados na avaliação dos sedimentos (Nour *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019), e não na coluna de água (Xiao *et al.*, 2019). Portanto, o acoplamento entre dados de exposição e de toxicidade de um determinado contaminante constituem uma etapa importante durante o planejamento e condução de uma avaliação de risco ecológico.

Por conseguinte, os dados de exposição podem ser avaliados através da análise do analito de interesse (fração lábil ou fração total dissolvida do metal)

no ecossistema estudado, gerando a concentração ambiental medida (MEC, *siglas em inglês*). Enquanto, que os dados de toxicidade (como sobrevivência, desenvolvimento e crescimento de organismos) podem ser agrupados para derivar uma Concentração Previsivelmente sem Efeitos (PNEC, *siglas em inglês*) - definida como a concentração abaixo da qual é improvável que ocorra um efeito inaceitável em organismos expostos de uma comunidade biológica representativa (ECB, 2003; Finizio e Vighu, 2014).

Neste sentido, as áreas costeiras do Brasil abrigam uma grande variedade de espécies representando diferentes taxa pertencentes a diversos níveis tróficos e abrangendo grande número de espécies nativas. Neste sentido, a derivação da PNEC é uma ferramenta importante para ser aplicada em áreas altamente impactadas para avaliar os efeitos ecológicos adversos para a comunidade aquática. Exemplo disto são os estaleiros, capazes de liberar metais traço para as águas estuarinas (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Martins & Monteiro-Neto, 2018), incluindo Cu e Zn na sua fração lábil (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Egardt *et al.*, 2018). No entanto, esta relação não tem sido considerada para outros metais como Cr, Ni e V na coluna de água que também possam ser aportados de forma contínua e direta nestes locais. Adicionalmente, a legislação estabelecida no Brasil, geralmente não considera a fração lábil de metais traço para fins regulatórios, de modo que o estabelecimento do risco ecológico de metais como o Cu, pode estar sendo superestimando. Finalmente, é importante ressaltar que as ERAs não são utilizadas para o estabelecimento ou refinamento de critérios de qualidade em ambientes costeiros brasileiros.

Portanto, neste estudo foi determinada a fração lábil de Cr, Ni e V utilizando a técnica DGT em diversas localidades estuarinas da costa sudeste e sul do Brasil com presença de estaleiros de médio a grande porte. O objetivo foi obter um maior entendimento do comportamento da fração lábil dos metais traço em condições hidrodinâmicas e físico-químicas contrastantes. Adicionalmente, neste estudo foi avaliado o verdadeiro grau de impacto desta fonte localizada de metais traço para os sistemas estuarinos através da integração da técnica de gradientes difusivos em filmes finos (DGT) junto com

a derivação de uma Concentração Previsivelmente sem Efeitos (PNEC) para as espécies aquáticas que ocorrem naturalmente nas costas brasileiras.

CAPÍTULO II:

Objetivos

Objetivos

1. Geral

Avaliar a fração lábil de cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni) e vanádio (V) presente na água de área de estaleiros de médio porte na costa sudeste e sul do Brasil e o potencial risco ecológico para o Cu, considerando suas fontes em relação às tintas anti-incrustantes e produtos derivados de petróleo.

2. Específicos

- ✓ Determinar se ocorrem diferenças nas concentrações da fração lábil de Cr, Cu, Ni, e V em área de estaleiros de porte médio na Baía de Guanabara, Rio Itajaí-Açu e Lagoa dos Patos, através da exposição *in situ* de amostradores do tipo gradiente difusivo de membrana fina (DGT).
- ✓ Avaliar a possível relação dos metais em estudo com os parâmetros físico-químicos (pH, temperatura, condutividade, salinidade e turbidez), em distintas condições hidrológicas (seca e chuva) dos locais de amostragem.
- ✓ Determinar o risco ecológico do Cu nos locais estudados, baseado na derivação da Concentração Previsivelmente Sem Efeitos (PNEC) para a costa brasileira e o estabelecimento de quocientes de risco (RQ).

CAPÍTULO III:

Resultados e Discussão (Cobre e avaliação de risco do Cobre)

Para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Oceanologia, é requerido que o discente realize a submissão de pelo menos um artigo científico como primeiro autor em periódico com corpo indexado. Desse modo, os resultados da pesquisa desenvolvida durante o período de mestrado e a discussão dos resultados serão apresentados em forma de artigo nos capítulos III e IV. O manuscrito, de autoria de Karelys Umbría-Salinas, Astolfo Valero, Samantha Eslava Martins, e Mônica Wallner-Kersanach, intitulado **“Using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) for ecological risk assessments of copper to Brazilian aquatic organisms in shipyard areas”** foi submetido para publicação e encontra-se sob revisão no periódico **“*Science of The Total Environment*”**.

Using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) for ecological risk assessments of copper to Brazilian aquatic organisms in shipyard areas

**Karelys Umbría-Salinas^a; Astolfo Valero^a; Samantha Eslava Martins^{b*};
Mônica Wallner-Kersanach^a**

^aLaboratório de Hidroquímica, Instituto Oceanográfico, Universidade Federal de Rio Grande, 96203-000 Brasil.

^bInstituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Rio Grande, 96203-000 Brasil.

**Corresponding author: samanthamartins@furg.br*

Abstract

The contribution of copper (Cu) into the aquatic environment in shipyard areas comes from vessel maintenance and repair, and the application of new generation antifouling paints to the hulls. Cu is essential to metabolic processes of aquatic organisms, but excessive accumulation generates deleterious effects. In this sense, it is important to quantify the copper labile fraction, which represent the most readily available form, and combine environmental levels with Cu effects on key species of the ecosystems in order to estimate the risk of copper to shipyard areas. Thus, in the present study, copper Ecological Risk Assessments (ERA) to the water of shipyard areas were performed, in southeastern and southern coast of Brazil, by using the Diffusive Gradients in Thin films (DGT) technique, total dissolved Cu measurements, and the derivation of a Predicted No Effect Concentration (PNEC) of copper for aquatic species naturally occurring in the Brazilian coast. The results indicated an increase in both the dissolved and labile Cu concentrations during the application of antifouling paints for vessel maintenance. In locations where more vessels were found, it was observed that the labile Cu (DGT) concentration exceeded PNEC values and may represent an important part of the total

dissolved fraction (up to 93%). Risk characterization, according to the MEC/PNEC ratio, showed that shipyard areas represent high ecological risk. PNEC values, such as calculated for shipyard areas, can be used to refine the current water quality criterion for Cu in estuarine waters in Brazil, strengthening the environmental legislation in order to protect most or all of the local biological community. Finally, coupling between classic ERA tools and the DGT technique provided a more accurate ERA.

Key words: copper speciation, availability, Predicted No Effect Concentration (PNEC), estuary, Brazilian coast

1. Introduction

Estuarine and coastal areas favor the development of infrastructures and activities that support the population establishment on their margins and adjacent areas (Kjerfve, 1994). These environments offer multiple social and economic benefits, highlighting the establishment of ports, marinas and shipyards, as well as the continuous and intense vessel traffic (Berto *et al.*, 2012; Russi *et al.*, 2013). Despite their benefits, it has been shown worldwide that these activities generate direct input of different pollutants -including those of metallic nature- into the aquatic environment (Yebra *et al.*, 2004). These include significant amounts of residues from antifouling paints, abrasives, organometallic films, solvents, oils, resins and metallic compounds (Choi *et al.*, 2012).

In coastal environments, the input of trace metals can be directly associated with vessel repair and maintenance processes, including hull scraping of organisms (biofouling), surfaces sanding and coatings with anti-corrosion and antifouling paints (Turner, 2010; Choi *et al.*, 2014). It is known that part of antifouling paints of new generation include in their composition copper (Cu) and zinc (Zn) as the main biocides (Turner *et al.*, 2009; Turner, 2010). Depending on the antifouling paint, Cu represent between 40-60% of the total composition (Turner, 2010). Cu is of great ecological importance, mainly because it plays an essential role in the physiological and metabolic processes of organisms (Eisler, 2010; Pinheiro *et al.*, 2012; Braz-Mota *et al.*, 2018). However, exposure to high concentrations of Cu can have important negative repercussions on organisms, such as a decrease in oxygen consumption and in the uptake of some macronutrients like Ca^{+2} and Na^{+} (De Boeck *et al.*, 2006; Alsop & Wood, 2011); oxidative stress with effect on the ATP production (Sappal *et al.*, 2015); and problems related to mitochondrial enzymatic activity (Uriu-Adams & Keen, 2005).

Once in the aquatic environment, Cu can accumulate in several organisms, and consequently generate deleterious effects when in excess, to both wildlife and humans (Martins & Bianchini, 2011; Choi *et al.*, 2012).

Additionally, depending on its chemical speciation in the water and the physicochemical conditions of the environment, Cu may generate harmful effects at different magnitudes on a given ecosystem. Particularly, estuaries shelter a wide range of aquatic species, which include important groups such as fish, crustaceans, insects, mollusks, algae, among others. Such biodiversity may be affected by Cu excess, but quantifying the total dissolved concentration (required by regulation processes) of Cu in the environment does not necessarily indicate the degree of toxicity it generates (Martins & Bianchini, 2011). Therefore, it is important to study the Cu labile fraction and its relationship with the ecosystem, since this fraction is easily taken up by organisms. In this sense, tools such as the technique of Diffusive Gradients in Thin films (DGT) (Zhang & Davison, 1995) have been developed for a more accurate determination of the labile fraction.

This technique is used in different fields of research (water quality, chemical speciation, sediment geochemistry, bioavailability and dynamic processes in water and soils) (Pérez & Anderson, 2009; Pesavento *et al.*, 2009; Town *et al.*, 2009; Clarisse *et al.*, 2011); it is based on a passive sampling, which enables to quantify an analyte in its labile form, in terms of mass and subsequent concentration determination (Davison & Zhang, 2012). This tool provides time-integrated data with good resolution, saving time and costs when compared to traditional analytical methods. It is currently being used in ecotoxicology as it has been shown to yield excellent results in predicting metal bioavailability and good interpretations of exposure effects (Garmo *et al.*, 2003; Simpson & Batley, 2007; Chen *et al.*, 2012).

Nevertheless, the determination of the labile fraction concentration of a trace metal, even representing the most readily potential available form, does not indicate if the biological community is negatively affected by the presence of a metallic ion in a given ecosystem. In this sense, it is important combine the DGT technique with other tools in an attempt to understand the relationship between the levels of a contaminant and its adverse effects on the local biota (Martins & Bianchini, 2011). Among these tools, toxicity tests are useful to the

further assessment of ecological risk and have been applied to estimate risk of some organic compounds (Liang *et al.*, 2019; Vašíčková *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019). However, studies focusing on metallic species are scarcer and centralized in sediment studies (Nour *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019), and not in the column of water (Xiao *et al.*, 2019).

Considering that an Ecological Risk Assessment (ERA) is “a process that evaluate the likelihood that adverse ecological effects may occur or are occurring as a result of exposure to one or more stressors” (USEPA, 2008), the coupling between exposure data and toxicity data of a given contaminant constitutes an important step during ERA planning and conduction. Exposure data can be assessed, for instance, through the measurement of the analyte of interest in the studied ecosystem, generating the measured environmental concentration (MEC). Toxicity data can be gathered to derive a Predicted Non Effect Concentration (PNEC) - defined as the concentration below which an unacceptable effect on exposed organisms is unlikely to occur (ECB, 2003; Finizio & Vighu, 2014) - of a representative biological community (ECB, 2003; Finizio & Vighu, 2014). According to Finizio & Vighu (2014), there is no established criterion for PNEC determination, but in literature most of the PNEC are derived based on populational endpoints, such as survival, development and growth of organisms (Jin *et al.*, 2014).

PNEC is important to be applied in highly impacted areas to evaluate de adverse ecological effects for the aquatic community. Brazilian coastal areas are not exempt from many environmental problems, as they present many sources of high-impact contamination, like shipyards, which release Cu into the estuarine waters (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Martins & Monteiro-Neto, 2018). Furthermore, in Brazil there is no control of residues generated by Cu and Zn-based antifouling paints (Paradas & Amado Filho, 2007; Costa *et al.*, 2016), especially in shipyards areas. On top of that, the legislation established in Brazil as well in other parts of the world, usually does not consider the labile fraction of trace metals for regulatory purposes, so that ERAs might be overestimating the potential risk of Cu. Finally, it is important to highlight that

ERAs are not used for the establishment or refinement of quality criteria in Brazilian coastal environments, despite they shelter a wide range of species representing different taxa belonging to different trophic levels and covering many native species.

Consequently, the present study was developed in different estuarine locations along the southeastern and southern coast of Brazil, aiming at understanding the impact of Cu released from shipyard-related activities on these ecosystems and their biological communities. Therefore, the main objective of this study was to perform Ecological Risk Assessments of Cu in these ecosystems, using both the Diffusive Gradients in Thin films (DGT) technique and total dissolved Cu measurements for exposure characterization, and the derivation of a Cu Predicted No Effect Concentration (PNEC) for aquatic species naturally occurring in Brazilian coast for toxicity assessment.

2. Materials and Methods

2.1. Study area

The determination of Cu-Diss and Cu-DGT fractions in water was carried out in three important port areas of southeastern and southern Brazil, on the margins of the estuarine area of the states Rio de Janeiro (RJ), Santa Catarina (SC) and Rio Grande do Sul (RS) (Fig. 1).

In the southeastern region of the country, samplings were carried out in the Guanabara Bay (Niterói, Rio de Janeiro state) at the TM Shipyard (TMS) (22°52'32"S, 43°06'59"W), categorized as a medium-sized shipyard (1500 m²), and located at the Conceição Island. This bay (384 km²), known as the most prominent in Brazil, has an average depth of 5.7 m in their margins and up to 30 m in the inner channel, and the hydrodynamic is mainly dominated by tidal currents (Amador, 1997). The Guanabara Bay shelters different mangrove species, more than 100 plant taxa, more than 68 species of birds (including endangered species), and several groups of crustaceans (Kjerfve *et al.*, 2001).

In spite of its ecological importance, the bay has proven degradation of its waters due to direct discharge of sewage, as well as supersaturation of dissolved oxygen in the surface, while anoxic conditions are found in the water near the bottom (Perin *et al.*, 1997; Carreira *et al.*, 2002; Machado *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2009; Aguiar *et al.*, 2011; Donnici *et al.*, 2012; Da Silva *et al.*, 2014).

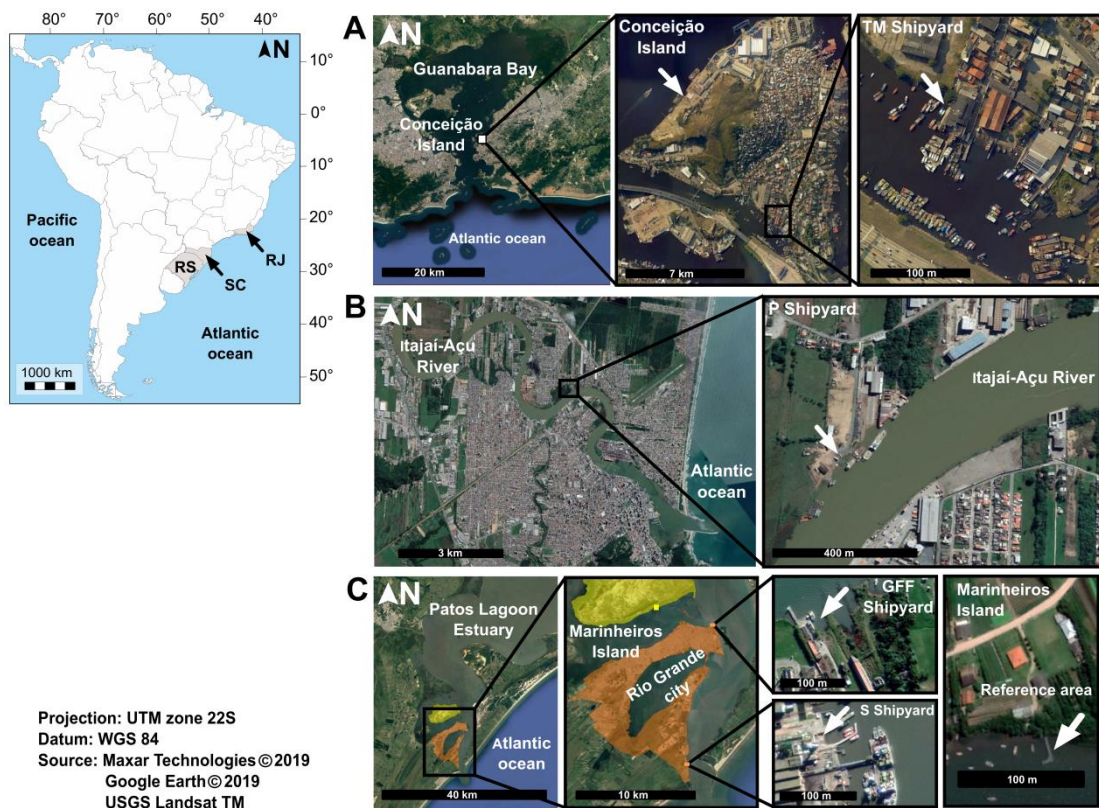


Figure 1. Study sites in estuarine areas in the southeastern and southern coast of Brazil: A) TM Shipyard (TMS) located at the Conceição Island in Guanabara Bay (RJ); B) P Shipyard (PS) in the margins of the Itajaí-Açu River (SC); C) GFF Shipyard (GFFS), S Shipyard (SS) and Reference Area (Marinheiros Island, MI) in Rio Grande city, located in the southern region of the Patos Lagoon estuary (RS). Satellite images were extracted from Google Earth® in 2019 July.

