



**FURG**

**Dissertação de Mestrado**

**CONTAMINAÇÃO POR COMPOSTOS  
ORGANOESTÂNICOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS**

**VANDA ARTIFON PEREIRA**

---

**PPGQTA**

**Rio Grande, RS - Brasil**

**2013**

# **CONTAMINAÇÃO POR COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS**

**por**

**VANDA ARTIFON PEREIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS – Brasil

2013

Universidade Federal do Rio Grande  
Escola de Química e Alimentos  
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado

## **CONTAMINAÇÃO POR COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS**

elaborada por

**VANDA ARTIFON PEREIRA**

Como requisito parcial para a obtenção do título de  
**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Gilberto Fillmann (FURG – RS)

---

Prof. Dr. Ítalo Braga de Castro (FURG – RS)

---

Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves (FURG – RS)

---

Prof. Dr. Marcos Antônio dos S. Fernandez (UERJ – RJ)

Rio Grande, 30 de Julho de 2013.

*... Dedico este trabalho àqueles que são a base do meu ser, e com muito amor, me tornaram forte o suficiente para encarar qualquer desafio e alcançar os meus sonhos ... aos meus pais **Antoninho Alfeu Artifon e Neiva Lourdes Artifon***

*“Assumir nossos erros exige muita coragem em um mundo que parece feito de pessoas que sempre ganham todas ... assumir nossa ignorância exige muita humildade nesse mundo de quem tudo sabe”*

*Roberto Shinyasiki*

## **AGRADECIMENTOS**

---

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental** da Universidade Federal do Rio Grande, pela oportunidade da realização deste trabalho.

A **CAPES**, pela bolsa de fomento social, e a **FINEP**, pelo apoio financeiro concedido ao projeto “Impacto da utilização de tintas anti-incrustantes nos principais terminais portuários brasileiros”, no qual o presente trabalho esta inserido.

Ao Prof. Dr. **Gilberto Fillmann**, pela orientação, amizade, exemplo profissional e pela confiança em mim depositada ao propor um estudo interdisciplinar Química x Biologia x Oceanografia, o qual despertou grande fascínio. Muito obrigada!

Ao Dr. **Ítalo Braga de Castro**, pela co-orientação, pela dedicação, pela paciência, por compartilhar comigo as dificuldades que surgiram ao longo deste trabalho e vibrar com cada etapa cumprida; por acreditar na minha capacidade e propor novos desafios, por suas palavras sábias em momentos únicos, além da amizade e confiança construída ao longo do tempo. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. **Fábio Ferreira Gonçalves**, pelas suas valiosas sugestões no exame de qualificação e pela participação como banca examinadora.

Ao Prof. Dr. **Carlos Francisco Ferreira de Andrade**, pelas valiosas contribuições no exame de qualificação, além do incentivo para finalizar este estudo.

Ao Prof. Dr. **Marcos Antônio dos Santos Fernandez**, pelas valiosas sugestões e participação como banca examinadora deste trabalho.

À Dra. **Gilmara Fernandes Eça** e Profa. Dra. **Vanessa Hatje**, pela disponibilização das amostras dos sedimentos da campanha 2010/2011, o qual possibilitou parte deste trabalho.

À Profa. Dra. **Mônica Wallner Kersanach**, pela sua disponibilidade e auxílio durante as análises de carbono orgânico nas amostras dos sedimentos.

À Dra. **Patrícia Gomes Costa**, pela sua contribuição durante as análises de carbono orgânico nos sedimentos, sobre tudo pela sua amizade e atenção.

Ao servidor **Nilson Mauren**, pela ajuda, atenção e pela amizade.

Aos colegas do CONECO: **Marileni Lopes Sallaberi, Micheli Pieroni, Rafael Camargo, Fernanda Poleza, Martina Rossato, Sanye Soroldoni Guimarães, Júlia Rabello, Natália Inocência, Laís Belisto, Rodrigo Moço Batista**, pelo auxílio na realização do preparo de amostras, pelo convívio diário, que permitiu conhecer, o suficiente de cada um para jamais esquecer-los, pois compartilharam muito para eu chegar ao final desta caminhada.

Aos meus pais **Antoninho Alfeu Artifon** e **Neiva Loures Artifon**, pelo amor carinho, dedicação e exemplos de vida, à minha irmã **Nadia Artifon**, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao meu esposo **Tiago da Silva Pereira** e minha filha **Eduarda Artifon Pereira**, pelo incentivo, dedicação, pela compreensão da minha ausência, e que juntos me deram forças para finalizar esta etapa.

Aos meus sogros **João Francisco Carril Pereira** e **Terezinha Amélia Pereira**, pelo apoio, incentivo e sobre tudo pelos cuidados com a Eduarda, o que possibilitou a realização deste trabalho.

