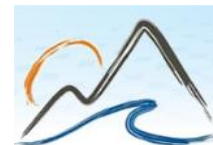




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA



PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA FÍSICA, QUÍMICA E GEOLÓGICA

Dissertação de Mestrado

**BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES DE TERCEIRA
GERAÇÃO EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA
COSTA BRASILEIRA**

Fiamma Eugênia Lemos Abreu

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fillmann

Co-Orientador: Prof. Dr. Italo Braga de Castro

RIO GRANDE

ABRIL, 2016

Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos superficiais da costa brasileira

Fiamma Eugênia Lemos Abreu

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Gilberto Fillmann (FURG – Presidente)

Prof. Dr. Italo Braga de Castro (UNIFESP)

Prof. Dr. Ozelito Possidônio de Amarante Junior (IFMA)

Prof. Dra. Grasiela Lopes Pinho (FURG)

Aos meus pais, Felipe e Auxiliadora, dedico todas minhas vitórias

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser a força constante em mim, pela sabedoria, discernimento e companhia em todo momento de minha vida;

Ao professor Gilberto Fillmann, pela orientação no mundo da química, confiança no meu trabalho, paciência pelas minhas confusões e ansiedade e por cada momento único de aprendizado;

Ao professor Ítalo Braga de Castro, que continuou me incentivando e motivando mesmo com alguns quilômetros de distância. Obrigada por toda força e esclarecimento;

Ao professor Ednei Primel, pela disponibilidade do laboratório LACOM e de toda equipe na realização desse trabalho. Obrigada especialmente à Sergiane Caldas e Jean Lucas por toda ajuda no LC/MS-MS e na química analítica;

Aos professores Ozelito Possidônio e Grasiela Pinho pela disponibilidade em participar da minha banca de defesa;

Aos companheiros de laboratório e de vida, Ana Paula, Cesar, Filipe, Juliana, Juliane, Juliê, Leonardo, Martina, Michelle, Nilson, Patrícia, Rodrigo, Samantha, Sanye e Vanda. Obrigada por todos ensinamentos dentro de um laboratório de química e pela importante amizade compartilhada diariamente. Obrigada por tudo!

Às amigas que conquistei em Rio Grande, Camila, Catherine, Iarema, Luan, Maria Isabel, Mario, Marcus e Wilton. Vocês me fizeram companhia em cada momento complicado e em cada momento feliz. Vou levar sempre essa amizade comigo!

Às minhas companheiras de vida, Ariadny, Cibele, Crislane e Jéssika, que apesar da distância, estão sempre comigo. Obrigada por não me abandonar, pelas noites no Skype e por cada momento vivido intensamente quando volto pro Ceará.

Aos meus pais, Felipe Jorge e Maria Auxiliadora, por todo amor, dedicação, educação e confiança. Obrigada por aguentarem passar por cada obstáculo apenas para minha felicidade.

Aos órgãos de fomento CAPES pela bolsa de estudo e à FINEP pelo financiamento do projeto (AIBRASIL II).

“Lembro-me de uma mulher, nessa favela, cuja situação me revelou o significado da pobreza desoladora. Ela segurava um bebê de sete ou meses com uma queimadura feia na testa, pois havia caído sobre o fogo que estava sendo usado para cozinhar. Eu caminhava pelo local e a mulher veio na minha direção, implorando ajuda.

Era possível ver uma enorme mancha azulada na testa da criança, combinada ao hematoma. Perguntei o que era aquela mancha, na esperança de que fosse algum tipo de iodo. Nada disso. A mãe havia ficado desesperada para limpar a ferida, mas não tinha antibióticos, gaze ou água limpa. Assim, acabou quebrando uma caneta, imaginando que a tinta fosse a única coisa ali não contaminada pela sujeira, e derramou o líquido na testa do bebê.”

- Annie Leonard, A história das coisas

RESUMO

Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração formam um grupo de compostos orgânicos e organometálicos utilizados em embarcações ou estruturas submersas para evitar a fixação de organismos. Dentre os mais utilizados mundialmente estão o diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB. Esses compostos quando comparados ao TBT (amplamente utilizado como anti-incrustante até seu banimento mundial em 2008) são menos persistentes e menos tóxicos ao meio ambiente. No entanto, a escassez de informações sobre os níveis ambientais e comportamento ambiental desses compostos, são ainda desconhecidos, o que pode comprometer o entendimento do seu potencial impacto ao meio ambiente. A fim de avaliar a contaminação por biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (Irgarol 1051, diuron, DCOIT e TCMTB) em áreas estuarinas sob influência de dois dos principais terminais portuários da costa brasileira (Sistema Estuarino de Santos e São Vicente – SESS e Estuário da Lagoa dos Patos – ELP), uma metodologia analítica foi validada para quantificação desses compostos na matriz sedimento, tendo sido também avaliado o efeito matriz sobre a quantificação dos analitos de interesse. O método analítico utilizando a sonificação e a purificação por extração de fase sólida foi validado seguindo as normas estabelecidas por órgãos reguladores (SANTE e INMETRO). O efeito matriz mostrou comportamentos e intensidades diferentes para cada analito, bem como para a matriz sedimentos dos distintos ambientes (SESS e ELP). O efeito matriz foi mais intenso para diuron e Irgarol 1051 quando analisado na matriz proveniente do estuário de Santos, enquanto que o DCOIT estava sob maior efeito matriz quando analisado nos sedimentos de Rio Grande. Irgarol, diuron e DCOIT foram detectados, porém abaixo do limite de quantificação nos sedimentos do SESS. Os quatro biocidas foram detectados em sedimentos do ELP com concentrações variando entre <LD e 7,7 ng g⁻¹ para diuron, <LD e 17,7 ng g⁻¹ para Irgarol 1051, <LD e 213,7 ng g⁻¹ para DCOIT e <LD e 2,63 ng g⁻¹ para TCMTB. As maiores concentrações foram encontradas nos sedimentos coletados nas proximidades de estaleiros onde são realizadas manutenções de embarcações e o conseqüente despejo de partículas de tintas anti-incrustantes que acabam sendo um reservatório de biocidas junto ao sedimento. Além disso, por serem locais protegidos, são ambientes de menor hidrodinamismo o que não favorece os processos de dispersão. Assim, além da presença do efeito matriz sobre os biocidas anti-incrustantes em diferentes matrizes de sedimentos, a análise em amostras ambientais mostrou a contaminação por Irgarol, diuron, TCMTB e DCOIT em estuários brasileiros sob influência de terminais portuários e estaleiros, o que pode estar acarretando efeitos deletérios aos organismos destas regiões.

Palavras-Chave: Biocidas de 3ª geração, efeito matriz, sedimentos estuarinos

ABSTRACT

Booster biocides form a group of organic and organometallic compounds used in anti-fouling paints to prevent the fouling of marine organisms on submerged surfaces or ships. Among the most used worldwide are diuron, Irgarol 1051, DCOIT and TCMTB. These compounds compared to TBT (widely used as antifouling until a global ban in 2008) are less persistent and less toxic to the environment. However, the environmental behavior of these compounds as well as the levels at which they occur in the environment are still unknown, which limits the ability to understand their environmental impact. In order to assess the contamination of 3rd generation anti-fouling biocides (Irgarol 1051, diuron, DCOIT and TCMTB) in estuarine areas at two major port terminals along the Brazilian coast (Estuarine System of Santos and São Vicente - SESS and the Patos Lagoon Estuary - ELP), an analytical methodology was validated to quantify these compounds in a sediment matrix, while the matrix effect on analyzed measurements of interest was also assessed. The analytical method, that uses sonification and purification by solid phase extraction, was validated following regulatory agencies' standards (SANTE and INMETRO). The matrix effect showed different behaviors and intensities for each analyte, such as different sediment matrices in each environment (SESS and ELP). The matrix effect was more intense for diuron and Irgarol 1051 from the estuary of Santos, while for DCOIT the matrix effect was greater in Rio Grande sediment. Irgarol, Diuron, and DCOIT were detected, but below the limit of quantification in SESS sediments. The four biocides were detected in ELP sediments with concentrations ranging from <LOD and 7.7 ng g⁻¹ for diuron, <LD and 17.7 ng g⁻¹ for Irgarol 1051, <LD and 213.7 ng g⁻¹ to DCOIT and <LOD and 2.63 ng g⁻¹ for TCMTB. The highest concentrations were found in the sediment collected at sites where ships are maintained at close proximity and consequently where particles are discharged from anti-fouling paints. These sediments function as reservoirs, continually releasing biocides into the environment. Moreover, these sites are sheltered and have smaller scale hydrodynamics, which does not favor the dilution process in these environments. Thus, in addition to the presence of the matrix effect on the anti-fouling biocides of different sediment matrices, environmental samples showed contamination by Irgarol, diuron, TCMTB and DCOIT in Brazilian estuaries that function as port terminals and shipyards, which may have deleterious effects on the bodies of water in these regions.

Key words: Booster biocides, contamination; estuarine sediments

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura química dos biocidas anti-incrustantes Diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB.	16
Figura 2: Pontos de amostragem no Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS). S1, Pier do Pescador; S2, Balsa; S3, Terminal 1; S4, Terminal 2; S5, Terminal 3; S6, Alemoa; S7, São Vicente 1; S8, São Vicente 2; S9, São Vicente 3 (Marina).....	32
Figura 3: Pontos de amostragem no estuário da Lagoa dos Patos. R1, Molhes; ER2, Estaleiro Santos; ER3, Estaleiro da Barra de São José do Norte; ER4, Estaleiro do Alemão; ER5, Estaleiro dos 4 Irmãos; R6, Cocoruto; ER7, Estaleiro Irmãos Fernandes; ER8, Iate Clube; R9, Diamante; R10, Pesqueiro; R11, Bacia de Pelotas; R12, Setia; R13, Nascimento; R14, Porteiras; R15, Ponta da Feitoria	32
Figura 4: Fluxograma do método	40
Figura 5: Curvas analíticas e faixas de trabalho (variação de 20% da mediana para cada biocida). A linha pontilhada marca a mediana do logaritmo da concentração e as linhas vermelhas marcam o limite inferior e superior.....	48
Figura 6: Relação entre carbono orgânico total (COT - %) e teor de finos (%) dos sedimentos amostrados do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) e Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). A linha de tendência representa a correlação de Pearson (r).	64
Figura 7: Níveis dos biocidas anti-incrustantes (diuron ★ ; Irgarol ▲; TCMTB ◆ e DCOIT ●) em sedimentos do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS). Azul claro indica valores < LD e azul escuro indica valores <LQ.	65
Figura 8: Níveis dos biocidas anti-incrustantes (diuron ★ ; Irgarol ▲; TCMTB ◆ e DCOIT ●) em sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Azul claro indica valores < LD e azul escuro indica valores <LQ.	67
Figura 9: Pontos amostrados no Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) no canal de Santos próximo ao Porto. (a) Terminal 1 (S3); (b) Terminal 2 (S4)	71
Figura 10: Pontos amostrados no Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS). (a) Marina próximo à desembocadura do canal de São Vicente (S9); (b) ponto mais interno do sistema estuarino (S6)	72
Figura 11: (a) Embarcação em reparo no Iate Clube de Rio Grande e (b) partículas de tintas anti-incrustantes na área; (c) Local de manutenção das embarcações no estaleiro Irmãos Fernandes.	74
Figura 12: Estaleiro dos 4 Irmãos (a) e do Alemão (b).....	75
Figura 13: Estaleiro Santos no estuário da Lagoa dos Patos. (a) Local de reparo das embarcações; (b) partículas de tintas anti-incrustantes presente no local.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais propriedades físico-químicas dos quatro biocidas em tintas anti-incrustantes de terceira geração estudados no presente trabalho.....	17
Tabela 2: Toxicidade de biocidas usados em tintas anti-incrustantes de terceira geração sobre diversos grupos de organismos.....	21
Tabela 3: Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem de sedimento nas regiões do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos e estuário da Lagoa dos Patos	33
Tabela 4: Materiais utilizados nas análises químicas	38
Tabela 5: Condições para determinação dos biocidas anti-incrustantes no modo MRM41	
Tabela 6: Curvas analíticas (equação e coeficiente de determinação) preparadas em solvente, em sedimento do estuário da Lagos dos Patos (LP) e do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS) para cada biocida anti-incrustante.....	46
Tabela 7: Médias da recuperação, repetitividade e precisão intermediária (n=3) do método usado para análise dos biocidas anti-incrustantes em sedimentos fortificados em 3 diferentes níveis de concentração	49
Tabela 8: Limites de Detecção e Quantificação reportados em estudos de validação de método para determinação simultânea de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (n.a, não analisado; LD, limite de detecção do método; LQ, limite de quantificação do método).....	51
Tabela 9: Concentrações de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em amostras ambientais de sedimentos reportados em estudos sobre validação de metodologias para determinação simultânea (n.a, não analisado; LD, limite de detecção do método).....	51
Tabela 10: Parâmetros utilizados na investigação do efeito matriz pela intensidade do efeito (EM) e eficiência do processo (EP) a partir da curva em matriz para o estuário da Lagoa dos Patos (ELP) (média \pm desvio padrão, n=3) e sistema estuarino de São Vicente e Santos (SESS) (n=1). <i>t</i> tabulado pela distribuição <i>t student</i> (bilateral) considerando 2 graus de liberdade e significância de 5%.....	53
Tabela 11: Percentual de carbono orgânico total % (COT) e de granulometria nos sedimentos do ELP e SESS	63
Tabela 12: Principais características oceanográficas médias do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS) e do Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) estudados nesse trabalho.....	70
Tabela 13: Concentrações (ng g ⁻¹) de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos estuarinos e marinhos.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE - *Antifouling Agents in Coastal Environments*

BPD - *Biocidal Products Directive*

CENO – Concentração de efeito não observado

CONECO - Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática

COT - Carbono Orgânico Total

CST - Canal de Santos

CSV - Canal de São Vicente

DCE – Detector de Captura de Elétrons

DDT – diclorodifeniltricloroetano

DPR - Desvio Padrão Relativo

EAM - Extração Assistida por Micro-ondas

EFS - Extração de fase sólida

EFS - Extração Fluída Supercrítica

ELL - Extração líquido-líquido

ELP - Estuário da Lagoa dos Patos

EM – Efeito matriz

EP - Eficiência do Processo

ERL - *Environmental risk limit*

FURG - Universidade Federal do Rio Grande

GC-MS - Cromatografia de fase gasosa com detector por espectrometria de massas (do inglês:
Gas chromatography coupled to mass spectrometry)

K_{oc} - Coeficiente de partição entre a água e o carbono orgânico

K_{ow} - Coeficiente de partição entre a água e octanol

LC-MS - Cromatografia de fase líquida com detector de espectrometria de massas (do inglês:
Liquid chromatography coupled to mass spectrometry)

LD - Limite de detecção do método

LQ - Limite de quantificação do método

MRM - Monitoramento de Reações Múltiplas

OMI - Organização Marítima Internacional

SESS - Sistema Estuarino de Santos e São Vicente

TBT – tributilestanho

TPT – trifenilestanho

UE - União Europeia

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Problemática.....	13
1.2 Biocidas anti-incrustantes de 3 ^a geração.....	15
1.2.1 Diuron	17
1.2.2 Irgarol 1051.....	18
1.2.3 DCOIT	19
1.2.4 TCMTB.....	20
1.2.5 Toxicidades dos biocidas	21
1.3 Métodos analíticos.....	22
1.4 Legislação	25
1.5 Antecedentes	27
2. OBJETIVOS	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivos específicos	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Área de estudo	31
3.1.1 Características gerais – Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, São Paulo	35
3.1.2 Características Gerais – Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul	35
3.2 Coleta e Caracterização dos Sedimentos	37
3.2.1 Análise granulométrica	37
3.2.2 Carbono orgânico	38
3.3 Reagentes, Solventes e Materiais	38
3.4 Descontaminação da Vidraria	39
3.5 Soluções	39
3.6 Metodologia Analítica	39
3.7 Instrumento	40
3.8 Validação do Método.....	41
3.8.1 Linearidade	41
3.8.2 Exatidão	42
3.8.3 Precisão	42
3.8.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	43
3.8.5 Efeito Matriz	43

3.8.6 Estatística analítica	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Validação e efeito matriz na análise de biocidas anti-incrustantes em sedimentos marinhos	45
4.1.1 Efeito Matriz	52
4.2 Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos de dois estuários brasileiros	62
4.2.1 Carbono Orgânico e Granulometria	62
4.2.2 Biocidas anti-incrustantes de terceira geração	65
4.2.3 Discussão Geral.....	69
5. CONCLUSÃO:.....	85
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	86
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXO I.....	101
ANEXO II.....	103

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Problemática

As atividades portuárias têm papel fundamental na economia de um país devido ao comércio internacional das mercadorias e à geração de renda. No entanto, são atividades que podem gerar impactos ambientais pela sua implementação em áreas sensíveis (ex.: estuários, manguezais), realização de dragagens nos canais de navegação (manutenção ou aprofundamento) ou descarte de resíduos gerados por todo terminal portuário e embarcações atracadas nos píeres (LIBES, 2009)

As embarcações, por sua vez, são os principais meios de transporte de cargas entre países sem fronteira comum e estão relacionadas à degradação ambiental tanto do oceano como de zonas costeiras. As embarcações são fontes de poluição para o ambiente marinho através do lançamento de resíduos (sólidos e orgânicos), queima de combustível fóssil, emissões de enxofre e partículas poluentes, contaminantes químicos utilizados nas tintas anti-incrustantes e por atuarem como veículos de disseminação de espécies invasoras através da água de lastro ou pela bioincrustação (BOLLMANN et al., 2010)

O acúmulo de micro-organismos, algas e/ou animais em estruturas naturais (ex.: rochas, carcaças de baleias) ou artificiais (ex.: pilares, gaiolas de aquicultura) submersas é conhecido como bioincrustação. Esse processo pode causar danos ecológicos ao transportar espécies exóticas que podem desequilibrar os ecossistemas e até eliminar populações de organismos importantes como fonte de alimento ou para o comércio (ALMEIDA et al., 2007). Quando a bioincrustação ocorre nas embarcações pode causar efeitos adversos como a elevação do atrito do casco com a água (aumento no consumo de combustível), deterioração dos revestimentos protetores aumentando a necessidade de manutenção e docagens. Dessa forma, a bioincrustação terá reflexos sobre a economia ligada ao transporte marítimo de mercadorias (KOTRIKLA, 2009; YEBRA et al., 2004).

A fim de evitar esses problemas (econômicos e ecológicos), tornou-se necessário recobrir os cascos de navios com substâncias químicas que impeçam a fixação de organismos. Inicialmente, compostos orgânicos ligados a mercúrio, chumbo, arsênio e, até mesmo, diclorodifeniltricloroetano (DDT) eram utilizados como agentes químicos em sistemas anti-incrustantes (ALMEIDA et al., 2007).

Na metade do século XIX foram formuladas as primeiras tintas anti-incrustantes usando biocidas como princípios ativos e os primeiros polímeros para facilitar a aplicação nos cascos de navios. A utilização desses produtos está presente desde a construção dos navios até a sua reparação e manutenção (ALMEIDA et al., 2007), tendo sido responsável por movimentar até 4,8 bilhões de dólares no ano de 2012 (BOCCA; LEGROTTAGLIE, 2014).

Historicamente, os biocidas utilizados na composição dessas tintas foram modificados de acordo com novas tecnologias que surgiam para melhorar os sistemas anti-incrustantes. Sendo assim, os sistemas que incorporam biocidas podem ser divididos em três gerações. A primeira geração, baseada em óxidos de cobre e zinco como biocidas, apresentava uma durabilidade inferior a 1 ano. Apesar de possuírem eficiência contra uma gama de organismos incrustantes (moluscos, cracas, ascídias), algumas espécies de algas mostraram tolerância fisiológica ao cobre, diminuindo assim a eficiência dessas tintas (ALMEIDA et al., 2007; OMAE, 2003).

As tintas anti-incrustantes à base de biocidas organoestânicos, como tributilestanho (TBT) e trifenilestanho (TPT), são conhecidas como a segunda geração. Devido à alta eficiência e durabilidade nas embarcações, essas tintas foram amplamente utilizadas a partir da década de 1960 (YEBRA et al., 2004). Além disso, o surgimento da tecnologia de copolímeros, permitindo a liberação dos biocidas organoestânicos em taxas mais lentas e constantes, também colaborou com o sucesso desses produtos como anti-incrustantes (HUGGET et al., 1992)

No entanto, a toxicidade desses biocidas não se limitava a espécies incrustantes, mas atingia também organismos não-alvo. Efeitos sobre a reprodução do fitoplâncton, declínio de populações de moluscos e problemas de imunossupressão em mamíferos são alguns dos efeitos deletérios causados por esses compostos químicos (CASTRO et al., 2012; GRACELI et al., 2013).

Os efeitos ambientais dos compostos organoestânicos foram reportados em todo o mundo, o que levou, em 2011, a Organização Marítima Internacional (OMI) a propor o banimento mundial desses biocidas em tintas anti-incrustantes através da Convenção Internacional sobre o Controle de Sistemas Anti-Incrustantes em Navios (*Antifouling System Convention, AFS*). Segundo essa convenção, a partir de 2003 ficaram proibidas novas aplicações de tintas anti-incrustantes à base de organoestânicos nas embarcações (IMO, 2008). A completa proibição mundial, restringindo a presença desses compostos em embarcações com tonelagem bruta de 400 ton. ou maiores que 25

m, entrou em vigor apenas em 2008 com a ratificação de países responsáveis por 25% da tonelagem bruta mundial (DAFFORN et al., 2011)

A partir de então, a demanda por alternativas ao TBT tornou-se mais evidente. Dessa forma, visando o uso de compostos que produzam um menor impacto ambiental, a indústria naval desenvolveu tintas que utilizam os biocidas de terceira geração. Dependendo do fabricante e da formulação do produto, essas tintas podem ser ainda utilizadas em conjunto com polímeros de autopolimento ou deixam os biocidas em livre associação com a matriz (ALMEIDA et al., 2007; THOMAS; BROCK, 2010; DAFFORN et al., 2011).

Atualmente, existem pelo menos 20 biocidas orgânicos e inorgânicos utilizados como agentes ativos em sistemas anti-incrustantes (CASTRO et al., 2011; GUARDIOLA et al., 2012). Na composição desses produtos, após o banimento do TBT, voltaram a ser incluídos compostos a base de óxidos de cobre e zinco. Porém, para atingir a eficiência desejada, muitas formulações incorporaram biocidas orgânicos que atuam como potencializadores da toxicidade dos compostos (*booster biocides*). Assim, a fim de potencializar a toxicidade frente a diversas espécies de incrustantes, até 4 biocidas podem ser encontrados em uma mesma formulação de tinta anti-incrustante, (OMAE, 2003; OKAMURA et al., 2000).

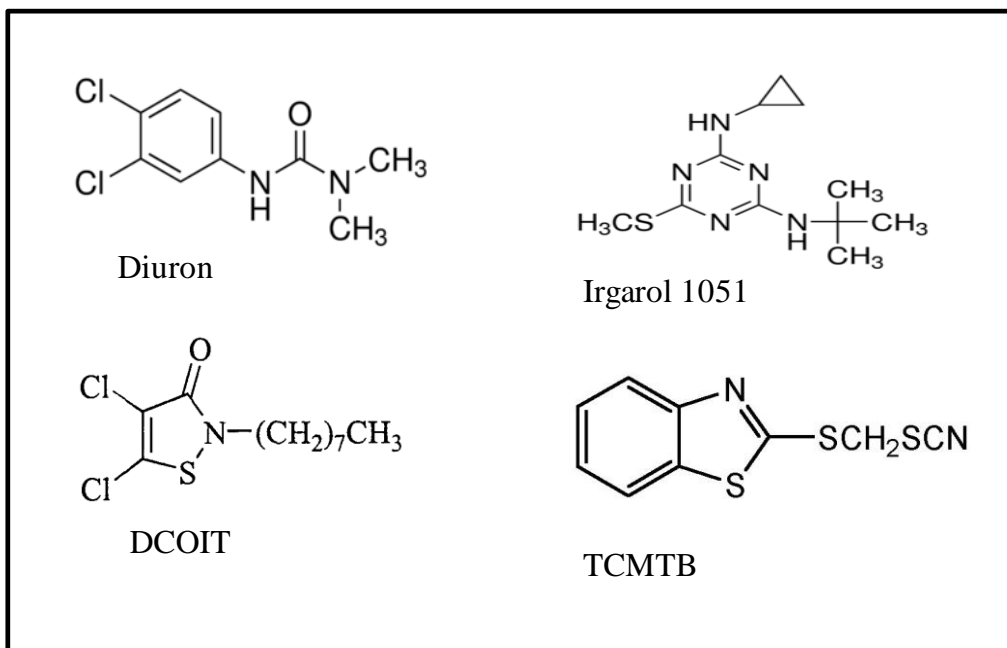
Portanto, considerando que esses biocidas são lixiviados das pinturas atingindo a coluna de água, e que sua utilização vem crescendo simultaneamente com a expansão do transporte marítimo e com a construção de navios maiores, informações sobre a ocorrência, o comportamento e os efeitos ambientais desses biocidas são cada vez mais necessárias para o gerenciamento de áreas susceptíveis a esse tipo de impacto.

1.2 Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração

Na busca por um substituto a altura do TBT, pesquisadores tinham o objetivo de encontrar compostos químicos com amplo espectro biocida, baixo potencial de bioacumulação e biomagnificação, baixa ou nenhuma permanência ambiental, níveis de toxicidade ambientalmente toleráveis (baixa toxicidade para mamíferos) e favorável relação custo/benefício (equilíbrio entre eficiência e durabilidade) (TAKAHASHI et al., 2009; Castro et al., 2011).

Os biocidas utilizados em tintas anti-incrustantes de 3ª geração são pertencentes a diferentes grupos químicos abrangendo compostos orgânicos e organometálicos. Dentre esses, alguns foram amplamente utilizados em embarcações desde a década de 1990: Irgarol 1051, diuron, DCOIT, TCMTB (CASTRO et al., 2011) (Figura 1).

Figura 1: Estrutura química dos biocidas anti-incrustantes Diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB.



As diferenças nas propriedades físico-químicas desses compostos são determinantes no seu comportamento, mobilidade e transporte no ambiente. Entre essas propriedades, a estrutura da molécula, tempo de meia-vida, solubilidade, coeficiente de partição entre a água e o carbono orgânico do solo (K_{oc}), coeficiente de partição entre a água e octanol (K_{ow}) são fundamentais para prever o destino e transporte desses compostos. Nesse contexto, é possível estimar o grau de mobilidade do composto no ambiente, ou seja, se tende a se adsorver na matéria orgânica do sedimento ($K_{oc} > 3$), bioconcentra-se nos tecidos dos organismos ($K_{ow} > 3$) ou ser facilmente carregado pela água (alta solubilidade) (BAIRD; CANN, 2002; FAY; SILVA, 2004). Na tabela 1 são apresentadas as principais propriedades físico-químicas dos biocidas estudados no presente trabalho (diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB), que serão discutidas em sequência.

Tabela 1: Principais propriedades físico-químicas dos quatro biocidas em tintas anti-incrustantes de terceira geração estudados no presente trabalho.

Biocida	M.M.	Sol. (mg L ⁻¹)	P.E.	T 1/2 (dias)		Log Kow	Log Koc
				Água marinha	Sedimento		
Diuron	233,1	36,4	385,2	> 42	14	2,85	2,3
Irgarol 1051	253,4	7	428	24 -365	100 – 250	3,95	3,3
DCOIT	213,3	14	322,6	< 1	1,5	2,85	4,2
TCMTB	238,4	45	n.a	36	2,7	3,1	2,7

Sol., solubilidade em água (25°C); M.M., massa molecular; P.E., ponto de ebulição, T1/2, tempo de meia vida; n.a, não se aplica. Adaptado de Thomas et al. (2002), Castro et al. (2011), Thomas e Norway (2009), Van Wezel et al. (2004), Callow; Willingham (1996), Carbery et al. (2006)

1.2.1 Diuron

O diuron (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea) é um composto do grupo químico das feniuréias. Desde a década de 1950 vem sendo utilizado como herbicida, principalmente contra ervas-daninhas, devido a atuação no bloqueio da transferência de elétrons durante o processo de fotossíntese de autótrofos (XU et al., 2013). A partir da década de 1990, pequenas embarcações (principalmente no Reino Unido) passaram a utilizar esse composto como biocida anti-incrustante visto sua eficiência contra espécies de fitoplâncton e macroalgas (PRICE; READMAN, 2013). Esse composto possui moderado Log *Kow* (2,85) e solubilidade (36,7 mg L⁻¹). Em estudos de laboratório foi observado que o diuron apresenta baixa adsorção em sedimentos, particionando preferencialmente na fase aquosa (VOULVOULIS et al., 2002). Este comportamento pode ser verificado em trabalhos realizados para uma mesma área de estudo, onde são observadas concentrações mais elevadas desse composto na água e baixos níveis nos sedimentos (LAMOREE et al., 2002; THOMAS et al., 2000).