In South Brazil, samplings took place in the Itajaí-Açu River, state of Santa Catarina, and in the Patos Lagoon estuary, in the state of Rio Grande do Sul. In the Itajaí-Açu River (Santa Catarina), the samplings were performed at the P Shipyard (PS) (26°51'55"S, 48°42'23"W), a medium to large-sized shipyard (2589 m²) located in the Volta Grande neighborhood of Navegantes city. The Itajaí-Açu river stands out as one of the largest national fishing center and the main sea route (national and international) of Santa Catarina state, as well as it represents 90% of the flow to the estuary (Schettini, 2002; Pereira-Filho *et al.*, 2010; Frena *et al.*, 2016); It presents semidiurnal micro-tidal regime, influenced by atmospheric pressure and shear stress (Schettini, 2002). The river estuarine margins have mean depths from 5 to 8 m (Schettini, 2002). Besides the economic importance, the system has an important ecological role for the regional coastal zone, presenting a great trophic complexity (Schettini, 2002; Vivan *et al.*, 2009). However, the port activities and the direct sewage discharge, solid waste disposal, and industrial effluents (Pereira-Filho *et al.*, 2003; Poleza *et al.*, 2014) may represent a threat to the ecosystem.

In the southernmost region of the country, samplings were carried out in three areas: two medium-sized shipyards and a reference area. All areas are located in the Patos Lagoon estuary in the vicinities of Rio Grande city (Rio Grande do Sul). GFF Shipyard (GFFS) (32°01'48"S, 52°04'57"W) in the Porto Velho area has over one century of operation, and the S Shipyard (SS) (32°08'44"S, 52°06'8"W) is located in the Super Porto area and has more than 20 years of operation. The reference area at the Marinheiros Island (MI) (32°00'52"S, 52°07'52"W) was selected because there are no shipyards in the area. The Patos Lagoon (10,360 km²) is defined as the largest choked type coastal lagoon in the world, and is notably affected by phenomena such as "El niño" and "La niña" (Kjerfve, 1994). It is characterized by a complex hydrodynamics, which is mainly driven by a NE-SW winds regime and fluvial discharge (Möller *et al.*, 1996; Marreto *et al.*, 2017). The estuary margins receive anthropogenic effluents, including urban, industrial, and agricultural sewage (Odebrecht *et al.*, 2010; Wallner-Kersanach *et al.*, 2016). In addition, the system exhibits a wide variety of flora and fauna, and its complex

hydrodynamics provides, in the periods of greater seawater intrusion, an increase in the biodiversity of the aquatic communities (Seeliger, 2001; Rosa & Bemvenuti, 2005).

2.2. DGTs assembly

All materials used for sample treatment was previously washed (> 24h) with 10% (v/v) nitric acid (HNO₃; Merck) p.a. solution and rinsed with ultrapure water (Milli-Q®, 18.2 MΩcm), whereas Suprapur® nitric acid (HNO₃; Merck) was used for laboratory analyses. All other reagents were of analytical grade (high purity).

The gels required for the Cu determination as well as the assembly of the DGT devices were made at the Hydrochemistry Laboratory of the Federal University of Rio Grande-FURG. The plastic holders of the DGT devices were obtained from DGT Research Ltd. (Lancaster, UK). The devices were assembled according to Zhang & Davison (1995), placing over the base of the plastic holders: (a) a binding gel which retains the analyte (0.5 mm thick); (b) a diffusive layer of polyacrylamide hydrogel (0.8 mm thick), responsible for the entrance only of free metal cations, inorganic complexes and some small organic metal complexes (<0.45 μm); and (c) a cellulose nitrate filter (0.45 μm porosity, 47 mm diameter; Sartorius, Germany) which allows only the metals dissolved fraction from the waterbody to pass into the sampler. The binding gel was prepared with acrylamide (99%), cross-linker agarose (2%), Milli-Q® water, TEMED (N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine, 99%), ammonium persulfate (10%) and Chelex-100 resin in sodium form, according to Zhang & Davison (1995) and Odzak *et al.* (2002), and polystyrene spacers were used. The polyacrylamide hydrogel was prepared with acrylamide (99%), cross-linker agarose (2%), Milli-Q® water and TEMED (N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine, 99%).

2.3. Sample collection

The sample collections and DGT devices deployment were performed during two sampling periods in 2018: (S₁) between February and March,

corresponding to the dry season in Rio Grande do Sul and rainy season in Rio de Janeiro and Santa Catarina; and (S₂) between July and September, which represent the rainy season in Rio Grande do Sul and dry season in the other sampling areas.

In every study area (TMS, PS, GFFS, SS and MI), in the same periods, DGT devices were deployed *in situ* for a period of 48 h, for further quantification of the Cu labile fraction (Cu-DGT). Units were placed approximately at the middle depth of the water column (the mean depth of the sites ranged from 1.1 to 2.0 m), using a deployment system (developed in the Laboratory of Hydrochemistry of FURG), which consists of a polycarbonate plastic plate with a plastic net attached to a silk rope, weighted at the bottom end to avoid drift and buoyancy. At every sampling period, time (seconds) and temperature were precisely controlled (Datalogger, OnSet) during the DGT devices deployment. In addition, the water column parameters salinity and conductivity (WTW, Model 315i), pH (Toledo, Model DM) and turbidity (Digimed, DM-TU) were measured at the beginning and at the end of each sampling. After the deployment periods (48 h), DGT devices were then removed from the water, placed individually in a ziplock® plastic bag, and transported refrigerated to the laboratory. In the first deployment period, 5 DGT devices (n = 25) were deployed in each studied area (one deployment system per shipyard). Whilst in the second deployment period, 9 DGT devices were used in each study area (three deployment systems with three DGT devices of each resin gel, n = 45). Additionally, for every deployment, two additional DGT devices were randomly selected in the field as analytical blanks, but not deployed in the water column. In addition to the DGT deployment, water samples were collected in plastic bottles (previously washed with acid solution), refrigerated and transported to the laboratory for further analysis of the Cu total dissolved fraction.

2.4. Chemical Analysis

2.4.1. Copper labile (Cu-DGT)

In laboratory, the DGT devices were opened and the binding gels were eluted in 1mL of Suprapur® HNO₃ (Merck) according to Zhang & Davison (1995) and subsequently stored under refrigeration (4°C) for at least 24 hours before analysis in a Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy (GF-AAS; Shimadzu, model AA-7000).

The metal mass retained on the binding gel (M) was calculated as described by Zhang & Davison (1995; Eq. 1), considering the concentration measured in the equipment (C_e), the volume of acid from the elution (V_{HNO_3}), the volume of the gel (V_{gel}) and the Cu elution factor (f_e):

$$M = \frac{C_e (V_{HNO_3} + V_{gel})}{f_e} \quad \text{Equation 1}$$

Following, the Cu-DGT concentration (Eq. 2) was calculated from M , total gels and filter thickness (Δg), Cu²⁺ diffusion coefficient retained in the diffusive gel (D), deployment time (t) and the window deployment area (A):

$$Cu_{DGT} = \frac{M \Delta g}{D t A} \quad \text{Equation 2}$$

The thickness of the binding gel and the diffusive gel was confirmed using a digital microscope (1000x); and the Cu²⁺ diffusion coefficient was obtained from DGT Research Ltd. (www.dgtresearch.com), considering the average temperature registered *in situ* at every DGT deployment.

2.4.2. Total dissolved copper (Cu-Diss)

Samples for the Cu-Diss fraction measurement were filtered with cellulose nitrate filters (0.45 µm, 47 mm in diameter, Millipore®) previously washed in acid solution, and then pre-concentrated through their passage in a Chelex-100 micro-column (Bowles *et al.*, 2006). Cu-Diss analyses were conducted by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES; Perkin-Elmer, model DV 2400).

For the analysis of both Cu fractions (DGT and Diss), the analytical control was performed using River Water Certified Reference Material (SLSR-6; National Research Council, Canada). The method accuracy for the Cu-Diss analysis had a variation below $\pm 7\%$; while for Cu-DGT it was below $\pm 15\%$. The detection limits (DL) were determined by measuring a sample 10 times (3σ , with a significance level of 5%). The DL for Cu-DGT was 0.04 and 0.13 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for S_1 and S_2 sampling periods, respectively; whereas, the DL for Cu-Diss was 0.40 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

2.5. Toxicity data

Copper toxicity data for aquatic organisms were obtained using data from naturally occurring species in the Brazilian coast, which had their toxicity tested under estuarine conditions. Toxicity data were retrieved after an exploratory examination, where a preliminary data review was conducted in the large databases Science Direct, Springer, Wiley, and PubMed.

Following, seven journals were chosen because they published the highest number of Cu toxicity data available in the literature: Aquatic Toxicology, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Chemosphere, Ecotoxicology and Environmental Safety, Environmental Toxicology and Chemistry, Science of The Total Environment. A total of 65 peer-reviewed publications (2000-2019) were considered, generating a database of 410 toxicity tests covering 51 species. This compiled ecotoxicological dataset ($n = 410$) consisted of: 3.17% determined the No Observed Effect Concentration (NOEC) and Lowest Observed Effect Concentration (LOEC); 27.10% Effect Concentration (EC_x); 66.10% Lethal Concentration (LC_x); the remaining 3.63% investigated the Inhibitory Concentration (IC), Threshold-Effect Concentration (TEC), Minimum Detectable Effect Concentrations (MDEC), and Half-Maximal Activity Concentration (AC_{50}).

Before proceeding, all data extracted from peer-reviewed publications were checked for reliability through the SciRAP platform (Science in Risk Assessment and Policy; <http://www.scirap.org/>) (Moermond *et al.*, 2016). For

such evaluation, the parameters considered as most important, besides the chemical species tested (Cu) and the exposure condition (reflecting the estuarine conditions observed in this study), were the validity of the criterion/endpoint, the exposure time, and the description of the test organism. Data with great uncertainties and few details were discarded to ensure that only robust and accurate test results were used. In the end of the data analysis, only data which presented a reliability $\geq 75\%$ were used for the PNEC derivation, resulting in 266 CL_x data. When more than one test was conducted for the same species under the same condition, they were combined to generate a unique CL_x value for each species (mean values were used). However, the same species tested in different life stages was considered as separated tests. The final dataset consisted of 18 toxicity tests (CL_{50}), covering 16 species (Annex 4).

2.6. Derivation of Predicted No Effect Concentrations (PNEC): Probabilistic Approach using Species Sensitivity Distributions (SSD)

PNEC was derived using the probabilistic approach, according to the Technical Guidance Document (TGD) of risk assessment of the European Chemicals Bureau (ECB, 2003); the probabilistic method was used because the dataset was robust enough to enable the construction of a Species Sensitivity Distribution (SSD) curve, including more than 15 different species belonging to several ecological groups (ECB, 2003; EC, 2011; Martins *et al.*, 2018). The SSD curve was generated using a cumulative graph of the toxicity values (LC_{50}) algorithmically transformed against the assigned percentiles for every value at which a statistical distribution was adjusted (Wheeler *et al.*, 2002). In detail, the "y-axis" positions in the plot of the SSD curve were determined on the basis of the data classification (i) and the total number of data (n), according to the European Chemicals Bureau (Eq. 3; ECB, 2011).

$$(i - 0.5)/n$$

Equation 3

The ecotoxicity dataset was analyzed using a probability distribution of the ranked log-normal toxicity, thus the PNEC value was derived considering

the hazard concentration to 5% of the species (5%SSD), a 50% confidence interval (50%C.I.) and an appropriate AF ($AF = 10$) (Eq. 4; ECB, 2003).

$$PNEC = \frac{5\%SSD \times 50\%C.I.}{AF} \quad \text{Equation 4}$$

2.7. Risk characterization

Risk quotients (RQ) were calculated for each study area, by dividing the Measured Environmental Concentration (MEC) for the Predicted No Effect Concentration (PNEC) (Eq. 5; ECB, 1996). Risk quotients were calculated using both the Cu-DGT (RQ₁) and Cu-Diss (RQ₂) as MEC values.

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC} \quad \text{Equation 5}$$

Risk was then categorized as low risk ($RQ \leq 0.1$), moderate risk ($0.1 < RQ < 1.0$) and high risk ($RQ \geq 1.0$).

2.8. Statistical analysis

The normal distribution of the data was evaluated by the Shapiro-Wilk test with a significance level of 95%. The differences between sampling periods and among the studied sites were assessed by t-test, with a confidence interval of 95% ($p < 0.05$). For the PNEC derivation the dataset was transformed with $\log(x+1)$. Data processing was performed with the R Core Team Software (2016).

3. Results

3.1. Chemical Analysis

3.1.1. Physicochemical parameters of estuarine water

Mean values of physicochemical parameters are shown in Table 1. Overall, the different parameters showed variations between the sampling periods, except pH and turbidity at TMS and PS sites. The temperature was higher in S₁ when compared with S₂ sampling period. Salinity indicated important seasonal variations for each study area, except for the TMS site (Rio de Janeiro). In the PS site (Santa Catarina), salinity was higher during S₂,

contrary to the study sites of Rio Grande (GFFS, SS and MI sites), where higher salinity was found during S_1 . Turbidity in the Patos Lagoon estuary (GFFS, SS and MI sites) showed higher value during S_2 , while no differences between the sampling periods were found at TMS and PS.

Table 1. Mean values of the physicochemical parameters in the water column during every sample period S₁ and S₂ at the different sites.

Location	Sample Collection (SC)	Temperature (°C)	pH	Salinity	Turbidity (NTU)
TM Shipyard (TMS), Guanabara Bay	S ₁	27.3	7.3	30.1	11.9
	S ₂	23.6	7.8	31.7	10.0
P Shipyard (PS). Itajaí- Açu River	S ₁	24.8	6.2	0.1	20.1
	S ₂	18.0	6.9	18.2	21.1
GFF Shipyard (GFFS). Patos Lagoon Estuary	S ₁	26.4	8.3	31.7	29.0
	S ₂	18.5	7.6	1.0	56.9
S Shipyard (SS). Patos Lagoon Estuary	S ₁	26.2	8.4	32.0	33.1
	S ₂	19.0	8.0	5.6	62.8
Marinheiros Island (MI). Patos Lagoon Estuary	S ₁	26.8	8.5	27.0	5.2
	S ₂	23.2	7.8	1.6	26.3

3.1.2. Copper labile (Cu-DTG) and total dissolved copper (Cu-Diss)

The Cu-DGT concentrations (Fig. 2A) in the water column showed significant variations ($p < 0.05$) with higher levels during S₂ in PS, GFFS and MI. In the TMS site, a significant difference between sampling periods was not found. The SS site presented higher concentration in S₁ period, which was also the highest Cu-DGT concentration found in the present work. In regard of the Cu-Diss fraction (Fig. 2B) significant variations ($p > 0.05$) between sites or between sampling periods were not found, except for GFFS site where a higher Cu-Diss concentration was found during S₂.

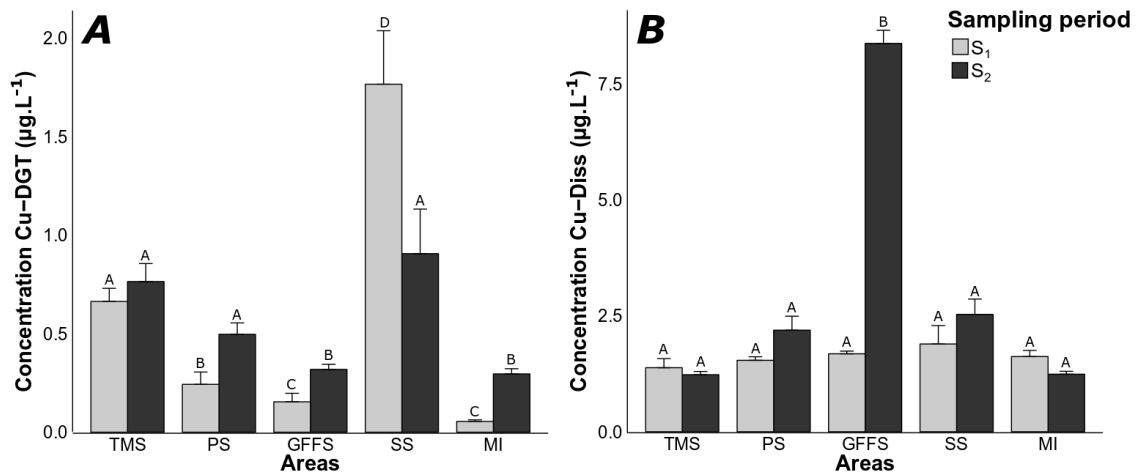


Figure 2. (A) Cu-DGT (deployment 48 h) and (B) Cu-Diss concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$) in S₁ (■) and S₂ (■) in: TM Shipyard (TMS), P Shipyard (PS), GFF Shipyard (GFFS), S Shipyard (SS) and reference area (Marinheiros Island, MI). Values are reported as mean \pm SE. Samples from each data set (Cu-DGT e Cu-Diss) were compared by t-test ($p < 0.05$); the same letters indicate not significant difference, while different letter indicate difference.

3.2. Species Sensitivity Distributions (SSD) curve and Predicted No Effect Concentrations (PNEC) derivation

The PNEC derivation was performed from LC₅₀ values (acute data) rather than using available chronic data, because chronic values, even representing more than 3% of the initial data (410), did not composed a dataset that meets the minimum requirements for PNEC derivation and an SSD curve construction, especially the coverage of the minimum required taxonomic groups. An SSD was plotted based on the LC₅₀ for 16 species (Fig. 3), distributed in the families Amphiridae, Brachionidae, Cyprinidae, Cyrenidae, Daphniidae, Hyalellidae, Poeciliidae, Potamidae, Ranidae, Salmonidae, Squalidae and Varunidae within the phyla Annelida, Arthropoda, Chordata and Rotifera of the kingdom Animalia; and the families Araceae and Ceramiaceae of the phyla Rhodophyta and Tracheophyta of the kingdom Plantae. The resultant PNEC was 0.16 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

The SSD plot represents the fraction of species that would be potentially affected as function of the dissolved Cu concentration in water. The PNEC value indicates the dissolved Cu concentration, in which 95% of the ecosystem community would be protected from acute effects, extended to protection from chronic effects with the use of an assessment factor (AF). The Amphipod *Hyalella pseudoazteca* and the red algae *Ceramium tenuicorne* were the most sensitive species to Cu, whereas *Callinectes sapidus* and *Neohelice granulata* (juvenile stage) crustaceans were the least sensitive species (Fig. 3).

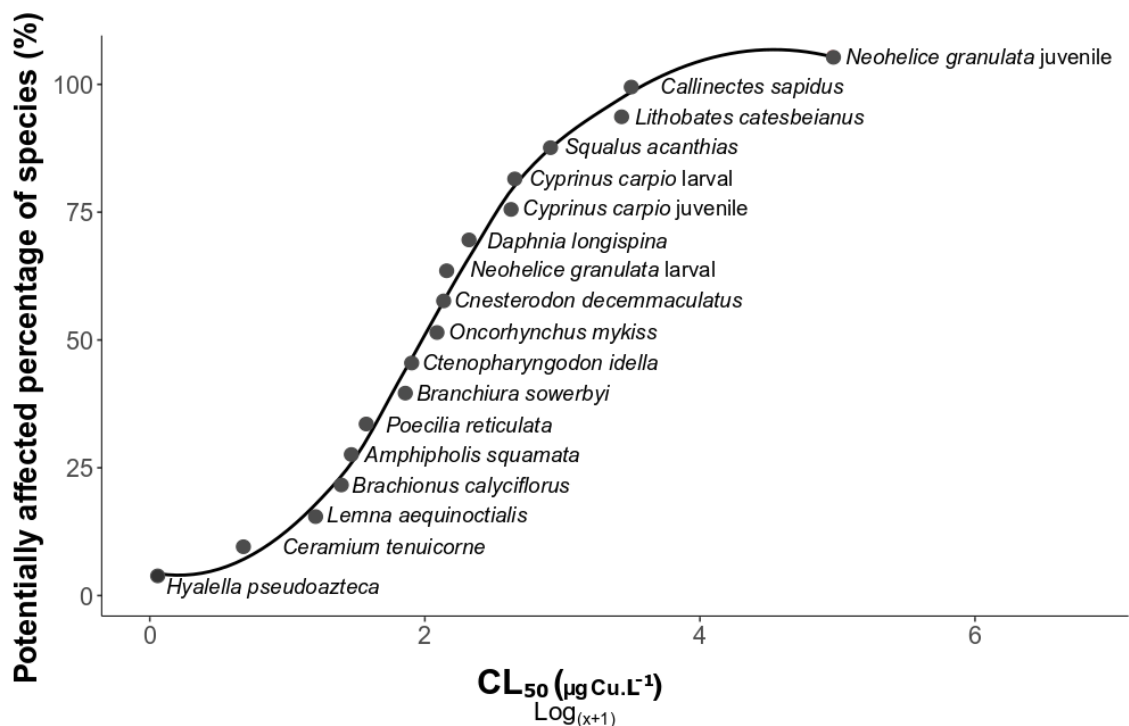


Figure 3. Species Sensitivity Distribution (SSD) curve of dissolved copper for different species inhabiting the Brazilian coastal ecosystem. The toxicity data include only acute values (LC₅₀), and they are reported using the log-normal of toxicity data.

3.3. Risk characterization

Risk characterization and risk category, for each site, are shown in Table 2. Based on the Cu-DGT concentration as MEC, risk (RQ_1) was found to be high in most sampling areas and periods, including the reference area during S_2 . When the risk was based on Cu-Diss concentration as MEC (RQ_2), a very high risk was found in all study areas.

Table 2. Calculated Risk quotients (RQ) during each sample period S_1 and S_2 of the different sites, using the Cu-DGT (RQ_1) and Cu-Diss (RQ_2) fractions as MEC values.

Location	Sample Collection (SC)	Risk characterization (MEC = Cu-DGT)			Risk characterization (MEC = Cu-Diss)	
		RQ_1	Risk category		RQ_2	Risk category
TM Shipyard (TMS), Guanabara Bay	S_1	4.1	>1	High	8.6	>>1 High!
	S_2	4.7	>1	High	7.7	>>1 High!
P Shipyard (PS), Itajaí-Açu River	S_1	1.5	>1	High	9.6	>>1 High!
	S_2	3.1	>1	High	13.7	>>1 High!
GFF Shipyard (GFFS), Patos Lagoon Estuary	S_1	0.9	<1	Moderate	10.5	>>1 High!
	S_2	2.0	>1	High	52.3	>>1 High!
S Shipyard (SS), Patos Lagoon Estuary	S_1	11.1	>>1	High!	11.8	>>1 High!
	S_2	5.7	>>1	High!	15.8	>>1 High!
Marinheiros Island (MI), Patos Lagoon Estuary	S_1	0.3	<1	Moderate	10.1	>>1 High!
	S_2	1.9	>1	High	7.7	>>1 High!

4. Discussion

4.1. Copper content in shipyard areas: labile and total dissolved fractions

Salinity, pH and turbidity values (Table 1) in Rio Grande sites (GFFS, SS and MI) are within the same range as previously reported for the Patos Lagoon estuary in different sampling periods (Windom *et al.*, 1999; Costa & Wallner-Kersanach, 2013). Similarly, the pH and temperature values at the TMS site were comparable with values determined in previous studies, such as Aguiar *et al.* (2011) which indicated pH and temperature values of 7.30 and 26.9°C, respectively. The PS site, contrary to sites within Patos Lagoon, showed higher salinity values in dry season (S_2) when compared to rainy season (S_1). These values agree with previous measurements reported by Pereira-Filho *et al.* (2010) (salinity = 16) and Oliveira *et al.* (2010) (salinity from 11 to 22). It is important to highlight that the Itajaí-Açu River basin was affected by heavy rainfall during the week before the first sampling period (S_1), thus generating a decrease of the dissolved salt content in water during the sampling, due to the increase of the freshwater flow.

In regard of the Cu-DGT concentrations determined in this study (Fig. 2), the following descending order of concentrations was found for the study areas: SS>TMS>PS>GFF>MI in both periods. The TMS site did not showed significant differences ($p>0.05$) in Cu-DGT concentrations between sampling periods (Fig. 2A), probably related to low variations in the water physicochemical parameters (Table 1), since the study area is a bay. In contrast, the significant differences ($p<0.05$) observed in the other study sites reflect the larger variations in the physicochemical conditions at these estuarine sites, with special attention to salinity and pH. Thus, higher concentrations of Cu-DGT in estuarine waters of the Patos Lagoon estuary were observed during S_2 , with exception of the SS site, and agree with lower salinity values. Salinity had already been reported as

one of the major factors responsible for the availability of labile Cu in estuarine waters of the Patos Lagoon estuary (Costa & Wallner-Kersanach, 2013).

During the deployment time in S₁ period at SS site and S₂ period at PS site (higher salinity values and lesser precipitations), the greatest vessels maintenance activity was observed, reflecting in higher Cu-DGT concentrations. Indeed, SS site has been reported as one of the most active shipyards at the Patos Lagoon estuary (Costa *et al.*, 2016; Soroldoni *et al.*, 2018). Therefore, the Cu input in these shipyards may be high enough to predominate over the effects of the physicochemical parameters on the Cu labile fraction mobility. In detail, the high Cu-DGT concentration at SS and very significantly different ($p < 0.01$) from the other sites, was observed during S₁, when freshly painted vessels were moored in the area.

Authors such as Singh & Turner (2009) have reported, from laboratory experiments with simulated environmental conditions, that antifouling paints tend to leach larger quantities of Cu ions to the surrounding water when the salinity is higher in the environment, and attributed it to dissolution processes of the copper oxide (I) (Cu₂O) from antifouling paints, in the presence of chloride ion (Cl⁻) and seawater cations (Singh & Turner, 2009). However, the end products of these processes generate compounds that are not completely stable (CuCl²⁻ and CuCl₃⁻²), so the associated Cu can dissociate (Howell & Behrends, 2006; Singh & Turner, 2009). Consequently, an increase in the proportion of labile Cu (copper free ions and weak inorganic complexes) may be generated, which is diffused into the binding gel of DGT devices during periods of deployment.

Comparing Cu labile concentrations obtained in this study with those reported by other authors, the results were similar to those previously reported for marinas and shipyards at the Patos Lagoon estuary (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009; Costa & Wallner-Kersanach, 2013), as well as in leisure areas with constant vessels traffic in Sweden during the summer (Edgardt *et al.*, 2018). However, with exception of the SS site, Cu labile concentrations in the studied

area showed to be lower than in ports and marinas in Spain (Montero *et al.*, 2013) and France (Caro *et al.*, 2015).

The concentration of Cu-Diss was similar in all sampling sites and periods, except for the GFFS site, where a significant difference ($p < 0.05$) from the other study sites was found in the S₂ period. High Cu-Diss concentration at the GFFS site may be related to the high turbidity values (56.9 NTU) observed during this period. In this estuary, high freshwater discharges and changes in wind patterns provide a decrease in dissolved salts and favor sediment resuspension processes (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009) that could remobilize metals to the overlaying water column (Seitzinger *et al.*, 2010), increasing the total dissolved copper content. Additionally, studies have reported important Cu content in the sediment of this site (Costa *et al.*, 2016), that could be easily released into the water column under variations in physicochemical conditions.

Although turbidity values at SS site (62.8 NTU) were similar to GFFS during the S₂ period, the SS site is closer to the central channel of the Patos Lagoon estuary, thus the shipyard area has a higher hydrodynamics, a deeper water column, and coarser sediment in the surroundings, which decreases the resuspension of particulate material. Meanwhile, the GFFS site has a more sheltered morphology and a shallower water column, which provides a higher sediment resuspension. In fact, when high suspended particulate matter content (SPM) is found, a decrease in the Cu-DGT is observed (Costa & Wallner-Kersanach, 2013). This is concordant with the low Cu-DGT concentrations determined at this location compared to its dissolved fraction.

Except for GFFS in the S₂ period, Cu-Diss values obtained were up to twice as lower than values reported for the Venezia Lagoon estuary, a site with high discharge of domestic and industrial sewage (Morabito *et al.*, 2018). The same is observed when compared with the results described for marinas in the coast of California (Schiff *et al.*, 2007), as well in various locations in the northern coast of Australia (Munksgaard & Parry, 2001). On the other hand, the Cu-Diss concentration was higher than those reported for Sydney Harbor in

Australia (Hatje *et al.*, 2003), a highly urbanized area that includes harbors, marinas, paint industries and continuous vessel traffic.

When comparing Cu-DGT and Cu-Diss concentrations for every sampling period, it is noted that the dissolved fraction exceeds the labile fraction (between 2 and 32 times more), which is to be expected since the labile fraction is part of the total dissolved fraction. Nevertheless, the Cu-DGT fraction represents a higher proportion of Cu-Diss (between 22-62%) during low salinity period, except at the GFFS site where it only represented 2%. Meanwhile, the opposite is observed during high salinity period (3-48%), except at SS site, where Cu-DGT represents 93% of Cu-Diss fraction.

4.2. Risk characterization

Different representative organisms of diverse ecosystems niches were used for the construction of a Species Sensitivity Distribution (SSD) curve (Fig. 2) and the resulting probabilistic derivation of PNEC. This tool is increasingly being used in Ecological Risk Assessments since it allows a high statistical reliability in risk assessment procedures (Wheeler *et al.*, 2002; Fan *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019). In this study, an ecotoxicity dataset of 16 species distributed in different ecological groups were used for SSD and PNEC derivation: (1) algae; (2) amphibia in larval phase; crustacean in larval (3) and juvenile (4) phase; (5) others invertebrates; (6) macrophyta; (7) zooplankton (other than crustaceans); and (8) fish. Considering that all toxicity tests used were highly reliable ($\geq 75\%$), and the number of species (preferably more than 15) and taxonomic groups (at least 8 taxonomic groups) met the minimum criteria for derive PNEC based on SSD curves (ECB, 2003), the resultant PNEC can be considered robust for Brazilian estuarine ecosystems. In addition, it should be taken into account that in the present study, ecotoxicological dataset relied on results from toxicity tests performed within a wide range of salinity (5-38) to better reflect estuarine conditions.

When deriving a PNEC, it is recommended to base the toxicity dataset on chronic data, since they offer greater robustness and allow statistical extrapolations to be performed with higher accuracy. Additionally, chronic

values are more representative of natural systems, where the water body is continuously receiving low concentrations of pollutants (Finizio & Vighu, 2014). However, the validity of using acute data is also recognized, mainly due to the scarcity of chronic data (Wheeler *et al.*, 2002; Finizio & Vighu, 2014; Martins *et al.*, 2018). Huang *et al.* (2018) concluded that when PNEC derivation comes from acute data, it should only be based on the most sensitive endpoints of each species. Due to the current dataset being restricted to Brazilian coastal organisms, data were insufficient to generate a robust chronic dataset, so that an assessment factor (AF) was used to allow extrapolations from acute to chronic conditions. AF are defined as uncertainty factors, which are based on the precaution principle, considering that risk assessments may have multiple sources of uncertainty related to the huge variability of ecological communities that are intended to be protected (ECB, 2003). The size of the AF depends on the robustness of the dataset (EC, 2011; Martins *et al.*, 2018). The lower the amount or reliability of available data, the greater the AF applied (Finizio & Vighu, 2014). In this sense, Martins *et al.* (2018) indicate that because the probabilistic approach is more comprehensive, the degree of uncertainty of the generated data is reduced yielding a more realistic result when using a low AF value. In the present study, an AF of 10 was used since different ecological groups were used, allowing a good portrait of the whole ecosystem.

It is worthy to mention that site-specific probabilistic PNECs, as the one considered in the present study, usually relies on the use of species not standardized in the scope of international guidelines in order to generate a complete and robust dataset. The suitability in using non-standard species was checked based on the reliability of the toxicity tests performed, and only tests whose reliability was $\geq 75\%$ were used in the dataset. Moreover, the use of site-specific PNECs which embrace a more comprehensive dataset of naturally occurring species, allows to establish accurate hazard assessment adjusted to the characteristic of a specific system. Hence, the PNEC derived in this study covered species that occur naturally in the Brazilian coast and could be extrapolated to areas other than those affected only by vessel maintenance.

The integration of Cu-DGT or Cu-Diss concentrations (exposure data) with the PNEC (toxicity data) allows the actual risk of copper to be calculated for each studied area, within the scope of the ecological risk assessments (ERA). In the present study, the risk quotient (RQ_1) of each study area was calculated based on the Cu-DGT concentrations (Table 2), aiming to obtain a more realistic evaluation. In this sense, it is important to highlight that the DGT concentrations reported in this paper indicate the average labile Cu concentration during continuous 48 h deployment of the DGT devices, being representative for the studied areas. In addition, risk quotients were also calculated using Cu-Diss concentrations (RQ_2), resulting in overestimation of the ecological risk (Table 2), as expected; hence, the risk characterization was more realistic when Cu-DGT concentrations were used.

The RQ_1 showed the highest risks at the TMS and SS sites, where a larger number of vessels under maintenance was observed during the deployment time when compared to the other study sites. Taking into account that the Cu-DGT concentration represents almost entirely the Cu-Diss fraction (93%) at the SS site, and the risk quotients (RQ_1) showed the most alarming risk (5.7-11.0), it can be asserted that SS brings the highest risk of Cu among all the studied shipyard areas. In other words, concentrations of labile Cu in Brazilian coastal areas with the presence of *hotspots* (shipyards as a source of metals) effectively represent an alarming risk to 95% of the aquatic community inhabiting the area.

Further studies should be conducted to investigate if risk may be increased even more by the presence of other trace metals, such as Zn, since high concentration of the labile fraction of this metal has been previously reported at SS site (Costa & Wallner-Kersanach, 2013). Laboratory studies have shown that Cu and Zn (major compounds in antifouling paints) have a synergistic effect on the toxicity to the copepod *Acartia tonsa* (Soroldoni *et al.*, 2018).

The risk assessments performed in this study should be evaluated with care and could be cataloged as a preliminary evaluation, bringing to light the

importance of using ERA as a tool for a more comprehensive understanding of the real impact of metals in hotspots areas such as shipyards. This study was carried out using measured concentrations from punctual sampling surveys and do not consider temporal series from a continuous monitoring, despite the DGT passive sampler is able to integrate the labile concentration during the deployment time. Anyhow, it provided important results showing priority areas for further studies using higher tiers of ERA, in which DGT devices should be continuously used for the monitoring of shipyard areas where high risks are found to better understand the complex hydrodynamics of these estuaries that could largely affect the Cu potential bioavailability.

The most sensitive species to copper was the crustacean *Hyalella pseudoazteca* ($LC_{50} = 0.17 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by the macrophyta *Ceramium tenuicorne* (Fig. 2). The least sensitive species were the decapod crustaceans *Callinectes sapidus* and *Neohelice granulata* in the juvenile stage, while organisms with a moderate sensitivity (middle curve area) were mainly represented by fish and some invertebrates (including some species of crustaceans). The fact that *H. pseudoazteca* could be the most sensitive species to Cu in water has important implications, as this amphipod can represent an essential part of the ecosystem food web by serving as food at the lowest trophic levels (Casset *et al.*, 2010), especially during periods of low salinity. Regarding the macrophyta *C. tenuicorne*, Eklund (2017) demonstrated that the organism is highly sensitive to compounds released in areas of shipyards and ports, and therefore affected. Likewise, this author concludes that the referred species is important ecologically, due to its wide distribution around the world, being the most common species of red algae in the Baltic Sea. It should be emphasized that the most sensitive species to Cu were tested under low salinity conditions. In the present study, ecotoxicity results from exposure to different salinities were gathered for the SSD curve and PNEC derivation. Therefore, further studies reflecting low salinity estuarine conditions may generate datasets reflecting the worst-case scenario, in which copper toxicity is higher. To date, reliable ecotoxicity tests performed at low salinities

(using diluted seawater) are scarce but could improve the understanding of the Cu toxicity in highly dynamics environments such as estuaries.