A degradação do diuron pode ocorrer principalmente por vias aeróbicas, formando os compostos DCPMU (1-(3,4-diclorofenil-3-metilureia), DCPU (1-(3,4-diclorofenilureia) e finalmente DCA (3,4-dicloroanilina). A transformação do diuron também pode ocorrer por vias anaeróbicas, onde o CPDU (1-(3-clorofenil-3,1-dimetilureia)) é formado (GIACOMAZZI; COCHET, 2004; THOMAS; NORWAY, 2009). A fototransformação também pode dar origem a esses produtos de degradação, mas de acordo com o comprimento de onda incidente podem ocorrer alterações na proporção dos produtos gerados (MESTANKOVA et al., 2011). Os metabólitos do diuron são mais instáveis e hidrofílicos que o composto parental e, embora sejam

compostos com menor persistência no ambiente, foram detectados em amostras de água e sedimento marinho (GATIDOU et al., 2007; THOMAS et al., 2002).

O processo de degradação do diuron ocorre lentamente, principalmente na coluna d'água, conforme demonstrado em estudos experimentais. Thomas et al. (2002) observou que menos de 1% do diuron foi degradado após 42 dias na água do mar (sem filtração). Outros autores (CALLOW; WILLINGHAM, 1996; OKAMURA et al., 2003) também sugeriram a alta persistência desse composto no ambiente, sugerindo um tempo de meia vida de meses até 1 ano na coluna d'água. Enquanto no sedimento, um dos poucos experimentos mostrou a persistência do diuron, uma vez que não foi observado sinais de degradação em 14 dias de teste. Esse resultado foi relacionado à presença de partículas de tintas anti-incrustantes que podem atuar protegendo os compostos da degradação e permitindo uma contínua liberação para o ambiente (THOMAS et al., 2003).

1.2.2 Irgarol 1051

O Irgarol 1051 é o nome comercial do 2-metiltio-4-*terc*-butilamino-6-ciclopropilamino-*s*-triazina), um composto do grupo triazinas. Esse grupo químico é conhecido pela sua eficiência como herbicida, sendo empregado em diversas cultivares. Junto com o diuron, foi um dos primeiros compostos utilizados como alternativa ao TBT, sendo o biocida anti-incrustante de 3ª geração que mais frequentemente foi encontrado em amostras ambientais de áreas de alto tráfego naval (CASTRO et al., 2011).

Dentre os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração, o Irgarol é o composto que apresenta o maior tempo de meia vida, podendo chegar 250 dias nos sedimentos e até 1 ano na coluna d'água (HALL et al., 1999; THOMAS et al., 2002). Essa alta permanência nesses dois compartimentos do ambiente é relacionada com a menor susceptibilidade à degradação por microorganismos (EGUCHI et al., 2010; SAPOZHNIKOVA et al., 2013). Ainda com a solubilidade relativamente baixa (7 mg L^{-1}), o particionamento preferencial desse composto é pela fase dissolvida, sendo entretanto também associado com o material particulado em suspensão (KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004).

A principal forma de degradação do Irgarol é através da *n*-desalquilação de um grupo ciclopropil na estrutura da molécula, que pode ocorrer por ação microbiana (fungos, principalmente), fotodegradação ou ainda pela hidrólise, sendo essa última a

forma menos eficiente (TSANG et al., 2009). A fotodegradação é o principal mecanismo de quebra da molécula de irgarol, onde a incidência de raios solares pode dar origem aos produtos de degradação M1 (2-metiltio-4-*terc*-butilamino-6-amino-*s*-triazina), M2 (2-amino-propanal-4-*terc*-butilamino-6-metiltio-*s*-triazina) e M3 (2,4(diamino-di-*terc*-butil)-6-metiltio-*s*-triazina), que podem ser tão persistentes quanto o composto parental (ZHANG et al., 2008). Alguns estudos mostraram que o M1 é o metabólito formado preferencialmente durante a degradação do Irgarol com um alto tempo de meia vida (82 dias na água do mar) e um baixo *K_{oc}*. Essa observação permite explicar as maiores concentrações de M1 encontradas na coluna d'água e não no sedimento (GATIDOU et al., 2007; THOMAS et al., 2002; OKAMURA et al., 2002; LAM et al., 2005).

O Irgarol 1051 é o biocida anti-incrustante de 3ª geração mais estudado, com ocorrência em água, sedimentos e inclusive em macrófitas, onde apresentou um fator de bioconcentração de 30.000 vezes (TÓTH et al., 1996). Sua persistência nos diferentes compartimentos ambientais possibilita a biomagnificação e a formação de metabólitos tóxicos para invertebrados (OKAMURA et al., 2000). Dessa forma, o irgarol representa um potencial risco ambiental para ecossistemas aquáticos.

1.2.3 DCOIT

O DCOIT (4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona) pertence ao grupo dos isotiazóis e foi sintetizado pela empresa *Rohm and Haas* (EUA 1992). É utilizado especificamente como agente contra a incrustação, sendo o principal princípio ativo de formulações comerciais de tintas anti-incrustantes como o Sea Nine 211™. Considerando a utilização exclusiva do DCOIT em tintas anti-incrustantes, sua ocorrência ambiental está sempre relacionada às áreas de terminais portuários e marinas. O Sea Nine 211™ foi um dos primeiros produtos anti-incrustantes registrados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) em 1994, tendo recebido o selo verde dessa agência em 1996 devido a sua rápida degradação e baixo fator de bioacumulação (EPA, 2016).

O DCOIT apresenta uma elevada degradabilidade na coluna d'água ($T_{1/2}$ - 8,5 dias) e um particionamento preferencial nos sedimentos ($\log K_{oc}$ de 4,2) (CALLOW, 1996). Este composto adsorve fortemente aos sedimentos, o que geralmente restringe sua biodisponibilidade (JACOBSON et al., 1993). De forma semelhante ao que ocorre com o diuron em testes com a presença de partículas de tintas anti-incrustantes, o tempo

de vida do DCOIT pode aumentar para até 10 dias no sedimento (THOMAS et al., 2003).

A degradação do DCOIT pode ocorrer por vias aeróbicas ou anaeróbicas. No entanto, a ação de microrganismos nos sedimentos representa a principal via de transformação, podendo ser até 200 vezes mais rápida que a fotólise e a hidrólise. De forma geral, a porção cíclica da molécula é oxidada e quebrada, formando metabólitos alquilados como o ácido *N*-octil oxâmico, 4,5-diclorotiazol e ácido *N*-octil carbâmico (THOMAS; NORWAY, 2009). Um recente estudo mostrou que extremos de pH (mais ácidos ou mais básicos), temperaturas baixas e proteção da luz solar podem diminuir a permanência desse biocida no ambiente (CHEN et al., 2015).

1.2.4 TCMTB

O TCMTB (2-(tiocianometiltio) benzotiazol) foi formulado para ser usado como fungicida na indústria de madeira, papéis e sementes. Posteriormente teve reconhecida sua ação moluscicida, passando a ser utilizado como princípio ativo em várias formulações de tintas anti-incrustantes (HANSSSEN et al., 1991).

As propriedades químicas do composto indicam que o TCMTB pode particionar preferencialmente na coluna d'água pela moderada solubilidade. O *K_{oc}* (2,7) do TCMTB não indica um forte particionamento no sedimento, mas ainda é possível ser encontrado nesse compartimento, principalmente se houver presença de matéria orgânica (BROWNLEE et al., 1992). O Log *K_{ow}* (3,1) também indica uma leve tendência a biocumular em organismos, embora ainda não existam menções a ocorrência desse composto em biota (HANSSSEN, 1991; BROWNLEE 1992).

A degradação do TCMTB pode ocorrer principalmente por fotólise ou hidrólise, formando compostos hidroxilados ou metilados. No entanto, seus principais produtos de degradação são 2-mercaptobenzotiazol (MBT) e benzotiazol (BT), já encontrados em estações de tratamento de efluentes (THOMAS; NORWAY, 2009). Em experimentos, a degradação do TCMTB associada à fotólise que ocorre na coluna d'água é mais eficiente, tendo sido encontrados tempos de meia vida menores que 1 dia. Nos sedimentos, a hidrólise e ação microbiana são mais presentes, mas dependendo das condições do ambiente o tempo de meia vida do TCMTB pode chegar a 81 horas (HANSSSEN, 1991). A transformação desse composto sofre influência direta do pH, salinidade, força iônica do meio, radiação solar e concentração da matéria orgânica (HANSSSEN, 1991; WEZEL; VLAARDINGEN, 2004).

1.2.5 Toxicidades dos biocidas

As toxicidades do diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB estão normalmente relacionadas com mecanismos de ação que afetam o processo de fotossíntese de organismos autotróficos dos ambientes aquáticos. No entanto, alguns estudos mostraram efeitos deletérios também para outros organismos da cadeia trófica em uma ampla faixa de toxicidade (Tabela 2). A toxicidade do Irgarol para organismos não fotossintetizantes é evidente apenas em concentrações mais altas, assim como ocorre com o diuron.

Tabela 2: Toxicidade de biocidas usados em tintas anti-incrustantes de terceira geração sobre diversos grupos de organismos.

Biocida	Grupo do organismo	Efeito	Toxicidade (tempo de exposição)	Referência
Diuron	Algas	Fotossíntese	3,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (10 d)	1
	Molusco (larva)	Genotoxicidade	0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ (1 h)	2
	Peixe	Mortalidade	3,5 mg L^{-1} (96 h)	3
Irgarol 1051	Algas	Fotossíntese	0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ (120 h)	4
	Equinodermata (larva)	Desenvolvimento	1485 $\mu\text{g L}^{-1}$ (48h)	5
	Peixe	Mortalidade	3,22 mg L^{-1} (96h)	6
DCOIT	Algas	Crescimento	3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (72 h)	4
	Coral	Estresse Oxidativo (catalase)	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (72 h)	7
	Peixe	Neurotoxicidade (acetilcolinesterase)	2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (28d)	8
TCMTB	Bactéria	Luminescência	58 $\mu\text{g L}^{-1}$ (15 min)	4
	Alga	Crescimento	39 $\mu\text{g L}^{-1}$ (30 h)	4
	Crustáceo	Movimentação	46 $\mu\text{g L}^{-1}$ (48 h)	4

1 – Chesworth et al. (2004) ; 2 – Akcha et al. (2012); 3 – Giacomazzi; Cochet (2004); 4 – Fernandez-Alba et al. (2002); 5 – Perina et al. (2011); 6 – Key et al. (2009); 7 – CIMA et al. (2013); 8 – CHEN et al. (2014)

As comunidades de fitoplâncton, micro e macroalgas são especialmente vulneráveis a estes biocidas em razão das suas propriedades herbicidas e fungicidas, podendo afetar diretamente a produtividade primária e, conseqüentemente, toda cadeia trófica de ambientes aquáticos (SCARLETT et al., 1999; YAMADA, 2007). O Irgarol 1051 foi apontado como um dos fatores de estresse que ocasiona perda de habitat em áreas de estuário com intensa atividade naval, pois é responsável pela redução na produtividade primária do fitoplâncton (DEVILLA et al., 2005), na taxa de crescimento e reprodução de gramíneas marinhas (SCARLETT et al., 1999).

O diuron, além da ação herbicida, também é associado com alterações comportamentais em peixes, mudanças na estrutura de comunidades, efeitos genotóxicos em bactérias e redução da taxa de fertilização em equinodermos (GIACOMAZZI; COCHET 2004; MAI et al., 2013). Adicionalmente, a toxicidade desses dois biocidas foi avaliada em experimentos de mesocosmo com comunidades naturais de meiofauna, os quais indicaram mortalidade e mudanças de estrutura dessas comunidades (GALLUCCI et al., 2015). Ademais, os metabólitos gerados pela degradação do Irgarol e diuron podem apresentar toxicidade semelhante aos compostos parentais para organismos como bactérias e crustáceos marinhos (OKAMURA et al., 2000; TIXIER et al., 2000).

Alguns estudos com DCOIT indicaram que esse biocida atua como indutor de apoptose de células de peixe em concentrações ambientalmente relevantes ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) (ITO et al., 2013). Além disso, esse composto é capaz de alterar o balanço dos hormônios sexuais e reduzir a atividade da acetilcolinesterase em peixes marinhos (CHEN et al., 2014). Dados ecotoxicológicos para o TCMTB são escassos, mas a ação fungicida indica que esse composto pode apresentar maiores toxicidades para a comunidade microbiana do ambiente (FERNÁNDEZ-ALBA et al., 2002).

1.3 Métodos analíticos

Nas formulações das tintas anti-incrustantes de 3ª geração podem ser usados concomitantemente até 4 biocidas. Sendo assim, diferentes misturas desses biocidas podem ser utilizadas dependendo do fabricante, país de fabricação e de sua própria regulamentação vigente. Áreas portuárias recebem embarcações de diversos países e estão sob influência dessa variedade de formulações, podendo ser impactadas não só pela ação dos biocidas individualmente, como pela mistura dos compostos (FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007).

A detecção simultânea dos biocidas anti-incrustantes é uma forma de otimizar o tempo, minimizar os custos envolvidos na análise dos compostos e facilitar a determinação em programas de monitoramento ambiental. No entanto, o desenvolvimento e a validação de metodologias para determinação simultânea desses compostos em amostras ambientais tem se mostrado um desafio analítico. Em grande parte, as dificuldades relatadas estão relacionadas às propriedades químicas dos compostos que diferem entre si e pelas interferências presentes em matrizes ambientais complexas (FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007).

Os primeiros trabalhos sobre ocorrência dos biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em matrizes ambientais surgiram a partir da década de 1990. Alguns estudos com Irgarol 1051 e diuron foram inicialmente realizados em amostras de águas costeiras devido a maior facilidade em termos analíticos relacionada às determinações nessa matriz. Além disso, o uso não regulamentado desses compostos no Reino Unido, que os utilizava junto com cobre como alternativas para o TBT, produziu níveis ambientais mais elevados em amostras de água (DAHL; BLANCK, 1996; GOUGH et al., 1994).

No final da década de 1990, a crescente utilização simultânea de novos biocidas anti-incrustantes e a constatação do perigo em continuar usando TBT nas tintas anti-incrustante, impulsionaram as pesquisas para as análises simultâneas desses compostos em amostras ambientais (ALBANIS et al., 2002; COMBER et al., 2002; GATIDOU et al., 2004). As metodologias analíticas empregadas na determinação simultânea de contaminantes devem ser previamente validadas a fim de avaliar o desempenho do método e garantir a confiabilidade dos resultados gerados. Dentre os trabalhos mais relevantes, Voulvoulis et al. (1999 e 2000) validaram uma metodologia de análise simultânea do clorotalonil, diclofluanida, diuron e Irgarol 1051 para água e sedimentos estuarinos, respectivamente.

Os métodos analíticos para determinação de contaminantes em amostras ambientais incluem etapas de preparação das amostras, remoção de interferentes, identificação e confirmação dos analitos (HAJŠLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003). Para biocidas anti-incrustantes, a preparação de amostras ambientais pode empregar diferentes técnicas de extração dependendo da matriz de estudo. Na determinação de biocidas anti-incrustantes em água são utilizadas comumente as técnicas de extração líquido-líquido (ELL) e extração de fase sólida (EFS). Para análise de sedimentos, as técnicas de extração empregando Soxhlet, agitação mecânica, sonificação, Extração Assistida por Micro-ondas (EAM), Extração Fluída Supercrítica e Extração Líquida Pressurizada são as mais aplicadas (GATIDOU et al., 2004; HARINO et al., 2012; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012).

A remoção de interferentes, por sua vez, é uma etapa que permite a retirada de compostos indesejados ou impurezas a fim de evitar a identificação e quantificação equivocada dos analitos de interesse. Nessa etapa, é frequente a utilização de técnicas como extração líquido-líquido, extração de fase sólida (C18 e polimérico) e também o emprego da cromatografia líquida de fase sólida empregando florisil e sílica como

adsorventes na purificação (CASSI et al., 2008; HARINO et al., 2005; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012).

A separação e identificação dos biocidas anti-incrustantes são normalmente realizadas pelo uso de sistemas cromatográficos de fase gasosa ou líquida. Diversos detectores podem ser utilizados e são escolhidos de acordo com os analitos de interesse de cada trabalho. Análise do diuron, por exemplo, quando utiliza cromatografia gasosa, necessita da etapa de derivatização, sendo mais comum, na análise simultânea, a determinação por cromatografia líquida (EGUCHI et al., 2010; HARINO et al., 2005). A preferência pelo uso de detectores como a espectrometria de massas (EM) ou de captura de elétrons (DCE) tem relação direta com os compostos selecionados para estudo, assim como com a sensibilidade e seletividade desejada (LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2007; TSUNEMASA; YAMAZAKI, 2014).

Na etapa de quantificação dos biocidas, a maioria dos estudos trabalha com curvas de calibração construídas a partir de soluções dos padrões analíticos em solvente puro. No entanto, esse procedimento pode envolver um erro sistemático ao não considerar a presença de interferentes (próprias de cada matriz) nos extratos finais das amostras que serão analisadas (CASSIANO et al., 2009).

A presença de elementos co-extraídos e co-eluídos provenientes da matriz pode ser detectada pelos sistemas cromatográficos e alterar a resposta produzindo supressão ou incremento do sinal gerado. Essa alteração é conhecida por “Efeito Matriz (EM)” e pode ser induzida pela natureza e concentração da matriz e dos analitos, como também pelo instrumento utilizado na identificação dos compostos (ERNEY; POOLE, 1993; KRUBE et al., 2009). Esse fenômeno pode ser responsável pelo mascaramento do analito de interesse (falso negativo), identificação de um analito que não está presente na amostra (falso positivo) e aumento, redução ou até extinção do sinal gerado pelo detector para o analito de interesse (superestimação ou supressão do sinal) (PINHO et al., 2009).

Inicialmente acreditava-se que o efeito matriz ocorria apenas no uso da cromatografia gasosa devido a altas temperaturas utilizadas na injeção das amostras. Posteriormente foi observado que o fenômeno ocorria também devido a competição entre os analitos e os interferentes da matriz de modo que o detector poderia receber um maior ou menor sinal dos analitos (ERNEY et al., 1997; ERNEY; POOLE, 1993). Alguns trabalhos discutem que para cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-EM), pode ocorrer interferência na eficiência da

ionização e na detecção dos compostos na presença de compostos não voláteis ou pela adsorção dos analitos e interferentes da matriz em sítios de ligações do sistema cromatográfico (ex.: *liner*, coluna) (FRENICH et al., 2009; HAJŠLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003).

Desse modo, a ocorrência e a intensidade do efeito matriz também estão relacionadas com o tipo de detector (PINHO et al., 2009). Ainda que a espectrometria de massas proporcione uma maior certeza quanto a identificação dos analitos, devido ao uso de íons monitorados com determinada razão massa/carga, este ainda pode apresentar efeito matriz devido a co-eluições e precipitações que podem ocorrer na etapa de ionização. Situação semelhante ocorre frequentemente em métodos que utilizam Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI “*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*”) (NIESSEN et al., 2006). O efeito matriz também pode acontecer no uso de electrospray (ESI, “*Electrospray Ionization*”) através do acúmulo de compostos não voláteis, de maior peso molecular ou de alta afinidade protônica, que pode impedir a entrada dos íons (inclusive dos analitos de interesse) na etapa de ionização (KING et al., 2000).

Assim, o efeito matriz tem relação direta com a qualidade analítica visto que, pode afetar parâmetros do processo de validação como precisão, exatidão e recuperação através da supressão ou superestimação dos sinais dos analitos (MATUSZEWSKI et al., 2003; NIESSEN et al., 2006). A minimização desse efeito é sugerido por alguns autores através quantificação por curvas na matriz, pelo uso de compostos protetores ou ainda pela inclusão de compostos marcados isotopicamente, como padrão de recuperação ou internos que permitem avaliar a influência da matriz na análise (FRENICH et al., 2009; HAJŠLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003)

1.4 Legislação

A legislação a respeito dos biocidas anti-incrustantes de terceira geração ainda é restrita a alguns poucos países. As regulamentações existentes atualmente estão concentradas em países europeus, e nas demais regiões do mundo não há qualquer legislação sobre uso desses biocidas ou sobre o risco ambiental envolvido (THOMAS; BROOKS, 2010).

A ausência de legislação em muitos países, incluindo os da América do Sul, acontece especialmente pela limitação de informações básicas sobre a ocorrência e comportamento ambiental desses compostos. Nesse sentido, ainda na década de 1990,

estudos indicavam que os níveis ambientais de Irgarol 1051 em zonas costeiras europeias poderiam causar perturbações nas comunidades de fitoplâncton (READMAN et al., 1993). Como consequência, a comunidade europeia observou então a necessidade de obter mais informações sobre a distribuição e concentrações dos novos biocidas.

Um projeto coordenado pelo Reino Unido e com parceria da França, Dinamarca, Suécia, Espanha, Países Baixos, e Grécia, intitulado “*Antifouling Agents in Coastal Environments*” (ACE), teve como objetivo obter informações sobre estes novos biocidas anti-incrustantes. Foram coletadas amostras de água e sedimentos de marinhas e portos localizados nesses países e levantados dados sobre quais biocidas eram utilizados nas embarcações. Os dados gerados entre os anos de 1999 e 2002 forneceram os subsídios para o registro desses biocidas no “*Biocidal Products Directive*” (BPD, Diretriz 98/8/EC), que regulariza a produção, publicidade e uso de produtos com função biocida (READMAN, 2002).

Assim, com base nas informações da BPD, cada país da comunidade europeia tinha autonomia para fazer suas próprias regulamentações quanto ao uso dos biocidas como anti-incrustantes (THOMAS; BROCK, 2010). Esse fato foi constatado pelo projeto ACE que mostrou diferentes graus de restrição dos biocidas entre os países europeus. Em uma última atualização na legislação dos membros da União Europeia (UE) foi constatado o uso de diuron e Irgarol em embarcações menores que 25 metros da França, Grécia e Espanha. Por outro lado, na Dinamarca, Reino Unido e Suécia o uso desses compostos foi banido (PRICE; READMAN, 2012). A Suécia também restringiu o uso de tintas a base de Irgarol 1051 em embarcações maiores que 25 metros e na Dinamarca essa restrição se estende também a barcos de lazer (THOMAS et al., 2003; READMAN, 2006). No Reino Unido é permitido o uso apenas da diclofluanida, zinco piritiona e zineb como princípio ativo de tintas anti-incrustantes. Entretanto, embarcações maiores que 25 metros ainda podem utilizar o Irgarol 1051, clorotalonil e DCOIT como complemento (KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004).

Até a última atualização do BPD feita em 2003, apenas Espanha e Dinamarca permitiam o uso do Sea Nine 211™ (DCOIT) em embarcações menores que 25 metros. O TCMTB, no entanto, teve seu uso (amador e profissional) revogado em todos os países que se baseiam na BPD, devido a ausência de informações ambientais sobre o composto (PRICE; READMAN, 2012).

Devido a essa divergência de regulamentações entre os países da UE, que dificultam o gerenciamento e controle da contaminação por biocidas anti-incrustantes,

as diretrizes do BPD (98/8/EC) e a regulamentação (EC) N° 2032/2003 foram revogadas pela (EU) N° 528/2012. Essa nova legislação prevê a regularização dos biocidas de forma homogênea (prazos finais até 2017) entre todos os países da União Européia (ECHA, 2012).

Fora da comunidade europeia, existem países que registram e fazem o controle dos biocidas por meio de órgãos ambientais, como no caso da USEPA. No entanto, não existem legislações específicas sobre uso dos anti-incrustantes, mesmo em regiões de intenso tráfego naval e que detém os principais portos do mundo, como Japão, China e América do Norte (PRICE; READMAN, 2012). No caso dos Estados Unidos da América, a legislação é limitada ao posicionamento sobre o uso de cobre em tintas anti-incrustantes, delimitando taxas máximas de liberação do composto e criando medidas proibitivas ao uso e venda desses produtos para embarcações de recreação. Uma das medidas mais restritivas foi imposta pelo estado de Washington que proibirá a venda de embarcações de lazer pintadas com tintas anti-incrustantes à base de cobre a partir de 2018, assim como a comercialização de tintas com mais de 0,5% de cobre nas formulações a partir de 2020 (WOLF, 2011).

No Brasil, apenas o diuron é reportado na Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011, devido ao seu uso também como herbicida na agricultura com valor máximo permitido de 90 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água potável (BRASIL, 2011).

1.5 Antecedentes

Os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração já foram detectados em amostras de diversos países. Em sedimentos de marinas na Califórnia (EUA), Sapohnikova et al. (2013) encontraram níveis de até 4,2 ng g^{-1} de diuron e 8,9 ng g^{-1} de Irgarol 1051. Esse estudo considerou que os níveis encontrados poderiam representar um risco ambiental para os organismos bentônicos. Balakrishnan et al. (2012) estudando esses mesmos compostos em amostras de água, sedimento e organismos planctônicos (malha de 100 μm) encontraram as maiores concentrações (até 90 ng g^{-1} de diuron e 68 ng g^{-1} de Irgarol 1051 nos sedimentos) na região portuária e na zona estuarina, porém em pontos próximos de rios; desse modo os autores consideraram que entrada dos biocidas pode ter sido proveniente também de fontes agrícolas e escoamento urbano.

A análise do TCMTB em sedimentos foi realizada apenas pelos trabalhos de Thomas et al. (2002) e Sánchez-Rodríguez et al. (2011), no entanto, não foi quantificado em nenhuma amostra. Outros biocidas anti-incrustantes como clorotalonil,

diclofluanida e DCOIT são esporadicamente encontrados no ambiente e têm sido quantificados ocasionalmente em concentrações altas (PRICE; READMAN, 2012; HARINO et al., 2007).

No caso do DCOIT, Harino et al. (2007) encontrou concentrações de até 150 ng g⁻¹ em sedimentos da Baía de Otsuchi, no Japão, próximo a um estaleiro. Essa região foi considerada uma relevante fonte de contaminação uma vez que altas concentrações de Irgarol 1051 e diuron também foram detectadas no local. Kim et al. (2015) analisou a distribuição de biocidas anti-incrustantes na zona costeira da Córrea do Sul usando sedimentos obtidos em áreas sob influência de navegação e de polos industriais. Nesse estudo foram encontrados resíduos de Diuron próximo ao porto principal (57 ng g⁻¹), enquanto que níveis de Irgarol 1051 (11,5 ng g⁻¹) foram quantificados em áreas destinadas a atracação de barcos de pesca. Além disso, concentrações de DCOIT foram encontradas na maioria das baías estudadas por Kim et al. (2015) (5,5 ng g⁻¹).

Na América do Sul, poucos estudos foram realizados até o momento sobre esses compostos (diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB), tendo sido publicados somente 8 estudos envolvendo basicamente Irgarol e diuron (AZEVEDO et al., 2004; DEMOLINER et al., 2010; DOMINGUEZ 2010; CASTRO et al., 2011; DINIZ et al., 2011; PESTANA et al., 2013; DINIZ et al., 2014; DOMINGUEZ et al., 2014). Esses trabalhos sobre biocidas de terceira geração realizados no Brasil são limitados a revisões científicas, validação de metodologias ou análise da matriz água e sedimento.

Azevedo et al. (2004) monitoraram a qualidade da água do rio Paraíba do Sul através da determinação de alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e praguicidas, dentre eles o Irgarol 1051; este foi encontrado em baixas concentrações em uma área de atividades de pequenos barcos pesqueiros. Demoliner et al. (2010) otimizaram e validaram metodologias para análise de dezoito praguicidas (herbicidas, inseticidas e fungicidas), incluindo o Irgarol 1051, diuron e seu metabólito 3,4-DCA, em água. Esses compostos foram detectados na região próxima ao canal de São Gonçalo (RS), tendo sua presença associada ao uso como anti-incrustante em embarcações.

Dominguez (2010) validou uma metodologia para análise de Irgarol 1051 e diuron em água e sedimentos estuarinos. Essa metodologia foi utilizada para avaliar a contaminação em amostras coletadas em 2009 ao longo do estuário da Lagoa dos Patos. Nas amostras de água foram encontrados níveis variando entre <LD a 20,9 ng L⁻¹ de diuron e <LD a 6,2 para Irgarol (DOMINGUEZ et al., 2014). Nas de sedimentos foram

encontrados níveis variando entre <LD e 1,6 ng g⁻¹ de diuron e <LD e 0,2 ng g⁻¹ de Irgarol 1051.

Castro et al. (2011) observando a crescente relevância da contaminação por biocidas anti-incrustantes de terceira geração reuniu informações disponíveis sobre propriedades físico-químicas, comportamento e níveis ambientais de 16 biocidas utilizados nessas tintas. Enquanto Diniz et al. (2011), também na forma de revisão, apresentaram os principais métodos de extração e determinação de Irgarol 1051, a fim comparar metodologias e apontar um melhor monitoramento ambiental.

Pestana (2013) a fim de analisar temporalmente os níveis de diuron e Irgarol 1051 em amostras de sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos, aplicou a mesma metodologia validada por Dominguez (2010). No entanto, os níveis encontrados para todas as amostras coletadas em 2012 ficaram abaixo do limite de detecção do método.

Diniz et al. (2014) também registraram a presença dos biocidas diuron e Irgarol 1051 em água estuarina próximo ao porto de Itaqui em São Luis, Maranhão. A área em estudada foi monitorada por dois anos em período de seca e de chuva, encontrando concentrações que variaram de 0,05 a 7,8 µg L⁻¹ para diuron e de 0,02 a 4,8 µg L⁻¹ para Irgarol 1051.

Baseando na escassez de estudos sobre os biocidas anti-incrustantes de 3^a geração em matrizes ambientais na costa brasileira, e em razão do seu risco ecotoxicológico e uso crescente, torna-se fundamental a geração de mais informações sobre esses compostos. Assim, a validação metodológica realizada no presente trabalho visa a determinação analítica de Irgarol 1051, diuron, DCOIT e TCMTB em sedimentos superficiais. Adicionalmente, a metodologia será aplicada na análise de amostras obtidas em duas regiões sob a influência de dois dos principais complexos portuários do Brasil (Rio Grande e Santos), a fim de avaliar a situação atual de contaminação por esses biocidas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a contaminação por biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (Irgarol 1051, Diuron, DCOIT e TCMTB) em áreas sob influência de dois importantes terminais portuários da costa brasileira.

2.2 Objetivos específicos

- Validar uma metodologia analítica adequada para determinação simultânea de Irgarol 1051, Diuron, DCOIT e TCMTB em amostras de sedimentos marinhos;
- Investigar o efeito matriz sobre a determinação desses compostos em sedimentos marinhos;
- Avaliar a contaminação por biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos superficiais obtidos em áreas sob a influência dos Portos de Santos (São Paulo) e Rio Grande (Rio Grande do Sul);

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O presente estudo está vinculado ao projeto “Impacto da Utilização de Tintas Anti-incrustantes nos Principais Terminais Portuários Brasileiros (AIBRASIL)”, financiado pelo Edital MCT/FINEP CT-Aquaviário 01/2010, que teve como um dos objetivos a determinação dos níveis de contaminação por biocidas utilizados em anti-incrustantes de terceira geração através do monitoramento químico das amostras de sedimentos dos principais portos brasileiros.

O Terminal Portuário de Santos (inserido no Sistema Estuarino de São Vicente e São Paulo, São Paulo) e o Polo naval de Rio Grande (inserido no estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul) foram escolhidos com base no alto tráfego anual de embarcações e no volume de cargas movimentadas. O Porto de Santos movimentou, no ano de 2015, mais de 110 milhões de toneladas de cargas pertencentes a todos os segmentos comerciais. Durante esse ano, o porto de Santos registrou 5.100 atracações. Desta forma, foi responsável por cerca de 30% da movimentação das cargas brasileiras, atuando também como principal porto da América Latina (PORTO DE SANTOS, 2016). O porto de Rio Grande também tem significativa participação na movimentação de cargas no país, tendo movimentado mais de 37 milhões de toneladas e contabilizado 3.067 atracações durante o ano de 2015 (PORTO DE RIO GRANDE, 2016).

Os pontos de amostragem foram estabelecidos levando em consideração a existência de fontes potenciais de biocidas anti-incrustantes de terceira geração (terminais portuários e marinas) e aproveitando embarques e coletas de campo realizados por outros integrantes do grupo de pesquisa. Sendo assim, a grade amostral estabelecida visou avaliar a distribuição espacial desses contaminantes no Sistema Estuarino de Santos/ São Vicente (SESS) (Figura 2) e no estuário da Lagoa dos Patos (ELP) (Figura 3). No caso do ELP, amostras foram coletadas também próximo a estaleiros devido a intensa atividade de manutenção e reparação de embarcações que existe nessa região. Além disso, os pontos de amostragem também foram definidos de acordo com a predominância de sedimentos finos ($< 0,063$ mm), os quais apresentam maior capacidade de retenção de microcontaminantes orgânicos, tais como os biocidas avaliados no presente estudo. As coordenadas geográficas, bem como alguns aspectos gerais sobre cada ponto amostrado para este trabalho estão descritas na Tabela 3:

Figura 2: Pontos de amostragem no Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS). S1, Pier do Pescador; S2, Balsa; S3, Terminal 1; S4, Terminal 2; S5, Terminal 3; S6, Alemoa; S7, São Vicente 1; S8, São Vicente 2; S9, São Vicente 3 (Marina)

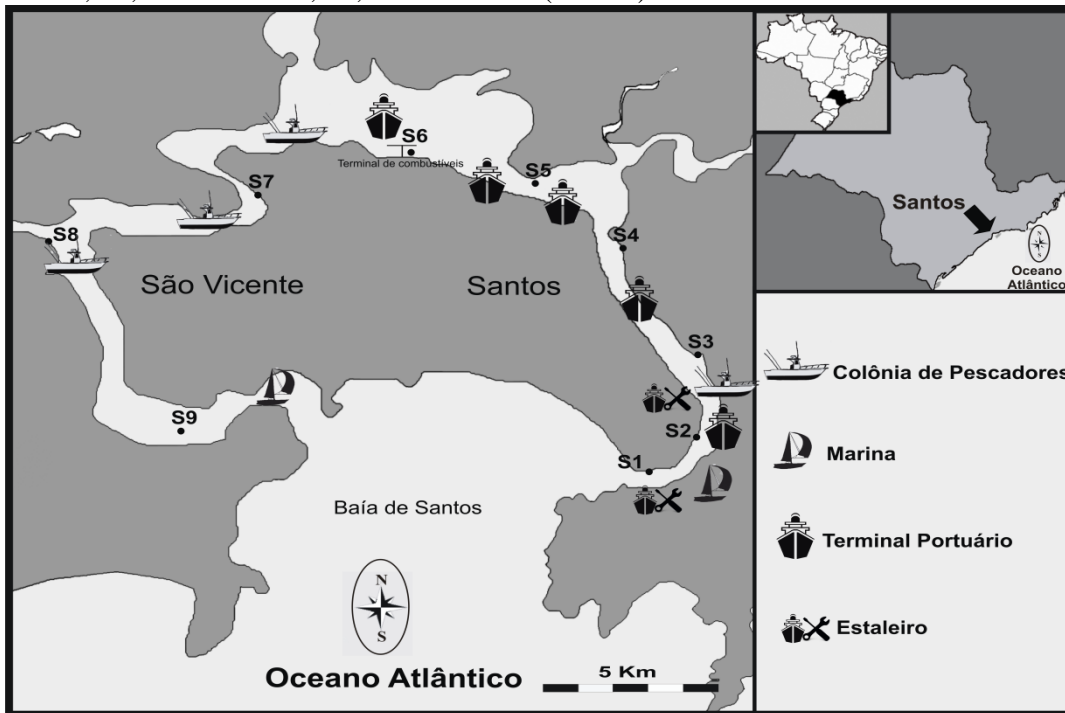


Figura 3: Pontos de amostragem no estuário da Lagoa dos Patos. R1, Molhes; ER2, Estaleiro Santos; ER3, Estaleiro da Barra de São José do Norte; ER4, Estaleiro do Alemão; ER5, Estaleiro dos 4 Irmãos; R6, Cocoruto; ER7, Estaleiro Irmãos Fernandes; ER8, Iate Clube; R9, Diamante; R10, Pesqueiro; R11, Bacia de Pelotas; R12, Setia; R13, Nascimento; R14, Porteiras; R15, Ponta da Feitoria

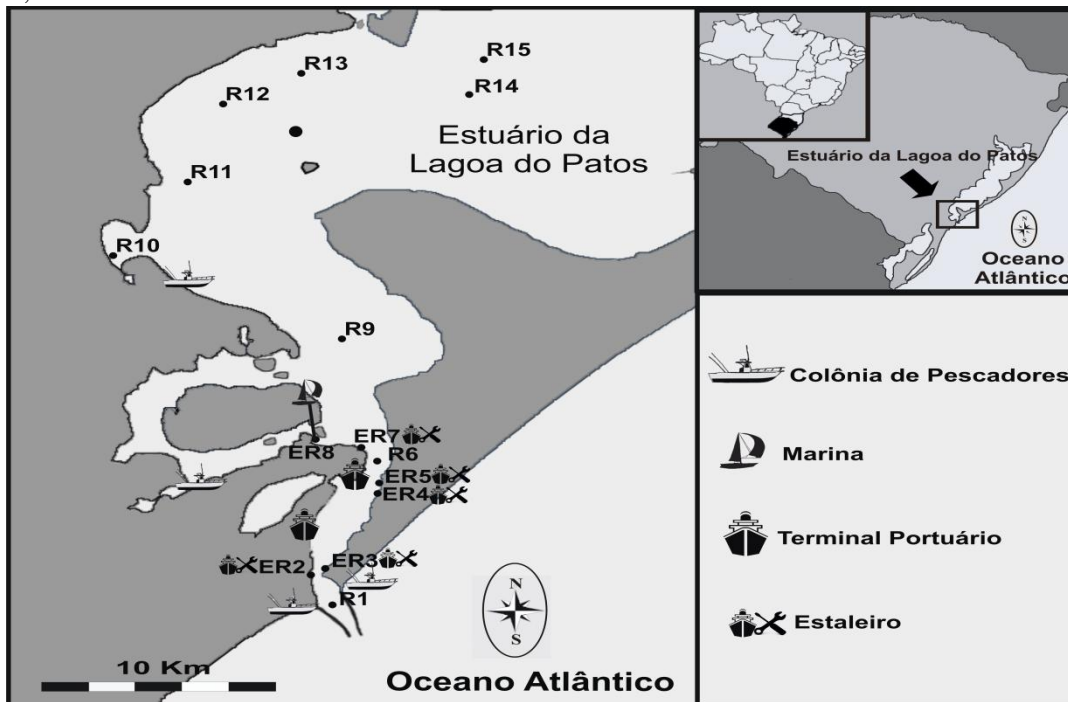


Tabela 3: Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem de sedimento nas regiões do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos e estuário da Lagoa dos Patos

Ponto de Amostragem	Longitude (O)	Latitude (S)	Prof. (m)	Breve descrição
Estuário da Lagoa dos Patos, RS				
Molhes (#R1)	32° 01' 30,1"	52° 07' 28,5"	15	Próximo a desembocadura do estuário
Estaleiro Santos (#ER2)	32° 03' 20,2"	52° 06' 02,4"	1,2	Estaleiro próximo ao Super Porto de Rio Grande. Médias a grandes embarcações de pesca
Estaleiro Barra SJN (#ER3)	32° 01' 28,5"	52° 03' 27,1"	0,5	Estaleiro com pequenas embarcações de pesca
Estaleiro do Alemão (#ER4)	32° 02' 11,7"	52° 04' 29,8"	1,5	Estaleiro com médias a grandes embarcações de pesca
Estaleiro 4 Irmãos (#ER5)	32° 03' 37,5"	52° 04' 20,8"	0,5	Estaleiro com médias a grandes embarcações de pesca
Cocuruto (#R6)	32° 01' 44,6"	52° 05' 51,2"	13	Canal de acesso ao porto de Rio Grande
Estaleiro Irmão Fernandes (#ER7)	32° 03' 15,9"	52° 04' 07,4"	0,3	Estaleiro mais antigo cidade. Poucas atividades de reparações (Presença de estação de abastecimento de combustível para embarcações)
Yate Clube Rio Grande (#ER8)	32° 06' 37,8"	52° 06' 13,6"	1,10	Marina com embarcações de lazer e atividades de manutenção de embarcações
Diamante (#R9)	32° 08' 02,2"	52° 06' 2,5"	16	Canal hidroviário do estuário
Pesqueiro (#R10)*	31° 52' 39,08''	52° 14' 50,64''	0,5	Saco do Arraial. Sem presença de embarcações próximas
Barra de Pelotas (#R11)	32° 05' 47,6"	52° 05' 55,5"	7	Canal hidroviário do estuário (próximo a saída do canal de São Gonçalo)
Setia (#R12)	32° 01' 47,6"	52° 05' 28,3"	7	Canal hidroviário do estuário

Tabela 3 (cont.): Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem de sedimento nas regiões do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos e estuário da Lagoa dos Patos

Ponto de Amostragem	Longitude (O)	Latitude (S)	Prof. (m)	Breve descrição
Estuário da Lagoa dos Patos				
Nascimento (#R13)	32° 01' 44,5"	52° 04' 56,1"	8	Canal hidroviário do estuário
Porteiras (#R14)	31° 58' 18,0"	52° 04' 08,0"	8	Canal hidroviário do estuário
Feitoria (#R15)	32° 02' 00,4"	52° 04' 34,0"	8,5	Canal hidroviário do estuário
Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, SP				
Pier do Pescador (#S1)*	46° 18' 10,82"	23° 59' 30,75"	3,2	Desembocadura do estuário (barcos de pesca) e turismo, no canal de acesso ao porto
Balsa (#S2)	46° 17' 40,27"	23° 59' 15,40"	2,0	Tráfego intenso de embarcações usadas no transporte de veículos e passageiros (canal de acesso ao porto)
Terminal 1 (#S3)	46° 18' 22,85"	23° 56' 55,88"	7,0	Pier de atracação do Porto de Santos
Terminal 2 (#S4)	46° 19' 39,83"	23° 55' 31,16"	6,0	Pier de atracação para barcos de pesca
Terminal 3 (#S5)	46° 22' 9,11"	23° 55' 7,56"	7,0	Pier de atracação do Porto de Santos
Alemoa (#S6)	46° 17' 11,80"	23° 58' 34,55"	4,5	Região interna do estuário de Santos com pier de atracação para embarcações do transporte de derivados de petróleo
São Vicente 1 (#S7)	46° 23' 27,61"	23° 55' 39,15"	2,0	Canal do estuário de São Vicente (próximo à cidade). Pequenas embarcações de pesca e lazer
São Vicente 2 (#S8)	46° 25' 30,36"	23° 57' 7,24"	3,0	Canal do estuário de São Vicente (próximo à manguezal). Pequenas embarcações de pesca e lazer
São Vicente 3 (#S9)	46° 23' 45,98"	23° 58' 36,25"	4,5	Marina no canal de São Vicente (desembocadura do canal)

*Ponto de Referência (Branco) utilizado para análise do efeito matriz

3.1.1 Características gerais – Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, São Paulo

O Porto de Santos está situado dentro do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS), abrangendo uma área de 835 km² que está inserida em cinco municípios da região: São Vicente, Santos, Cubatão, Guarujá e Praia Grande. Esse sistema é formado pelo Canal de Santos (CST), Canal de São Vicente (CSV) e o Canal da Bertiooga, além da Baía de Santos (Figura 2). O clima dessa região é tropical úmido, com temperatura média de 23°C e pluviosidade média anual de 2000 a 3000 mm (HARARI et al., 2008).

O estuário está sob fraca atuação de ventos, com velocidade média de 1,5 m s⁻¹, tendo as direções leste e sul como as principais. É classificado como moderadamente estratificado, com um ciclo de maré diurno (amplitude de 0,4 metros na quadratura a 1,85 metros na sizígia). As correntes no estuário têm velocidade média de 50 cm.s⁻¹ e as principais forçantes da circulação no SESS são a maré e a descarga fluvial (OCCHIPINTI, 1973; HARARI et al., 2008).

Essa circulação também pode ser afetada pela geomorfologia do estuário que propicia a deposição de sedimentos finos e arenosos, formando inclusive bancos de sedimentos submersos (FUKUMOTO et al., 2006). A extensa área de manguezais (10.800 ha aproximadamente) também interfere no escoamento dos estuários, além de serem importantes contribuintes de material orgânico e retentores de sedimentos, nutrientes e contaminantes (MOSER et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2006).

Diferentes contaminantes de diversas fontes, despejados ao longo dos canais, provocaram um quadro de degradação ambiental no sistema estuarino de Santos e São Vicente. Junto com o aporte de resíduos e efluentes contaminados, provenientes da extensa rede de indústrias e da população residente ao longo do SESS (1.600.000 habitantes), ainda existe a contaminação oriunda do terminal portuário que acontece por acidentes de derramamento de óleo e outras substâncias tóxicas ou por dragagens de manutenção, que remobilizam o sedimento do estuário (LAMPARELLI et al., 2001).

3.1.2 Características Gerais – Estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul

A Lagoa dos Patos (LP) está inserida no maior sistema lagunar da América Latina (junto com a Lagoa Mirim), sendo considerada a maior lagoa estrangulada do mundo (KJERVE, 1986). Abrange uma superfície de 10.000 km², tendo na porção sul um estuário (10% da área total) (MÖLLER et al., 2001). A bacia de drenagem cobre

uma área de 200.000 km², onde o rio Guaíba é o principal tributário (composição dos rios Taquari, Jacuí, Caí e Sinos) (NIENCHESKI et al., 1994).

O clima é controlado principalmente pela Convergência Subtropical (encontro da corrente norte do Brasil e corrente das Malvinas), imprimindo características de uma zona temperada quente. A direção e intensidade dos ventos, a variabilidade da pluviosidade e a descarga da água continental são as principais forçantes da lagoa, que sofrem influência direta da oscilação do Pacífico Sul (El niño e La niña) (SEELIGER, 2010).

O gradiente de salinidade também varia de acordo com a forçante principal do momento, podendo ser classificado como estuário de cunha salina ou parcialmente misturado (salinidade média de 13). A maré com amplitude de 0,4 m tem efeito secundário no estuário da Lagoa dos Patos, uma vez que a descarga atua com uma vazão média de 2.400 m³ s⁻¹ (MOLLER et al., 2001). Os ventos de nordeste (5,1 m s⁻¹) e sudeste (8,2 m s⁻¹) são os mais atuantes ao longo do ano (TOMAZELLI, 1993) e, junto com a influência causada por ventos locais e remotos, produzem o gradiente de pressão no estuário responsável pelo fluxo da água (direção continente ou oceano) (MOLLER et al., 2001; FERNANDES et al., 2004). As velocidades de corrente, medidas no canal de acesso para o porto são, em média, de 0,7 m s⁻¹, podendo chegar a 2 m s⁻¹ (MARQUES et al., 2009).

Ao longo da lagoa são encontrados esporões arenosos resultantes do transporte de areia longitudinal e que possibilita a sedimentação do material mais fino. As margens da lagoa sofrem processos erosivos, principalmente na entrada de ventos de nordestes e de ondas de alta energia (tempestade) (CALLIARI et al., 2009). A lagoa atua como exportador de sedimentos finos para a plataforma continental, com a formação de bancos lamosos que podem chegar a região costeira através do transporte pela pluma de sedimentos (CALLIARI et al., 2009)

O estuário da Lagoa dos Patos (ELP) recebe a drenagem de aproximadamente 2/3 do estado do Rio Grande do Sul, recebendo aportes de contaminantes provenientes das atividades de agricultura, industriais e urbanas de toda a bacia de drenagem. O canal de São Gonçalo, um dos principais tributários, também recebe efluentes domésticos e industriais da cidade de Pelotas e toda a bacia de drenagem da Lagoa Mirim. Esse canal é ligado à agricultura da região recebendo principalmente os efluentes do cultivo do arroz irrigado que pode representar até 50% da produção nacional de arroz (BRASIL, 2016).

A zona estuarina sofre ainda um impacto direto da cidade Rio Grande, devido ao importante (e ainda crescente) distrito industrial, com empresas siderúrgicas, de fertilizantes e do setor pesqueiro situado em suas margens, que contribui significativamente para a eutrofização das águas estuarinas (BAUMGARTEN, 2010). Além disso, o Polo Naval também localizado nessa região mostrou expressivo crescimento nos últimos 40 anos (PORTO DE RIO GRANDE, 2016). Devido a dragagem do acesso a Barra, o que possibilitou a expansão da atividade portuária, ocorre também o consequente aumento no nível de contaminação da região (NIENCHESKI et al., 2014)

3.2 Coleta e Caracterização dos Sedimentos

As amostras de sedimento do SESS foram coletadas em setembro de 2015, enquanto que a coleta no ELP foi realizada entre outubro e dezembro de 2014. A amostragem de sedimentos superficiais (primeiros 2 cm) foi realizada com auxílio de draga tipo "Van Veen", sendo acondicionados posteriormente em potes de alumínio previamente calcinados (450 °C por 8 horas), refrigerados e transportados para o laboratório. Em seguida, as amostras de sedimentos foram congeladas a -20°C, sendo posteriormente secas por liofilização e desagregadas com gral e pistilo. Finalmente, as amostras foram então armazenadas em frascos âmbar, sob refrigeração e em lugar protegido da luz, minimizando a fotodegradação dos compostos até a extração.

3.2.1 Análise granulométrica

A granulometria das amostras foi determinada com a finalidade de caracterizar a porção de sedimento coletada de acordo com o tamanho do grão. A metodologia de peneiramento foi realizada no Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática (CONECO) e foi baseada no método descrito por Suguio (1973). As amostras, depois de secas em liofilizador foram desagregadas e homogeneizadas. Exatos 25g de cada amostra foram fracionados em um conjunto de peneiras com diferentes tamanhos de malhas (1000, 500, 250, 125 e 63 µm) e classificados, sendo a fração fina (silte/argila) menor que 63 µm. Cada fração (tamanho do grão) foi expressa em porcentagem.

3.2.2 Carbono orgânico

As análises do teor de carbono orgânico (COT) foram realizadas no Laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Exatos 1 g de sedimento seco foram pesados em placas de petri, previamente descontaminadas com solução de HCl 10% por 24 h. As amostras foram então acondicionadas em um dessecador contendo HCl concentrado (37%) e deixadas sob o vapor do ácido durante 72 h para descarbonatação. As amostras foram então secas em estufa a 60°C até atingirem um peso constante. Para a determinação do percentual de carbono orgânico total, entre 2,5 a 3 mg do sedimento descarbonatado foram pesadas em capsulas de estanho, sendo posteriormente quantificadas utilizando um analisador elementar CHNS/0 da Perkin Elmer (WALLNER-KERSANACH et al., 2010).

3.3 Reagentes, Solventes e Materiais

Os reagentes e solventes utilizados nas análises químicas foram de elevado grau de pureza (análise de resíduo), evitando interferências nos resultados. Esse cuidado foi necessário visando a faixa de trabalho dos analitos de interesse que se encontram em concentração de ng mL^{-1} / ng g^{-1} . Os materiais empregados estão listados na Tabela 4.

Tabela 4: Materiais utilizados nas análises químicas

Padrão/Reagentes (CAS)	Pureza	Fornecedor
Irgarol 1051 (28159-98-0)	98%	Sigma-Aldrich
DCOIT (64359-81-5)	98%	Sigma-Aldrich
Diuron (330-54-1)	98%	Sigma-Aldrich
TCMTB (21564-17-0)	97%	Dr. Ehrenstorfer
Atrazina-d5 (163165-75-1)	98%	Sigma-Aldrich
Metanol	95%	JT Baker
Acetonitrila	95%	JT Baker
Acetato de Etila	P.A	JT Baker
Acetona	95%	JT Baker
Hexano	95%	Macron
Água	Ultrapura (resistência 18.2 mΩ cm)	Milipore - Merck
Cartucho C18	500mg – 6 mL	Varian

3.4 Descontaminação da Vidraria

Toda vidraria utilizada nos procedimentos analíticos foi previamente lavada e imersa em solução Extran® (Merck, 5% v/v) por 24 horas. Após essa etapa, a vidraria foi novamente imersa, agora em solução de ácido nítrico (5% v/v) por 24 horas. Posteriormente, a vidraria foi novamente lavada com água e seca em estufa com circulação forçada de ar a 35°C. Antes do uso, todo material foi rinsado com acetona e hexano de grau análise de resíduo (3 vezes cada solvente).

3.5 Soluções

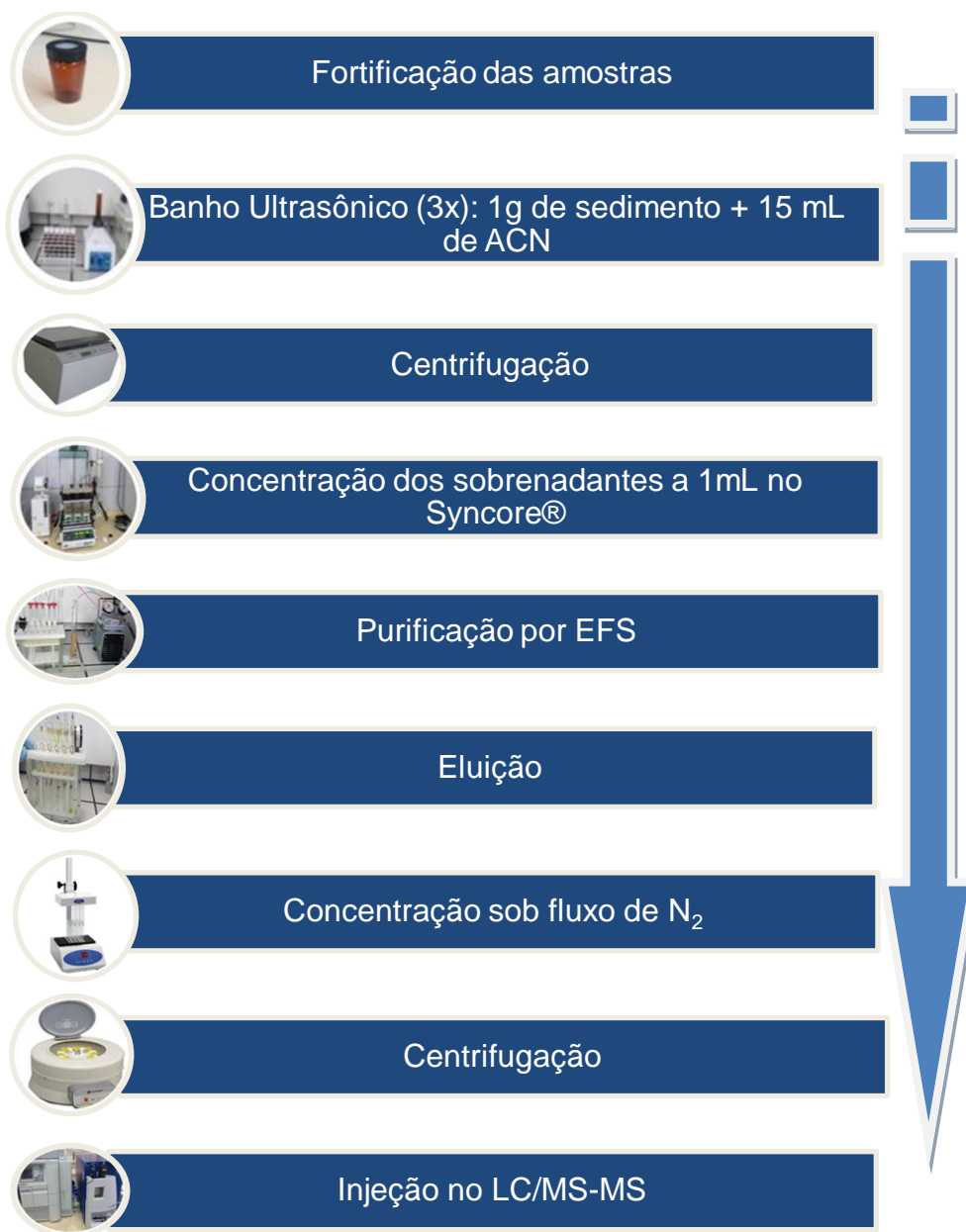
Soluções estoque de cada composto foram preparadas em metanol na concentração de 50.000 ng mL⁻¹ e armazenada sob refrigeração de 4°C em frascos âmbar. A partir de diluições sequenciais, foram preparadas, bimestralmente, soluções intermediárias de 2500 ng mL⁻¹ individuais de cada biocida e solução com uma mistura dos padrões em concentrações de 1000; 100 e 10 ng mL⁻¹. Novas diluições foram preparadas para a construção da curva em solvente e para fortificação dos sedimentos “branco” na montagem da curva de calibração construída na matriz. A quantificação das amostras ambientais foi feita a partir de curvas analíticas construídas na matriz de um sedimento representativo de cada ambiente (R10 Pesqueiro – ELP e S1 – SESS).

3.6 Metodologia Analítica

As análises quali-quantitativas do Irgarol 1051, diuron, DCOIT e TCMTB nos sedimentos foram realizadas conforme Martinez e Barceló (2001) e Harino et al. (2005) (Figura 4). Exato 1 g de sedimento seco foi pesado em frasco âmbar, fortificado com 100 µL de uma solução de 10 ng mL⁻¹ de atrazina-d5 (padrão de recuperação, PR) e deixado em equilíbrio durante a noite (por aproximadamente 14 horas). Posteriormente, foram adicionados 15 mL de acetonitrila e os frascos foram agitados por 1 minuto em vórtex. Em seguida, as amostras foram colocadas em banho ultrassônico (50°C por 30 min) e, então, centrifugadas (4000 rpm por 7 min). Após esse procedimento, o sobrenadante (fração orgânica) foi coletado em um frasco adicional. Essa fase inicial da extração foi repetida 3 vezes. Os sobrenadantes foram então combinados e concentrados a 1 mL em evaporador Syncore®. Em seguida, os extratos foram diluídos em 50 mL de água ultrapura, sendo purificados por Extração de Fase Sólida (EFS) usando cartuchos C18 (fluxo de 1 mL min⁻¹), previamente ativados com 4 mL de acetato de etila e 4 mL água ultrapura. Os cartuchos foram secos com bomba de vácuo por um tempo mínimo de 1 hora. A eluição dos cartuchos foi feita com 2 alíquotas de 2 mL de acetato de etila.