Finally, it is worthy to mention that Brazilian legislation established the concentration of $7.8 \mu\text{g.L}^{-1}$ as the water quality criterium (WQC) for dissolved copper in estuarine waters where shipyards are installed (CONAMA, 2005). That means that, based on dissolved copper concentration found in the present study regardless the study area (Fig. 2), Cu concentrations released into those areas are to be considered safe meaning that no studied shipyard would be considered to affect the local aquatic biodiversity. Nevertheless, when biological responses to Cu are also taken into account, as shown by the use of ERA in this study, results showed that the environmental concentrations of the Cu labile fraction represent from moderate to high ecological risk in all studied areas, while the dissolved copper concentrations indicate high risk. That brings to light the importance of performing ERA based on sound-science to derive water quality criteria and support management actions. Especially in developing countries, where quality standards (if available) are usually based on the total or dissolved concentration of Cu and other trace metals, without taking into account other important factors such as metal speciation or the representative biological species of each system, which may jeopardize the protection of biodiversity.

5. Conclusion and recommendations

In the present study, Ecological Risk Assessments of Cu for estuarine environments of the southeastern and southern coast of Brazil were performed by coupling the Diffusive Gradients in Thin films (DGT) technique, the total dissolved Cu content in water and the derivation of a PNEC encompassing aquatic species occurring in Brazil. Cu-DGT and Cu-Diss concentrations determined in the present study showed a direct relationship of Cu with the application of antifouling paints and the maintenance of vessels. In sites where more vessels were present during the sampling periods, it was observed that the labile Cu (DGT) concentration represented up to 93% of the total dissolved fraction, increasing the risk to the local aquatic community. Additionally,

although Cu-DGT and Cu-Diss concentrations in the water of the shipyard areas were similar or lower than those reported for other contaminated estuarine waters, they exceeded the PNEC value and resulted in risk quotients representing moderate to high risk, indicating that these shipyard areas pose ecological risks to a large number of species in estuarine systems, important nursery areas for them. The use of the DGT technique provided a more accurate risk assessment and should be considered for implementation in future legislation. However, further studies are necessary for a more comprehensive ERA taken into account the complex hydrodynamics of estuarine areas throughout time and space.

The PNEC and the potential ecological risk that Cu represents for the studied areas (shipyards on the southeastern and southern coasts of Brazil) could be extrapolated along the Brazilian coast. Thus, the derived PNEC could help to establish a more realistic value of the permissible content of dissolved Cu in estuarine waters that ecosystems are able to support without severe deleterious effects, refining current values aiming at protecting a larger percent of the biological community.

Finally, considering that antifouling paints are able to release Cu and other metals such as Cr, Ni and Zn present in the paint composition (Costa *et al.*, 2016; Soroldoni *et al.*, 2018), it is important to perform ERAs of these elements to areas with similar characteristics, highlighting the suitability of using the DGT technique to determine the labile fraction of these elements.

Acknowledgements

The authors would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; project no. 45501/2014-5 APQ) for providing financial support and Coordination of Personnel of Superior Level Improvement (CAPES) for the research grants of Karelys Umbría-Salinas and Astolfo Valero.

CAPÍTULO IV:

Resultados e Discussão (Cromo, Níquel e Vanádio)

O manuscrito, de autoria de Karelys Umbría-Salinas, Astolfo Valero, Mônica Wallner-Kersanach, Carlos Ferreira de Andrade, Maria Josefa Santos Yabé, Julio César Wasserman, Katia Kuroshima e Hao Zhang, intitulado **“Labile metal assessment in water using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) in shipyard areas of the southeastern and southern Brazilian coast”** será submetido para publicação em periódico científico.

Labile metal assessment in water using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) in shipyard areas of the southeastern and southern Brazilian coast

**Karelys Umbría-Salinas^a; Astolfo Valero^a; Mônica Wallner-Kersanach^a
Carlos Ferreira de Andrade^a; Maria Josefa Santos Yabe^b, Julio Cesar
Wasserman, Katia Kuroshima; Hao Zhang^e**

^aLaboratório de Hidroquímica, Instituto Oceanográfico, Universidade Federal de Rio Grande, 96203-000 Brasil.

^bDepartamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, 86051-990 Brasil.

^cInstituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, 24030-346 Brasil.

^dCentro Tecnológico de Ciência da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí, 88302-202, Brasil.

^eLancaster Environment Centre, Lancaster University, LA1 4YQ, UK.

**Corresponding author: monicawallner@furg.br*

Resumo

Áreas estuarinas são afetadas pelas atividades desenvolvidas nos estaleiros, capazes de liberar metais traço que podem permanecer na sua fração potencialmente biodisponível. Esta fração representa um maior risco ecológico devido aos metais, na forma de íons livres ou fracamente complexados, serem mais facilmente acumulados pelos organismos. No entanto, a relação entre o aporte continuado e direto destes metais e sua especiação na coluna de água tem sido escassamente estudada. Conseqüentemente, neste estudo foi determinada a fração lábil de Cr, Ni e V utilizando a técnica de Gradiente Difusivo de Fina Membrana (DGT, *siglas em inglês*) em diversas localidades estuarinas da costa sudeste e sul do Brasil,

com presença de estaleiros de médio a grande porte e com condições físico-químicas distintas. O objetivo foi de obter um maior entendimento do verdadeiro grau de impacto desta fonte localizada de metais traço para os sistemas aquáticos. A técnica DGT foi capaz de determinar metais traço (Cr, Ni e V) na sua fração lábil, provenientes da liberação dos resíduos das tintas anti-incrustantes, uso de ligas de aço no casco de embarcações e produtos derivados do petróleo. O maior conteúdo da fração lábil dos metais ocorreu nos períodos de maior reparo de embarcações e maior tráfego de embarcações. Variações na fração lábil de Ni e V nas águas da Lagoa dos Patos mostraram estar influenciadas por mudanças da salinidade. O processo de desorção de metais provenientes da remobilização de sedimentos superficiais é um mecanismo chave na especiação de metais traço neste estuário. Porém, o Cr parece ser rapidamente complexado evitando representar um risco ecológico para os sistemas. Apesar dos locais terem condições físico-químicas diversas, e podendo ser estas condições amplamente variáveis entre períodos sazonais, foi observado que efetivamente os locais de estaleiros podem ser categorizados como um *hotspot* de metais traço nas suas frações lábeis para diversos sistemas estuarinos do sudeste e sul do Brasil e o risco ecológico para estes locais deve ser estudado.

Key words: trace metals, DGT, estuary, availability, Brazilian coast.

1. Introdução

A poluição por metais traço em ambientes aquáticos resulta em uma das principais problemáticas ambientais, de saúde pública e econômicas na atualidade (Desaulty *et al.*, 2016). Os metais podem se acumular em diversos organismos, e conseqüentemente gerar efeitos deletérios nos mesmos, e assim afetar outras formas de vida, incluindo os seres humanos (Choi *et al.*, 2012). Especificamente, estes elementos podem ter múltiplas fontes tanto naturais quanto antrópicas, sendo conhecido que alguns deles podem atingir os sistemas estuarinos através de processos de reparação de embarcações, especialmente com a cobertura dos cascos com tintas anti-corrosão e anti-incrustantes (Turner, 2010). A nova geração destas tintas, contem na sua composição, principalmente cobre (Cu) e zinco (Zn) (Turner *et al.*, 2009; Turner, 2010), embora, metais como Ba, Cd, Cr, Ni, Pb e Sn estão presentes nestas tintas em uma menor proporção (Turner, 2010). Metais como Ni, Pb e V podem ser gerados da queima de combustíveis fosseis e aplicação de outros produtos derivados de petróleo como graxas e diesel naval (Pereira *et al.*, 2018), além do Cr, Ni e V estarem presentes nas ligas de aço presentes na composição de embarcações com casco de aço. Conseqüentemente, foi demonstrado a contribuição de metais, como Cu e Zn na sua fração lábil, a partir de tintas anti-incrustantes em águas estuarinas (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Egardt *et al.*, 2018). No entanto, não se possui conhecimento da concentração de outros metais traço na coluna de água, que também possam ser aportados de forma contínua e direta nestes locais.

O maior risco ecológico dos metais traço ocorre quando os mesmos se encontram na sua fração lábil ou potencialmente biodisponível, devido que na forma de íons livres ou estando fracamente complexados são mais facilmente acumulados pelos organismos (Campbell, 1995). Desta forma, dependendo da sua especiação química e das condições físico-químicas na coluna de água, os metais podem gerar maior ou menor grau de efeitos prejudiciais em determinado sistema. Portanto, quantificar a concentração total de uma espécie química no ambiente não indica necessariamente o grau de toxicidade que esta é capaz de gerar (Martins & Bianchini, 2011). Adicionalmente, a coleta de

amostras de água somente permite obter apenas a composição da água em um momento específico, não tendo em consideração mudanças nas condições do ambiente que possam ser causadas pela própria liberação dos metais, produto das atividades antrópicas (Desaulty *et al.*, 2016).

Neste sentido, tem-se desenvolvido ferramentas mais precisas que facilitam a determinação da fração lábil dos metais traço, como é a técnica de Gradientes Difusivos de Fina Membrana (DGT, *siglas em inglês*). Esta é uma técnica de amostragem passiva muito dinâmica capaz de fornecer uma medida quantitativa *in situ* e integrada no tempo das espécies de metais lábeis presentes em sistemas aquosos na forma de íons livres ou fracamente complexados (Zhang & Davison, 1995; Davison & Zhang, 2012). Assim, os dados obtidos permitem economizar tempo e custo em comparação com métodos tradicionais e os efeitos da matriz no processo analítico são diminuídos (Uher *et al.*, 2017). Outra vantagem é que por ser uma amostragem passiva permite ser mais adequada para o seu uso em programas regulatórios de rotina, diferentemente das técnicas analíticas mais clássicas (Uher *et al.*, 2017), como a voltametria, utilizada para a determinação da especiação de metais na água (Abualhaija *et al.*, 2015). Consequentemente, a técnica DGT já tem sido utilizada em ambientes estuarinos com condições hidrodinâmicas complexas e físico-químicas muito variáveis, assim como em locais com fonte contínua e localizada de metais traço, como marinas, portos e estaleiros (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009; Costa & Wallner-Kersanach, 2013).

Tais ambientes estuarinos nas áreas costeiras brasileiras, não são isentos da problemática de contaminação das águas por metais traço, tendo sido identificados os estaleiros como locais de alto impacto com relação a liberação de Cu e Zn para o ambiente, como constatado no sul da Lagoa dos Patos (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Costa *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2018). Adicionalmente, torna-se importante o estudo da fração lábil de metais traço em outros locais estuarinos, para comparar o comportamento destes elementos em diferentes sistemas aquáticos. Portanto, neste estudo foi determinada a fração lábil de Cr, Ni e V utilizando a técnica DGT em diversas localidades estuarinas da costa sudeste e sul do Brasil com presença de estaleiros de

médio a grande porte e com condições físico-químicas distintas. O objetivo do presente estudo foi obter um maior entendimento do comportamento destes metais lábeis aportados por esta fonte localizada de elementos para as áreas de estaleiros com condições hidrodinâmicas e grau de impacto distintos.

2. Materiais e Métodos

2.1. Montagem das unidades DGT

Todo o material utilizado na preparação das unidades DGT e na etapa de tratamento de amostras foi previamente lavado (>24h) com solução 10% (v/v) de ácido nítrico (HNO₃) (Merck) p.a e água ultrapura (Milli-Q® 18.2MΩcm). Para as análises químicas foi utilizado (HNO₃) Suprapur® (Merck), assim como todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico (alta pureza).

As cápsulas plásticas das unidades DGT foram obtidas através da DGT Research Ltd. (Lancaster, UK), entanto que os géis requeridos para a determinação dos metais, assim como a montagem das unidades foram realizadas no Laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal de Rio Grande. As unidades DGT foram montadas segundo Zhang & Davison (1995), colocando sobre a base das cápsulas plásticas: (a) um gel de troca iônica, que retém o analito (0,5 mm de espessura); seguido de (b) uma camada difusiva de hidrogel de poliacrilamida (0,8 mm de espessura), responsável pela passagem somente de íons metálicos livres, complexos inorgânicos e alguns pequenos complexos orgânicos (<0,45 μm); e (c) um filtro de nitrato de celulose (0,45 μm de porosidade, 47 mm de diâmetro; Sartorius, Germany) para permitir a passagem apenas da fração dissolvida dos metais na água, para dentro do amostrador. O gel de troca iônica foi elaborado com acrilamida (99%), cross-linker agarose (2%), água Milli-Q®, TEMED (N,N,N',N'-tetrametilenidiamina; 99%), persulfato de amônio (10%) e resina Chelex-100 na forma sódica, seguindo os procedimentos descritos por Zhang & Davison (1995) e Odzak et al. (2002), e com ajuda de espaçadores de poliestireno. O hidrogel de

poliacrilamida foi feito com acrilamida (99%), cross-linker agarose (2%), água Milli-Q® e TEMED (N,N,N',N'-tetrametilenidiamina; 99%).

2.2. Área de estudo e exposição das unidades DGT

A exposição das unidades de DGT foi realizada em três importantes zonas portuárias da região sudeste e sul do Brasil, nas margens da área estuarina dos estados Rio de Janeiro (RJ), Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS) (Fig. 1 do Capítulo III).

Na região sudeste, a amostragem foi realizada na Baía de Guanabara (Niterói, RJ no Estaleiro TM (TMS) (22°52'32"S, 43°06'59"W) sendo um estaleiro de médio porte (1500m²), e localizado na Ilha da Conceição, nas proximidades da cidade de Niterói. A Baía de Guanabara (384km²) apresenta profundidade média de 5,7m nas margens e uma hidrodinâmica dominada por correntes de maré, apesar de ser um regime de micro-maré (0,3-0,9m) (Amador, 1997; Kjerfve *et al.*, 1997). A área apresenta descarga direta de esgotos, comprovada degradação de suas águas e supersaturação de oxigênio dissolvido na superfície (Perin *et al.*, 1997; Carreira *et al.*, 2002; Machado *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2009; Aguiar *et al.*, 2011; Donnici *et al.*, 2012; Da Silva *et al.*, 2014).

No rio Itajaí-Açu (Santa Catarina), ao sul do país, as amostragens ocorreram no Estaleiro P (PS) (26°51'55"S, 48°42'23"W), localizado no Bairro Volta Grande em Navegantes, e categorizado como um estaleiro de médio a grande porte (2589m²). O rio Itajaí-Açu representa 90% do fluxo para o estuário (Schettini, 2002; Pereira-Filho *et al.*, 2010; Frena *et al.*, 2016), tendo a sua hidrodinâmica influenciada por um regime de micro-marés semidiurnas, e pela pressão atmosférica e tensão de cisalhamento (Schettini, 2002). As margens da área estuarina do rio apresentam profundidades médias entre 5 e 8m, e exibe grande número de terminais portuários, descarga direta de esgotos, lixo sólido, e efluentes industriais (Pereira-Filho *et al.*, 2003; Poleza *et al.*, 2014).

No extremo sul do país as amostragens foram realizadas em três áreas: dois estaleiros de médio porte e uma área de referência. As áreas se localizam

na cidade de Rio Grande, no estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande do Sul). O estaleiro GFF (GFFS) (32°01'48"S, 52°04'57"W) na área de Porto Velho possui mais de um século de funcionamento, e o estaleiro S (SS) (32°08'44"S, 52°06'8"W) situa-se na área de Superporto e conta com mais de 20 anos de funcionamento. O ponto de referência, localizado na Ilha dos Marinheiros (MI) (32°00'52"S, 52°07'52"W) foi selecionado como área comparativa sem presença de estaleiros. A Lagoa dos Patos (10,360km²) é caracterizada por ter uma hidrodinâmica complexa controlada por um regime de ventos NE-SW (principalmente) e descarga fluvial (Möller *et al.*, 1996; Marreto *et al.*, 2017). Adicionalmente tem sido reportado que é afetada notavelmente por fenômenos como “*El niño*” e “*La niña*” (Kjerfve, 1994). A Lagoa nas margens da área estuarina recebe diversos efluentes antrópicos, incluindo de natureza urbana, industrial, e de agricultura (Odebrecht *et al.*, 2010).

As exposições das unidades DGT foram realizadas em 2018 durante dois períodos de amostragem. O primeiro (S₁), realizado entre fevereiro e março, correspondendo ao período seco em Rio Grande e chuvoso no Rio de Janeiro e Santa Catarina. Enquanto, o segundo (S₂) desenvolveu-se entre julho e setembro, sendo o período chuvoso para Rio Grande e contrário para as outras áreas. Nos mesmos períodos e para cada área de estudo (TMS, PS, GFFS, SS e IM) foram expostas *in situ* unidades DGT por um período de 48h, para obter a fração lábil dos metais traço. O tempo (segundos) e a temperatura (Datalogger, OnSet) de exposição das unidades foi controlado com precisão em cada amostragem. Adicionalmente foram medidos na coluna de água: salinidade e condutividade (WTW, Model 315i), pH (Toledo, Model DM) e turbidez (Digimed, DM-TU) no início e final de cada exposição das unidades DGT. Após o período de exposição, as unidades DGT foram retiradas da água, colocadas individualmente em saco plástico tipo ziplock e transportadas sob refrigeração, até o laboratório. Na primeira campanha amostral (S₁) foi implementado um sistema de exposição com 5 unidades DGT em cada área de estudo (n = 25). Enquanto, na segunda amostragem foram utilizadas 3 estruturas (3 pontos de amostragem) com 3 amostradores DGT, ou seja, 9 unidades DGT para cada área de trabalho. Adicionalmente, para cada

exposição foram selecionadas duas unidades DGT como brancos analíticos, que não foram expostas no campo.

2.3. Análises Químicas

2.3.1. Fração lábil de metais traço (M-DTG)

Em laboratório, as unidades DTG foram abertas e os géis de troca iônica foram retirados e eluídos em 1 mL de HNO₃ Suprapur[®] (Merck), como descrito por Zhang & Davison (1995). Posteriormente foram estocados sob refrigeração (4°C) por um período de pelo menos 24h antes de serem analisados. As concentrações lábeis de Cr-DGT e Ni-DGT foram obtidas mediante análises das soluções da eluição, por Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GF-AAS; Shimadzu, modelo AA-7000). Enquanto a concentração lábil de V-DGT foi obtida mediante análises das soluções da eluição, por Espectrometria de Massas por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS; Varian, Model 820MS).

A massa de metal (M) retida na resina de troca iônica foi calculada segundo Zhang & Davison (1995; Eq. 1), considerando a concentração medida no equipamento (C_e), o volume de ácido utilizado na eluição (V_{HNO_3}), o volume do gel (V_{gel}) e o fator de eluição de cada metal (f_e):

$$M = \frac{C_e (V_{HNO_3} + V_{gel})}{f_e} \quad \text{Equação 1}$$

A concentração Metal-DGT (M-DGT), foi calculada (Eq. 2) a partir de M , a espessura total dos géis mais o filtro (Δg), o coeficiente de difusão de cada metal retido no gel difusivo (D), o tempo de exposição (t), e por fim a área de exposição da janela (A):

$$M_{DGT} = \frac{M \Delta g}{DtA} \quad \text{Equação 2}$$

A espessura do gel de troca iônica e o gel difusivo foi verificada com auxílio de um microscópio digital (1000x). O coeficiente de difusão de cada metal foi obtido a partir de DGT Research Ltd. (www.dgtresearch.com),

considerando a temperatura média determinada *in situ* durante cada exposição das unidades DGT. O controle analítico foi feito utilizando Material Certificado de Referência (River Water Certified Reference Material, SLSR-6; National Research Council, Canada). As recuperações resultantes foram de 138% para Cr e 96% para Ni. A alta porcentagem de recuperação reportada para Cr esteve associada com as baixas concentrações deste elemento no Material Certificado de Referência ($0,252 \pm 0,012 \mu\text{g L}^{-1}$). Os limites de detecção (DL) foram determinados a partir da medição de 7 vezes uma amostra aleatória (3σ com um nível de significância de 5%). Os valores de DL obtidos para Cr-DGT foram $0,04$ e $0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$, para Ni-DGT $0,05$ e $0,06 \mu\text{g.L}^{-1}$, e para V-DGT $0,08$ e $0,08 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente nos períodos amostrais S_1 e S_2 .

2.4. Análises estatísticas

A distribuição normal dos dados foi avaliada com o teste de Shapiro-Wilk com nível de significância de 95%. As diferenças existentes entre cada local de estudo e os períodos amostrais, foram avaliadas mediante teste-t, com um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). O tratamento dos dados foi realizado com Software R Core Team (2016).

3. Resultados e Discussão

3.1. Parâmetros físico-químicos da água

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos medidos em cada área de estudo são apresentados na Tabela 1 (Capítulo III). De forma geral, entre períodos amostrais, os valores de salinidade e turbidez mostraram variações, com exceção de TMS. Os valores de temperatura e pH não apresentaram maiores diferenças.

Entre os parâmetros analisados, destaca-se a salinidade, já que as variações contrastantes encontradas para cada sistema de estudo entre um período e outro, afetam diretamente a especiação dos metais traço em águas estuarinas (Windom *et al.*, 1999) e o comportamento da sua fração lábil (Costa

& Wallner-Kersanach, 2013). No local PS os maiores valores de salinidade foram observados no período S₂, o qual foi correspondente à época de menor precipitação na região de Santa Catarina. Ao contrário, nos locais da Lagoa dos Patos (GFFS, SS e MI) os maiores valores de salinidade são observados durante o período S₁, correspondente à época de menor precipitação para a região.

3.2. Fração de metal lábil (M-DTG)

As concentrações de Cr (Fig. 4) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os locais nem entre períodos sazonais. Isto permite observar que o aporte da fração lábil deste metal é contínua no tempo e não é controlada por variações nas condições físico-químicas do sistema, especialmente salinidade. Isto é contrário ao já reportado para a fração lábil de outros metais como Cu e Zn na coluna de água (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Umbría-Salinas *et al.*, 2019; *submitted*), assim como para a fração de Cr total dissolvido (Borges *et al.*, 2012). Adicionalmente, estas baixas concentrações de Cr-DGT ($< 0,20 \mu\text{g.L}^{-1}$), quando comparadas com as concentrações Ni-DGT e V-DGT, podem estar relacionadas com que o Cr lábil ou potencialmente biodisponível presente nas águas destes sistemas encontra-se principalmente na forma de Cr(III), que é a menos tóxica. Esta espécie já tem sido reportada como a mais estável nas águas do estuário da Lagoa dos Patos (Borges *et al.*, 2012). Adicionalmente, é conhecido que em águas naturais com valores de pH próximos ao neutro (pH=7), o Cr(III) encontra-se predominantemente na forma de Cr(OH)_3^0 (Markiewicz *et al.*, 2015), sendo isto concordante com os valores reportados no presente trabalho (Tabela 1 do Capítulo III).

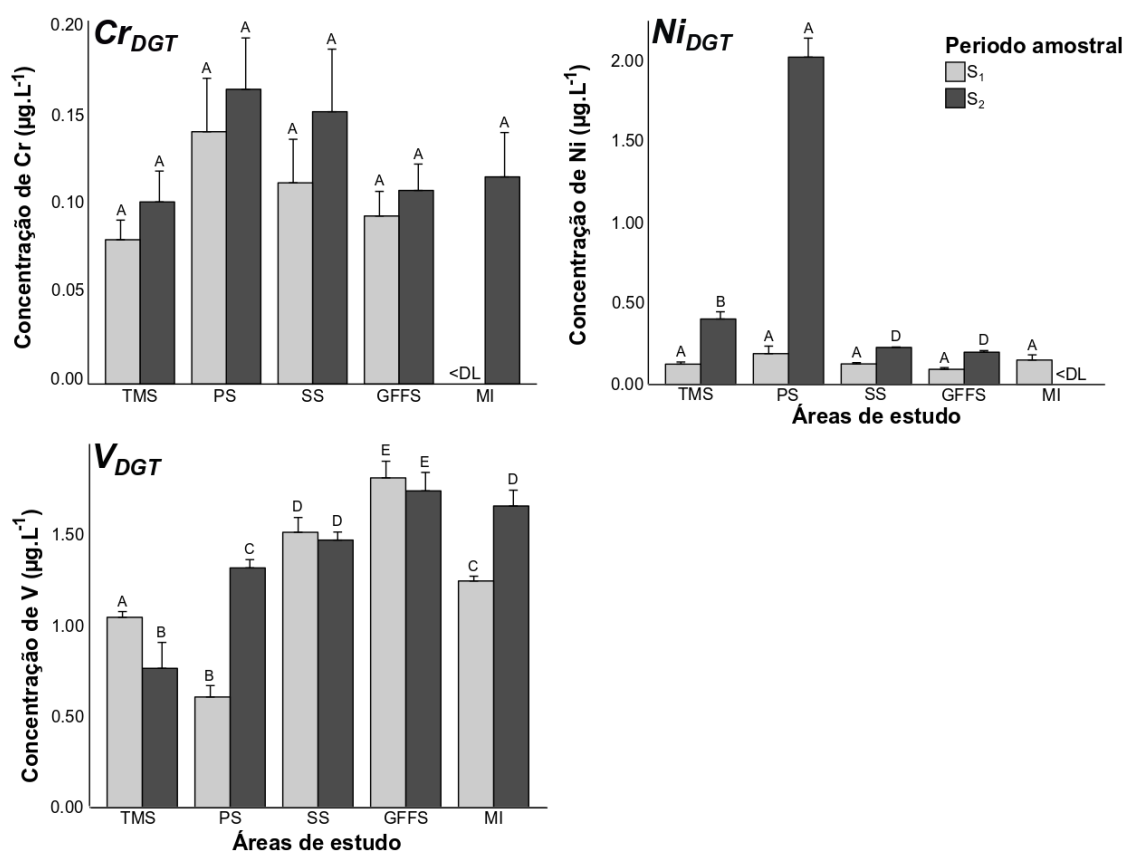


Figura 4. Concentração lábil ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de Cr-DGT, Ni-DGT and V-DGT nos períodos amostrais S₁ (■) e S₂ (■) nos estaleiros TM (TMS), P (PS), GFF (GFFS) e S (SS), e na área de referência (Ilha dos Marinheiros, MI). Os valores são reportados em média \pm ES. Os valores obtidos para os dois períodos amostrais em cada local foram comparados mediante teste t ($p < 0,05$); letras iguais indicam que não existe diferença significativa, enquanto letras diferentes indicam que si existe diferença.

As concentrações encontradas de Cr-DGT (Cr III) podem estar associadas com a redução de Cr(VI) para Cr(III), o qual representa para o referido metal uma diminuição na sua mobilidade e toxicidade, por ação da matéria orgânica, sulfetos ou íons de Fe (Rai *et al.*, 1989), presentes em águas estuarinas. Borges *et al.* (2012) mostraram para águas estuarinas da Lagoa dos Patos que o Cr é sorvido: por material particulado em suspensão durante

baixas salinidades (S_2), ou por processos de floculação em altas salinidades (S_1). Consequentemente, pode se concluir que apesar do Cr ser aportado nos estaleiros estudados produto da aplicação de tintas anti-incrustantes, as suas concentrações lábeis não parecem representar um risco ecológico porque são rapidamente complexadas por outras espécies.

As concentrações Ni-DGT (Fig. 4) para cada local de estudo mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois períodos amostrais. Quando comparados os locais de estudo entre si, no período S_2 foram observadas diferenças significativas nas concentrações Ni-DGT ($p < 0,05$), embora estas não ocorram no período S_1 . Nos locais dentro da Lagoa dos Patos (GFFS, SS e MI) as maiores concentrações obtidas no período S_2 tiveram como um fator importante as variações nas condições físico-químicas ambientais (pH, salinidade e turbidez) da coluna de água. As variações da concentração da fração Ni-DGT são concordantes com o reportado por Windom *et al.* (1999) para a fração dissolvida total deste metal, onde em salinidades próximas a valores de 5 as concentrações aumentam como produto dos processos de desorção e troca iônica.

Para os locais TMS e PS as maiores concentrações lábeis também obtidas neste período (S_2), tiveram como fator mais importante a intensidade de reparação de embarcações durante essa amostragem nos dois estaleiros. Consequentemente, a maior concentração de Ni-DGT, a qual foi muito significativamente diferente ($p < 0,01$) do resto, foi determinada no local PS. Durante esta amostragem (S_2) embarcações de grande porte estavam sendo reparadas e estando ancoradas diretamente na margem do estaleiro. Este fator é capaz de influenciar diretamente na concentração de Ni-DGT já que ligas de Ni com aço inox estão na composição dos cascos das embarcações de aço e são aplicadas em peças de embarcações, como são as lâminas das turbinas e peças dos motores a propulsão (Adriano, 2001).

As concentrações de V-DGT (Fig. 4) mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre locais e entre períodos amostrais (S_1 e S_2), embora, para este último, nos locais GFFS e SS no estuário da Lagoa dos Patos foram uma

exceção. Este estuário apresentou as maiores concentrações de V-DGT, tendo-se que: (1) no local GFFS encontra-se instalado um posto de abastecimento de diesel naval (Pereira *et al.*, 2018); e (2) no local SS é reportado como um dos estaleiros com maior atividade no estuário da Lagoa dos Patos (Costa *et al.*, 2016; Soroldoni *et al.*, 2018). O Ni e o V relacionam-se com os derivados de petróleo, podendo estar fortemente associados a frações do refino de petróleo, como o óleo diesel usado como combustível e lubrificante em embarcações (El Nemr *et al.*, 2006; Schlesinger *et al.*, 2017). O local PS apresenta diferenças significativas ($p < 0,05$) de V-DGT entre os períodos amostrais, mostrando maiores valores no período S_2 , como descrito para as concentrações de Ni neste local, já que o V também é utilizado na liga aço inox para a construção de peças que conformam a estrutura das embarcações. Isto indica que os elementos podem estar ocorrendo da mesma fonte.

A fração lábil de V (V-DGT) mostra um comportamento semelhante ao reportado para a fração lábil de Cu (Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Umbría-Salinas *et al.*, 2019, *submitted*), em função das mudanças na salinidade. O referido comportamento é também concordante com o descrito para Ni neste estudo, mas é contrário ao observado para Cr.

A especiação do V em águas estuarinas varia sazonalmente e é influenciada pela temperatura, variações de Eh-pH, e atividade biológica (Wang & Sañudo, 2009). Assim, as maiores concentrações de V-DGT no local MI foram observadas quando os valores de salinidade foram menores (S_2), e concordantes com a época de maiores precipitações nesta região. Este comportamento está relacionado com processos de desorção dos metais a partir de material particulado em suspensão, o qual é favorecido nas águas estuarinas da Lagoa dos Patos durante períodos de baixas salinidades (Windom *et al.*, 1999), como foi observado neste período (S_2 : salinidades menores a 5). Neste estuário, isto também é favorecido pela resuspensão de sedimentos superficiais, o qual é gerado em áreas rasas por variações nos padrões do vento e variações da maré (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009).

Adicionalmente, Pereira *et al.* (2018) reportaram enriquecimento de V em sedimentos de áreas de marinas e estaleiros. O sedimento tem sido reportado como uma fonte secundária importante de V dissolvido e lábil para águas estuarinas (Wang & Sañudo, 2009; Shi *et al.*, 2016; Valero *et al.*, 2019, *submitted*). Portanto, a partir dos dados obtidos neste estudo e dados anteriormente reportados (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009; Costa & Wallner-Kersanach, 2013; Umbría-Salinas *et al.*, 2019, *submitted*) para o estuário da Lagoa dos Patos, pode-se sugerir o processo de desorção/sorção de metais produto da remobilização de sedimentos superficiais como um dos mecanismos mais importantes na especiação de metais traço na coluna de água deste importante sistema. Isto resulta um fator importante na hora de avaliar áreas rasas que representam um sumidouro ou fonte secundária de metais traço como são os sedimentos das áreas de estaleiros, podendo ver-se incrementado o possível risco ambiental que estes locais representam.

Embora as áreas de estaleiros sejam um problema, o local de referência MI localizado no estuário da Lagoa dos Patos mostrou concentrações de V-DGT maiores que os locais TMS (RJ) e PS (SC). Isto pode estar relacionado ao fato, de que este local apesar de não ter uma fonte direta, apresenta em toda área circundante contínuo tráfego de embarcações, o que pode aportar V na sua forma lábil para a coluna de água (Schintu *et al.*, 2018). Adicionalmente, o local MI é uma área com importante desenvolvimento de atividades agrícolas, e as altas concentrações de V-DGT encontradas também podem estar relacionadas a este aporte antrópico, já que alguns fertilizantes ricos em fósforo podem conter V na sua composição (Aide, 2005). Isto é concordante com Smidt *et al.* (2011), que reportam o uso de fertilizantes com essas características na área. Adicionalmente, MI ao ser um local menos abrigado, permite que suas águas sejam mais facilmente renovadas, o que também se relaciona diretamente com as diferenças significativas ($p < 0,05$) encontradas entre os períodos amostrais. Este comportamento é contrário ao observado nos locais TMS e PS, onde não são observadas diferenças significativas, produto do aporte localizado e contínuo (estaleiros), e uma morfologia do local mais abrigada e modificada pelo homem. Este importante aporte de Cr, Ni, e V em

áreas de estaleiros, é concordante com o observado para a fração lábil de Cu na coluna de água das mesmas áreas (Umbría-Salinas *et al.*, 2019; *submitted*). Conseqüentemente, as áreas de estaleiros podem ser definidas como *hotspots* de diversos metais traço, como Cu, Cr, Ni e V, que podem representar um importante risco para as comunidades de organismos presentes nestas áreas.

Quando comparados os dados obtidos neste estudo, com dados da fração lábil DGT reportados para outros locais estuarinos ou costeiros ao redor do mundo (Tabela 3), pode se observar que as concentrações de Cr-DGT resultaram similares as observadas em uma antiga área de minério de Pb e Zn (Søndergaard *et al.*, 2014). No entanto, estas concentrações foram menores que as reportadas em três áreas na zona noroeste do Mar Mediterrâneo, que são afetadas por diversas atividades antrópicas como uma antiga área de minério de asbestos e um porto industrial (Lafabrie *et al.*, 2007). Já as concentrações de Ni-DGT, de forma geral são semelhantes as observadas em outras águas costeiras com influência de produtos derivados do petróleo e tráfego de embarcações (Schintu *et al.*, 2008, 2018; Souza *et al.*, 2014). Adicionalmente, as maiores concentrações de Ni-DGT determinadas no local PS foram maiores que os valores descritos para uma antiga área de minério que descarregava resíduos de serpentinite (rocha que contém minerais ricos em Ni) diretamente na água (Lafabrie *et al.*, 2007). As concentrações de V-DGT foram maiores que as observadas em águas estuarinas do Churchill River (Canada; Mangal *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2016). No entanto, tais dados foram menores que as reportadas em uma área com intenso tráfego de embarcações durante a recuperação dos resíduos de um navio naufragado (Schintu *et al.*, 2018). No geral as concentrações do presente estudo demonstraram ser menores ou comparáveis com áreas sob influência de aportes antrópicos.

Tabela 3. Concentração de metais traço ($\mu\text{g.L}^{-1}$, valores mínimos e máximos) na coluna de água de cada área de estaleiro estudada, comparados com outros locais no mundo.