Os eluatos foram centrifugados e concentrados a 100 μ L sob fluxo suave de nitrogênio, sendo aferidos a 1 mL com metanol para análise por cromatografia de fase líquida.

Figura 4: Fluxograma do método



3.7 Instrumento

Os extratos foram analisados em um sistema de cromatografia de fase líquida (LC-MS/MS) Alliance Separations, modelo 2695, Waters (Milford, MA, USA), equipado com amostrador automático, bomba quaternária, sistema de degaseificação, detector de espectrometria de massas LC-MS (Micromass® Quatro Micro™ API Waters) com fonte API, utilizando modo de ionização por “*eletrospray*”, sistema de

aquisição de dados através de software Masslynx 4.0 Waters e uma coluna analítica XTerra® C18 3,5 µm 144 Å (50 x 3 mm d.i.) (Waters, Millford, MA, EUA). A fase móvel utilizada foi composta por água acidificada com ácido acético (0,1%) e metanol, no modo de eluição de gradiente. A pressão do gás de nebulização foi de 50 psi e o volume injetado de amostra foi de 10 µL. A Tabela 5 apresenta as condições de determinação dos biocidas anti-incrustantes no LC-MS/MS utilizadas no modo de Monitorimento de Reações Múltiplas (MRM) (tabela 5).

Tabela 5: Condições para determinação dos biocidas anti-incrustantes no modo MRM

Biocidas	Electrospray (ESI)	MRM Transição (m/z)	Voltagem do cone (V)	Energia de colisão (eV)
Atrazina-d5	+	220,93>101	33	21
		220,93>179	33	17
Diuron	+	232,97>132,9	23	37
		232,97>160	23	23
Irgarol 1051	+	253,97>108	27	17
		281,97>71	29	19
TCMTB	+	238,76>136	17	25
		238,76>180	17	15
DCOIT	+	332,82>76,9	23	57
		332,82>123	23	29

3.8 Validação do Método

A metodologia analítica foi validada de acordo com os parâmetros estabelecidos pelos órgãos regulamentadores INMETRO (2011) e SANTE (2015). Todo processo de validação foi realizado utilizando o sedimento #R10, proveniente do estuário da Lagoa dos Patos (RS). A fim de verificar se há diferença entre amostras distintas, o efeito matriz foi também avaliado no sedimento #S1 de Santos (SP).

3.8.1 Linearidade

A linearidade corresponde a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais a concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI et al., 2004). Por meio da padronização externa, foi construída uma curva analítica (ou de calibração) da matriz onde foi avaliada a linearidade pelo estudo da equação de regressão linear e coeficiente de

correlação, bem como a faixa de trabalho da curva. As concentrações utilizadas para a curva de calibração no solvente e na matriz foram de 1, 1,5, 2, 3, 5, 10, 15, 25, 40, 50 ng ml⁻¹. Na quantificação das amostras do estuário da Lagoa dos Patos foi construída outra curva de calibração na matriz, acrescentando os pontos de 80, 100 e 250 ng⁻¹ (ANEXO II).

Seguindo também as recomendações do INMETRO (2011), a faixa de trabalho ou faixa linear delimitada do método foi realizada a partir de um gráfico do logaritmo da concentração versus a razão da área do pico do analito pela concentração correspondente. No gráfico, é definida a mediana da razão da área do pico/concentração e estipulada uma margem de erro em que pontos da curva deverão mostrar a linearidade esperada (RIBANI et al., 2004). O presente trabalho utilizou a margem de erro de 20% (RIBANI et al., 2004).

3.8.2 Exatidão

O grau de concordância entre os resultados individuais e um valor de referência aceito como verdadeiro foi avaliado por ensaios de recuperação. O sedimento do ponto #R1 foi fortificado com as soluções mix dos biocidas utilizando 50, 100 e 500 µL em 1 g de sedimento para obter os níveis de 0,5, 1, 5, 10, 50 ng g⁻¹. O sedimento fortificado foi armazenado em local abrigado da luz e do calor durante a noite para permitir a interação entre os analitos e a matriz. Em seguida, as amostras foram analisadas conforme descrito acima no item 3.6. A avaliação da exatidão foi feita em termos de recuperação alcançada (Equação 3). Cada nível de fortificação foi analisado em triplicata e cada réplica foi injetada 3 vezes.

$$R (\%) = \frac{(Co \times 100)}{Cf}$$

Equação 1: Cálculo para recuperação aplicado a cada biocida

Onde: Co = Concentração do composto obtida na amostra fortificada

Cf = Concentração do composto adicionada na amostra fortificada

3.8.3 Precisão

A dispersão dos resultados em ensaios independentes foi avaliada pela repetitividade e precisão intermediária. As amostras fortificadas em cinco níveis de

concentrações com três réplicas (injeção em triplicata) foram avaliadas sob condições idênticas de medições (mesmo analista, método, equipamento e local) para a repetitividade. Já a precisão intermediária foi calculada a partir da análise das amostras fortificadas (5 concentrações, 3 réplicas, 3 injeções) por três dias não consecutivos. Ambos parâmetros foram expressados pelo Desvio Padrão Relativo (DPR):

$$DPR (\%) = 100 \times \frac{s}{\bar{x}}$$

Onde: s = desvio absoluto das amostras de cada concentração

\bar{x} = média aritmética das amostras de cada concentração

3.8.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O limite de detecção do método (LD) representa a menor concentração do analito que pode ser detectado, mas sem necessariamente ser quantificada. Para cada analito, o LD foi obtido pela concentração na qual o sinal do analito foi três vezes maior que o ruído. O limite de quantificação do método (LQ) foi determinado pelo menor nível de fortificação (ensaio de recuperação) que o analito pode ser detectado com confiança. Os LD e LQ foram determinados utilizando a curva na matriz somente quando alcançados os critérios de precisão e exatidão do método.

3.8.5 Efeito Matriz

A investigação do efeito matriz foi realizada através da comparação de curvas analíticas preparadas em solvente e na matriz ou através de experimentos com a fortificação da matriz antes ou depois da extração (ECONOMOU et al., 2009; MATUSZEWSKI et al., 2003). Um ponto amostral de cada área de estudo (#S1 e #R10) foram utilizados para construir curvas analíticas para cada ambiente. Na análise do efeito matriz sobre os biocidas anti-incrustantes foram utilizadas 3 curvas preparadas com sedimento #R10. E na comparação do efeito matriz no sedimento do ELP e do SESS foram utilizadas 1 curva de cada ambiente injetadas no mesmo dia para minimizar as variações decorrentes do equipamento entre dias distintos. Esses pontos foram fortificados antes da extração com a solução mix dos biocidas pela padronização por adição de padrão. A partir dos extratos foram preparadas soluções para cada ponto da curva. Assim, obedecendo aos pressupostos de linearidade, as curvas (1-50 ng mL⁻¹) foram preparadas em solventes e nos sedimentos dos dois locais amostrados.

As inclinações dessas curvas foram utilizadas no cálculo da intensidade do efeito matriz, indicando o quanto do sinal cromatográfico foi aumentado ou suprimido. A estimativa da intensidade do efeito matriz foi realizada através da relação entre o coeficiente angular da curva da matriz (S_m) e da curva em solvente (S_s), que calculada a partir da equação 1 (ECONOMOU et al., 2009).

$$EM (\%) = 100 \times \left(1 - \frac{S_m}{S_s}\right)$$

Equação 2: Efeito Matriz

A influência do efeito matriz no método também foi analisada através do Eficiência do Processo (EP), o qual relaciona a recuperação alcançada do composto após todo procedimento de extração com o efeito matriz sobre o biocida (MATUSZEWSKI et al., 2003). O cálculo desse fator foi realizado ponto a ponto da curva de calibração na matriz de acordo com Equação 2:

$$P.E (\%) = 100 \times \frac{AFE}{AS}$$

Equação 3: Eficiência do Processo

Onde, AFE = Área do composto em amostras fortificadas antes da extração;
AS = Área do composto em solvente

3.8.6 Estatística analítica

A normalidade e homocedasticidade dos dados obtidos nesse trabalho foram avaliados usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Correlações paramétricas de Pearson foram usadas para investigar a relação entre os teores de carbono orgânico e de finos.

A análise do efeito matriz foi realizada pela aplicação de um teste t avaliando diferenças significativas entre as inclinações das curvas analíticas. Todos os testes foram realizados no programa estatístico SPSS 17.0[®] com grau de significância de 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Validação e efeito matriz na análise de biocidas anti-incrustantes em sedimentos marinhos

O desenvolvimento de métodos analíticos para quantificar substâncias de interesse em amostras ambientais deve passar por procedimentos que provem a credibilidade do método em fornecer resultados adequados (LANÇAS, 2004). Para isso, órgãos regulamentadores definiram alguns parâmetros de validação (ou figuras méritos) que devem ser alcançados em busca da validação do método analítico. No presente trabalho, o método usado na extração de analitos a partir de amostras de sedimentos marinhos seguiu os critérios propostos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2011) e o *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed* da Comissão Europeia (SANTE, 2015).

Segundo o INMETRO (2011), a curva analítica deve ser construída usando no mínimo 5 concentrações e apresentar boa sensibilidade. Através do modelo de regressão linear é possível inferir o bom ajuste da reta (linearidade) pelo cálculo do coeficiente de determinação, que deve ser próximo de 1. Isso mostra uma menor dispersão dos pontos preditos e observados, além de mostrar uma menor incerteza dos coeficientes de regressão, ou seja, menor incerteza da quantificação das amostras (RIBANI et al., 2004). Os coeficientes de determinação obtidos para todas as curvas dos analitos estudados no presente trabalho foram acima de 0,99, conforme determinado por SANTE (2015) (Tabela 6). Apenas a curva do TCMTB na matriz do SESS foi 0,92.

Tabela 6: Curvas analíticas (equação e coeficiente de determinação) preparadas em solvente, em sedimento do estuário da Lagos dos Patos (LP) e do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS) para cada biocida anti-incrustante.

Biocidas	Curva no solvente		Curva na matriz (LP)		Curva na matriz (SESS)	
	Equação	R ²	Equação	R ²	Equação	R ²
Diuron	$y=118668x + 14090$	0,9988	$y=100736x + 25068$	0,9980	$y=57622x + 8194$	0.9980
Irgarol 1051	$y=3662006x - 383260$	0,9984	$y=3101920x - 823380$	0,9994	$y=1903845x + 313220$	0.9990
TCMTB	$y=241181x - 53900$	0,9991	$y=208018x - 78085$	0,9927	$y=11246x - 4173$	0.9258
DCOIT	$y=82426x - 7564$	0,9970	$y=46490x + 10344$	0,9981	$y=57620x - 2670$	0.9968
Atrazina-d5 (P.R)	$y=594685x -125573$	0,9983	$y=578202x + 144012$	0,9994	$y=362816x -42417$	0.9991

Os coeficientes angular e linear das regressões também podem indicar um bom ajuste da reta, pois eles refletem a sensibilidade e a interseção da reta com os eixos (BRITO, 2001). Assim, o método analítico procura obter um alto coeficiente angular para uma maior sensibilidade e baixo coeficiente linear para alcançar uma menor resposta possível do equipamento.

Para verificar a ocorrência da linearidade ao longo da curva analítica, o INMETRO também destaca a importância de determinar a faixa de trabalho, mostrando a linearidade ao longo da faixa de concentrações na qual o método será aplicado. A avaliação das curvas analíticas mostrou que a dispersão dos pontos utilizados nas mesmas estava dentro da margem utilizada (<20%), implicando na linearidade de toda curva (Figura 5).

A capacidade de extrair todos os analitos de interesse (exatidão) pode ser avaliada pelo uso de materiais de referência, adição-padrão ou ensaios de recuperação (INMETRO, 2011). Devido à inexistência de material certificado para os biocidas anti-incrustantes de terceira geração, a exatidão do método foi avaliada pelo ensaio de recuperação utilizando cinco concentrações relevantes dentro da faixa de trabalho de cada biocida. É recomendado que os valores de recuperação do método estejam entre 70 – 120% (SANTE, 2015).

A extração das amostras utilizadas no ensaio de recuperação foi realizada de acordo com a metodologia descrita anteriormente, onde a recuperação alcançada variou entre 72 e 98% para Irgarol 1051, 74 e 81% para diuron, 74 e 110% para TCMTB e de 83 e 90% para atrazina-d5 nos níveis de 1, 5 e 10 ng g¹. O DCOIT apresentou recuperação entre 86 e 115% para os níveis de 5, 10 e 50 ng g⁻¹ (Tabela 7). Portanto, as recuperações obtidas a partir do método de extração empregado estão de acordo com o recomendado por INMETRO (2011) e SANTE (2015), indicando que o presente método é adequado para a determinação analítica desses compostos a partir de amostras de sedimento.

Figura 5: Curvas analíticas e faixas de trabalho (variação de 20% da mediana para cada biocida). A linha pontilhada marca a mediana do logaritmo da concentração e as linhas vermelhas marcam o limite inferior e superior

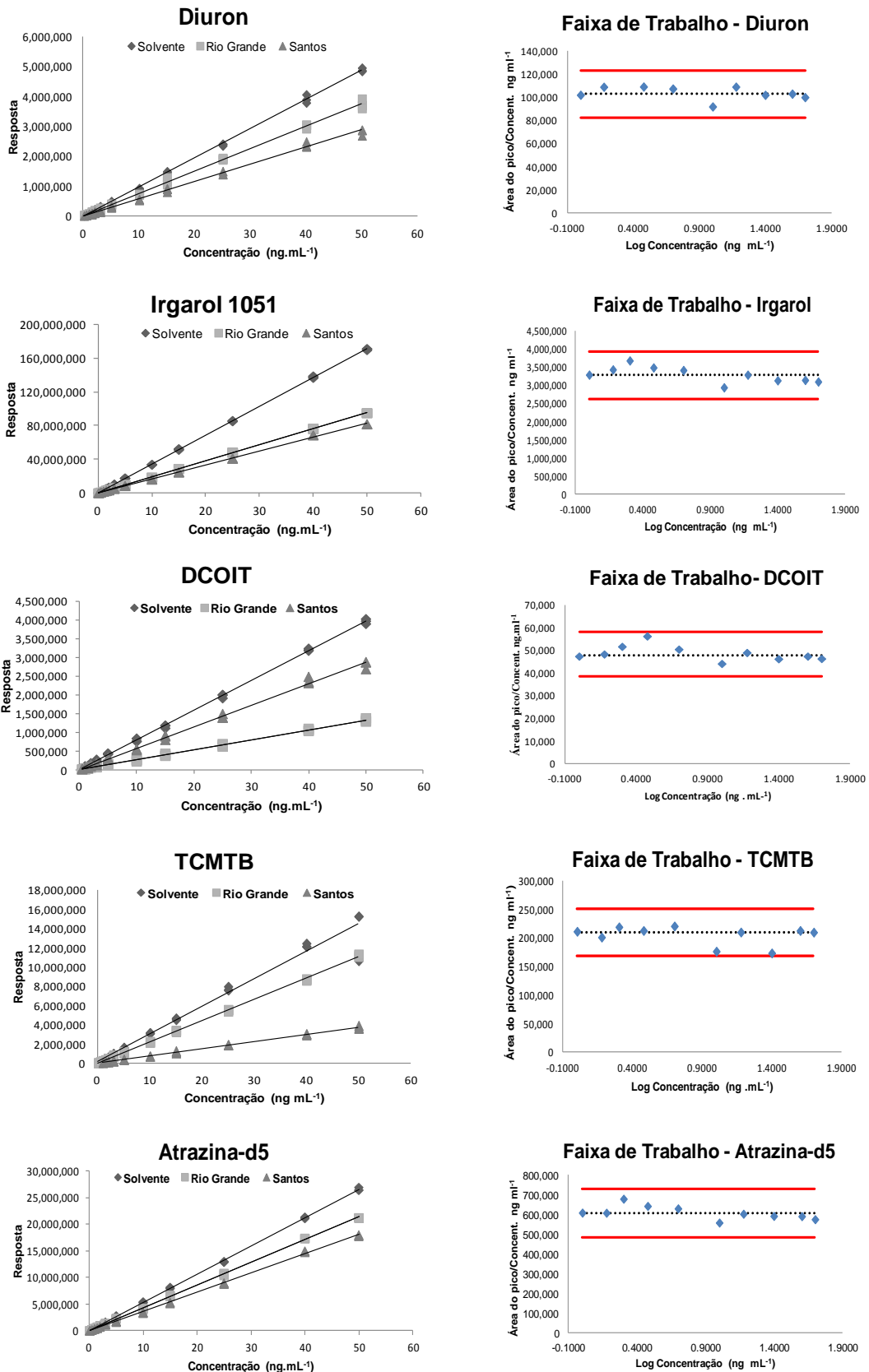


Tabela 7: Médias da recuperação, repetitividade e precisão intermediária (n=3) do método usado para análise dos biocidas anti-incrustantes em sedimentos fortificados em 3 diferentes níveis de concentração

Biocidas	Nível de Fortificação (ng g⁻¹)	Recuperação (%)	Repetitividade (DPR %)	Precisão Intermediária (DPR %)
Diuron	1	74	15,5	16,4
	5	81	10,9	11,5
	10	81	4,1	14,8
Irgarol	1	72	2,7	5,4
	5	98	2,0	2,6
	10	71	1,7	11,7
TCMTB	1	117	1,8	8,8
	5	110	2,0	19,5
	10	74	3,0	11,9
DCOIT	5	117	4,5	13
	10	83	15,1	18,2
	50	87	6,0	15,2
Atrazina-d5	1	83	6,3	14,0
	5	85	2,6	9,6
	10	90	1,9	14,9

Conforme recomendação do INMETRO (2011), o presente trabalho avaliou a precisão de método através da repetitividade e precisão intermediária. Em todos os casos, o desvio padrão relativo (DPR) obtido foi menor que 20%, como recomendado por SANTE (2015) (Tabela 7).

A precisão e exatidão permitem estimar os erros e variações embutidos no processo analítico. Nesse trabalho, a precisão intermediária, por exemplo, mostrou uma oscilação maior dos dados em análises conduzidas em dias distintos. Essa variação foi provavelmente devido a uma maior instabilidade que produziu resultados que variaram em 15% (média) entre as réplicas das mesmas amostras analisadas no mesmo dia. Apesar disso, o desvio padrão relativo obtido a partir dos resultados para essas amostras está dentro do limite satisfatório (<20%) recomendado pelo INMETRO (2011) e SANTE (2015).

Apesar da importância de conhecer o menor valor de concentração do analito de interesse que pode ser detectado pelo método, o termo “Limite de Detecção do método” ainda não possui uma concordância sobre sua definição e aplicação (INMETRO, 2011). O limite de quantificação (ou limite de determinação) também deve ser avaliado, pois mostra a concentração mínima quantificável com confiabilidade (precisão e exatidão).

No entanto, alguns autores não utilizam esse parâmetro na validação, podendo assim diminuir a confiabilidade no método (CASSI et al., 2008; HARINO et al., 2009; BALAKRISHNAN et al., 2012).

Ainda assim, para melhor garantia analítica foram adotadas as recomendações do INMETRO (2011). Portanto, o LD e LQ do método desenvolvido nesse trabalho foram determinados pela relação sina/ruído e ensaios de recuperação, respectivamente, onde foi obtido o LD para todos os biocidas foi de $0,1 \text{ ng g}^{-1}$ e o limite de quantificação de 1 ng g^{-1} , exceto para o DCOIT que apresentou o LQ foi de 5 ng g^{-1} .

Considerando outros trabalhos que indicaram o LD e LQ encontrados na validação de métodos usados na determinação simultânea de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (Tabela 8), é observada uma similaridade com os limites definidos no presente estudo. Dentre esses trabalhos, Martinez e Barceló (2001), Lambropoulou et al. (2003) e Sánchez-Rodriguez et al. (2011) testaram a metodologia validada em amostras ambientais (Tabela 9) e, apesar da baixa frequência de detecção dos compostos nas amostras de sedimentos, os autores consideraram os métodos aplicados eficientes para uso na avaliação da contaminação.

Assim, os limites de detecção e quantificação encontrados nesse trabalho permitem a análise dos biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em amostras de sedimentos, uma vez que alcançam os níveis frequentemente reportados na literatura de resíduos no ambiente (baseado também na faixa de concentração encontrada em outros trabalhos da literatura).

Tabela 8: Limites de Detecção e Quantificação reportados em estudos de validação de método para determinação simultânea de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (n.a, não analisado; LD, limite de detecção do método; LQ, limite de quantificação do método).

Autores	Extração	Instrumento	LD / LQ (ng g ⁻¹)					
			Diuron	Irgarol	DCOIT	Diclofluanida	Clorotalonil	TCMTB
Voulvoulis et al., 1999	Agitação mecânica	GC-MS	n.a	3,1 / 10,3	4,7 / 15,7	4,9 / 16,5	4,1 / 13,5	n.a
Martinez e Barceló, 2001	Sonificação	HPLC-APCI-MS	0,4/	0,2/	0,4/	1,6/	n.a	n.a
Lambropoulou et al., 2003	Microextração de fase sólida	GC-MS	1,5 /	0,5 /	1,5 /	1 /	n.a	n.a
Gatidou et al., 2004	Sonificação	HPLC - DAD	3,1 /	2,8 /	n.a	n.a	n.a	n.a
Sánchez-Rodríguez et al., 2011	Microondas	GC-MS	0,2/0,7	0,1/0,4	n.a	1	n.a	0,3 / 1,0
Presente estudo	Sonificação	LC-MS/MS	0,1 / 1	0,1 / 1	0,1 / 5	n.a	n.a	0,1 / 1

Tabela 9: Concentrações de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em amostras ambientais de sedimentos reportados em estudos sobre validação de metodologias para determinação simultânea (n.a, não analisado; LD, limite de detecção do método).

Autores	Extração	Instrumento	Concentrações (ng g ⁻¹)					
			Diuron	Irgarol	DCOIT	Diclofluanida	Clorotalonil	TCMTB
Martinez e Barceló, 2001	Sonificação	HPLC-APCI-MS	<L.D - 137	<L.D - 88	<L.D - 4	<L.D -11	n.a	n.a
Lambropoulou et al., 2003	Microextração de fase sólida	GC-MS	<L.D	43 (valor médio)	<L.D	<L.D	n.a	n.a
Sánchez-Rodríguez et al., 2011	Microondas	GC-MS	<L.D – 5,3	<L.D – 26,4	n.a	<L.D – 16,6	n.a	<L.D

4.1.1 Efeito Matriz

Apesar dos órgãos responsáveis pela regulamentação do controle de qualidade analítico exigirem principalmente as figuras de mérito como linearidade, precisão e exatidão para validação de métodos analíticos, a partir da década de 2000 surgiram pesquisas mostrando a importância de incluir também a avaliação do efeito matriz nos procedimentos de validação de métodos analíticos (BENIJTS et al., 2004; GONZÁLEZ et al., 2002).

A precisão e exatidão de um método podem ser prejudicados pela presença de componentes da matriz (co-extraídos e co-eluídos), que competem com os analitos de interesse de modo a suprimir ou aumentar o sinal dos íons, causando o chamado “Efeito Matriz (EM)” (HAJŠLOVÁ & ZROSTLÍKOVÁ, 2003).

Ainda na década de 1990, Erney et al. (1993) apontaram que as temperaturas altas do injetor cromatográfico e o tipo de matriz seriam os responsáveis pelo EM. Atualmente, se sabe que essas interferências podem ser causadas em diferentes estágios do processo cromatográfico e variar de acordo com o instrumento utilizado (cromatografia gasosa ou líquida), do detector, do método de extração, da concentração e natureza da matriz e do analito (PINHO et al., 2009; SANTOS et al., 2013).

A interação matriz/analito, assim como as concentrações presentes nas amostras, também influenciam na intensidade da supressão ou aumento do sinal do analito. A competição entre o analito e a matriz por sítios de ligação, como pelo acesso a fonte de ionização, pode mascarar ou aumentar o sinal (ERNEY et al., 1993). Nesse sentido, a concentração e a natureza da matriz, bem como o tamanho da molécula, polaridade, estabilidade térmica e volatilidade de cada analito são importantes fatores que também contribuem com o efeito matriz (PINHO et al., 2009; POOLE, 2007).

Assim, sabendo da complexidade das matrizes ambientais e da impossibilidade de eliminar completamente os seus efeitos sobre os métodos analíticos (NIESSEN et al., 2006), algumas técnicas são empregadas para minimizar esse efeito. O uso de compostos protetores, padrões internos marcados isotopicamente e quantificação por curvas de calibração construídas na matriz são algumas das técnicas normalmente utilizadas. A construção de curvas pela técnica de adição padrão tem sido recomendada por órgãos certificadores, considerando o alto custo e a pouca disponibilidade de compostos químicos protetores e marcados isotopicamente (SANTE, 2015; THOMPSON et al., 2002).

As curvas de calibração na matriz permitem calcular a intensidade do efeito matriz quando comparadas com as curvas de calibração no solvente. ECONOMOU et al. (2009) propuseram a seguinte classificação para quantificar a intensidade do efeito matriz a partir da comparação com curvas construídas em solvente puro: baixo (-20% a + 20%), médio (-50% a -20% ou +20% a +50%) ou alto (< -50% ou > +50%). Por outro lado, o efeito matriz pode ser melhor entendido utilizando o cálculo da Eficiência do Processo (EP). Este é um método quantitativo que reflete a combinação da recuperação e do efeito matriz sobre os compostos, uma vez que utiliza a área do analito obtida em uma amostra fortificada antes da extração. Assim, uma baixa EP combinada com uma alta intensidade do EM, indicam que a interferência na recuperação do método se deve principalmente ao efeito matriz (MATUSZEWSKI et al., 2003).

Os valores de EM e EP para os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração fortificados sobre uma matriz de sedimento coletada na estação Pesqueiro (#R1) do estuário da Lagoa dos Patos estão apresentados na Tabela 10. A construção de apenas uma curva de calibração para a matriz SESS impossibilitou a aplicação do test *t* para a matriz do SESS.

Tabela 10: Parâmetros utilizados na investigação do efeito matriz pela intensidade do efeito (EM) e eficiência do processo (EP) a partir da curva em matriz para o estuário da Lagoa dos Patos (ELP) (média ± desvio padrão, n=3) e sistema estuarino de São Vicente e Santos (SESS) (n=1). *t* tabulado pela distribuição *t student* (bilateral) considerando 2 graus de liberdade e significância de 5%.

Biocidas	Pesqueiro (#R10) – ELP				Pier do Pescador (#S1) – SESS	
	<i>t</i>	<i>t</i>	EM	EP	EM	EP
	<i>tabulado</i>	<i>calculado</i>	(%)	(%)	(%)	(%)
Diuron	4,30	5,4	16 (±5,7)	82 (±5,6)	41	61
Irgarol 1051	4,30	3,6	27(±10,7)	78 (±3,3)	52	49
TCMTB	4,30	4,0	22 (±8,5)	77 (±4,2)	-	4
DCOIT	4,30	6,8	53 (±7,8)	49 (±2,8)	28	71
Atrazina-d5	4,30	2,3	12 (±8,7)	89 (±3,6)	32	68

Seguindo a classificação de Economou et al. (2009), o efeito matriz sobre a atrazina-d5 e o diuron mostrou-se baixo, enquanto que o efeito matriz sobre o Irgarol 1051 e TCMTB foi moderado. Para o DCOIT, um alto efeito matriz foi encontrado

(Tabela 10). Quanto à análise estatística, o DCOIT e diuron apresentaram diferenças significativas entre as inclinações das curvas preparadas no solvente e na matriz. Por outro lado, Irgarol 1051, TCMTB e atrazina-d5, que mostraram o t tabulado maior que o t calculado, indicando que não houve diferença significativa entre as curvas (Tabela 10). Para o DCOIT, por exemplo, foi observada uma baixa eficiência do processo ($EP = 49 \pm 2,8\%$), um alto efeito matriz ($EM = 53 \pm 7,8\%$) e uma diferença significativa entre as curvas no solvente e matriz ($t \text{ tab} < t \text{ calc}$). Nesse caso, a matriz tem influência expressiva na análise desse composto, de modo que pode afetar a recuperação (dificultando a extração do analito da amostra). Sendo assim, ao estudar esse composto, exatidão e precisão na curva da matriz devem ser sempre inspecionadas para verificar a confiabilidade dos resultados.

O diuron também apresentou diferença significativa entre as curvas de calibração preparadas com solvente e na matriz ($t \text{ tab} < t \text{ calc}$), porém apresentou uma boa EP. O baixo efeito matriz ($16 \pm 5,7\%$) encontrado permite inferir que não há grande interferência na análise quantitativa do diuron e que boas recuperações ainda foram alcançadas.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as curvas de calibração da atrazina-d5, Irgarol 1051 e TCMTB. A EP para os três biocidas se mostrou satisfatória, não indicando perdas na recuperação dos biocidas ainda que a intensidade encontrada do efeito matriz sobre Irgarol 1051 ($27 \pm 10,7\%$) e TCMTB ($23 \pm 8,5\%$) tenha sido moderada (Tabela 10). Assim, apesar de um efeito matriz mediano sobre esses compostos, a EP não foi afetada significativamente.