Área	Tipo de ambiente	Cr	Ni	V	Referência
TMS – Baía de Guanabara (Brasil)	Área de estaleiro	0,056-0,176	0,086-0,621	0,175-1,108	Presente estudo
PS - Estuário do rio Itajaí-Açu (Brasil)	Área de estaleiro	0,075-0,247	0,102-2,260	0,507-1,486	
GFFS – Estuário da Lagoa dos Patos (Brasil)	Área de estaleiro	0,057-0,169	0,071-0,244	1,319-2,321	
SS - Estuário da Lagoa dos Patos (Brasil)	Área de estaleiro	0,057-0,320	0,108-0,241	1,276-1,737	
Ilha dos Marinheiros - Estuário da Lagoa dos Patos (Brasil)	Área de referência	0,056-0,221	0,090-0,253	1,225-2,137	
Estuário da Lagoa dos Patos (Brasil)	Despejos urbanos e industriais	-	0,200-0,400	-	Wallner-Kersanach <i>et al.</i> , 2009
Noroeste do Mar Mediterrâneo (Itália)	Antiga mina/Porto Industrial	0,152-0,616	0,197–1,380	-	Lafabrie <i>et al.</i> , 2007
Mar Mediterrâneo (Itália)	Porto/Refinaria e indústrias	-	0,033-0,120	-	Schintu <i>et al.</i> , 2008
Oeste de Groenlândia	Antiga mina	0,019-0,135	0,46-0,90	-	Søndergaard <i>et al.</i> , 2014
Oceano atlântico (Brasil)	Despejos de refinaria	-	0,009–0,465	-	Souza <i>et al.</i> , 2014
Estuário do Rio Churchill (Canadá)	Águas estuarinas	-	-	0,235-0,596	Mangal <i>et al.</i> , 2016
Estuário do Rio Churchill (Canadá)	Águas estuarinas	-	-	0,306-0,866	Shi <i>et al.</i> , 2016
Singapura	Áreas de manguezais	-	0,16–1,72	-	Estrada <i>et al.</i> , 2017
Mar Mediterrâneo (Itália)	Área com barco afundado	0,0035-0,200	0,048-0,263	1,2-12,3	Schintu <i>et al.</i> , 2018

A utilidade do uso da técnica DGT como ferramenta de monitoramento das águas com impacto de atividades antrópicas tem sido demonstrado para sistemas costeiros (Schintu *et al.*, 2018) e estuarinos (Costa & Wallner-Kersanach *et al.*, 2013; Umbría-Salinas *et al.*, 2019, *submitted*), com hidrodinâmicas complexas (Wallner-Kersanach *et al.*, 2009), e inclusive em grande escala (Uher *et al.*, 2017). Apesar do avanço da técnica nas últimas décadas, sua aplicação em ambientes naturais para a determinação da fração potencialmente biodisponível de metais traço ainda é limitada (Tabela 3) quando comparada com dados obtidos através de métodos tradicionais. Isto é especialmente observado para metais medidos com menos frequência como o Cr e o V, determinados neste estudo. O estudo da fração lábil destes metais redox sensitivos e de comportamento complexo nas águas em sistemas transicionais segue representando uma lacuna importante de conhecimento. Consequentemente, obter comparações mais precisas desta fração entre diferentes ambientes dependem de uma série de fatores como característica físico-químicas da água, remobilização do sedimento, tipo e frequência do aporte antrópico. Portanto futuras pesquisas devem seguir visando o entendimento destes fatores e utilizando a técnica DGT, já que a versatilidade da mesma favorece estudos em estuários com ampla distribuição geográfica.

4. Conclusões e recomendações

Os resultados demonstram que a técnica DGT foi sensível em determinar elementos traço que são provenientes de tintas anti-incrustantes e produtos derivados de petróleo utilizados em áreas de estaleiros, como a fração lábil de Cr, Ni e V. As maiores concentrações foram observadas nos períodos de maior intensidade na reparação de embarcações e maior tráfego de embarcações. Adicionalmente, na Lagoa dos Patos os produtos derivados do petróleo representam uma fonte importante de metais potencialmente biodisponíveis, inclusive fora de área de estaleiros.

O Cr apesar de ser aportado continuamente a partir da aplicação de tintas anti-incrustantes, não apresenta altas concentrações na sua forma lábil, já que é rapidamente complexado, o qual diminui o seu risco ecológico

potencial para o sistema estuarino. Adicionalmente, os resultados obtidos para a fração lábil de Ni e V nas águas da Lagoa dos Patos permitem inferir que o processo de desorção/sorção de metais produto da remobilização de sedimentos superficiais é um mecanismo chave na especiação e mobilização de metais traço neste estuário. Sendo este um processo especialmente importante a considerar em áreas rasas que representam um sumidouro de metais traço como são os estaleiros, podendo incrementar o possível risco ambiental que estes representam.

Apesar dos locais terem condições físico-químicas diversas, e podendo ser estas condições amplamente variáveis entre períodos sazonais, foi observado que efetivamente os locais de estaleiros representam uma fonte localizada ou *hotspot* de metais traço para diversos sistemas estuarinos do sudeste e sul do Brasil. Desta forma, estas áreas representam um risco ecológico potencial para estes sistemas com comunidades biológicas amplamente diversas, sendo recomendado complementar a determinação destas frações lábeis com uma avaliação do risco ecológico. Isto permitiria o acoplamento da técnica DGT com ferramentas ecológicas, e assim gerar uma avaliação mais precisa e realística, que permita entender o verdadeiro grau de impacto que estas áreas de estaleiros representam.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; projeto no. 455010/2014-5) por prover auxílio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pesquisa concedida a Karelys Umbría e Astolfo Valero. O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico também concedeu uma bolsa de pesquisa a Júlio Cesar Wasserman (no. 306714/2013-2).

CAPÍTULO V:

Síntese da Discussão e Conclusões

Síntese da Discussão e Conclusões

O presente estudo visou obter um maior entendimento do comportamento da fração lábil de Cu, Cr, Ni e V utilizando a técnica DGT em diversas localidades estuarinas da costa sudeste e sul do Brasil, com presença de estaleiros de médio a alto porte e com condições hidrodinâmicas e físico-químicas variáveis. A técnica DGT permitiu determinar metais traço na sua fração lábil e observar uma relação entre estes metais e as atividades desenvolvidas nestas áreas, como: a aplicação de tintas anti-incrustantes (Cu e Cr), manutenção de cascos de embarcações aço (Cr, Ni e V), e uso de produtos derivados do petróleo (Ni e V). Foi observado um maior conteúdo da fração lábil dos metais durante períodos de maior reparo de embarcações (Cu, Ni) e maior tráfego de embarcações (V).

Apesar dos diferentes estuários trabalhados terem condições físico-químicas diversas, e podendo ser estas condições amplamente variáveis entre períodos sazonais, foi observado que a salinidade é um dos fatores principais por controlar a especiação e mobilidade dos metais estudados nestas áreas. Porém, o Cr presente nos sistemas estudados parece ser rapidamente complexado e conseqüentemente é mantido na espécie Cr (III), menos tóxica, o que evita que represente um risco ecológico para os ecossistemas. Em áreas rasas da região estuarina da Lagoa dos Patos, o processo de sorção/desorção de metais produto da remobilização de sedimentos superficiais é observado como um mecanismo chave na especiação de metais traço. A versatilidade da técnica DGT permite sua aplicação em estuários localizados em uma ampla distribuição geográfica, como os encontrados na costa brasileira, o que favorece continuar desenvolvendo pesquisas que envolvam a fração lábil dos metais traço neste tipo de áreas. Adicionalmente, estudar estes metais redox sensitivos permite incrementar o entendimento da especiação destes elementos sob condições hidrodinâmicas e físico-químicas variáveis.

Neste estudo também foi avaliado o verdadeiro risco dos estaleiros como fonte localizada de metais traço para os sistemas estuarinos através do

estabelecimento de uma avaliação de risco ecológico de Cu. Esta avaliação foi realizada a partir da integração dos dados obtidos da fração lábil (Cu-DGT) e da fração dissolvida total (Cu-Diss) junto com a derivação da Concentração Previsivelmente sem Efeitos (PNEC) de Cu para espécies aquáticas que ocorrem naturalmente nas costas brasileiras. De forma semelhante, as concentrações de Cu dissolvido total determinadas neste estudo também refletem o aporte deste elemento proveniente dos resíduos das tintas anti-incrustantes ou mesmo da liberação do casco das embarcações ancoradas nos estaleiros. Em locais com uma maior atividade de manutenção de embarcações e embarcações recentemente pintadas, a fração lábil de Cu representou até 90% da fração total dissolvida na água. Adicionalmente, as concentrações lábeis de Cu determinadas nos locais de estaleiros conseguiram ultrapassar o valor de PNEC derivado, representando um alarmante risco para a comunidade aquática dos sistemas estuarinos estudados, áreas que abrigam grande parte da biodiversidade do Brasil.

Portanto, os locais de estaleiros podem ser efetivamente categorizados como um *hotspot* de metais traço nas suas frações lábeis para diversos sistemas estuarinos do sudeste e sul do Brasil. Da mesma forma, o risco ecológico destes locais por causa de outros metais traço também presentes, como Cr, Ni e Zn, deve ser estudado com um maior detalhamento. Levando em conta a complexa hidrodinâmica das áreas estuarinas ao longo do tempo e do espaço, também são necessários estudos com maior resolução espacial e temporal para o estabelecimento de uma avaliação de risco ainda mais abrangente. Finalmente, a aplicação da técnica DGT permitiu o desenvolvimento de uma avaliação de risco mais precisa, podendo ser utilizada na derivação de critérios de qualidade de água e legislações futuras no Brasil e em outras áreas do mundo.

Referências bibliográficas

- Abualhaija, M.M., Whitby, H., Van Dem Berg, C.M.G. 2015. **Competition between copper and iron for humic ligands in estuarine waters.** *Marine Chemistry*. 172, 46-56.
<https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.03.010>
- Adriano, D.C. (Ed.), 2001. **Trace Elements in Terrestrial Environments - Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals.** *Springer Science and Business*. 867p.
- Aguiar, V.M.C., Neto, J.A.B., Rangel, C.M. 2011. **Eutrophication and hypoxia in four streams discharging in Guanabara Bay, RJ, Brazil, a case study.** *Marine Pollution Bulletin*. 62, 1915-1919.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.04.035>
- Aide, M., 2005. **Geochemical assessment of iron and vanadium relationships in oxic soil environments.** *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 14 (5), 403–416.
<https://doi.org/10.1080/15320380500180382>
- Alsop, D. & Wood, C.M., 2011. **Metal uptake and acute toxicity in zebrafish: common mechanisms across multiple metals.** *Aquatic Toxicology*. 105 (3–4), 385–393. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.07.010>
- Amador, E.S. 1997. **Baia de Guanabara e ecossistemas periféricos – Homem e Natureza.** Reproarte Gráfica e Editora, Rio de Janeiro, pp. 529.
- Berto, D., Boscolo, R., Cacciatore, F., Covelli, S., Rampazzo, F., Giovanardi, O., Giani, M. 2012. **Tin free anti-fouling paints as potential contamination source of metals in sediments and gastropods of the Southern Venice lagoon.** *Continental Shelf Research*. 45, 34-41.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.csr.2012.05.017>

- Black, J.G., Reichelt-Brushett, A.J., Clark, M.W. 2015. **The effect of copper and temperature on juveniles of the eurybathic brittle star *Amphipholis squamata* – Exploring responses related to motility and the water vascular system.** *Chemosphere.* 124, 32-39.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.063>
- Borges, A.R., Niencheski, L.F., Bigliardi, I.C., Milani, M.R. 2012. **Optimization and application of the voltammetric technique for speciation of chromium in the Patos Lagoon Estuary – Brazil.** *Environmental Monitoring and Assessment.* 184, 5553-5562.
<https://doi.org/10.1007/s10661-011-2361-7>
- Borges, A.C., Sanders, C.J., Santos, H.L.R., Araripe, D.R., Machado, W.; Patchineelam, S.R. 2009. **Eutrophication history of Guanabara Bay (SE Brazil) recorded by phosphorous flux to sediments from a degraded mangrove area.** *Marine Pollution Bulletin.* 58 (11), 1750-1754.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.07.025>
- Bowles, K.C., Apte, S.C., Batley, G.E., Hales, L.T., Rogers, N.J. 2006. **A rapid Chelex column method for the determination of metal speciation in natural waters.** *Analytica Chimica Acta.* 237-245.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.071>
- Braz-Mota, S., Campos, D.F., MacCormack, T.J., Duarte, R.M., Val, A.L. Almeida-Val, V.M.F. 2018. **Mechanism of toxic action copper and copper nanoparticles in two Amazon fish species: Dwarf cichlid (*Apistogramma agassizii*) and cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*).** *Science of The Total Environment.* 630, 1168-1180.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.216>
- Campbell, P.G. 1995. **Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model.** In: Tessier, A., Turner, D. R. (Eds.), 1996. *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, Wiley. 679p.

- Caro, A., Chereau, G., Briant, N., Roques, C., Freydier, R., Delpoux, S., Escalas, A., Elbaz-Poulichet, F. 2015. **Contrasted responses of *Ruditapes decussatus* (filter and deposit feeding) and *Loripes lacteus* (symbiotic) exposed to polymetallic contamination (Port-Camargue, France).** *Science of The Total Environment*. 505, 526–534. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.001>.
- Carreira, R.S., Wagener, A.L.R., Readman, J. W., Fileman, T.W., Macko, S.A., Veiga, A. 2002. **Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, Guanabara Bay, Brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach.** *Marine Chemistry*. 79 (3-4), 207-227. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(02\)00065-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(02)00065-8)
- Casset, M.A., Momo, F.R., Giorgi, A.D.N. 2001. **Dinámica poblacional de dos especies de anfípodos y su relación con la vegetación acuática en un microambiente de la cuenca del río Luján (Argentina).** *Ecologia Austral*. 11, 31-37. [Casset et al., 2001](#)
- Charles, A., Markich, S.J., Ralph, P. 2006. **Toxicity of uranium and copper individually, and in combination, to a tropical freshwater macrophyta (*Lemna aequinoctialis*).** *Chemosphere*. 62, 1224-1233. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.089>
- Chen, C., Zhang, H., Jones, K. 2012. **A novel passive water sampler for *in situ* sampling of antibiotics.** *Journal of Environmental Monitoring*. 14, 1523-1530. <https://doi.org/10.1039/c2em30091e>
- Choi, J., Hong, G., Ra, K., Kim, K-T., Kim, K. 2014. **Magnetic characteristics of sediment grains concurrently contaminated with TBT and metals near a shipyard in Busan, Korea.** *Marine Pollution Bulletin*. 85 (2): 679-685. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.03.029>
- Choi, K., Kim, S., Hong, G., Chon, H. 2012. **Distributions of heavy metals in the sediments of South Korean harbors.** *Environmental Geochemistry and Health*. 34, 71-82. <https://doi.org/10.1007/s10653-011-9413-3>

- Clarisse, O., Dimock, B., Hintelmann, H., Best, E.P.H. 2011. **Predicting net mercury methylation in sediments using diffusive gradient in thin films measurements.** *Environmental Science Technology*. 45 (4), 1506-1512. <http://dx.doi.org/10.1021/es102730n>
- Costa, L., Mirlean, N., Wasserman, J., Wallner-Kersanach, M. 2016. **Variability of labile metals in estuarine sediments in areas under the influence of antifouling paints, southern Brazil.** *Environmental Earth Science*. 75.
- Costa, L.D.F. & Wallner-Kersanach, M. 2013. **Assessment of the labile fractions of copper and zinc in marinas and port areas in Southern Brazil.** *Environmental Monitoring and Assessment*. 185 (8), 6767-6781. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3063-0>
- Da Silva, G.O.A., Bitencourt, J.A.P., Da Silva, I.C., Pereira, D.C., Neto, I.D.S., Crapez, M.A.C. 2014. **Influence of copper on *Euplotes* sp. and associated bacterial population.** *Latin American Journal of Aquatic Research*. 42 (2), 381-385. [Da Silva et al., 2014](#)
- Das, B. K. & Das, N. 2005. **Impacts of quicklime (CaO) on the toxicity of copper (CuSO₄.5H₂O) to fish and fish food organisms.** *Chemosphere*. 61, 186-191. <http://dx.doi.org/10.1016/chemosphere.2005.02.064>
- Davison, W. & Zhang, H. 2012. **Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films (DGT) – back to basics.** *Environmental Chemical*. 9, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1071/EN11084>
- De Boeck, G., Hattink, J., Franklin, N.M., Bucking, C.P., Wood, S., Walsh, P.J., Wood, C.M. 2007. **Copper toxicity in the spiny dogfish (*Squalus acanthias*): Urea loss contributes to the osmoregulatory disturbance.** *Aquatic Toxicology*. 84 (1), 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.04.012>

- De Boeck, G., Meeus, W., De Coen, W., Blust, R. 2004. **Tissue-specific Cu bioaccumulation patterns and differences in sensitivity waterborne Cu in three freshwater fish: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), common carp (*Cyprinus carpio*), and gibel carp (*Carassius auratus gibelio*).** *Aquatic Toxicology*. 70 (1), 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.07.001>
- De Boeck, G., Van Der Ven, K., Hattink, J., Blust, R. 2006. **Swimming performance and energy metabolism of rainbow trout, common carp and gibel carp respond differently to sublethal copper exposure.** *Aquatic Toxicology*. 80 (1), 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.07.017>
- Desaulty, A.M., Méheut, M., Guerrot, C., Behro, C., Millot, R. 2016. **Coupling DGT passive samplers and multi-collector ICP-MS: A new tool to measure Pb and Zn isotopes composition in dilute aqueous solutions.** *Chemical Geology*. 450 (5), 122-134. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.12.023>
- Donnici, S., Serandrei-Barbero, R., Bonardi, M., Sperle, M. 2012. **Benthic foraminifera as proxies of pollution: The case of Guanabara Bay (Brazil).** *Marine Pollution Bulletin*. 64, 2015-2028. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.024>
- Egardt, J., Mørk, M. L. Lassenc, P. Dahllöf, I. 2018. **Release of PAHs and heavy metals in coastal environments linked to leisure Boats.** *Marine Pollution Bulletin*. 127, 664-671. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.060>
- Eisler, R., 2010. **Crustaceans.** In: Eisler, R. (Ed.), *Compendium of Trace Metals and Marine Biota*. 399–516, Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53439-2.00007-2>