Para comparação do efeito matriz entre o sedimento do estuário da Lagoa dos Patos (ELP) e o Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) foram preparadas curvas de calibração utilizando um sedimento representativo de cada uma das áreas, sendo verificado se o EM varia entre as matrizes utilizadas. Os pressupostos da linearidade foram alcançados para todas curvas construídas ($r^2 > 0,99$), com exceção da curva do TCMTB construída com a matriz do SESS onde o r^2 foi de 0,92.

O efeito matriz mostrou intensidades distintas quando analisado nas matrizes do ELP e SESS para os biocidas anti-incrustante analisados de 3ª geração. Quando comparados os resultados para esses dois ambientes foi observado um maior EM (solvente *versus* matriz) sobre o diuron, Irgarol 1051 e atrazina-d5 na matriz de SESS. O DCOIT, no entanto, apresentou um menor efeito matriz no sedimento de SESS. A eficiência do processo para esses compostos também variou quando analisado nas

amostras desses ambientes. Os melhores níveis de EP para Irgarol 1051, diuron, TCMTB e atrazina-d5 foram obtidos na análise da matriz do ELP, enquanto que o DCOIT alcançou melhores níveis na matriz do SESS.

Para o TCMTB, a matriz de SESS pode ter influenciado a quantificação do analito, suprimindo a resposta cromatográfica de modo a prejudicar o desempenho do composto. A menor linearidade da curva de calibração do TCMTB ($r^2 = 0,92$) inviabilizou a realização do cálculo do efeito matriz, junto com a baixa eficiência do processo (média de 4%), indicam falhas na recuperação desse composto (Tabela 10).

No presente trabalho, cada biocida mostrou um comportamento diferente para cada matriz de sedimento analisado. O menor efeito matriz e melhor eficiência do processo para o DCOIT na matriz do SESS, por exemplo, pode indicar que a matriz de SESS impediu uma maior interação ou influência da matriz com os analitos, o que pode ter melhorado a precisão dos resultados. Enquanto que para Irgarol, atrazina-d5, diuron e TCMTB essa matriz pode ter inserido componentes que mascaram esses analitos na quantificação por cromatografia líquida.

A influência que cada analito pode sofrer em determinada matriz é complexa e dependente de vários fatores e da interação que pode existir entre matriz – analito – equipamento. As diferentes características físico-químicas dos biocidas, tais como a solubilidade (diuron de 36 mg L^{-1} e DCOIT com 5 mg L^{-1} , por exemplo) e os diferentes grupamentos químicos presentes (triazinas, feniulreia, tiazol) podem ter contribuído com a variação nas respostas e intensidade do efeito matriz entre os compostos. Portanto, o efeito matriz não é dependente apenas do composto analisado; esse fenômeno também pode ser influenciado pelo instrumento e natureza da matriz utilizada na análise.

Praticamente inexitem informações sobre efeito matriz relacionado a determinação analítica de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração. Estudos conduzidos por STEEN et al. (1999) e GATIDOU et al. (2004) utilizaram curvas construídas na água para o diuron, e em sedimentos para Irgarol 1051, respectivamente. Ambos observaram que na presença da matriz ocorria uma variação dos sinais dos analitos de interesse. STEEN et al. (1999) observou ainda uma supressão do sinal do diuron em matrizes de água com diferentes pH e quantidades de ácido húmico, utilizando um detector de espectrometria de massas.

Westphal (2011) também observou um alto efeito da matriz na determinação analítica de atrazina-d5 e clorotalonil na matriz água (ultrapura). Nesse mesmo estudo, o

TCMTB mostrou um baixo efeito matriz, enquanto que o DCOIT e o Irgarol mostraram efeitos moderados. Dominguez et al. (2014) observou um efeito matriz alto e baixo da água estuarina para os compostos diuron e Irgarol 1051, respectivamente. Comparando esses resultados do efeito em água com os resultados obtidos no presente trabalho para sedimentos (ambos analisados por espectrometria de massa), foi observado maior efeito matriz para o diuron em água enquanto que o Irgarol está sob maior efeito matriz quando analisado em sedimentos. Entretanto, em comparação ao presente estudo, o instrumento utilizado na quantificação dos compostos pode ter influenciado na variabilidade do efeito matriz encontrado. Enquanto o efeito matriz que ocorre na cromatografia de fase gasosa se dá especialmente devido as altas temperaturas usadas no injetor, na cromatografia de fase líquida é passível de ocorrer a co-eluição de compostos durante a etapa de ionização. Assim, é possível que o princípio de operação distinto entre os sistemas cromatográficos utilizados por Westphal (2011), Dominguez (2014) e no presente estudo cause diferenças entre os efeitos matriz encontrados, ainda que esse efeito possa ter ocorrido por outros fatores.

A observação de diferentes intensidades do efeito em três matrizes distintas (sedimento, água ultrapura e água estuarina) para os biocidas anti-incrustantes pode ser decorrente também dos componentes intrínsecos de cada matriz. Outros trabalhos também observaram oscilação das respostas ao analisar alguns analitos em matrizes diferentes. Castro et al. (2015), por exemplo, mostraram diferentes intensidades do efeito matriz ao analisar tributilestanho (TBT) e seus metabólitos em sedimentos e mexilhões. Aguerre et al. (2000) também constataram que, especialmente, o trifenilestanho (TPT) era dependente da natureza da matriz. Nesse caso, a resposta variava quando a análise era realizada a partir da curva construída com a matriz de sedimento ou de lodo.

Reconhecendo a interferência do efeito matriz em análises quantitativas de compostos químicos, alguns guias de orientações como SANTE (2015) (União Europeia) e Thompson et al. (2002) (IUPAC, órgão internacional) mencionam a necessidade de construir curvas de calibração usando a técnica de adição padrão. Esta seria uma maneira de minimizar os efeitos inerentes de cada matriz. No entanto, a quantificação das amostras por meio das curvas de calibração preparadas em solvente ainda é uma prática comum encontrada na literatura. Essa prática, pode adicionar erros analíticos ao não considerar os interferentes que as matrizes ambientais podem embutir

nas determinações, assim como visto nos trabalhos de Harino et al. (2005), Kitada et al. (2008) e Kim et al. (2015) para os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração.

Em estudos de resíduos de praguicidas em vegetais, a utilização das curvas em matriz é mais comum (NIESSEN et al., 2006; PINHO et al., 2009). Para essas análises, o guia da União Europeia (SANTE, 2015) já agrupou essas matrizes de acordo com algumas propriedades comuns (alto teor de gordura, de água ou acidez). Assim, para quantificar os praguicidas de interesse é aceita a construção de uma única curva feita com uma matriz que seja representativa do grupo a matrizes a ser analisado (SANTE, 2015).

Esse agrupamento tem o objetivo de diminuir o processo laborioso que envolve a construção da curva de calibração, bem como evitar a problemática de ter disponibilidade de matriz isenta de contaminação para construção das curvas. No entanto, alguns trabalhos têm apontado que cada matriz (cada fruta, vegetal, biota e água) contribui com um efeito matriz único que é inerente de suas próprias características (THOMPSON et al., 2002; KRUBE et al., 2008; PINHO et al., 2009).

O trabalho de KRUBE et al. (2008) mostrou que essas características individuais poderiam ser responsáveis pela variação do EM para o composto Aldicarbe, entre frutas diferentes, apesar de terem teores de água e gordura semelhantes (tomates, pepino e pimenta, por exemplo). Nesse estudo também foi observado uma variabilidade do EM entre os tipos de maçã de diferentes origens, tendo sido detectado um mesmo composto apresentando tempos de retenção semelhantes, mas que são ativados em condições distintas (na presença de radiação ultravioleta, por exemplo).

Na análise de amostras ambientais, a investigação do efeito matriz considerando as variações de cada grupo (biota, água ou sedimento) é ainda mais escassa. Entretanto, há estudos que quantificaram a contaminação por tributilestanho em tecidos de gastrópodes utilizando curvas analíticas construídas com tecidos de mexilhões. Embora, essa abordagem minimize o erro em comparação a uma curva construída a partir de solvente puro, erros de quantificação decorrentes da composição distinta das matrizes certamente ainda podem afetar a determinação analítica (CASTRO et al., 2015). Além disso, alguns trabalhos observaram que o teor do material húmico e pH podem alterar a intensidade do sinal do analito em amostras de água, assim como os diferentes teores de lipídios, pigmentos e resinas de plantas podem afetar as respostas em amostras de biota (CASSI et al., 2002; HAJŠLOVÁ et al., 1998).

Na literatura não foram encontrados trabalhos que avaliaram diferenças entre efeitos matriz produzidos por amostras de sedimentos marinhos ou estuarinos. Assim, uma importante observação realizada no presente estudo indica que a intensidade e comportamento do efeito matriz varia entre amostras de sedimentos de diferentes ambientes. Essa variabilidade é provavelmente devido a diferente constituição dos sedimentos analisados, os quais podem sofrer a influência significativa das diferentes condições locais, como hidrodinâmica, gradiente de salinidade, taxas de sedimentação, aportes de matéria orgânica de distintas composições e quantidades, composição da fração inorgânica, composição da fauna e flora associada, entre outros (HAJŠLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003; PINHO et al., 2009; SAARI et al., 2007).

As amostras de sedimentos utilizadas nessa comparação apresentaram variações tanto na quantidade do carbono orgânico como na granulometria. O ponto #R10 (estuário da Lagoa dos Patos - ELP) apresentou 0,64% de carbono orgânico e 14,9% de teor de finos (silte + argila), enquanto que #S1 (Sistema Estuarino de Santos e São Vicente - SESS) mostrou 0,89% de carbono orgânico e 5,6% de finos. Essa variação na quantificação desses parâmetros, bem como uma possível diferença na constituição orgânica e inorgânica do sedimento, pode ter influenciado no efeito matriz observado sobre os analitos.

Dentre os fatores apontados na literatura, a matéria orgânica pode ser um dos principais contribuintes do efeito matriz observado na análise de sedimentos. Nesse sentido, a composição, a fonte e os ligantes desse material podem influenciar diretamente na interação matriz-analito-instrumento (SAARI et al., 2007). Esse fator pode promover uma “proteção” dos analitos, evitando a degradação dos compostos (aumento do sinal) ou mascarar a identificação dos íons (supressão do sinal) (HAJŠLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003; NIESSEN et al., 2006).

O estudo de Saari et al. (2007) mostrou uma diferença significativa entre a inclinação das retas das curvas construídas usando dois tipos diferentes de solos. A partir do teste *t*, os autores observaram que a quantidade de matéria orgânica, com diferença de 3% entre os solos, era provavelmente o responsável por afetar a resposta para cada analito nas análises cromatográficas. Carboni et al. (2016) também observaram diferenças significativas entre as recuperações de fulerenos para solos que possuem diferentes teores de carbono orgânico, tendo associado essa observação a composição química da matriz e a concentração de co-extraídos nesse material como os principais responsáveis da variação na recuperação.

Ainda que limitados, os estudos sobre efeito matriz têm indicado a complexidade e as interferências da matriz na quantificação dos compostos. Desse modo, alguns trabalhos propõem técnicas para minimizar as interferências do efeito matriz. Nesse sentido, alguns estudos propuseram que a fase de purificação das amostras fosse intensificada, de modo a retirar o máximo de interferentes possíveis. No entanto, o aumento de custo e tempo de análise não é compensado por uma redução significativa no efeito matriz (CHAMBERS et al., 2007; SCHENCK; LEHOTAY, 2000).

O uso de compostos químicos protetores dos analitos também é bem discutido na literatura. O composto protetor tem a função de mascarar os sítios de ligação do injetor protegendo o analito da degradação no sistema cromatográfico. Porém, esses compostos protetores devem ser voláteis, polares e com alta facilidade de formar ligações de hidrogênio. Por essas características, o uso desses compostos é limitado à cromatografia de fase gasosa, dificultando a análise multi-resíduo que também é comumente realizada pelo emprego de cromatografia de fase líquida (PINHO et al., 2009; SÁNCHEZ-BRUNETE et al., 2005).

O uso de compostos estáveis e marcados isotopicamente como padrão interno nas análises é indicado como uma das medidas de controle do efeito matriz (SANTE, 2015). Isótopos do analito de interesse (comumente a adição de um isótopo de hidrogênio na molécula) podem ser usados como padrão interno (inseridos nas amostras antes da injeção) ou padrão de recuperação (inseridos antes da extração das amostras), pois conseguem reproduzir o comportamento dos seus respectivos analitos de interesse. Assim, se esses compostos forem usados como padrão de recuperação será possível avaliar todo o procedimento analítico e não somente a etapa de identificação dos analitos de modo diferente do procedimento empregando esses compostos como padrão interno. Todavia, ainda existem limitações para o uso desses compostos devido a pequena disponibilidade de compostos orgânicos marcados isotopicamente no mercado. Além disso, o alto preço atualmente praticado para esses padrões dificulta ainda mais o seu uso (POOLE, 2007).

Outra forma de minimizar o efeito matriz é a construção de curvas analíticas nas matrizes de análise. Na literatura, são encontradas algumas maneiras para preparar esses tipos de curva. A superimposição de matriz que é feita pela fortificação no extrato da matriz para cada concentração (pós extração), construindo a curva a partir da relação direta entre as áreas obtidas e as concentrações dos padrões. Na adição de padrão, por

outro lado, a curva analítica é construída através da fortificação da matriz com diferentes concentrações do analito antes da extração. Esta técnica é usada principalmente quando é difícil encontrar amostras isentas de contaminação (RIBANI et al., 2004; CASSIANO et al., 2009).

No entanto, os mesmos guias que recomendam o uso de curva na matriz não estabelecem claramente a melhor maneira de prepará-las, deixando a implementação desta técnica suscetível a erros que podem comprometer a sua eficiência em mitigar o efeito matriz. SANTE (2015), por exemplo, deixa aberta a possibilidade de realizar a fortificação da matriz antes ou depois da extração, enquanto o documento da IUPAC (THOMPSON et al., 2002) sugere a aplicação da técnica de Adição Padrão apenas para um intervalo da calibração validada.

Considerando os fatores discutidos acima, o uso de curva na matriz ainda se torna a forma mais viável para minimizar o efeito matriz, visto a menor disponibilidade e ao alto preço de compostos marcados isotopicamente que poderiam ser usados como padrão de recuperação. E, a fim de reduzir o trabalho envolvido na construção das curvas, as matrizes utilizadas, por exemplo, podem ser agrupadas de acordo com suas principais características. No caso de sedimentos, separar de acordo como o teor de finos, carbono orgânico total ou do tipo de ambiente em que foram coletados pode ser uma forma de tornar a investigação do efeito matriz mais prática.

No presente trabalho, a curva analítica foi construída pela técnica de adição padrão, o que pode implicar na redução da concentração da matriz nos extratos finais devido a fortificação ser realizada antes da extração e causar subestimação nos resultados. Ainda assim, foi possível verificar a presença do efeito matriz e que ocorria uma variação na sua intensidade com o tipo de matriz utilizada. Considerando que não há, até o momento, um completo esclarecimento sobre técnica de construção de curvas analíticas para investigação do efeito matriz, é recomendável que as curvas analíticas para quantificação de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração sejam preparadas por superimposição de matriz. Isso possibilita uma melhor comparação entre essas metodologias, principalmente quanto há possíveis diferenças na intensidade do efeito matriz. Assim, os protocolos existentes sobre validação de métodos analíticos deveriam ser mais detalhados e específicos, evitando interpretações divergentes seja na análise ou na mitigação do efeito matriz.

Do mesmo modo, vale lembrar que a comparação do efeito matriz apresentada no presente trabalho foi realizado com base em uma amostra de cada ambiente, porém é

bem possível que a intensidade e comportamento desse efeito possa variar também entre as amostras de um mesmo ambiente. Dito isso, e considerando os descasos ou desatenção com o efeito matriz em análises de análise de resíduos de compostos orgânicos, é possível afirmar que os resultados de muitos estudos que envolvem amostras ambientais possam estar sub ou superestimados.

4.2 Biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos de dois estuários brasileiros

4.2.1 Carbono Orgânico e Granulometria

Compostos químicos são inseridos a todo momento no ambiente aquático e podem estar submetidos a diversos processos de transformação da estrutura da molécula ou de transporte e mistura no ambiente. As características de cada compartimento podem influenciar na ciclagem e biodisponibilidade do composto ali inserido (SCHWARZENBACH et al., 1993). As principais características para o sedimento são, por exemplo, o tamanho da partícula, o teor de carbono orgânico, a composição da matéria orgânica e a presença de organismos bentônicos (SKEI et al., 2001).

A análise granulométrica e o teor de carbono orgânico total foram determinados nas amostras do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) e no estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Ambos os lugares mostraram a predominância de sedimentos classificados como areia fina (0,25 – 0,063 mm), representando entre 43,2 e 90,2% nas amostras do SESS e entre 42,4 e 91,3% nas amostras do ELP.

O teor de finos (< 0,063mm) variou entre 3,3 e 15,6% entre as amostras do SESS analisadas, sendo que os maiores teores dessa fração foram encontrados nas regiões mais internas do estuário (S3 e S7). Outros trabalhos encontraram teores semelhantes para a mesma região de estudo (BURUAEM et al., 2012; CESAR et al., 2006). Para o ELP a fração de finos variou entre 0,08 e 20,5%, sendo que os maiores teores foram encontrados na porção superior do estuário (R7, R14 e R15) e próximo ao estaleiro Irmãos Fernandes (ER8). Trabalhos nessa região observaram sedimentos mais finos (mais argilosos) nos canais mais profundos e próximos de ambientes abrigados, enquanto um fundo mais arenoso é encontrado principalmente nas margens do estuário e em pontos de maior energia hidrodinâmica (CALLIARI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2007).

Para o carbono orgânico total (COT), teores de até 3,5% foram observados para sedimentos do SESS localizados na parte interna do estuário próximo a área de manguezal. Cesar et al. (2006) e Bordon et al., (2011) também encontraram os maiores valores na região mais interna do SESS, associando a regiões de manguezais e efluentes de esgoto doméstico. Já para o ELP, o maior nível de 1,62% foi encontrado na região central do canal hidroviário do estuário (Tabela 11). Costa et al. (2016) e Mirlean et al.

(2003) também encontram os maiores teores de COT em locais do ELP com predomínio de sedimentos finos, pradarias de rúpias e descarga de esgoto doméstico.

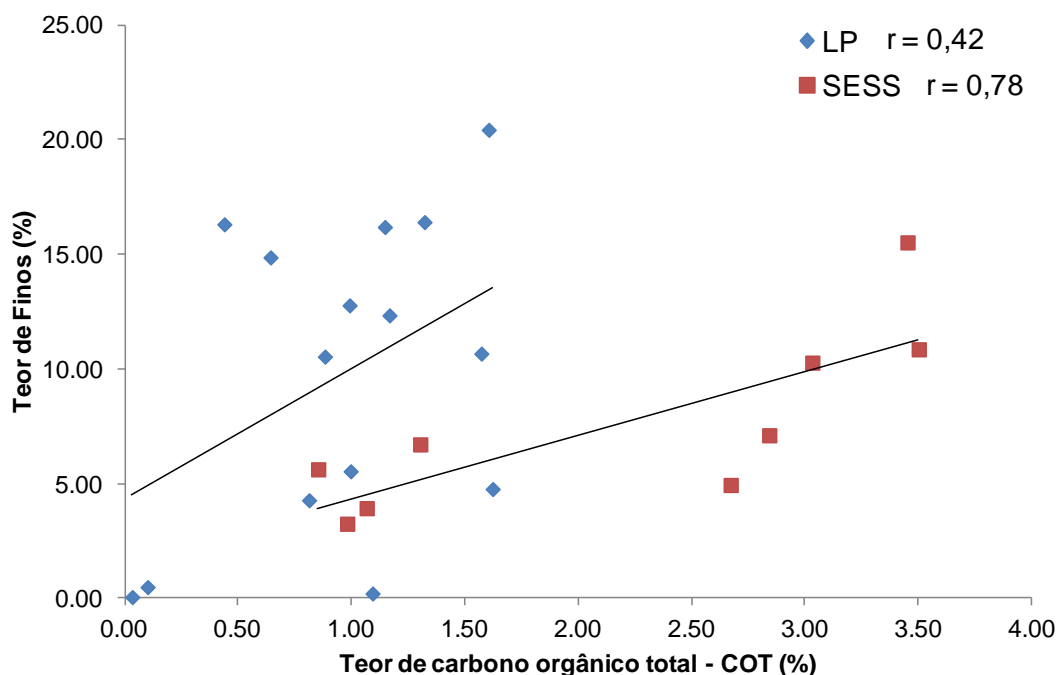
Tabela 11: Percentual de carbono orgânico total % (COT) e de granulometria nos sedimentos do ELP e SESS

Estação	COT (%)	Granulometria			
		Areia Grossa (%)	Areia Média (%)	Areia Fina (%)	Silte/Argila (%)
Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS)					
#S1	0,85	2,75	6,32	83,82	5,65
#S2	1,30	2,95	8,14	81,61	6,74
#S3	3,03	9,11	32,28	46,86	10,31
#S4	2,67	19,92	30,50	43,22	4,97
#S5	2,84	10,57	30,63	48,07	7,14
#S6	3,45	7,82	27,84	46,75	15,56
#S7	3,50	11,21	29,23	47,05	10,89
#S8	1,06	2,20	6,04	86,89	3,96
#S9	0,98	1,72	3,92	90,24	3,28
Estuário da Lagoa dos Patos (ELP)					
#R1	1,16	1,12	12,37	72,47	12,37
#ER2	1,09	78,20	10,77	11,13	0,23
#ER3	0,81	9,91	18,63	66,13	4,30
#ER4	0,10	0,32	7,30	90,60	0,51
#ER5	0,03	0,08	11,29	87,45	0,08
#R6	1,57	4,99	33,65	49,58	10,70
#ER7	1,14	6,04	16,07	61,11	16,23
#ER8	0,99	23,65	13,07	55,55	5,57
#R9	1,62	5,83	40,30	48,00	4,79
#R10	0,64	0,12	4,11	79,87	14,96
#R11	1,32	6,43	33,44	42,49	16,44
#R12	0,99	0,64	14,64	70,72	12,81
#R13	0,88	1,86	23,52	61,92	10,57
#R14	1,60	2,89	19,40	54,28	20,47
#R15	0,44	1,22	9,79	70,86	16,34

Correlações significativas foram observadas entre o teor de finos e COT para as amostras do SESS ($r = 0,78$, $p < 0,05$) e do ELP ($r = 0,42$, $p < 0,005$) (Figura 6). Os teores mais elevados de carbono orgânico nos sedimentos do SESS, bem como a amostragem em regiões muito próximas a estaleiros, com presença de partículas de tinta

anti-incrustantes, pode ter interferido na análise granulométrica de alguns sedimentos do ELP e, conseqüentemente, na relação encontrada entre esses parâmetros.

Figura 6: Relação entre carbono orgânico total (COT - %) e teor de finos (%) dos sedimentos amostrados do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) e Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). A linha de tendência representa a correlação de Pearson (r).



Em geral, quanto maior o percentual de sedimentos finos maior será o teor de carbono orgânico (COT), apresentando uma correlação direta com o teor de matéria orgânica (GRAY, 1981). Apesar de normalmente apresentarem uma boa correlação, uma vez que a fração de finos dos sedimentos apresenta uma maior capacidade de adsorção da fração orgânica, diversos fatores podem influenciar esta relação (HALL; ANDERSON, 2014). A composição mineralógica, que inclui principalmente o teor de óxidos e hidróxido de ferro, alumínio e manganês na fração de finos, e da matéria orgânica, com predomínio de material húmico, por exemplo, são fatores que influenciam diretamente pois podem variar significativamente entre os sedimentos (RADKE et al., 2012; SZAVA-KOVATS, 2008).

Diferentes correlações entre finos e COT têm sido relatadas na literatura. Estudos em sedimentos estuarinos da Califórnia (HALL e ANDERSON, 2014), áreas portuárias da Polônia (RADKE et al., 2012) e costeiras do Chile (MOÇO, 2016), por exemplo, encontraram correlações fracas (0,48, 0,33 e 0,23, respectivamente) entre o

COT e o teor de silte/argila, enquanto uma correlação mais forte ($r = 0,65$) foi encontrada em sedimentos da Baía de Todos os Santos (Brasil) (ARTIFON et al., 2016).

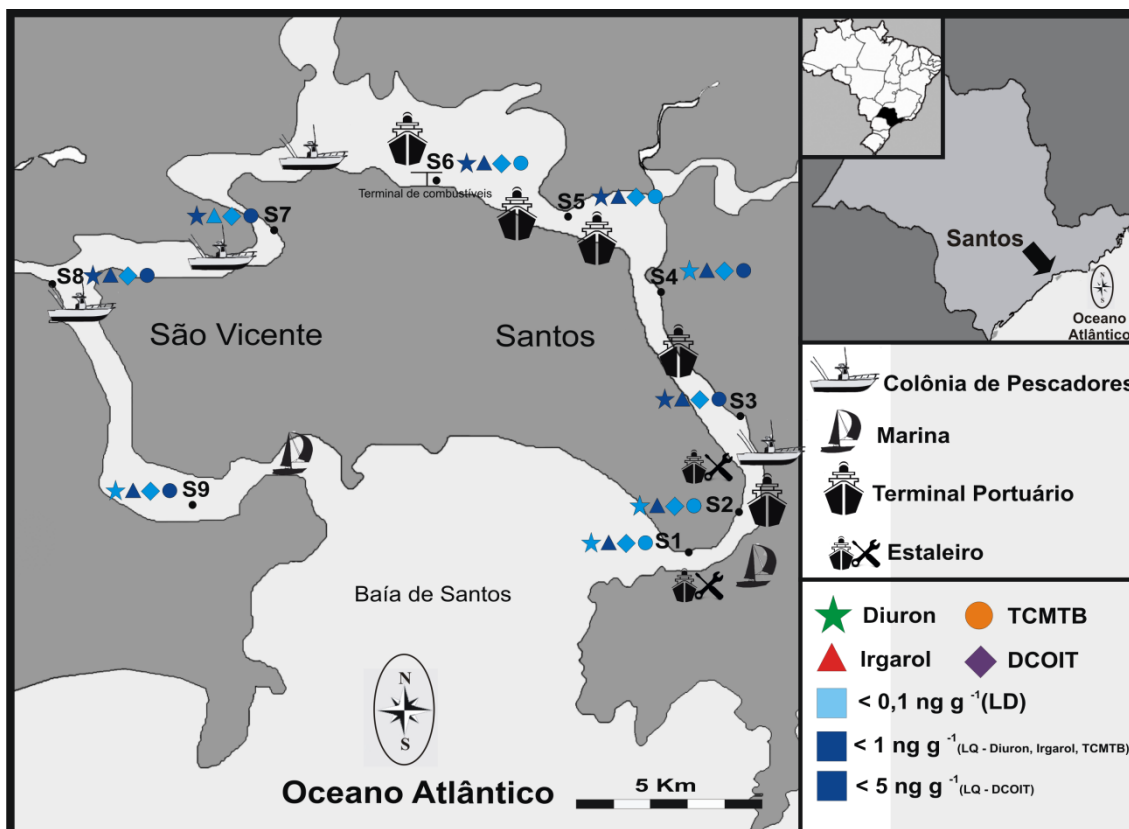
De forma geral, a distribuição do COT e de sedimentos finos permite inferir os possíveis gradientes de contaminação em cada ambiente aquático, pois são parâmetros que influenciam a capacidade de sorção e ciclagem de contaminantes no ambiente (VON OEPEN et al., 1991). Por isso, o conhecimento sobre esses parâmetros deve ser sempre considerado a fim de esclarecer a distribuição de contaminantes e áreas mais susceptíveis à degradação ambiental.

4.2.2 Biocidas anti-incrustantes de terceira geração

4.2.2.1 Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS)

Os biocidas diuron, Irgarol 1051 e DCOIT foram detectados em mais da metade dos sedimentos analisados do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS), porém sempre abaixo do limite de quantificação do método ($\leq 1 \text{ ng g}^{-1}$ – irgarol e diuron; $\leq 5 \text{ ng g}^{-1}$ – DCOIT) (Figura 7).

Figura 7: Níveis dos biocidas anti-incrustantes (diuron ★; Irgarol ▲; TCMTB ◆ e DCOIT ●) em sedimentos do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS). Azul claro indica valores $< \text{LD}$ e azul escuro indica valores $< \text{LQ}$.



Nas estações S3 e S8 foram detectados 3 biocidas simultaneamente (Irgarol, diuron e DCOIT). O terminal 1 do porto de Santos (S3) é um dos principais pontos de movimentação de embarcações comerciais que pode contribuir com resíduos de biocidas anti-incrustantes. Por outro lado, o ponto S8 (localizado no canal de São Vicente) apresenta tráfego de embarcações de pesca e proximidade com algumas marinas.

Irgarol parece estar mais ubiquamente distribuído, uma vez que foi detectado em 8 das 9 amostras de sedimentos analisadas. Essa observação indica um provável uso contínuo desse composto em tintas anti-incrustantes, além de sua maior persistência ambiental. O diuron por sua vez foi detectado em 5 pontos amostrados, localizados principalmente na região mais interna (S5, S6, S7 e S8) do estuário e próximo ao terminal I do porto de Santos (S3). Alguns desses pontos estão localizados nas proximidades de terminais altamente movimentados do porto de Santos (S3, S5 e S6), os quais podem estar contribuindo com aportes de diuron para o ambiente.

Níveis detectáveis do biocida DCOIT ($< 1 \text{ ng g}^{-1}$) também foram encontrados em 5 amostras do estuário, no Canal de São Vicente (CSV) (S7; S8 e S9) e Canal de Santos (CST) (S3 e S4). O tráfego naval do canal de São Vicente é significativamente inferior ao canal de Santos, com apenas algumas embarcações pequenas de pesca local e uma marina com barcos recreativos (S9). No entanto, o CSV é marcado por uma extensa área de manguezal que pode reter os contaminantes. Além disso, a influência das marés sobre o estuário pode contribuir para remobilização desses contaminantes inclusive para áreas distantes das fontes (GIMILIANI et al., 2016).

O biocida TCMTB não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. De fato, esse composto tem sido raramente encontrado em sedimentos de áreas portuárias e marinas. Isso se deve, provavelmente, ao seu baixo uso como biocida em sistemas anti-incrustantes.

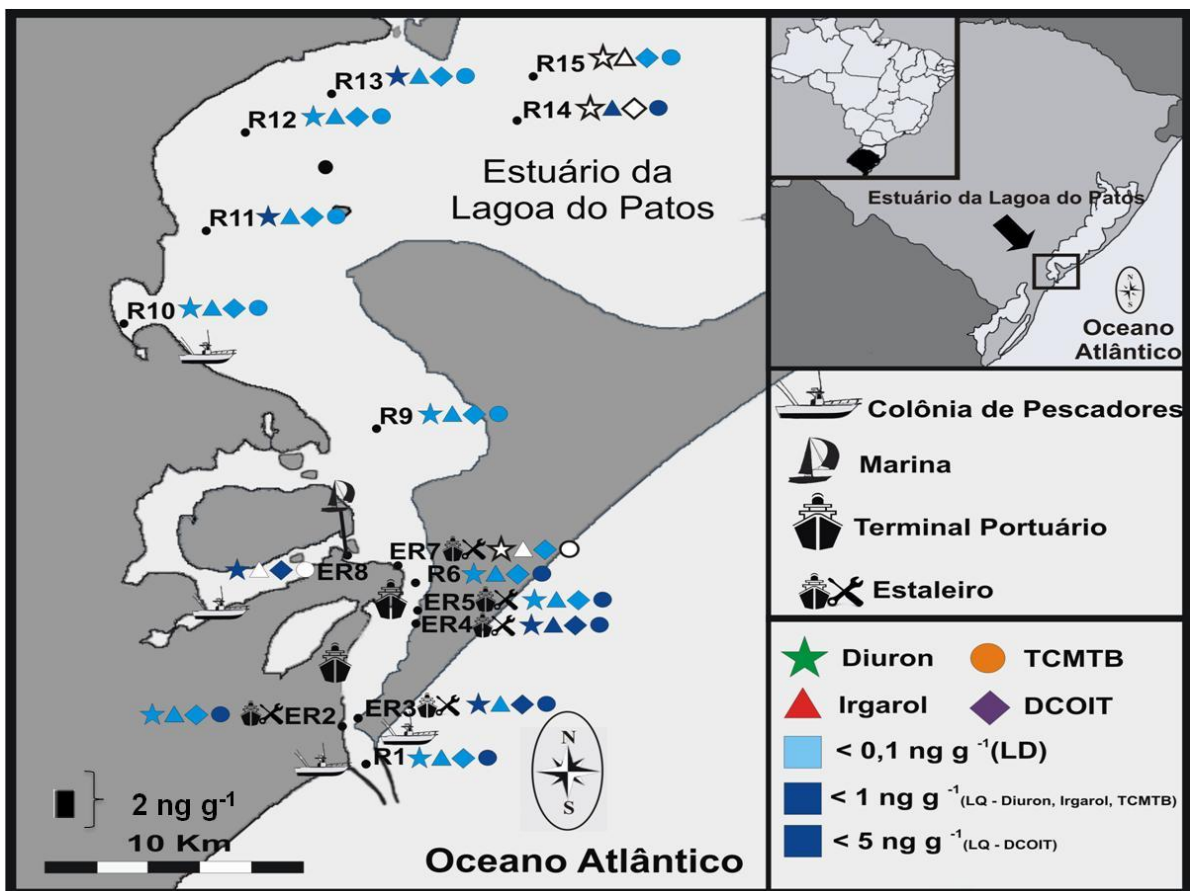
Adicionalmente, a distribuição de sedimentos finos e carbono orgânico do ambiente pode também influenciar a distribuição observada no presente trabalho. Os pontos mais internos do estuário (S6 e S7), situados no CSV, apresentaram maior conteúdo de sedimentos finos (15,5 e 10,9%, respectivamente). Dentre as amostras analisadas, o ponto S6 apresentou o maior teor de carbono orgânico total (COT), o que pode ter contribuído para uma maior sorção desses compostos nos sedimentos desse local. Similarmente, em pontos do canal de Santos onde foram detectados os biocidas

Irgarol 1051, diuron e DCOIT, também foram observadas quantidades relevantes de sedimentos finos e COT.

4.2.2.2 Estuário da Lagoa dos Patos (ELP), Rio Grande do Sul

Os resultados da análise de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos (ELP) estão sumarizados na Figura 8.

Figura 8: Níveis dos biocidas anti-incrustantes (diuron ★ ; Irgarol ▲ ; TCMTB ◆ e DCOIT ●) em sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Azul claro indica valores < LD e azul escuro indica valores < LQ.



As amostras de sedimentos superficiais R1, R6, R9, R10, R11, R12, R13, R14 e R15 foram coletadas ao longo canal de navegação utilizado pelo porto de Rio Grande. Por outro lado, as amostras ER2, ER3, ER4, ER5, ER7 e ER8, foram obtidas nas proximidades de estaleiros da região, os quais podem atuar como fonte direta de contaminação pelos biocidas estudados. Todos os compostos avaliados foram detectados em pelo menos uma amostra de sedimento do estuário da Lagoa dos Patos. O biocida DCOIT foi o composto mais frequente, sendo detectado em nove locais amostrados, dos quais dois estavam acima do limite de quantificação. Por outro lado, o biocida TCMTB foi o biocida menos frequente, tendo sido detectado em apenas cinco amostras, sendo quantificável em apenas uma.

A maior concentração foi encontrada para o DCOIT (213 ng g^{-1}) no Iate Clube de Rio Grande (ER8), junto a uma rampa onde são frequentemente realizadas atividades de manutenção, principalmente, de barcos de lazer. Nesse local todos os compostos foram detectados, mas somente os biocidas DCOIT e Irgarol ($4,9 \text{ ng.g}^{-1}$) apresentaram níveis acima dos limites de quantificação. No estaleiro Santos (ER2), um dos principais da cidade de Rio Grande e localizado próximo ao Super Porto, do DCOIT também foi detectado.

Concentrações relevantes dos biocidas Irgarol ($17,8 \text{ ng g}^{-1}$) e diuron ($7,8 \text{ ng g}^{-1}$) foram observadas nas amostras obtidas no estaleiro Irmãos Fernandes (ER7), o mais antigo da cidade em atividade a cerca de 100 anos. Os níveis dos biocidas Irgarol, diuron e DCOIT (com a 2ª maior concentração dentre as amostras avaliadas) encontrados nesse estaleiro podem indicar que a contaminação possa ter sido decorrente de seu uso em anos anteriores. Apesar da menor atividade de reparação e manutenção desse estaleiro, os compostos com maior persistência ambiental como o Irgarol e diuron puderam ainda ser encontrados neste local.

As concentrações encontradas próximo de outros estaleiros da região (Barra, do Alemão e 4 Irmãos) foram abaixo do limite de detecção para os biocidas estudados. O estaleiro da Barra está localizado em uma área abrigada (elevado tempo de residência), próxima a desembocadura do estuário. Enquanto os estaleiros do Alemão e 4 Irmãos estão situados próximos ao canal de acesso do porto, estando sujeitos a influência de correntes costeiras. Estes três estaleiros realizam manutenção em embarcações de médio a grande porte, porém numa frequência menor do que os estaleiros Santos, Irmãos Fernandes e Iate Clube.

Embora, as maiores concentrações tenham sido encontradas nos pontos próximos aos estaleiros, todos os biocidas foram detectados; Irgarol 1051 ($3,7 \text{ ng g}^{-1}$), Diuron ($1,6 \text{ ng g}^{-1}$), TCMTB ($2,6 \text{ ng g}^{-1}$) e DCOIT ($< \text{LQ}$) foram encontrados nos pontos próximos ao limite norte do ELP (R14 e R15). Em outros pontos do canal hidroviário do ELP, o diuron foi apenas detectado (R11 e R13). O biocida DCOIT também foi encontrado abaixo do limite de quantificação nos pontos do canal de acesso ao porto, próximo à desembocadura do estuário (R1) e no porto novo da cidade de Rio Grande (R6).

A caracterização do sedimento desse ambiente indicou que os maiores teores de finos foram encontrados próximo do ponto referente a Porteiras (R14) e Ponta da Feitoria (R15), no limite norte do estuário, com 20,4% e 16,3% respectivamente. No estaleiro Irmãos Fernandes também foi encontrado um nível significativo de finos (16,2%); maior quantidade dentre os pontos relacionados aos estaleiros. Quanto ao carbono orgânico total (COT), dentre as amostras do canal de navegação, os maiores valores encontrados foram de 1,6% no Cocoruto (R6) e Diamante (R9), localizados no canal de acesso. Entre as amostras coletadas próximo a estaleiros, ER2 (estaleiro Santos) e ER7 (estaleiro Irmãos Fernandes) obtiveram os maiores valores de carbono orgânico com 1,09% e 1,14%, respectivamente.

4.2.3 Discussão Geral

Ambientes estuarinos em geral podem sofrer efeitos antrópicos provenientes da agricultura, desmatamento, dragagens e disposição inadequada de resíduos. No entanto, a distribuição espacial e temporal, transporte e deposição de contaminantes que chegam nesses ambientes estão condicionadas as características climáticas, hidrodinâmicas e geomorfológicas próprias de cada região (PINOCHET et al., 2009; SAKELLARIADOU, 2015).

O presente trabalho representa um primeiro esforço em analisar, simultaneamente, quatro biocidas anti-incrustantes de 3ª geração: Irgarol, diuron, DCOIT e TCMBT em dois ambientes estuarinos na costa brasileira, considerando suas características particulares.

Os resultados obtidos pela análise das amostras de sedimentos do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS) e no estuário da Lagoa dos Patos (ELP) mostraram que a distribuição dos biocidas anti-incrustantes de 3ª geração é influenciada, pelas fontes de contaminação, pelas suas características químicas e pela hidrodinâmica

de cada ambiente. A Tabela 12 apresenta, resumidamente, as principais características dos dois estuários estudados que podem ajudar na compreensão dos dados encontrados:

De forma geral, as principais fontes de contaminação de biocidas de tintas anti-incrustantes para o ambiente são terminais portuários, canais de navegação e estaleiros e marinas, que abrigam diversas embarcações que utilizam esses compostos para evitar a incrustação de organismos. No SESS, dentro do canal de Santos (CST), é encontrado o principal porto do Brasil e um dos principais da América Latina que poderia contribuir significativamente para a introdução desses compostos no ambiente (Figura 9). No entanto, a maior frequência de presença dos biocidas anti-incrustantes foi vista no canal de São Vicente (CSV), apesar de não haver nenhuma atividade intensa de navegação ou quantidades significativas de embarcações de pesca.

Tabela 12: Principais características oceanográficas médias do Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (SESS) e do Estuário da Lagoa dos Patos (ELP) estudados nesse trabalho

Característica Média	SESS (SP)	ELP (RS)	Referência (SESS; ELP)
Vento ($m s^{-1}$) (direção)	1,5 (leste)	5,1 (nordeste)	Harari et al. (2008); Tomazelli et al. (1993)
Descarga fluvial ($m^3 s^{-1}$)	127	2400	Moser et al. (2005); Moller et al. (2001)
Amplitude da Maré (m)	1,5	0,47	Occhipinti (1973); Moller et al. (2001)
Tempo de residência (dias)	4,2	45	Roversi, 2012; Lisboa (in press)
Material em suspensão ($mg L^{-1}$)	150	100	Torres et al. (2009); Seiler et al. (2015)
Profundidade média (m)	12	5	Roversi (2012); Moller et al. (2001)
Velocidade da corrente nos canais ($cm s^{-1}$)	30	70	Harari et al. (2008); Silva et al. (2015)
Salinidade	15 - 31	0 - 34	Torres et al. (2009); Calliari et al. (2009)

Ambos canais do SESS estão sob um fluxo hidrodinâmico constante e significativo causado pela maré (MOSER et al., 2005). São considerados moderadamente estratificados, onde a propagação da maré enchente (maior componente da circulação) tem uma velocidade média de $30 cm s^{-1}$ e que pode ter influência da cunha salina até 20 km para dentro dos canais (HARARI et al., 2008). O escoamento que ocorre nos canais é mais intenso no CST, que também é considerado um ambiente sob erosão pela interação das águas salinas e dos rios. Simulações já mostraram que o fluxo do CST pode chegar a $10^2 - 10^3 m^3 s^{-1}$ e ocasionar a exportação do material dissolvido e particulado para fora dos canais (MOOSER et al., 2005). Desse modo, apesar da região portuária ser localizado no Canal de Santos (CST), a hidrodinâmica do local pode ser

um fator que influencie na dispersão dos biocidas anti-incrustantes, sendo passíveis de depositar fora do canal. Já foi mostrado que esse escoamento dos canais estuarinos pode também permitir um aporte significativo da carga orgânica para a baía de Santos causando inclusive uma eutrofização local (SIQUEIRA et al., 2006).

Figura 9: Pontos amostrados no Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) no canal de Santos próximo ao Porto. (a) Termina 1 (S3); (b) Terminal 2 (S4)

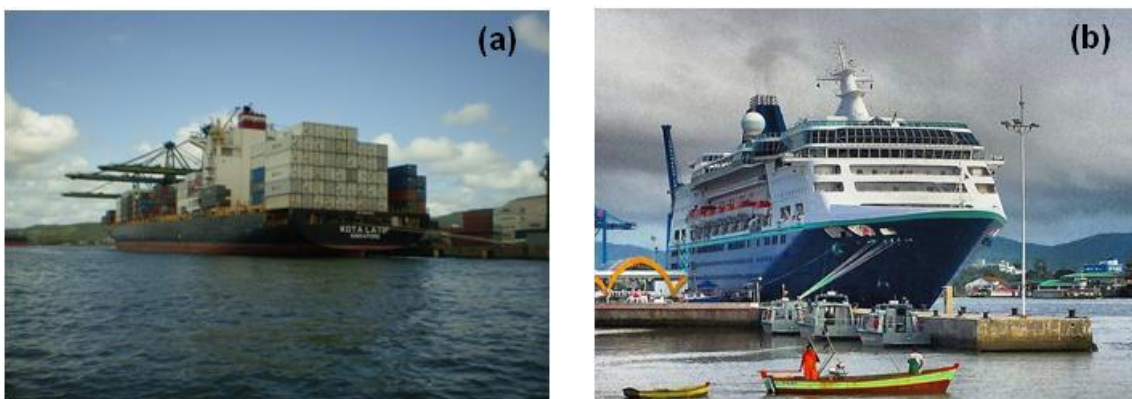


Foto: Google Imagens

No Canal de São Vicente (CSV) não há presença expressiva de portos ou embarcações comerciais, porém pequenas embarcações de pesca e de lazer e uma marina para barcos recreativos estão presentes na região da desembocadura do canal (Figura 10). Ainda assim, os biocidas Irgarol, diuron e DCOIT foram detectados nas amostras desse local. Além da intrusão salina que também ocorre nesse canal, toda essa região é marcada pela presença de manguezais em toda sua extensão, com sedimentos essencialmente redutores, o que pode tornar essas áreas propícias para acúmulo de compostos orgânico (SIQUEIRA et al., 2006). Além disso, nessa zona ocorre a deposição do material em suspensão por meio da floculação e consequente deposição no sedimento (FUKUMOTO et al., 2006). Este processo favorece a deposição de compostos orgânicos, como os biocidas em estudo. Gimiliani et al. (2016), em um estudo de distribuição espacial de vários desreguladores endócrinos, também observaram as maiores concentrações desses compostos nessa mesma região do estuário.

Figura 10: Pontos amostrados no Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS). (a) Marina próxima à desembocadura do canal de São Vicente (S9); (b) ponto mais interno do sistema estuarino (S6)

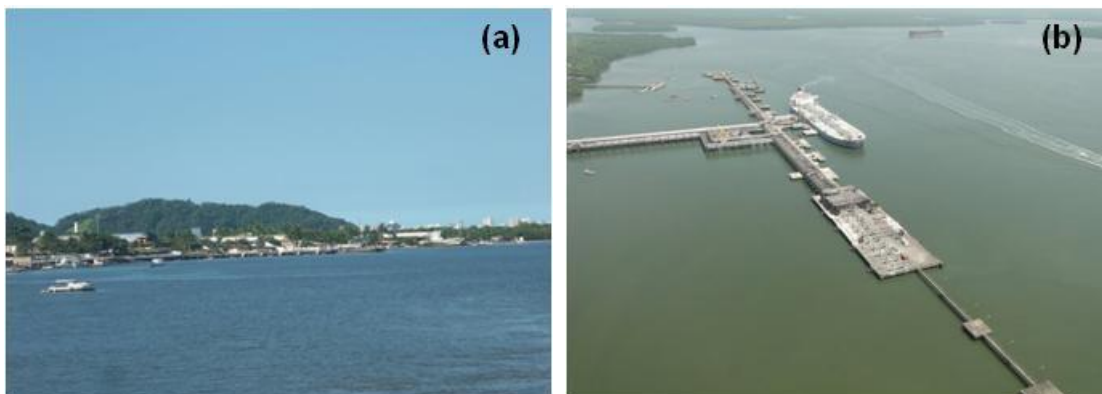


Foto: Google Imagens

Alguns estudos da presença de contaminantes no SESS mostraram um comportamento semelhante ao observado para os biocidas no presente trabalho. Santos et al. 2011, por exemplo, observaram concentrações reduzidas de butilestânicos em sedimentos superficiais no CST, relacionando com possíveis fluxos difusores (remobilização, dessorção) do sedimento para a coluna d'água. Outros compostos, como HPAs e PCBs, também foram estudados nesses ambientes, apresentando um gradiente de concentração com maiores concentrações na região mais superior do estuário (mais interna) e reduzindo em direção à desembocadura dos canais (TORRES et al., 2009). Nesse último caso, a proximidade com o complexo industrial de Cubatão e altos teores de carbono orgânico e de finos favoreceram a permanência desses grupos de compostos na região mais interna do sistema estuarino (LAMPARELLI et al., 2001).

Esses estudos de Torres et al. (2009) e Lamparelli et al. (2001) também destacaram o papel da remobilização no gradiente de contaminantes orgânicos encontrados em sedimentos superficiais no SESS. Esse processo permite a redistribuição dos contaminantes para a coluna d'água, que pode acontecer por ações naturais como bioturbação, correntes de maré, tempestades, ou também através de dragagens de sedimentos nos canais de acesso a terminais portuários (TORRES et al., 2009). Embora a coleta dos sedimentos tenha sido realizada em áreas distantes do canal sob dragagem periódica, é possível que o sedimento tenha sido remobilizado e permitido a redistribuição dos biocidas para a coluna d'água, sendo então passíveis de transporte ou de degradação e dificultando a detecção deles nos sedimentos marinhos.

O estuário da Lagoa dos Patos (ELP) foi amostrado com pontos de coletas ao longo do canal de navegação até o limite norte do estuário e próximos a locais de manutenção de embarcação, como estaleiros. Esta estratégia amostral, juntamente com os resultados obtidos, permitiram observar a importância dos estaleiros como fonte potencial de biocidas anti-incrustantes. Assim como feito por outros autores que indicaram a importância dos estaleiros como contribuintes da contaminação de TBT (CASTRO; FILLMANN et al., 2012; KOTRIKLA, 2009).

Os quatro biocidas estudados, Irgarol, diuron, DCOIT e TCMTB, foram detectados em amostras de sedimentos coletadas próximo aos estaleiros e alguns deles foram quantificados em concentrações ambientalmente significativas. A coleta de sedimentos no estaleiro Irmãos Fernandes (ER7) e o Iate Clube (ER8) foram realizados a 2 metros da rampa de onde são colocadas as embarcações para manutenção (Figura 11). As altas concentrações de biocidas encontradas nestes dois locais podem estar relacionadas com a intensa atividade de manutenção de embarcações e com a localização desses estaleiros em zonas mais abrigadas, onde a influência de correntes é mínima, proporcionando uma baixa capacidade de renovação da água (SILVA et al., 2015).

Figura 11: (a) Embarcação em reparo no Iate Clube de Rio Grande e (b) partículas de tintas anti-incrustantes na área; (c) Local de manutenção das embarcações no estaleiro Irmãos Fernandes.

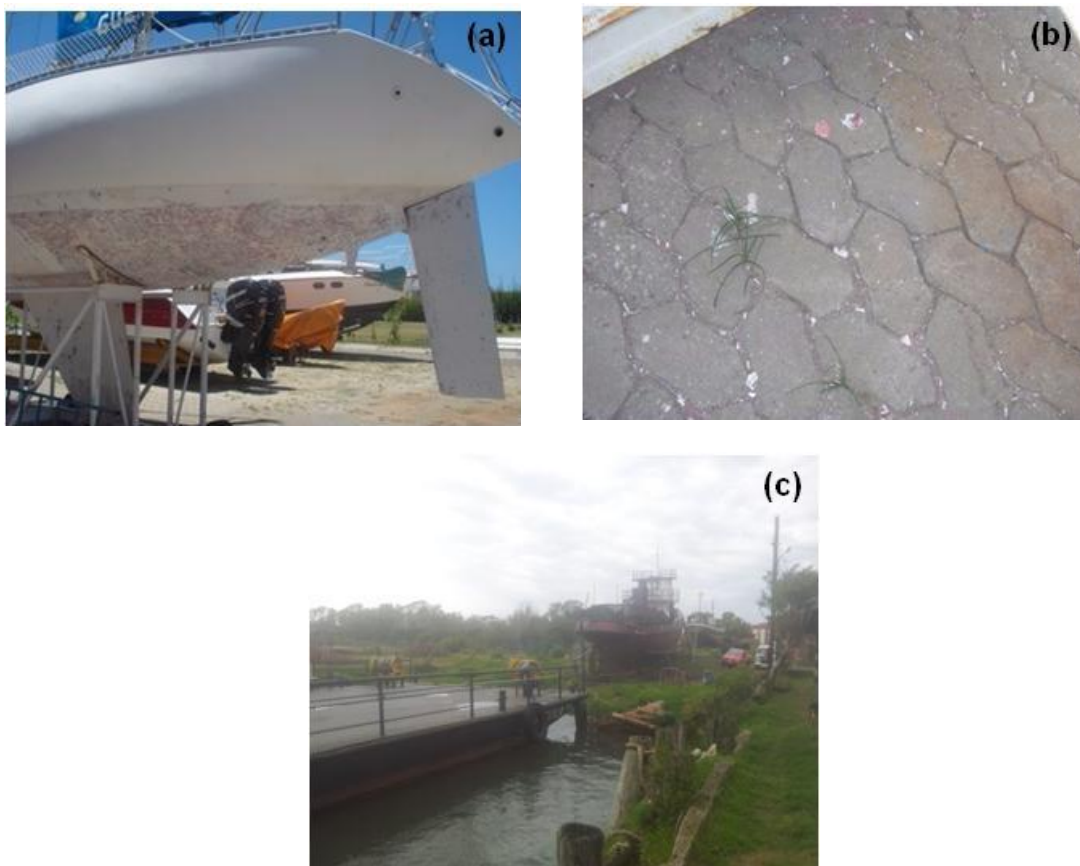


Foto: Sanye Guimarães, 2014

Adicionalmente, no caso dos estaleiros, é importante ressaltar também a presença de partículas de tintas anti-incrustantes decorrentes da atividade de manutenção das embarcações (PARKS et al., 2010) (Figura 11b). Durante a remoção de pinturas antigas das embarcações, realizada nesses locais, as partículas originadas pela raspagem ou lixamento dos cascos ainda podem conter quantidades relevantes de biocidas anti-incrustantes. Dessa forma, essas partículas podem atuar como fonte secundária (liberação contínua) de contaminação para sistemas aquáticos (PARKS et al., 2010; TURNER, 2010). Estudos realizados em paralelo ao presente trabalho, e que avaliam a ocorrência, distribuição e toxicidade dessas partículas, têm indicado várias áreas da Lagoa dos Patos como fontes potenciais dessas partículas (comunicação Pessoal)¹. Além disso, esse estudo tem encontrando em amostras de sedimentos, quantidades de partículas capazes de causar efeitos tóxicos na biota (SILVA, 2015). As maiores concentrações de partícula foram encontradas exatamente no estaleiro Irmãos Fernandes e no Iate clube, uma vez

Informação obtida por Sanye S. Guimarães, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal de Rio Grande. 2016

que são locais de intensa atividade de manutenção e com baixa hidrodinâmica, que não favorecem a dispersão das partículas e, conseqüentemente, da contaminação.

Sendo assim, é necessário considerar que os níveis de biocidas reportados no presente estudo para esses locais provavelmente incluem também os biocidas ainda presentes nas partículas de tintas anti-incrustantes presentes na matriz analisada. Nesse sentido, é sabido que as partículas de tinta podem atuar na proteção desses biocidas, reduzindo a sua susceptibilidade à degradação (THOMAS et al., 2003). Portanto, a presença de partículas representam uma fonte secundária de biocidas ao ambiente (TURNER et al., 2010; HASAN et al., 2014). De forma similar, nos pontos do estaleiro da Barra (ER3), do Alemão (ER4) e no Quatro Irmãos (ER5) onde uma menor concentração de partículas foi encontrada por Guimaraes et al. (2015), os níveis de biocidas associado aos sedimentos também se mostraram menores. Nesses locais, a coleta de sedimentos também foi realizada a poucos metros (entre 5 e 8 metros) da rampa de docagem das embarcações (Figura 12) e foi encontrado baixos níveis de contaminação, sendo o DCOIT o único biocida detectado nesses três pontos. Além disso, as atividades de manutenção nesses estaleiros são menos frequentes e os mesmos estão diretamente conectados ao canal do estuário estando, portanto, mais susceptíveis a ação das correntes, as quais favorecem uma maior dispersão dos contaminantes.

Figura 12: Estaleiro dos 4 Irmãos (a) e do Alemão (b)

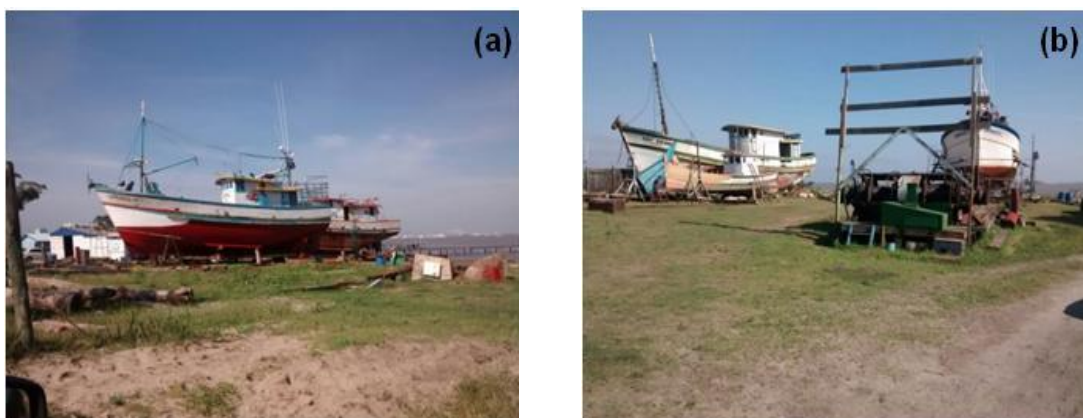


Foto: Sanye Guimarães, 2014

Por outro lado, quantidades significativas de partículas anti-incrustantes foram encontradas no estaleiro Santos (ER2) (Guimarães et al., 2015). Ainda assim, aliado ainda ao fato de estar localizado próximo ao Super Porto de Rio Grande (mais próximo a grandes embarcações), o sedimento coletado junto a este estaleiro não apresentou altos

ainda ao fato de estar localizado próximo ao Super Porto de Rio Grande (mais próximo a grandes embarcações), o sedimento coletado junto a este estaleiro não apresentou altos níveis de contaminação, como foi visto no Iate Clube e no estaleiro Irmão Fernandes. Isso se deve, provavelmente, ao fato desse estaleiro estar situado mais próximo à desembocadura do estuário, onde se encontram as maiores velocidades de corrente (90 cm s^{-1}) e os menores tempos de residência (aproximadamente 30 dias) (SILVA et al., 2015; LISBOA et al., in press), onde os processos de diluição seriam mais efetivos.