- Eklund, R. 2017. **Review of the use of *Ceramium tenuicorne* growth inhibitions test for testing toxicity of substances, effluents, products sediment and soil.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 195, 88-97.
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.009>
- El Nemr A., Khaled, A., Sikaily, A.E., 2006. Distribution and statistical analysis of leachable and total heavy metals in the sediments of the Suez Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*. 118, 89–112.
<https://doi.org/10.1007/s10661-006-0985-9>
- Estrada, E.S., Juhel, G., Han, P., Kelly, B.C., Lee, W.K., Bayen, S. 2017. **Multi-tool assessment of trace metals in mangroves combining sediment and clam sampling, DGT passive samplers and caged mussels.** *Science of The Total Environment*. 574, 847-857.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.055>
- European Chemical Bureau. 1996. **Technical guidance document in support of the Commission Directive 93/667/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission Regulation (EC) 1488/94 on Risk substances.** European Chemical Bureau. Ispra, Italy; 19th April 1996, part 1, 2 and 3.
- European Commission Bureau. 2003. **Technical guidance document on risk assessment, part II.** European Commission – Joint Research Centre. European Chemical Bureau; p. 328. European Commission Bureau, 2003.
- European Communities. 2011. **European commission. Common implementation strategy for the water framework directive (2000/60/EC) guidance document No. 27. Technical guidance for deriving environmental quality standards.** European Communities; p. 203.
- Fan, B., Wang, X., Li, J., Gao, X., Li, W., Huang, Y., Liu, Z. **Deriving aquatic life criteria for galaxolide (HHCb) and ecological risk assessment.** *Science of the Total Environment*. 681, 488-496.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.033>

- Ferrer, L., Andrade, S., Asteasuain, R., Marcovecchio, J. 2006. **Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahía Blanca estuary, Argentina.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 65, 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.06.010>
- Finizio, A. & Vighu, M. 2014. **Predicted No Effect Concentration (PNEC).** In Wexler P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. 1061-1065, Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00572-8>
- Frena, M., Bataglion, G.A., Tonietto, A.E., Eberlin, M.N., Alexandre, M.R., Madureira. 2016. **Assessment of anthropogenic contamination with sterol markers in surface sediments of a tropical estuary (Itajaí-Açu, Brazil).** *Science of The Total Environment*. 544, 432-438. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.137>
- Garmo, O., Royset, O., Steinnes, E., Flaten, T.P. 2003. **Performance Study of Diffusive Gradients in Thin Film for 55 Elements.** *Analytical Chemistry*. 75 (14), 3573-3580. <https://doi.org/10.1021/ac026374n>
- Girling, A. E., Pascoe, D., Janssen, C. R., ... Persoone, G. 2000. **Development of methods for evaluating toxicity to freshwater ecosystems.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 45, 148-1766. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1847>
- Giusto, A. & Ferrari, L. 2008. **Copper toxicity on juveniles of *Hyaella pseudoazteca* González and Watling, 2003.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 81, 169-173. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9463-0>
- Guerringa, L.J.A., Hummel, H., Moerdijk-Poortvliet, T.C.W. 1998. **Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelede and Wsterschelde, Netherlands.** *Journal of Sea Research*. 40, 193-203. [https://doi.org/10.1016/S1385-1101\(98\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S1385-1101(98)00021-5)

- Hansen, J.A., Lipton, J., Welsh, P.G. 2002. **Relative sensitivity of bull trout (*Salvelinus confluentus*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute copper toxicity.** *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21 (3), 633-639. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210324>
- Hatie, V., Apte, S.C., Hales, L.T., Birch, G.F. 2003. **Dissolved trace metals distributions in Port Jackson estuary (Sydney Harbor), Australia.** *Marine Pollution Bulletin*. 46, 719-730. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00061-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00061-4)
- Howell, D. & Behrends, B. 2006. **A methodology for evaluating biocide release rate, surface roughness and leach layer formation in a TBT-free, self-polishing antifouling coating.** *Biofouling*. 22 (5), 303-315. <https://doi.org/10.1080/08927010600924304>
- Huang, Q., Bu, Q., Zhong, W., Shi, K., Cao, Z., Yu, G. 2018. **Derivation of aquatic predicted no-effect concentration (PNEC) for ibuprofen and sulfamethoxazole based on various toxicity endpoints and the associated risks.** *Chemosphere*. 193, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.029>
- Jin, X., Wang, Y., Jin, W., Rao, K., Giesy, J., Hollert, H., Richardson, K., Wang, Z. 2014. **Ecological risk of nonylphenol in china surface waters based on reproductive fitness.** *Environmental Science and Technology*. 48 (2), 1256-1262. <https://doi.org/10.1021/es403781z>
- Kjerfve, B. 1994. **Chapter 1: Coastal Lagoons.** In: Kjerfve, B. (Ed.), *Coastal Lagoon Processes*. 1-8. Netherlands. Elsevier Science B. V. [Google Scholar](#)
- Kjerfve, B., Ribeiro, C.H.A., Dias, G.T.M., Filippo, A.M., Da Silva, Q. 1997. **Oceanographic characteristics of na impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil.** *Continental Shelf Research*. 17 (13), 1609-1643. [https://doi.org/10.1016/S0278-4343\(97\)00028-9](https://doi.org/10.1016/S0278-4343(97)00028-9)

- Kjerfve, B., Lacerda, L.D., Dias, G.T.M. 2001. **Chapter 8: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil.** In: Seeliger, U. & Kjerfve, B. (Eds.), *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. 107-117. United States. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH.
- Lafabrie, C., Pergent, G., Kantin, R., Pergent-Martini, C., Gonzalez, J. L. 2007. **Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species – Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor.** *Chemosphere*. 68, 2033-2039. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.039>
- Liang, X., Junaid, M., Wang, Z., Li, T., Xu, N. 2019. **Spatiotemporal distribution, source apportionment and ecological risk assessment of PBDEs and PAHs in the Guanlan River from rapidly urbanizing areas of Shenzhen, China.** *Environmental Pollution*. 250, 695-707. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.107>
- Lombardi, J.V., Perpétuo, T.R., Ferreira, C.M., Machado-Neto, J.G., Marques, H.L.A. 2002. **Acute toxicity of the fungicide copper oxychloride to tadpoles of the bullfrog *Rana catesbeiana*.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 69, 415-420. <https://doi.org/10.1007/s00128-002-0078-6>
- Lopes, I., Baird, D.J., Ribeiro, R. 2004. **Genetic determination of tolerance to lethal and sublethal copper concentrations in field populations of *Daphnia longispina*.** *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 46, 43-51. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-2143-5>
- Machado, W., Santelli, R.E., Loureiro, D.D., Oliveira, E.P., Borges, A.C., Ma, V.K., Lacerda, L.D. 2008. **Mercury accumulation in sediments along an eutrophication gradient in Guanabara Bay, Southeast Brazil.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19 (3), 569-575. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532008000300028>
- Mangal, V., Zhu, Y., Shi, Y. X., Guéguen, C. 2016. **Assessing cadmium and vanadium accumulation using diffusive gradient in thin-films (DGT)**

and phytoplankton in the Churchill River estuary, Manitoba.
Chemosphere. 163, 90-98.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.008>

Markiewicz, B., Komorowicz, I., Sajnog, A., Belter, M., Baralkiewicz, D., 2015. **Chromium and its speciation in water samples by HPLC/ICP-MS-technique establishing metrological traceability: a review since 2000.** *Talanta.* 132, 814-828. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.002>

Marreto, R.N., Baumgarten, M.G.Z., Wallner-Kersanach, M. 2017. **Trophic quality of Waters in the Patos Lagoon estuary: a comparison between its margins and the port channel located in Rio Grande, RS, Brazil.** *Acta Limnologica Brasiliensia.* 29, e11. <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X10716>

Martins, C.M.G., Barcarolli, I.F., Menezes, E.J., Giacomini, M.M., Wood, C.M., Bianchini, A. 2011. **Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: *In vivo* and *vitro* studies.** *Aquatic Toxicology.* 101 (1), 88–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.09.005>

Martins, S. & Bianchini, A., 2011. **Toxicity tests aiming to protect Brazilian aquatic systems: current status and implications for management.** *Journal Environmental Monitoring.* 13, 1866-1875. <http://dx.doi.org/10.1039/c0em00787k>

Martins, S.E., Fillmann, G., Lillicrap, A., Thomas, K.V. 2018. **Review: ecotoxicity of organic and organo-metallic antifouling co-biocides and implications for environmental hazard and risk assessments in aquatic ecosystems.** *Biofouling.* 34, 34-52. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1404036>

Martins, R.R.M. & Monteiro-Neto, C. 2018. **Economics trends of industrial double-rig bottom trawlers in Southern Brazil.** *Marine Policy.* 90, 125-136. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.026>

- Moermond, C.T.A., Kase, R., Korkaric, M., Ågerstrand, M. 2016. **CRED: Criteria for reporting and evaluating ecotoxicity data.** *Environmental Toxicology and Chemistry.* 35 (5), 1297-1309. <https://doi.org/10.1002/etc.3259>
- Möller, O.O., Lorenzzenti, J.A., Stech, J.L., Mauricio, M.M. 1996. **The Patos Lagoon summertime circulation and dynamics.** *Continental Shelf Research.* 16 (3), 335-351. [https://doi.org/10.1016/0278-4343\(95\)00014-R](https://doi.org/10.1016/0278-4343(95)00014-R)
- Montero, N., Belzunce-Segarra, M.J., Del Campo, A., Garmendia, J.M., Ferrer L., Larreta J., González, M., Maidana, M.A., Espino, M. 2013. **Integrative environmental assessment of the impact of Pasaia harbour activities on the Oiartzun estuary (southeastern Bay of Biscay).** *Journal of Marine Systems* 109-110. S252–S260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmarsys.2011.06.002>
- Morabitoa, E., Radaellia, M., Coramib, F., Turettab, C., Toscano, G., Capodaglio, G. 2018. **Temporal evolution of cadmium, copper and lead concentration in the Venice Lagoon water in relation with the speciation and dissolved/ particulate partition.** *Marine Pollution Bulletin.* 129, 884–892. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.043>
- Munksgaard, N.C. & Parry, D.L. 2001. **Trace metals, arsenic and lead isotopes in dissolved and particulate phases of North Australian coastal and estuarine seawater.** *Marine Chemistry.* 75, 165-184. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4203\(01\)00033-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4203(01)00033-0)
- Naddy, R.B., Cohen, A.S., Stubblefield, W.A. 2015. **The interactive toxicity of cadmium, copper and zinc to *Ceriodaphnia dubia* and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).** *Environmental Toxicology and Chemistry.* 34 (4), 809-815. <https://doi.org/10.1002/etc.2870>
- Nakano, S., Kinoshita, S., Ikuta, M., Kawashima, T., 1990. **Fractional determination of nanogram amounts of vanadium(IV) and vanadium(V) in natural-water by a catalytic method combined with solvent-**

extraction. *Analytical Science*. 6 (3), 435–438.
<https://doi.org/10.2116/analsci.6.435>

Nour, H.E., El-Sorogy, A.S., El-Wahab, M.A., Nouh, E.S., Mohamaden, M., Al-Kahtary, K. 2019. **Contamination and ecological risk assessment of heavy metals pollution from the Shalateen coastal sediments, Red Sea, Egypt.** *Marine Pollution Bulletin*. 144, 167-172.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.056>

Odebrecht, C., Abreu, P.C., Bemvenuti, C.E., Copertino, M., Muelbert, J.H., Vieira, J.P., Seeliger, U. 2010. **Chapter 17: The Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil - Biotic Responses to Natural and Anthropogenic Impacts in the Last Decades (1979–2008).** In: Kennish, M.J., & Paerl, H.W (Ed.), *Coastal Lagoons: Critical Habits of Environmental Change*. 555p. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A. ISBN: 978-1420088311.

Odzak, N., Kistler, D., Xue, H., Sigg L. 2002. **In situ metal speciation in a eutrophic lake using the technique of diffusion gradients in thin films (DGT).** *Aquatic Science*. 64, 292-299. <http://dx.doi.org/10.1007/s00027-002-8073-x>

Ossana, N.A., Castañé, P.M., Poletta, G.L., Mudry, M.D., Salibián, A. 2010. **Toxicity of waterborne copper in premetamorphic tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802).** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 84, 712-715.
<https://doi.org/10.1007/s00128-010-0014-0>

Paradas, W., & Amado Filho, G.M. 2007. **Are metals of antifouling paints transferred to marine biota?** *Brazilian Journal of Oceanography*. 55, 51–56. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-87592007000100006>

Pereira, T.L., Wallner-Kersanach, M., Costa, L.D.F., Costa, D.P., Baisch, P., 2018. **Nickel, vanadium and lead as indicators of sediment contamination of marina, refinery and shipyard areas.** *Environmental*

Science and Pollution Research. 25 (2), 1719-1730.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0503-3>

Pereira-Filho, J., Rodric, L.R., Schettini, C.A.F., Soppa, M.A., Santana, B.L., Santos, J.E. 2010. **Spatial changes in the water quality of Itajaí-Açu Fluvial-Estuarine System, Santa Catarina, Brazil.** *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 82 (4), 963-982. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000400019>

Pereira-Filho, J., Spillere, L.C., Schettini, C.A.F. 2003. **Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do Rio Itajaí-Açu, SC.** *Atlântica*. 25 (1), 11-20. [Pereira-filho et al., 2003](http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652003000100011)

Pérez, A.L., & Anderson, K.A. 2009. **DGT estimates cadmium accumulation in wheat and potato from phosphate fertilizer applications.** *Science of The Total Environment*. 407 (18), 5096-5103.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.045>

Perin, G., Fabris, R., Manente, S., Rebello-Wagener, A., Hamacher, C., Scotto, S. 1997. **A five-year study on the heavy-metal pollution of Guanabara Bay sediments (Rio de Janeiro, Brazil) and evaluation of the metal bioavailability by means of geochemical speciation.** *Water Research*. 31, 3017–3028. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00171-1)

Pesavento, M., Alberti, G., Biesuz R., 2009. **Analytical methods for determination of free metal ion concentration, labile species fraction and metal complexation capacity of environmental waters: a review.** *Analytica Chimica Acta*. 631 (2), 129-141.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.10.046>

Pinheiro, M.A.A., Silva, P.P.G., Duarte, L.F.A., Almeida, A.A., Zanoto, F.F., 2012. **Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: rhizophoraceae).** *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 81, 114–121.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.004>

- Poleza., F., Souza, R.C., Resgalla, C. Jr. 2014. **Identification of the toxic constituents of sediments in a Brazilian subtropical estuary.** *Marine Pollution Bulletin.* 80, 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.046>
- Rai, D., Eary, L.E., Zachara, J.M. 1989. Environmental chemistry of Chromium. *Science of the Total Environment.*86, 15-23. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(89\)90189-7](https://doi.org/10.1016/0048-9697(89)90189-7)
- Rosa, L.C. & Bemvenuti, C.E. 2005. **Effects of the burrowing crab *Chasmagnathus granulata* (Dana) on meiofauna of estuarine intertidal habitats of Patos Lagoon, Southern Brazil.** *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 48 (2), 267-274. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000200014>
- Russi, D., ten Brink, P., Farmer, A., Badura, T., Coates, D., Förster, J., Kumar, R., Davidson, N. 2013. **The Economics of Ecosystems and Biodiversity for Water and Wetlands.** IEEP, London and Brussels. Ramsar Secretariat Gland. [Google Scholar](#)
- Sappal, R., MacDougald, M., Fast, M., Stevens, D., Kibenge, F., Siah, A., Kamunde, C., 2015. **Alterations in mitochondrial electron transport system activity in response to warm acclimation, hypoxia-reoxygenation and copper in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.** *Aquatic Toxicology.* 165, 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.05.014>
- Scharzenbach, R.P., Escher, B., Fenner, K., Hofstetter, T.B., Johnson, A.C., Von Gunten, U., Wehrli, B. 2006. **The challenge of micropollutants.** *Science.* 313, 1072-1079. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.01.005>
- Schiff, K., Brown, J., Diehl, D., Greenstein, D. 2007. **Extent and magnitude of copper contamination in marinas of the San Diego region, California, USA.** *Marine Pollution Bulletin.* 54, 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.10.013>

- Schintu, M., Duarte, L., Maccioni, A., Meloni, P., Degetto, S., Contu, A. 2008. **Measurement of environmental trace-metal levels in Mediterranean coastal areas with transplanted mussels and DGT techniques.** *Marine Pollution Bulletin*. 57, 832-837. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.02.038>
- Schintu, M., Marrucci, A., Marras, B., Atzori, M., Pellegrini, D. 2018. **Passive sampling monitoring of PAHs and trace metals in seawater during the salvaging of the Costa Concordia wreck (Parbuckling Project).** *Marine Pollution Bulletin*. 135, 819-827. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.011>
- Schlesinger, W.H., Klein, E.M., Vengosh, A. 2017. **Global biogeochemical cycle of vanadium.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114 (52), E11092–E11100. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715500114>
- Seeliger, U. 2001. **Chapter 12: The Patos Lagoon Estuary, Brazil.** In: Seeliger, U. & Kjerfve, B. (Eds.), *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. 167-183. United States. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH.
- Seitzinger, S.P., Mayorga, E., Bouwman, A.F., Kroeze, C., Beusen, A.H.W., Billen, G., Van Drecht, G., Dumont, E., Fekete, B.M., Garnier, J., Harrison, J.A. 2010. **Global river nutrient export: a scenario analysis of past and future trends.** *Global Biogeochemical Cycles*. 24, 2621–2628. <https://doi.org/10.1029/2009GB003587>
- Shi, C., Ding, H., Zan, Q., Li, R. 2019. **Spatial variation and ecological risk assessment of heavy metals in mangrove sediments across China.** *Marine Pollution Bulletin*. 143, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.043>
- Shi, Y.X., Mangal, V., Guéguen, C. 2016. **Influence of dissolved organic matter on dissolved vanadium speciation in the Churchill River estuary (Manitoba, Canada).** *Chemosphere*. 154, 367-374. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.124>