Figura 13: Estaleiro Santos no estuário da Lagoa dos Patos. (a) Local de reparo das embarcações; (b) partículas de tintas anti-incrustantes presente no local



Foto: Sanye Guimarães, 2014

Ao contrário dos pontos localizados próximos aos estaleiros, as amostragem realizadas ao longo do canal mostraram menores concentrações dos biocidas analisados. Essas amostras foram coletadas em locais com menor influência direta das fontes de contaminação e com maior influência hidrodinâmica do estuário, que é dominada pela vazante com intensa descarga fluvial (MOLLER et al., 2001). Nos pontos localizados no estuário inferior, Molhes (R1) e Cocoruto (R6), apenas o biocida DCOIT foi quantificável, enquanto os outros biocidas não foram detectados. Essa contaminação pode ser oriunda dos estaleiros próximos, onde o biocida DCOIT também foi quantificado (ER2 e ER7). Além disso, a presença de pequenas embarcações da pesca local pode ter contribuído para os níveis encontrados. Por outro lado, ainda que esses pontos também estejam localizados no canal de acesso ao porto, e sob a ação direta da descarga fluvial, são pontos com consideráveis níveis de carbono orgânico total (COT) e elevados teores de finos, os quais favorecem a permanência dos contaminantes orgânicos.

Em direção a região superior do estuário, nos pontos da Bacia de Pelotas e Nascimento (R11 e R13, respectivamente) apenas o biocida diuron foi detectado. A ocorrência desse composto nessa região pode ser proveniente da sua utilização em alguns cultivos (GIACOMAZZI; COCHET, 2004), gerando aportes que atingem o estuário através do canal de São Gonçalo (mais próximo do ponto R13). Nos pontos Porteira (R14) e Ponta da Feitoria (R15), limite norte do estuário, Irgarol, diuron, DCOIT e TCMTB foram encontrados em concentrações > LQ. Além dos maiores teores de sedimentos finos e quantidades significativas de COT, nesses pontos também ocorrem bancos de sedimentos, devido a formação de zonas abrigadas, que podem propiciar a deposição de compostos orgânicos (CALLIARI et al., 2009).

Alguns trabalhos já foram realizados no estuário da Lagoa dos Patos (ELP) avaliando os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em diferentes matrizes ambientais. Dominguez et al. (2014) detectou os biocidas diuron e Irgarol em 8 e 9 amostras de água coletadas em 2009 ao longo do ELP, respectivamente. O diuron foi detectado em concentrações de até 20 ng L⁻¹ (Saco da Mangueira) e o Irgarol de até 6,2 ng L⁻¹ (Praia do Cassino). Este estudo também detectou diuron em sedimentos de 10 regiões do estuário em níveis de até 1,6 ng g⁻¹ (próximo a região do Super Porto). A ocorrência de Irgarol foi detectável em 18 das 21 amostras, porém foi quantificável em apenas três amostras do canal do estuário e no saco da Mangueira em níveis de 0,2 ng g⁻¹. Pestana (2013) reavaliou os mesmos pontos do trabalho de Dominguez (2010), aplicando metodologia semelhante para determinação do diuron e Irgarol 1051 em sedimentos coletados em 2012. Entretanto, esse estudo não detectou esse composto em nenhum dos pontos amostrados. Assim, no presente estudo a partir de coletas realizadas em 2014 foi possível observar ainda a presença de Irgarol e diuron em concentrações de 3,7 a 17,7 ng g⁻¹, contrariando os resultados de Pestana (2013) que mostrou uma redução dos níveis de concentração desses compostos em sedimentos entre 2009 e 2012. Além disso, este trabalho diferencia de Dominguez (2010) e Pestana (2013) uma vez que os sedimentos foram coletados no ambiente (dentro do estuário) e utilizaram outras técnicas de extração.

As influências das características hidrodinâmicas e sedimentológicas e as propriedades físico-químicas dos biocidas avaliados devem também ser consideradas na interpretação dos resultados encontrados. O Irgarol é um composto que tende a adsorver ao material particulado, apresentando o maior tempo de meia vida dentre os biocidas analisados. Esse composto foi amplamente utilizado em sistemas anti-incrustantes,

tendo sido o biocida mais amplamente detectado tanto no Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (SESS) como no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). De forma semelhante, o diuron, também já foi amplamente utilizado em tintas anti-incrustantes e com elevado tempo de meia de vida, também foi detectado na maioria das amostras analisadas, apesar de mostrar um particionamento preferencial para a fase aquosa. O particionamento preferencial na água (inferido pela maior solubilidade e menor *K_{oc}*) e possivelmente a menor utilização do TCTMB em tintas anti-incrustante, também podem ter contribuído para a menor detecção desse composto nos sedimentos estuarinos.

O biocida DCOIT, por sua vez, foi o composto mais frequentemente encontrado nos dois ambientes analisados, possivelmente pela maior afinidade com sedimento. Essa molécula pode estabelecer ligações estáveis, semelhante a ligações covalentes com essa matriz e, por apresentar solubilidade em água de moderada a baixa, tende a particionar preferencialmente no material particulado (JACOBSON; WILLINGHAM, 2000). No entanto, entre os compostos estudados, o DCOIT apresenta o menor tempo de meia vida tanto em água como em sedimentos. Essa observação permite sugerir que os níveis detectados no presente estudo são possivelmente derivados de aportes recentes ou pela presença de partículas anti-incrustantes. Assim, os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração, especialmente quando comparados ao tributilestanho (TBT), possuem uma menor persistência ambiental e podem estar susceptíveis a um rápido decaimento, especialmente no SESS. Essa rápida degradação já foi apontada na literatura como um dos principais fatores que dificulta a sua determinação em ambientes naturais (THOMAS; NEWAY, 2009).

O comércio e a utilização de tintas anti-incrustantes contendo diferentes níveis e ocorrências desses biocidas na sua composição também podem ter influenciado na sua presença/detecção nos ambientes estudados. Alguns trabalhos têm apontado que as baixas concentrações de biocidas como diuron e Irgarol 1051 em alguns ambientes podem estar relacionadas ao seu menor uso devido ao banimento em algumas regiões como Reino Unido, Suécia e Austrália (READMAN; PRICE, 2012). O biocida DCOIT, por sua vez, é encontrado principalmente nas tintas de uso atual utilizadas em barcos recreativos, que possivelmente são usadas mais frequentemente apenas em marinas (HARINO et al., 2005). Essa observação corrobora com o fato de terem sido encontradas altas concentrações de DCOIT nos sedimentos do ELP em pontos com alta atividade de barcos recreativos. Nesse estuário também foi observado o uso da tinta Micron® (que utiliza DCOIT como princípio ativo) em diversos estaleiros da cidade de

Rio Grande para uso especialmente em barcos de lazer e lanchas (GUIMARÃES et al., 2015; Costa et al., 2016).

As concentrações mais elevadas encontradas por alguns trabalhos estão frequentemente associadas a ambientes como baías fechadas que refletem baixo hidrodinamismo, pontos de atracagem de embarcações, áreas de pescaria ou de alguma atividade naval (estaleiros, marinas, indústrias de produtos navais) (HARINO et al., 2005, 2006; EGUCHI et al., 2010). A Tabela 14 apresenta alguns dos estudos que detectaram os biocidas diuron, Irgarol 1051, DCOIT e TCMTB em distintas regiões utilizando métodos que possibilitaram a sua análise simultaneamente.

Tabela 13: Concentrações (ng g⁻¹) de biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos estuarinos e marinhos

Localidade (Referência)	Ambiente	Diuron	Irgarol	DCOIT	TCMTB
Catalonia, Espanha (Martinez; Barceló, 2001)	Marina	<LD – 137	<LD - 88	<LD - 4	n.a
Southampton Water, Reino Unido (Thomas et al., 2002)	Marinas (com porto e estaleiros)	0,4 -6,2	0,4 – 3,5	<LD	<LD
Porto de Osaka, Japão (Harino et al., 2005)	Marina (com iate e porto)	1,1 – 1350	0,07 - 8,2	0,27 - 2,4	n.a
Costa Mediterrânea Francesa (Cassi et al., 2008)	Marina (com porto)	n.a	<LD - 689	<LD	n.a
Baía de Maizuru, Japão (Eguchi et al., 2010)	Baía	<LD – 12	<LD - 9,8	<LD	n.a
Gran Canaria, Espanha (Sanchez-Rodriguez et al., 2011)	Marina (com porto)	<LD - 5,3	<LD - 26,4	n.a	<LD
Indonesia (Harino et al., 2012)	Baía de Ilhas	<LD – 740	0,4 - 63	<LD - 150	n.a
California, EUA (Sapozhnikova et al., 2013)	Marinas	<LD - 4,2	<LD - 89	n.a	n.a
Coreia do Sul (Kim et al., 2015)	Baías (com portos)	<LD – 57	<LD - 11,5	<LD - 5,5	n.a
Coreia (Lee et al., 2015)	Baías	6,9 – 46	<LD - 73	<LD - 269	n.a
Sistema Estuarino de São Vicente e Santos (Presente estudo)	Canais estuarinos (com porto)	<LD-<LQ	<LD-<LQ	<LD -<LQ	<LD
Estuário da Lagoa dos Patos, Brasil (Presente estudo)	Estuário (com porto e estaleiros)	<LD – 7,8	<LD – 7,8	<LD – 214	<LD-2,6

n.a - não analisado; <LD – abaixo do limite de detecção; <LQ – abaixo do limite de quantificação

As concentrações do diuron reportadas pelos estudos realizados por Harino et al. (2005; 2012) foram encontradas em sedimentos de ambientes com predomínio de barcos de pesca (pequeno e médio porte). Harino et al. (2005) analisaram amostras de um monitoramento no porto de Osaka realizado em 2003 e observaram as maiores concentrações durante o verão, quando ocorre temporada de iatismo, aumento da atividade de navegação e reaplicação da tinta anti-incrustante. No trabalho realizado nas baías da Indonésia, a partir de amostras coletadas em 2003, Harino et al. (2012) mostraram que as maiores concentrações do biocida diuron estavam associadas às áreas com a presença de grandes navios da Malásia e Singapura, os quais ficavam atracados na região.

No estudo de Cassi et al. (2008) foi encontrado apenas Irgarol 1051 dentre os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração. Esse biocida, no entanto, apresentou altas concentrações (689 ng g^{-1}) em uma região da costa mediterrânea francesa relacionada ao maior tráfego de grandes navios de suporte (*ship chandler*) e, possível, presença de partícula de tintas proveniente da limpeza dos cascos de navios. Com relação ao TCMTB, apenas dois trabalhos avaliaram a ocorrência desse composto em amostras de sedimentos, sendo que nenhum deles obteve resultados acima do limite de detecção (THOMAS et al., 2002; SANCHÉZ-RODRIGUEZ et al., 2011).

Altas concentrações de DCOIT em locais sob fonte direta de contaminação proveniente da reparação e ancoragem de barcos de lazer foram observadas na região do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil (presente estudo) e nas baías da Indonésia (HARINO et al., 2012). Esse composto também foi encontrado em maiores concentrações em áreas sob influência da urbanização e industrialização na costa da Coreia, onde existem grandes portos e estaleiros para manutenção de embarcações (LEE et al., 2015).

Concentrações menos significativas em sedimentos também podem ser um reflexo do menor tempo de residência dos ambientes estudados, o que pode não ter permitido que o contaminante chegue aos sedimentos, ainda que esse seja um compartimento de destino final desses contaminantes. Assim, ainda que não tenha sido quantificado em algumas amostras, especialmente no SESS, os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração se mostraram presentes nos ambientes estudados.

Desse modo, considerando que o material em suspensão pode ser uma importante matriz para verificar aportes mais recentes, e que os biocidas anti-incrustantes podem estar particionados principalmente na fase particulada, essa pode ser

uma importante matriz para avaliar a sua entrada recente. A baixa concentração em sedimentos e a remobilização que pode acontecer no ELP e no SESS por processos naturais como maré, correntes ou por eventuais dragagens podem indicar que biocidas possam está aderidos nessa matriz em vez dos sedimentos estuarinos.

Alguns trabalhos já destacaram o uso do material em suspensão, além do sedimento de fundo, como forma de monitorar a contaminação em ambientes aquáticos. Dafforn et al. (2012) observaram a correlação entre as concentrações de cobre, ferro, manganês e zinco encontradas nos dois compartimentos em área portuárias da Austrália. Enquanto Santos et al. (2010) também inferiu que a menor frequência de compostos butilestânicos no canal de São Vicente (SP) pode ter sido influenciado pelo material em suspensão, uma vez que não houve correlação entre os resultados e a matéria orgânica, granulometria ou oscilação da maré. Nesse caso, os autores consideram que a hidrodinâmica do canal pode ter permitido a sorção e desorção entre o material em suspensão e o sedimento.

Os estudos dos níveis, possíveis fontes, transporte e ciclagem dos biocidas nos ambientes aquáticos costeiros são importantes devido ao risco ecológico decorrente da sua exposição à biota local. Wezel; Vlaardingen et al. (2004) determinaram o limite de risco ambiental (ERL, “environmental risk limit”) para Irgarol 1051, diclofluanida, ziram, clorotalonil e TCMTB, tendo observado que concentrações na faixa de ng g^{-1} apresentam um potencial risco para o ecossistema para Irgarol 1051 ($1,4 \text{ ng g}^{-1}$) e clorotalonil ($50,6 \text{ ng g}^{-1}$). A falta de informações disponíveis impossibilitou a obtenção do ERL para os outros compostos. Embora, os dados gerados no presente trabalho não sejam suficientes para garantir que ocorram efeitos ecotoxicológicos em áreas estuarinas da costa brasileira, é possível inferir que as concentrações encontradas no ELP representam um risco em potencial para os organismos do ambiente.

Dados ecotoxicológicos de ensaios realizados com os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração em sedimentos ainda são muito escassos na literatura. Dos trabalhos disponíveis em testes individuais com esses compostos, o DCOIT se mostrou como o de maior toxicidade para organismos. ONDUKA et al. (2013) encontraram um CENO - 14 dias (concentração de efeito não observado) de $9,7 \text{ ng g}^{-1}$ e CL50 - 14 dias de 110 ng g^{-1} para DCOIT em ensaios de toxicidade realizados com poliquetas. PERINA et al. (2011) encontraram altas concentrações de CL₅₀ - 10 dias para diuron e Irgarol ($2886 \mu\text{g g}^{-1}$ e $174 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) em ensaios de toxicidade realizados com *Lytechinus variegatus* (ouriço do mar). No entanto, em um experimento com

microcosmo Gallucci et al. (2015) observaram uma redução na densidade de organismos de meiofauna e nematódos a partir de concentrações tão baixas quanto 2,8 ng g⁻¹ de diuron e 8,5 ng g⁻¹ de Irgarol em sedimento.

Além disso, a preocupação com a toxicidade dos biocidas no ambiente deve ser ampliada para água intersticial e coluna d'água, uma vez que a dissolução destes compostos pode aumentar a biodisponibilidade para organismos (FENT, 2004). Perina (2009) também destaca que uma possível redistribuição (possivelmente pela bioturbação) de contaminantes como trifenilestanho (TPT) e Irgarol para água acarretam numa maior toxicidade para o anfípoda *Tiburonella viscana* em comparação a ensaios em sedimentos. Tolhurst et al. (2007) destacaram que organismos podem sofrer efeito tóxico a partir da exposição ao sedimento em suspensão, como foi mostrado em um teste de laboratório que verificou a inibição do crescimento da alga *Ulva intestinalis* exposta por 21 dias a um sedimento fortificado com 400 ng g⁻¹ de Irgarol, porém mantido em suspensão por todo o ensaio.

Ainda sim, os ensaios de toxicidade em água para os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração indicam uma maior sensibilidade para organismos como bactérias, microcrustáceos e microalgas (KOBAYASHI; OKAMURA, 2002). Um dos principais trabalhos nessa linha é o de Fernandez-Alba et al. (2002) que avaliaram a toxicidade aguda para três organismos em testes individuais e de mistura dos biocidas anti-incrustantes. Para *Selenastrum capricornotum* (microalga), por exemplo, foi encontrada a seguinte ordem decrescente de toxicidade: TBT > clorotalonil > Irgarol 1051 > diuron > diclofluanida > TCMTB. No entanto, dependendo do organismo utilizado nos testes, essa ordem de toxicidade por variar, sendo que em alguns casos o DCOIT ou clorotalonil (compostos clorados) podem causar efeitos tóxicos tão significativos quanto o TBT (FERNANDEZ; PINHEIRO, 2007; BELLAS, 2006). Com isso, é válido destacar que a toxicidade na coluna d'água pode ter uma maior relevância ambiental, pois além dos compostos estarem possivelmente mais biodisponíveis nesse compartimento, a contaminação recebida no ambiente pode não chegar na sua totalidade aos sedimentos devido a processos de degradação ou perdas durante a transferência entre esses dois compartimentos.

Quando inseridos no meio ambiente, esses biocidas também podem causar preocupação devido a toxicidade por mistura desses compostos. Esses compostos químicos raramente são encontrados isolados no ambiente, pois além de estarem

presentes nas tintas anti-incrustantes de diferentes marcas e formulações, podem ser liberados em conjunto, uma vez que a formulação de algumas tintas pode conter até quatro biocidas orgânicos (OMAE, 2003). Fernandez-Alba (2002) também observou efeitos sinérgicos quando organismos são expostos simultaneamente a misturas de biocidas. Nesses casos, a toxicidade pode ser incrementada de 10 a 50 vezes. Assim, embora a maioria dos níveis dos biocidas analisados no presente estudo tenham estado abaixo do LQ nas amostras avaliadas (1 ng g⁻¹ para Irgarol, diuron e TCMTB e 5 ng g⁻¹ para DCOIT) do SESS e do ELP, não se pode descartar a possibilidade da ocorrência de efeitos tóxicos para a biota, pois a ação combinada entre os biocidas ou com outros compostos presentes no ambiente pode representar um risco, mesmo em concentrações baixas.

Esse fato também permite ponderar que a análise das amostras ambientais foi realizada utilizando um elevado limite de quantificação considerando que a toxicidade dos biocidas anti-incrustantes estudados no presente trabalho, principalmente quando combinados, podem estar em concentrações ainda menores. Assim, é importante otimizar metodologias que permitam obter limites de detecção e quantificação menores, possibilitando assim um melhor entendimento do impacto ambiental gerado por esses biocidas.

Além disso, vale salientar que a contaminação por biocidas anti-incrustantes de 3ª geração (alternativas para o uso do TBT) não está limitada aos compostos analisados nesse trabalho e que estudos sobre as suas ocorrências e impactos ambientais ainda são escassos. Compostos organometálicos como óxido cuproso, zinco piritiona, ziram e zineb aparecem comumente nas formulações de tintas anti-incrustantes, sendo muitas vezes o principal biocida ativo (comunicação pessoal)². No entanto, problemas analíticos na sua determinação e quantificação dificultam os estudos com esses compostos (Castro et al., 2011). Da mesma forma, os níveis ambientais para outros compostos orgânicos como diclofluanida, presente nas composições de tintas utilizadas no Reino Unido e de clorotalonil usadas em algumas formulações de tintas no Japão (comunicação pessoal)², ainda não são conhecidos pois a rápida degradabilidade e reatividade desses compostos dificultam sua detecção no ambiente.

5. CONCLUSÃO:

O método analítico para determinação simultânea dos biocidas anti-incrustantes Irgarol 1051, diuron, DCOIT e TCMTB em sedimentos marinhos através da técnica de sonificação e utilizando LC/MS-MS foi validado e atendeu aos critérios estabelecidos pelo INMETRO (2011) e SANTE (2015).

Foi observado um efeito matriz significativo durante a análise dos biocidas por LC/MS-MS, o qual apresentou intensidades distintas para cada analito e sedimento analisado. Desta forma, fica evidenciado que a natureza e composição da matriz, bem como as propriedades dos analitos de interesse, influenciam na ocorrência e magnitude do efeito matriz.

O uso das curvas de calibração na matriz para cada grupo de amostras de sedimentos agrupados de acordo com as suas características granulométricas e de teor de carbono orgânico representa uma alternativa para minimizar o efeito matriz e, assim, garantir uma melhor qualidade analítica. Outra alternativa seria o emprego dos compostos marcados isotopicamente, porém nem sempre estes compostos estão disponíveis no mercado, além do custo elevado.

A maioria dos biocidas anti-incrustantes de 3ª geração foi encontrada ao longo de todo Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, porém abaixo do limite de quantificação do método empregado. Possivelmente, as características do ambiente como baixo tempo de residência da água e elevado hidrodinamismo, bem como a susceptibilidade à degradação desses compostos e o particionamento preferencial do diuron e Irgarol na fração dissolvida, podem ter dificultado o particionamento no sedimento.

No estuário da Lagoa dos Patos, locais com menor hidrodinamismo e aporte direto de contaminação por biocidas anti-incrustantes, como alguns estaleiros e o iate clube de Rio Grande, apresentaram os maiores níveis de contaminação. Possivelmente, estas maiores concentrações dos biocidas estão relacionadas à presença de partículas de tintas anti-incrustantes. Os pontos amostrados ao longo do canal apresentaram menores concentrações dos biocidas, possivelmente associados a maior distância das fontes de contaminação e a elevada hidrodinâmica na região.

Desse modo, a ocorrência de partículas de tintas nas proximidades dos estaleiros do estuário da Lagoa dos Patos representa uma fonte importante de contaminação por biocidas anti-incrustantes para as regiões próximas, representando um aumento

significativo na persistência destes biocidas e, conseqüentemente, um maior risco de exposição à biota.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

A validação da metodologia no presente estudo permitiu os avanços nos estudos em matrizes ambientais para os biocidas anti-incrustantes de 3ª geração. No entanto, otimizações metodológicas para diminuir o limite de detecção e quantificação dos compostos, por exemplo, poderão permitir um melhor acompanhamento dos níveis de contaminação encontrados no ambiente.

Além disso, ampliar a gama de biocidas do método analítico validado para quantificar simultaneamente outros biocidas, como o clorotalonil e diclofluanida, que também estão presentes em tintas anti-incrustantes e podem estar impactando o ambiente, uma vez que são escassas as informações ambientais sobre esses compostos.

Pesquisas adicionais sobre o comportamento ambiental dos biocidas anti-incrustantes de 3º geração também são necessários, incluindo outras matrizes ambientais como o material em suspensão e organismos aquáticos, pois pouco se conhece das interações que esses compostos podem sofrer no ambiente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUERRE, S. et al. Solid phase microextraction (SPME): a new procedure for the control of butyl- and phenyltin pollution in the environment by GC-FPD. **The Analyst**, v. 125, n. 2, p. 263–268, 2000.

AKCHA, F. et al. Genotoxicity of diuron and glyphosate in oyster spermatozoa and embryos. **Aquatic Toxicology**, v. 106-107, p. 104–113, 2012.

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

ALMEIDA, E. et al. Marine paints: The particular case of antifouling paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 59, n. 1, p. 2–20, 2007.

ARTIFON, V. P. et al. Spatio temporal appraisal of TBT contamination and imposex along a tropical bay (Todos os Santos Bay, Brazil). **Environmental Science and Pollution Research**, 2016.

AZEVEDO, D. D. A. et al. Monitoring of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water from. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 15, n. 2, p. 292–299, 2004.

BAIRD, C.; CANN, M. Pesticidas. In: **Química Ambiental**. Cap. 6. p. 844.

BALAKRISHNAN, S. et al. Occurrence of Diuron and Irgarol in seawater, sediments and planktons of Seto Inland Sea, Japan. **Geochemical Journal**, v. 46, n. 3, p. 169–177, 2012.

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

BENIJTS, T. et al. Countering matrix effects in environmental liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry water analysis for endocrine disrupting chemicals. **Journal of Chromatography A**, v. 1029, n. 1-2, p. 153–159, 2004.

BOCCA, C.; LEGROTTAGLIE, M. Biocides based antifouling: industrial outlook. **Research & development**, v. 1, p. 25–32, 2014.

BOLLMANN, M. et al. Living With the Oceans. **World Ocean Review: Living with the oceans**, v. 1, p. 236, 2010.

BORDON, I. C. A C. et al. Metal concentration in sediments from the Santos Estuarine system: A recent assessment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 10, p. 1858–1865, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914/, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para

consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasil, Diário Oficial da União. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html> Acesso em Maio.2016

BRASIL, Ministério da Agricultura. **Arroz**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 10 abr. 2016.

BRITO, N. M. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: uma breve revisão. **Caderno de Pesquisa São Luís**, v. 12, p. 116–131, 2001.

BROWNLEE, G. et al. Aquatic environmental chemistry of 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole and related benzothiazoles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 11, p. 1153–1168, 1992.

BURUAEM, L. M. et al. Contamination of port zone sediments by metals from Large Marine Ecosystems of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 3, p. 479–488, 2012.

CALLIARI, L. J. et al. Fine grain sediment transport and deposition in the Patos Lagoon-Cassino beach sedimentary system. **Continental Shelf Research**, v. 29, n. 3, p. 515–529, 2009.

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

CARBONI, A. et al. A method for the determination of fullerenes in soil and sediment matrices using ultra-high performance liquid chromatography coupled with heated electrospray quadrupole time of flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, p. 1–8, 2016.

CASSI, R. et al. Organotin speciation analyses in marine biota using sodium tetraethylborate ethylation and gas chromatography with flame photometric detection. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 355–359, 2002.

CASSI, R. et al. A survey of antifoulants in sediments from Ports and Marinas along the French Mediterranean coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 11, p. 1943–1948, 2008.

CASSIANO, N. M. et al. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**. v. 32, n. 4, p. 1021–1030, 2009.

CASTRO, Í.B.; FILLMANN, G. High tributyltin and imposex levels in the commercial muricid *Thais chocolata* from two Peruvian harbor areas. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31: 955-960. 2012.

CASTRO, I. B. et al. Environmental matrices effect in butyltin determinations by GC/MS. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 10, n. 1, p. 47–53, 2015.

CASTRO, Í. B. et al. Tintas anti-incrustantes de terceira geração: novos biocidas no ambiente aquático. **Química Nova**, n. 00, p. 1–11, 2011.

CESAR, A. et al. Ecotoxicological assessment of sediments from the Santos and São Vicente estuarine system – Brazil Universidade Santa Cecília – Unisantia Departamento de Ecotoxicologia Campus do Litoral Paulista -São Vicente affected by multiple contamination sources. Th. **Geographical**, v. 54, n. 1, p. 55–63, 2006.

CHAMBERS, E. et al. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 852, n. 1-2, p. 22–34, 2007.

CHEN, L. et al. Comparative safety of the antifouling compound butenolide and 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) to the marine medaka (*Oryzias melastigma*). **Aquatic Toxicology**, v. 149, p. 116–125, 2014.

CHEN, L. et al. Degradation kinetics of a potent antifouling agent, butenolide, under various environmental conditions. **Chemosphere**, v. 119, p. 1075–1083, 2015.

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

CIMA, F. et al. Preliminary evaluation of the toxic effects of the antifouling biocide Sea-Nine 211TM in the soft coral *Sarcophyton* cf. *glaucom* (Octocorallia, Alcyonacea) based on PAM fluorometry and biomarkers. **Marine Environmental Research**, v. 83, p. 16–22, 2013.

COMBER, S. D. W. et al. Survey of four marine antifoulant constituents (copper, zinc, diuron and Irgarol 1051) in two UK estuaries. **Journal of environmental monitoring: JEM**, v. 4, n. 3, p. 417–425, 2002.

COSTA, L. D. F. et al. Variability of labile metals in estuarine sediments in areas under the influence of antifouling paints, southern Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, n. 7, p. 580, 2016.

DAFFORN, K. A. et al. The challenge of choosing environmental indicators of anthropogenic impacts in estuaries. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 207–217, 2012.

DAFFORN, K. A. et al. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 3, p. 453–465, 2011.

DAHL, B.; BLANCK, H. Toxic effects of the antifouling agent Irgarol 1051 on periphyton communities in coastal water microcosms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, n. 4, p. 342–350, 1996.

DEMOLINER, A. et al. Development and Validation of a Method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the Determination of Multiple Classes of Pesticides and Metabolites in Water Samples. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 21, n. 8, p. 1424–1433, 2010.

DEVILLA, R. A et al. Impact of antifouling booster biocides on single microalgal species and on a natural marine phytoplankton community. **Marine Ecology Progress Series**, v. 286, p. 1–12, 2005.

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

DINIZ, L. G. R. et al. Principais métodos para análise do anti-incrustante irgarol em ambientes marinhos e avaliação da ecotoxicidade. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, p. 80–89, 2011.

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

ECHA. **Regulamento (UE) N. 528/2012 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de maio de 2012.**, 2012.

ECONOMOU, A. et al. Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5856–5867, 2009.

EGEA GONZÁLEZ, F. J. et al. Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticide multiresidue analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 966, n. 1-2, p. 155–165, 2002.

EGUCHI, S. et al. Assessment of antifouling biocides contaminations in Maizuru Bay, Japan. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 58, n. 3, p. 684–93, abr. 2010.

EPA. **Presidential Green Chemistry Challenge: 1996 Designing Greener Chemicals Award**. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. Acesso em: 14 abr. 2016.

ERNEY, D. R. et al. Matrix-induced peak enhancement of pesticides in gas chromatography: Is there a solution? **Hrc-Journal of High Resolution Chromatography**, v. 20, n. 7, p. 375–378, 1997.

ERNEY, D. R.; POOLE, C. F. A study of single compound additives to minimize the matrix induced chromatographic response enhancement observed in the gas chromatography of pesticide residues. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 16, n. 8, p. 501–503, 1993.

FAY, E. F.; SILVA, C. M. M. DE S. S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. In: Chaim A. et al., **Agrotóxico e Meio Ambiente**. Cap. EMBRAPA, 2004.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. **Toxicology**, v. 205, n. 3, p. 223–240, 2004.

- FERNANDES, E. H. L. et al. The attenuation of tidal and subtidal oscillations in the Patos Lagoon estuary. **Ocean Dynamics**, v. 54, n. 3-4, p. 348–359, 2004.
- FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. et al. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. **Analytica Chimica Acta**, v. 456, p. 303–312, 2002.
- FRENICH, A. G. et al. Compensation for matrix effects in gas chromatography-tandem mass spectrometry using a single point standard addition. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 23, p. 4798–4808, 2009.
- FUKUMOTO, M. M. et al. Bottom Faciology and Sediment Transport in Santos Bay , Southeastern Brazil. **Journal of Coastal Research**, v. 2004, n. 39, p. 2004–2007, 2006.
- GALLUCCI, F. et al. Ecological effects of Irgarol 1051 and Diuron on a coastal meiobenthic community: A laboratory microcosm experiment. **Ecological Indicators**, v. 58, p. 21–31, 2015.
- GATIDOU, G. et al. Determination of two antifouling booster biocides and their degradation products in marine sediments by high performance liquid chromatography – diode array detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, p. 153–159, 2004.
- GATIDOU, G. et al. Fate of Irgarol 1051, diuron and their main metabolites in two UK marine systems after restrictions in antifouling paints. **Environment International**, v. 33, n. 1, p. 70–77, 2007.
- GATIDOU, G. et al. Microwave-assisted extraction of Irgarol 1051 and its main degradation product from marine sediments using water as the extractant followed by gas chromatography–mass spectrometry determination. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, n. 1-2, p. 41–48, 2004.
- GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation : a review. **Chemosphere**, v. 56, p. 1021–1032, 2004.
- GIMILIANI, G. T. et al. Modeling the dispersion of endocrine disruptors in the Santos Estuarine. **Brazilian Journal of Oceanography**. v. 64, n. 1, p. 1–8, 2016.
- GOUGH, M. A. et al. A Survey of Southern England Coastal Waters for the s-Triazine Antifouling Compound Irgarol 1051. **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n. 10, p. 613–620, 1994.
- GRACELI, J. B. et al. Organotins: A review of their reproductive toxicity, biochemistry, and environmental fate. **Reproductive Toxicology**, v. 36, p. 40–52, 2013.
- GUARDIOLA, F. A. et al. Risks of Using Antifouling Biocides in Aquaculture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 12, p. 1541–1560, 2012.
- GUIMARÃES, S.S., Castro, Í.B., Junior, O.O.M., Pinho, G.L.L.,. Paint Particles from antifouling systems in Patos Lagoon Estuary, RS, Brazil: Sources and Occurrence, in: SETAC Latin America 11th Biennial Meeting Abstract Book. p. 10. 2015.

HAIŠLOVÁ, J. et al. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, v. 800, n. 2, p. 283–295, 1998.

HAIŠLOVÁ, J.; ZROSTLÍKOVÁ, J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, n. 1, p. 181–197, 2003.

HALL, L. W.; ANDERSON, R. D. Relationship of Bifenthrin Sediment Concentrations to Grain Size and Total Organic Carbon in California Waterbodies: Implications for Ecological Risk. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 93, n. 6, p. 764–768, 2014.

HALL, LENWOOD W, J. et al. An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 367–437, 1999.

HANSEN, H. W. et al. **A review of the environmental impact and toxic effects of TCMTB**. Victoria, Canada: 1991.

HARARI et al. Climatology and hydrography of Santos estuary. In: NEVES, R. et al. **Perspectives on integrated coastal zone management**. Part C. IST Press, 2008. v. 620

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

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

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

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

HASAN, C. K. et al. Environmental Risks Associated with Booster Biocides Leaching from Spent Anti-Fouling Paint Particles in Coastal Environments. **Water Environment Research**, v. 86, n. 12, p. 2330–2337, 2014.

HUGGET, R. J. et al. The marine biocide Tributyltin: Assessing and managing the environmental risks. **Environmental Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 232–237, 1992.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. p. 1–20, 2011.

- ITO, M. et al. Induction of apoptosis in testis of the marine teleost mummichog *Fundulus heteroclitus* after in vivo exposure to the antifouling biocide 4,5-dichloro-2-n-octyl-3(2H)-isothiazolone (Sea-Nine 211). **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1053–1060, 2013.
- JACOBSON, A. et al. Fate of an Antifoulant in an Aquatic Environment. n. 4, p. 127–138, 1993.
- JACOBSON, A. H.; WILLINGHAM, G. L. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants. **Science of The Total Environment**, v. 258, n. 1-2, p. 103–110, ago. 2000.
- JANSSON, C. et al. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. **Journal of chromatography. A**, v. 1023, n. 1, p. 93–104, 2004.
- KEY, P. B. et al. Lethal and sublethal effects of simvastatin, irgarol, and PBDE-47 on the estuarine fish, *Fundulus heteroclitus*. **Journal of environmental science and health, Part. B: Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 44, n. 4, p. 379–382, 2009.
- KIM, N. S. et al. Distribution of butyltins and alternative antifouling biocides in sediments from shipping and shipbuilding areas in South Korea. **Marine pollution bulletin**, v. 95, n. 1, p. 484–490, 2015.
- KING, R. et al. Mechanistic Investigation of Ionization Supression in Electrospray Ionization. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, v. 11, n. 00, p. 942–950, 2000.
- KOBAYASHI, N.; OKAMURA, H. E ffects of new antifouling compounds on the development of sea urchin Mar. **Pollut. Bull.**, v. 44, p. 748–51, 2002.
- KONSTANTINOOU, I. K.; ALBANIS, T. A. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment : a review. **Environment international**, v. 30, p. 235–248, 2004.
- KOTRIKLA, A. Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 1, p. 77–85, 2009.
- KRUVE, A. et al. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Cromatography A**, v. 1187, p. 58–66, 2008.
- KRUVE, A. et al. Combating matrix effects in LC/ESI/MS: The extrapolative dilution approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 651, n. 1, p. 75–80, 2009.
- LAM, K. H. et al. Identification of a new Irgarol-1051 related s-triazine species in coastal waters. **Environmental Pollution**, v. 136, n. 2, p. 221–230, 2005.

- LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography – mass spectrometry-based techniques : a review. p. 1663–1683, 2007.
- LAMOREE, M. H. et al. Determination of diuron and the antifouling paint biocide Irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal waters. **Journal of Chromatography A**, v. 970, n. 1-2, p. 183–190, 2002.
- LAMPARELLI, M. et al. **Sistema Estuarino de Santos e São Vicente**. São Paulo: 2001.
- LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos, São Paulo: 2004.
- LEE, M.-R.-N. et al. Assessment of organotin and tin-free antifouling paints contamination in the Korean coastal area. **Marine Pollution Bulletin**, 2015.
- LIBES, S. M. **Introduction to Marine Biogeochemistry**. Cap. 9. Academic Press, 2009. v. 1
- LISBOA P.V. et al. Transport Time Scales in the Patos Lagoon Estuary, Brazil. **In press**
- MAI, H. et al. Environmental concentrations of irgarol, diuron and S-metolachlor induce deleterious effects on gametes and embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. **Marine environmental research**, v. 89, p. 1–8, ago. 2013.
- MARQUES, W. C. et al. Numerical modeling of the Patos Lagoon coastal plume, Brazil. **Continental Shelf Research**, v. 29, n. 3, p. 556–571, 2009.
- MARTÍNEZ D; BARCELÓ, K. Determination of antifouling pesticides and their degradation products in marine sediments by means of ultrasonic extraction and HPLC – APCI – MS. **Fresenius J Analytical Chemistry**, v. 370, p. 940–945, 2001.
- MATUSZEWSKI, B. K. et al. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC – MS/MS, *Anal. Chem.* 75 (2003) 3019 – 3030. **Anal. Chem.**, v. 75, n. 13, p. 3019–3030, 2003.
- MESTANKOVA, H. et al. Evolution of algal toxicity during (photo)oxidative degradation of diuron. **Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)**, v. 101, n. 2, p. 466–73, 25 jan. 2011.
- MIRLEAN, N. et al. Mercury pollution sources in sediments of Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 3, p. 331–334, 2003.
- MOÇO, R. B. Contaminação por compostos butilêstânicos em três regiões portuárias do Chile. **Dissertação de Mestrado**. Escola de Química e Alimentos. Universidade Federal de Rio Grande. 2016

- MÖLLER, O. et al. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of Patos Lagoon. **Estuaries**, v. 24, n. 2, p. 297–311, 2001.
- MOSER, G. A O. et al. Instantaneous transport of slat, nutrients, suspended matter and chlorophyll-a in the tropical estuarine system of Santos. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 115–127, 2005.
- NIENCHESKI, L. F. et al. History of human activity in coastal southern Brazil from sediment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 78, n. 1-2, p. 209–212, 2014.
- NIENCHESKI, L. F. et al. Distribution of particulate trace metal in Patos Lagoon estuary (Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 96–102, 1994.
- NIESSEN, W. M. A. et al. Matrix Effects in Quantitative Pesticide Analysis Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 25, p. 881–899, 2006.
- OCCHIPINTI, A. G. Estudos para o sistema de disposição oceânica dos esgotos de Santos e São Vicente. **Instituto de Energia Atômica**. 1973.
- OKAMURA, H. et al. Fate and ecotoxicity of the new antifouling compound Irgarol 1051 in the aquatic environment. **Water Research**, v. 34, n. 14, p. 3523–3530, 2000.
- OKAMURA, H. et al. Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, n. 1-6, p. 59–67, 2003.
- OLIVEIRA, H. B. et al. Dinâmica sedimentar do Baixo estuário da Lagoa dos Patos e possíveis zonas de contaminação por HC . p. 1–7, 2007.
- OMAE, I. General Aspects of Tin-Free Antifouling Paints. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 9, p. 3431 – 3448, 2003.
- ONDUKA, T. et al. Toxicity of the antifouling biocide Sea-Nine 211 to marine algae, crustacea, and a polychaete. **Fisheries Science**, v. 79, n. 6, p. 999–1006, 2013.
- PARKS, R. et al. Antifouling biocides in discarded marine paint particles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 8, p. 1226–1230, 2010.
- PERINA, F. C. et al. Comparative toxicity of antifouling compounds on the development of sea urchin. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 8, p. 1870–1880, 2011.
- PESTANA, L. B. **Contaminação por tintas anti-incrustantes no estuário da Lagoa dos Patos: Avaliação temporal dos níveis ambientais**. Monografia. Instituto de Oceanografia. Universidade Federal de Rio Grande, 2013.
- PINHO, G. P. et al. Efeito de Matriz na Quantificação de Agrotóxicos por Cromatografia Gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987–995, 2009.

PINOCHET, H. et al. Butyltin compounds and their relation with organic matter in marine sediments from San Vicente Bay - Chile. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 155, n. 1-4, p. 341–353, 2009.

POOLE, C. F. Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1-2, p. 241–250, 2007.

PORTO DE RIO GRANDE. **Porto do Rio Grande confirma maior movimentação da história em 2015**. Disponível em: <http://www.portoriogrande.com.br/site/noticias_detalhes.php?idNoticia=1837>. Acesso em: 15 jan. 2015.

PORTO DE SANTOS. **Movimento de novembro no Porto de Santos confirma expectativa de recorde em 2015**. Disponível em: <<http://www.portodesantos.com.br/>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

PRICE, A. R. G.; READMAN, J. W. Booster biocide antifoulants : is history repeating itself? **Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation**, p. 265–278, 2013.

RADKE, B. et al. Seasonal changes in organotin compounds in water and sediment samples from the semi-closed Port of Gdynia. **Science of the Total Environment**, v. 441, p. 57–66, 2012.

READMAN, J. W. et al. Coastal water contamination from a triazine herbicide used in antifouling paints. **Environmental Science Technology**, v. 27, n. 800, p. 1940–1942, 1993.

READMAN, J. W. **Assessment of antifouling agents in coastal environments (ACE)**. 2002.

READMAN, J. W. Development, Occurrence and Regulation of Antifouling Paint Biocides: Historical Review and Future Trends. In: Kostantinou I. **Antifouling Paints Biocides**. Cap. 1. 2006

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

ROVERSI, F. **Estudo hidrodinâmico e de renovação das águas do sistema estuarino de Santos**. Dissertação. Engenharia Oceânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

SAARI, E. et al. Effect of sample matrix on the determination of total petroleum hydrocarbons (TPH) in soil by gas chromatography-flame ionization detection. **Microchemical Journal**, v. 87, n. 2, p. 113–118, 2007.

SAKELLARIADOU, F. Maritime pollutants in shipping and commercial European ports based on relevant physical and biogeochemical environmental parameters (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 11-12, p. 1151–1166, 2015.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C. et al. Determination of pesticide residues by GC-MS using analyte protectants to counteract the matrix effect. **Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry**, v. 21, n. 11, p. 1291–6, 2005.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Á. et al. Applicability of microwave-assisted extraction combined with LC – MS / MS in the evaluation of booster biocide levels in harbour sediments. **Chemosphere**, v. 82, p. 96–102, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, Á. et al. Analytical methods for the determination of common booster biocides in marine samples. **Center Europe Journal Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 521–533, 2012.

SANTE. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in. 2015.

SANTOS, D. M. et al. Occurrence and behavior of butyltins in intertidal and shallow subtidal surface sediments of an estuarine beach under different sampling conditions. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 88, n. 3, p. 322–328, 2010.

SANTOS, D. M. et al. Matrix Effect on Butyltin Analysis of Sediments and Fish Tissues by GC-PFPD. v. 24, n. 6, p. 998–1005, 2013.

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

SCARLETT, A. et al. Risk posed by the antifouling agent Irgarol 1051 to the seagrass, *Zostera marina*. **Aquatic Toxicology**, v. 45, n. 2-3, p. 159–170, 1999.

SCHENCK, F. J.; LEHOTAY, S. J. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food? **Journal of Chromatography A**, v. 868, n. 1, p. 51–61, 2000.

SCHWARZENBACH, R. et al. **Environmental Organic Chemistry**. Canada: John Wiley & Sons, 1993.

SEILER, L. M. N. et al. Evaluation of hydrologic influence on water quality variation in a coastal lagoon through numerical modeling. **Ecological Modelling**, v. 314, p. 44–61, 2015.

SILVA, P. D. et al. Changes on the fine sediment dynamics after the Port of Rio Grande expansion. **Advances in Geosciences**, v. 39, p. 123–127, 2015.

SILVA, S. V. **Avaliação da toxicidade das partículas de tintas anti-incrustantes para organismos bentônicos**. Monografia. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Rio Grande, 2015.

SIQUEIRA, G. W. et al. Determinação da matéria orgânica e razões C/N e C/S em sedimentos de fundo do estuário de Santos - SP/Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 39, p. 18–27, 2006.

STEEN, R. J. C. A et al. Ultra-trace-level determination of polar pesticides and their transformation products in surface and estuarine water samples using column liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 857, p. 157–166, 1999.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. Cap. 8 São Paulo: 1973.

SZAVA-KOVATS, R. C. Grain-size normalization as a tool to assess contamination in marine sediments: Is the <63 µm fraction fine enough? **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 4, p. 629–632, 2008.

TAKAHASHI 2009. Release rate of biocides from antifouling paints. In: **Ecotoxicology of Antifouling Biocides**. Cap. 1. Springer, 2009

THOMAS, K. The use of broad-spectrum organic biocides in marine antifouling paints. In: Helio C; Yebra D.M. **Advances in marine antifouling coatings and technologies**. Cap. 20. Woodhead Publishing Limited, 2009.

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

THOMAS, K. V. et al. Antifouling Paint Booster Biocide Contamination in UK Marine Sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 9, p. 739–745, 2000.

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

THOMAS, K. V. et al. Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters : inputs , occurrence and environmental fate. **The Science of the Total Environment**, v. 293, p. 117–127, 2002.

THOMPSON, M. et al. Quality assurance schemes for analytical laboratories * harmonized guidelines for single- laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) Harmonized guidelines for single-laboratory (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

TIXIER, C. et al. Fungal biodegradation of a phenylurea herbicide, diuron: Structure and toxicity of metabolites. **Pest Management Science**, v. 56, n. 5, p. 455–462, 2000.

TOLHURST, L. E. et al. The effect of resuspending sediment contaminated with antifouling paint particles containing Irgarol 1051 on the marine macrophyte *Ulva intestinalis*. **Chemosphere**, v. 68, p. 1519–1524, 2007.

TOMAZELLI, L. . O regime dos ventos e a taxa de migração das dunas eólicas costeiras do Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas em Geociências**, v. 20, n. 1, p. 18–26, 1993.

TORRES, R. J. et al. Effects of dredging operations on sediment quality: Contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, n. 5, p. 420–432, 2009.

TÓTH, S. et al. Irgarol 1051 , an Antifouling Compound in Freshwater , Sediment , and Biota of Lake Geneva. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 57, p. 426–433, 1996.

TSANG, V. W. et al. Determination of Irgarol-1051 and its related s-triazine species in coastal sediments and mussel tissues by HPLC-ESI-MS/MS. **Marine pollution bulletin**, v. 58, n. 10, p. 1462–71, 2009.

TSUNEMASA, N.; YAMAZAKI, H. Concentration of antifouling biocides and metals in sediment core samples in the northern part of Hiroshima Bay. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 6, p. 9991–10004, 2014.

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

VON OEPEN, B.; KORDEL, W.; KLEIN, W. Sorption of nonpolar and polar compounds to soils: Processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. **Chemosphere**, v. 22, n. 3-4, p. 285–304, 1991.

VOULVOULIS, N. et al. Analytical methods for the determination of 9 antifouling paint booster biocides in estuarine water samples. **Chemosphere**, v. 38, n. 15, p. 3503–3516, 1999.

VOULVOULIS, N. et al. Occurrence of Four Biocides Utilized in Antifouling Paints , as Alternatives to Organotin Compounds , in Waters and Sediments of a Commercial Estuary in the UK. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 11, p. 938–946, 2000.

VOULVOULIS, N. et al. Partitioning of selected antifouling biocides in the aquatic environment. **Marine Environmental Research**, v. 53, n. 1, p. 1–16, 2002.

WESTPHAL, E. A. **Método multiresíduo para determinação de biocidas utilizados em tintas anti-incrustantes de terceira geração**. Dissertação. Escola de Química e Alimentos. Universidade Federal de Rio Grande. 2011.

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

WOLF, K. Safer Alternatives to Copper Antifouling Paints: Nonbiocide Paint Options. **U.S. Environmental Protection Agency**. Final report. 2011.

XU, H. et al. Distribution of Diuron in Coastal Seawater and Sediments from West Sea Area of Zhoushan Island. **Environmental Pollution**. v. 2013, n. July, p. 140–147, 2013.

YAMADA, H. Behaviour, occurrence, and aquatic toxicity of new antifouling biocides and preliminary assessment of risk to aquatic ecosystems. **Bulletin fishery research agency**, v. 21, p. 31–45, 2007.

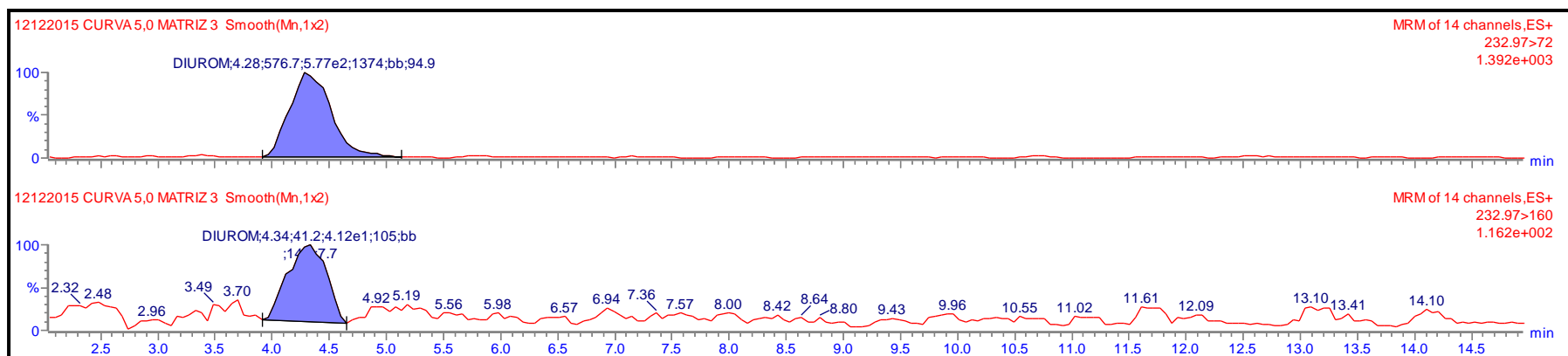
YEBRA, D. M. et al. K. Antifouling technology - Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 50, n. 2, p. 75–104, 2004.

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

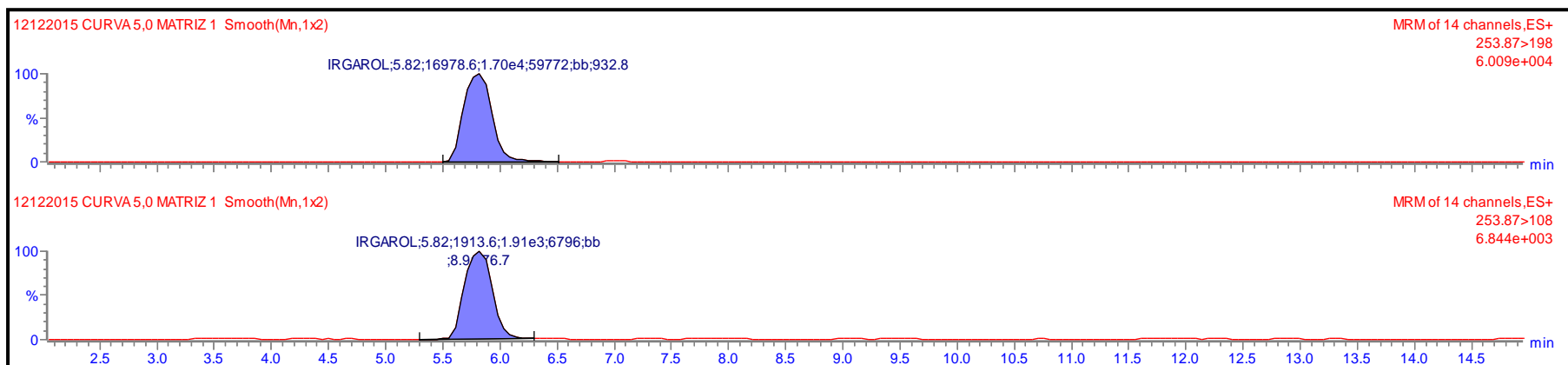
ANEXO I

Cromatogramas MRM obtidos para os biocidas analisados. Íons de monitoramento na parte superior e íons de confirmação na parte inferior:

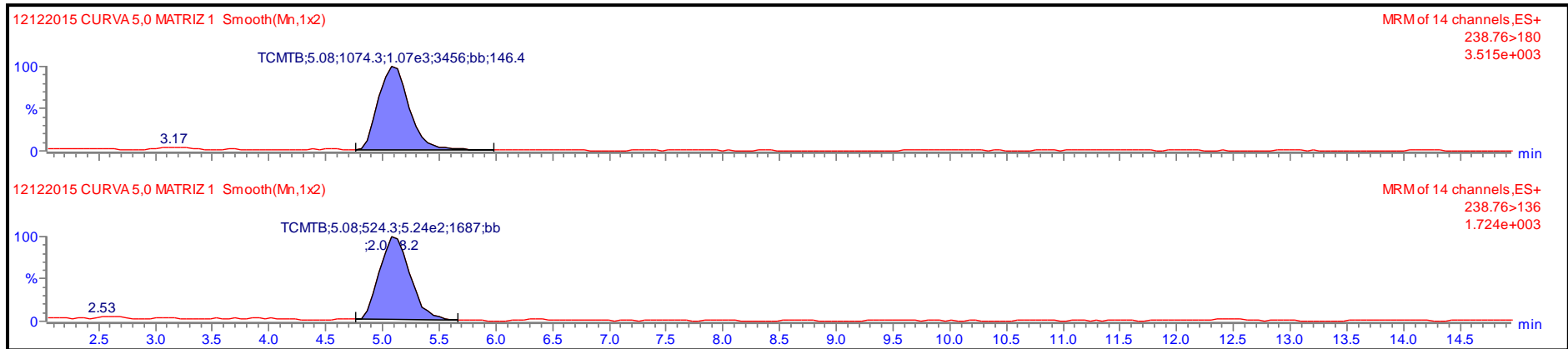
- Diuron



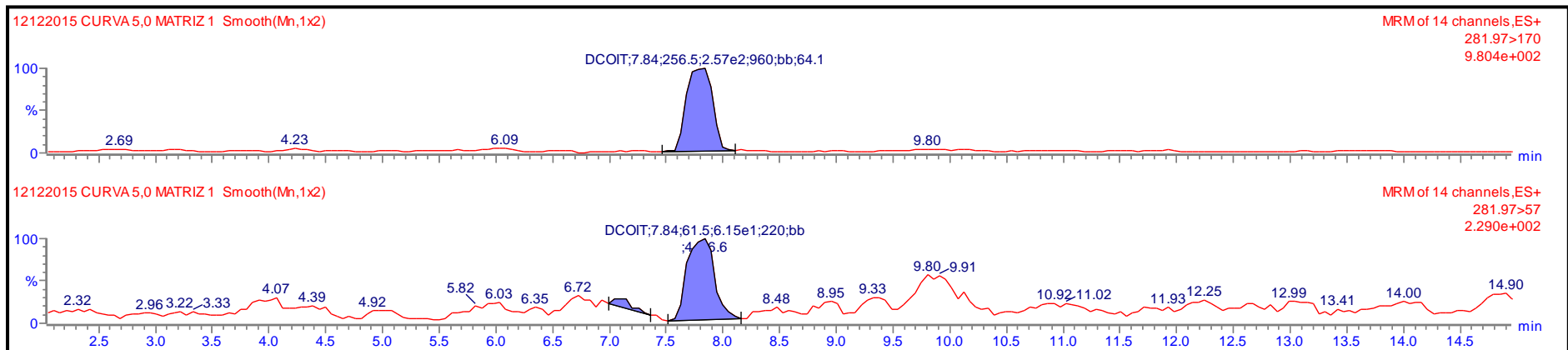
- Irgarol 1051



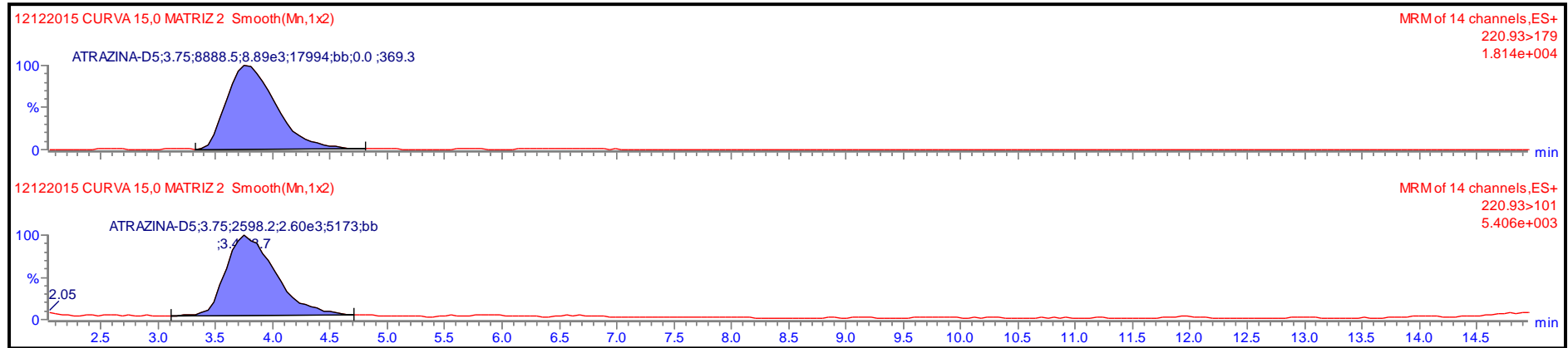
- TCMTB



- DCOIT



• Atrazina-d5



ANEXO II

Curvas de calibração (no solvente e na matriz) utilizadas na quantificação das amostras do estuário da Lagoa dos Patos