- Shuhaimi-Othman, M., Yakub, N., Ramle, N. A., Abas, A. 2015. **Comparative toxicity of eight metals on freshwater fish.** *Toxicology and Industrial Health.* 31 (9), 773–782. <https://doi.org/10.1177%2F0748233712472519>
- Simpson, S. & Batley, G. 2007. **Predicting metal toxicity in sediments: A critique of current approaches.** *Integrated Environmental Assessment and Management.* 3, 18–31. <http://dx.doi.org/10.1002/ieam.5630030103>
- Singh, M. & Turner, A. 2009. **Leaching of copper and zinc from spent antifouling paint particles.** *Environmental Pollution.* 157, 371–376. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.10.003>
- Smidt, G.A., Koschinsky, A., Carvalho, L.M., Monserrat, J., Schnug, E., 2011. **Heavy metal concentrations in soils in the vicinity of a fertilizer factory in Southern Brazil.** *Landbauforschung Völkenrode.* 61 (4), 353-364. <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:gbv:253-201112-dn049568-2>
- Søndergaard, J., Bach, L., Gustavson, K. 2014. **Measuring bioavailable metal using diffusive gradients in thin films (DGT) and transplanted seaweed (*Fucus vesiculosus*), blue mussels (*Mytilus edulis*) and sea snails (*Lottorina saxatilis*) suspended from monitoring buoys near a former lead-zinc mine in West Greenland.** *Marine Pollution Bulletin.* 78, 102-109. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.054>
- Soroldoni, S., Martins, S.E., Castro, I.B. Pinho, G.L.L. 2018. **Potential ecotoxicity of metals leached from antifouling paints under different salinities.** *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 148, 447-452. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.060>
- Souza, J.M., Menegário, A.A., Araújo Jr, M.A.G., Francioni, E. 2014. **Measurements of labile Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn levels at a northeastern Brazilian coastal area under the influence of oil production with diffusive gradients in thin films technique (DGT).** *Science of The Total Environment.* 500-501, 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.117>

- Town, R.M., Chakraborty, P., Van Leeuwen, H.P., 2009. **Dynamic DGT speciation analysis and applicability to natural heterogeneous complexes.** *Environmental Chemistry.* 6 (2), 170-177. <https://doi.org/10.1071/EN08091>
- Turner, A. 2010. **Marine pollution from antifouling paint particles.** *Marine Pollution Bulletin.* 60 (2), 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.004>
- Turner, A., Singh, N., Richards, J. 2009. **Bioaccessibility of metals in soils and dusts contaminated by marine antifouling paint particle.** *Environmental Pollution.* 157 (5), 1526–1532. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.01.008>
- Uher, E., Besse, J-P., Delaigue, O., Husson, F., Lebrun, J. D. 2017. **Comparison of the metal contamination in water measured by diffusive gradient in thin film (DGT), biomonitoring and total metal dissolved concentration at a national scale.** *Applied Geochemistry.* 88 (B), 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.05.003>
- Umbría-Salinas, K., Valero, A., Martins, S.E., Wallner-Kersanach, M. 2019. **Copper Ecological Risk Assessments to Brazilian aquatic organisms in shipyard areas using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) and Predicted No Effect Concentration (PNEC).** *Science of The Total Environment.* Submitted.
- Uriu-Adams, J.Y. & Keen, C.L. 2005. **Copper, oxidative stress, and human health.** *Molecular Aspects of Medicine.* 26 (4-5), 268-298. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.015>
- Valero, A., Umbría-Salinas, K., Wallner-Kersanach, M., Andrade, C.F., Yabe, M.J.S., Contreira-Pereira, L., Wasserman, J.C., Kuroshima, K.N., Zhang, H. 2019. **Potential bioavailability of trace metals in sediments in southeastern and southern Brazilian shipyard areas by the DGT technique and chemical extraction methods.** *Science of The Total Environment.* Submitted.

- Vašíčková, J., Hvězdová, M., Kosubová, P., Hofman, J. 2019. **Ecological risk assessment of pesticide residues in arable soils of the Czech Republic.** *Chemosphere.* 216, 479-487. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.158>
- Villar, C.A., Gómez, S.E., Bentos, C.A 2000. **Lethal concentration of Cu in the neotropical fish *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Cyprinodontiformes).** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 65, 465-469. <https://doi.org/10.1007/s001280000147>
- Vivan, J.M., Domenico, M.D., Almeida, T.C.M. 2009. **Effects of dredged material disposal on benthic macrofauna near Itajaí Harbour (Santa Catarina, South Brazil).** *Ecological Engineering.* 35, 1435-1443. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.06.005>
- Wallner-Kersanach, M., Andrade, C., Zhang, H., Milani, M.R., Niencheski, L.F. 2009. **In situ Measurement of Trace Metals in Estuarine Waters of Patos Lagoon using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT).** *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 20 (2), 333-340. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532009000200019>
- Wallner-Kersanach, M., Mirlean, N., Baumgarten, M., Costa, L., Baisch, P., 2016. **Temporal evolution of the contamination in the southern area of the Patos Lagoon estuary, RS, Brazil.** *Journal of Integrated Coastal Zone Management.* 16 (3), 263-279.
- Wang, H., Liang, Y., Li, S., Chang, J. 2013. **Acute toxicity, respiratory reaction, and sensitivity of three cyprinid fish species caused by exposure to four heavy metals.** *PLoS ONE.* 8 (6), e65282. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065282>
- Wang, W., Liang, Q., Zhao, J., Chen, R.. 2017. **Application of biotic ligand model in predicting copper acute toxicity to carp (*Cyprinidae*).** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 98, 22-26. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1999-9>

- Wang, D. & Sañudo, S. A. 2009. **Vanadium speciation and cycling in coastal waters.** *Marine Chemistry.* 117, 52-58.
<https://doi.org/10.1016/j.marchem.2009.06.001>
- Wheeler, J.R., Grist, E.P.M., Leung, K.M.Y., Morritt, D., Crane, M. 2002. **Species sensitivity distributions: data and model choice.** *Marine Pollution Bulletin.* 45, 192-202.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.029>
- Windom, H.L., Niencheski, L.F., Smith Jr. R.G. 1999. **Biogeochemistry of Nutrients and Trace Metals in the Estuarine Region of the Patos Lagoon (Brazil).** *Estuarine, Coastal and Shelf Science.* 48, 113–123.
<http://dx.doi.org/10.1006/ecss.1998.0410>
- Xiao, Z., Gao, J., Su, Y. 2019. **China’s water risk assessment and industrial source analysis based on the localization of WWF water risk assessment tools.** *Environmental Impact Assessment Review.* 78, 106285. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2019.106285>
- Yan, Z., Pa, J., Gao, F., An, Z., Liu, H., Huang, Y., Wang X. 2019. **Seawater quality criteria derivation and ecological risk assessment for oil pollution in china.** *Marine Pollution Bulletin.* 142, 25-30.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.033>
- Yebra, D., Kiil, S., Dam-Johansen, K. 2004. **Antifouling technology –past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings.** *Progress in Organic Coatings.* 50 (2), 75-104. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2003.06.001>
- Ytreberg, E., Karlsson, J., Ndungu, K., Hasselov, M., Breitbarth, E., Eklund, B. 2011. **Influence of salinity and organic matter on the toxicity of Cu to a brackish water and marine clone of the red macroalga *Ceramium tenuicorne*.** *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74, 636-642.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.09.013>

Zhang, H. & Davison, W. 1995. **Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution.** *Analytical Chemistry*. 67, 3391-3400.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac00115a005>

Zhang, H., Walker, T.R., Davis, E., Ma, G. 2019. **Ecological risk assessment of metals in small craft harbor sediments in Nova Scotia, Canada.** *Marine Pollution Bulletin*. 146, 466-475.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.068>

Anexos

Anexo 1

Concentrações de metais lábeis (fração DGT) na coluna de água. Período amostral 1 (S₁; fevereiro-março 2018).

Local	Amostra	Cr ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ni ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	V ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
TM Shipyard (TMS) - Baía de Guanabara (RJ)	TMS ₁	0.069	0.712	0.117	0.937
	TMS ₂	0.113	0.462	0.403	1.108
	TMS ₃	0.056	0.846	0.086	1.084
	TMS ₄	<0.037	0.572	0.151	1.007
	TMS ₅	0.084	0.726	0.145	1.081
P Shipyard (PS) - Rio Itajaí-Açu (SC)	PS ₁	0.096	0.145	<0.048	0.559
	PS ₂	0.075	0.242	0.102	0.849
	PS ₃	0.218	0.461	0.340	0.521
	PS ₄	<0.037	0.101	0.173	0.507
	PS ₅	0.174	0.265	0.145	0.593
GFF Shipyard (GFFS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	GFFS ₁	<0.037	0.052	<0.048	<0.084
	GFFS ₂	0.089	0.279	0.257	1.877
	GFFS ₃	0.127	0.118	0.071	1.714
	GFFS ₄	<0.037	0.233	0.089	1.587
	GFFS ₅	0.066	0.090	0.119	2.059
S Shipyard (SS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	SS ₁	0.188	<0.040	0.108	1.378
	SS ₂	0.058	1.243	0.122	1.705
	SS ₃	0.102	1.752	0.115	3.705
	SS ₄	0.068	1.589	0.149	1.335
	SS ₅	0.145	1.447	0.137	1.622
Área de Referencia - Marinheiros Island (MI) (RS)	MI ₁	<0.037	0.047	0.253	1.241
	MI ₂	<0.037	0.075	0.090	1.337
	MI ₃	<0.037	0.043	0.112	1.236
	MI ₄	<0.037	<0.040	0.145	1.225
	MI ₅	<0.037	<0.040	<0.048	1.177

Anexo 2

Concentrações de metais lábeis (fração DGT) na coluna de água. Período amostral 2 (S₂; julho-setembro 2018).

Local	Amostra	Cr (µg.L-1)	Cu (µg.L-1)	Ni (µg.L-1)	V (µg.L-1)
TM Shipyard (TMS) - Baía de Guanabara (RJ)	TMS _{1.1}	0.051	1.006	0.083	<0.084
	TMS _{1.2}	0.072	0.633	0.572	<0.084
	TMS _{1.3}	0.174	1.208	0.621	<0.084
	TMS _{2.1}	<0.049	0.809	0.415	0.175
	TMS _{2.2}	<0.049	0.329	0.372	1.197
	TMS _{2.3}	0.138	0.918	0.420	<0.084
	TMS _{3.1}	<0.049	0.769	0.301	<0.084
	TMS _{3.2}	0.075	0.777	0.245	0.823
	TMS _{3.3}	<0.049	0.431	0.287	0.859
P Shipyard (PS) - Rio Itajaí-Açu (SC)	PS _{1.1}	<0.049	0.326	2.029	1.350
	PS _{1.2}	0.247	0.670	2.528	1.345
	PS _{1.3}	0.171	0.660	2.526	1.388
	PS _{2.1}	<0.049	<0.126	1.887	1.406
	PS _{2.2}	<0.049	0.364	2.260	1.486
	PS _{2.3}	<0.049	0.316	1.845	1.430
	PS _{3.1}	<0.049	<0.126	1.593	1.120
	PS _{3.2}	1.142	0.443	1.967	1.135
	PS _{3.3}	0.075	0.699	1.587	1.175
GFF Shipyard (GFFS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	GFFS _{1.1}	<0.049	0.326	0.369	1.635
	GFFS _{1.2}	0.146	<0.126	<0.057	1.489
	GFFS _{1.3}	0.057	<0.126	0.173	1.646
	GFFS _{2.1}	0.106	0.295	0.170	1.319
	GFFS _{2.2}	<0.049	<0.126	<0.057	1.788
	GFFS _{2.3}	<0.049	0.236	0.191	1.602
	GFFS _{3.1}	0.106	<0.126	0.244	2.321
	GFFS _{3.2}	<0.049	0.392	<0.057	2.087
	GFFS _{3.3}	0.169	0.345	0.214	1.751
S Shipyard (SS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	SS _{1.1}	0.984	2.118	0.839	1.393
	SS _{1.2}	0.320	1.529	5.459	1.386
	SS _{1.3}	0.097	0.417	0.24	1.737
	SS _{2.1}	<0.049	<0.126	0.23	1.376
	SS _{2.2}	0.090	0.963	0.23	1.474
	SS _{2.3}	<0.049	0.373	0.22	1.533
	SS _{3.1}	0.057	0.566	0.086	1.276
	SS _{3.2}	0.243	0.980	0.610	1.502
	SS _{3.3}	0.104	0.303	0.22	1.531

Área de Referência - Marinheiros Island (MI) (RS)	MI _{1.1}	0.111	0.222	<0.057	3.938
	MI _{1.2}	<0.049	0.201	<0.057	1.623
	MI _{1.3}	<0.049	0.312	<0.057	1.838
	MI _{2.1}	<0.049	0.340	<0.057	1.272
	MI _{2.2}	<0.049	0.376	<0.057	1.532
	MI _{2.3}	0.221	0.238	<0.057	1.456
	MI _{3.1}	<0.049	0.417	<0.057	2.137
	MI _{3.2}	0.074	0.342	<0.057	1.733
	MI _{3.3}	0.056	0.214	<0.057	1.648

Anexo 3

Concentrações de cobre dissolvido total na coluna de água nos períodos de amostragem 1 (S₁; fevereiro-março 2018) e 2 (S₂; julho-setembro 2018).

Local	Amostra	Cu (µg.L ⁻¹)	
		S ₁	S ₂
TM Shipyard (TMS) - Baía de Guanabara (RJ)	TM ₁	1.670	2.240
	TM ₂	1.410	1.650
	TM ₃	1.540	2.690
P Shipyard (PS) - Rio Itajaí-Açu (SC)	PS ₁	1.170	1.230
	PS ₂	1.770	1.350
	PS ₃	1.210	1.110
GFF Shipyard (GFFS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	GFF ₁	1.690	8.370
	GFF ₂	1.770	8.860
	GFF ₃	1.570	7.880
S Shipyard (SS) - Estuário da Lagoa dos Patos (RS)	SS ₁	2.620	1.910
	SS ₂	1.260	3.020
	SS ₃	1.800	2.660
Área de Referência - Marinheiros Island (MI) (RS)	MI ₁	1.390	1.350
	MI ₂	1.840	1.130
	MI ₃	1.620	1.240

Anexo 4

Dados ecotoxicológicos utilizados na derivação do PNEC e elaboração da curva SSD.

Specie	Group	Life stage	Water tested	Salinity	Result (µg.L ⁻¹)	Reference
<i>Hyalella pseudoazteca</i>	Other invertebrates (5)	Juvenile	Synthetic seawater; moderately hard	Not indicated	0.2	Giusto & Ferrari, 2008
<i>Ceramium tenuicorne</i>	Algae (1)	Not indicated	Synthetic seawater	15	4.0*	Ytreberg <i>et al.</i> , 2011
<i>Lemna aequinoctialis</i>	Macrophyta (6)	Not indicated	Synthetic seawater	Not indicated	16.2	Charles <i>et al.</i> , 2006
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Zooplankton (7)	Larval	Not indicated	5	26.0*	Girling <i>et al.</i> , 2000
<i>Amphipholis squamata</i>	Other invertebrates (5)	Juvenile	Unfiltered natural sea water	(32.6-40.2)	31.0*	Black <i>et al.</i> , 2015
<i>Poecilia reticulata</i>	Fish (8)	Not indicated	Natural sea water	Not indicated	40.0	Shuhaimi-Othman <i>et al.</i> , 2015
<i>Branchiura sowerbyi</i>	Other invertebrates (5)	Adult	Synthetic seawater	Not indicated	80.0	Das & Das, 2005
<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	Fish (8)	Juvenile	Synthetic seawater	Not indicated	90.0*	Wang <i>et al.</i> , 2013; Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fish (8)	Larval	Natural sea water // Synthetic sea water	30	139.7*	De Boeck <i>et al.</i> , 2004; Hansen <i>et al.</i> , 2002; Naddy <i>et al.</i> , 2015
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	Fish (8)	Adult	Synthetic seawater	Not indicated	156.5*	Villar <i>et al.</i> , 2000
<i>Neohelice granulata</i>	Crustacean in larval phase (3)	Larval	Filtered estuarine water	35	164.9	Ferrer <i>et al.</i> , 2006
<i>Daphnia longispina</i>	Crustacean in larval phase (4)	Juvenile	Synthetic seawater	Not indicated	242.2	Lopes <i>et al.</i> , 2004
<i>Cyprinus carpio</i>	Fish (8)	Juvenile	Synthetic seawater	Not indicated	503.9	Das & Das, 2005
<i>Cyprinus carpio</i>	Fish (8)	Larval	Synthetic seawater	Not indicated	532.1*	Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>Squalus acanthias</i>	Fish (8)	Adult	Natural sea water	30	1000.0	DeBoeck <i>et al.</i> , 2007
<i>Lithobates catesbeianus</i>	Amphibia (2)	Larval	Synthetic seawater	Not indicated	3395.0*	Lombardi <i>et al.</i> , 2002; Ossana <i>et al.</i> , 2010
<i>Callinectes sapidus</i>	Crustacean in larval phase (4)	Juvenile	Natural sea water	30	4018.0	Martins <i>et al.</i> , 2011
<i>Neohelice granulata</i>	Crustacean in larval phase (4)	Juvenile	Filtered estuarine water	35	130100.0	Ferrer <i>et al.</i> , 2006

The values with "*" was determined using average the data