A todos **os colegas** do programa de pós-graduação em Química Tecnológica e Ambiental, especialmente o **Robson Simplício de Sousa** e a **Juliana Villela Maciel**, pela amizade e parceria desde a graduação.

**A todos** que contribuíram de alguma forma para a realização este trabalho, através de uma ligação ou um sorriso marcado no rosto para começar o dia bem mais alegre. Obrigada!

# SUMÁRIO

---

---

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>x</b>
<b>LISTA DE REAÇÕES E EQUAÇÕES</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b> .....	<b>xv</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xviii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xix</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>5</b>
1.1.1 Objetivos específicos .....	5
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1 Compostos orgânicos de estanho e aplicações</b> .....	<b>6</b>
2.1.1 Bioincrustação .....	7
<b>2.2 Propriedades físico-químicas dos COEs</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3 Distribuição de COEs no ambiente marinho</b> .....	<b>16</b>
2.3.1 COEs nos sedimentos .....	17
2.3.2 COEs na biota .....	18
<b>2.4 Toxicidade dos compostos orgânicos de estanho</b> .....	<b>19</b>
<b>2.5 Ocorrência ambiental de TBT e de seus produtos de degradação antes do banimento mundial</b> .....	<b>23</b>
<b>2.6 Legislação</b> .....	<b>26</b>
<b>2.7 Preparo de amostras e técnicas de quantificação</b> .....	<b>29</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 Área de estudo</b> .....	<b>33</b>
3.1.1 Distribuição do sedimento superficial.....	33
3.1.2 Ciclo hidrológico .....	34
<b>3.2 Avaliação da contaminação por COEs na baía de Todos os Santos</b> .....	<b>35</b>
3.2.1 Amostragem de sedimento.....	39
<b>3.3 Amostragem de moluscos bivalves (<i>Mytella guyanensis</i> e <i>Anomalocardia brasiliana</i>)</b> .....	<b>40</b>
3.3.1 Amostragem e determinação do imposex em gastrópodes .....	41
<b>3.4 Preparo e caracterização das amostras de sedimento</b> .....	<b>42</b>
3.4.1 Análise do carbono orgânico total (COT) .....	42
3.4.2 Análise granulométrica .....	43
<b>3.5 Reagentes e solventes</b> .....	<b>44</b>
<b>3.6 Descontaminação da vidraria</b> .....	<b>44</b>
<b>3.7 Preparo das soluções analíticas</b> .....	<b>45</b>
<b>3.8 Preparo de amostras: sedimento superficial e biota</b> .....	<b>45</b>
3.8.1 Extração.....	47



3.8.2	Extração líquido-líquido .....	47
3.8.3	Derivatização .....	48
3.8.4	Purificação dos extratos .....	49
3.8.5	Separação, identificação e quantificação dos COEs .....	49
<b>3.10</b>	<b>Normalização por carbono orgânico total (COT).....</b>	<b>52</b>
<b>3.11</b>	<b>Índice de degradação dos butilestânicos (IDB).....</b>	<b>53</b>
<b>3.12</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>53</b>
<b>4.</b>	<b>APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>55</b>
4.1	Carbono orgânico total (COT) e granulometria .....	55
<b>4.2</b>	<b>Avaliação espacial da contaminação por butilestânicos na baía de Todos os Santos .....</b>	<b>57</b>
4.2.1	Butilestânicos em sedimentos superficiais .....	57
4.3.2	Avaliação espacial do TBT em moluscos bivalves.....	64
<b>4.4</b>	<b>Avaliação temporal da contaminação por butilestânicos na baía de Todos os Santos. ....</b>	<b>67</b>
4.4.1	Avaliação temporal em sedimentos superficiais .....	67
4.4.2	Avaliação temporal do imposex em <i>Stramonita rustica</i> .....	72
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>76</b>
<b>6.</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>78</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO I</b>	<b>.....</b>	<b>88</b>
<b>ANEXO II</b>	<b>.....</b>	<b>90</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1: Embarcações sob ação de incrustações marinhas. ....	7
Figura 2: Estabelecimento e crescimento da bioincrustação .....	8
Figura 3: Esquema mostrando o mecanismo de liberação do biocida em tintas de livre associação. (Adaptado de Omae, 2003). ....	10
Figura 4: Esquema mostrando o mecanismo de liberação do biocida em tintas copoliméricas. (Adaptado de Omae, 2003). ....	11
Figura 5: Fórmulas estruturais dos principais butilestânicos clorados. ....	13
Figura 6: Equilíbrio do TBT entre material particulado e água (Adaptado Omae, 2006).....	14
Figura 7: Etapas de degradação dos organoestânicos trissubstituídos. (Adaptado de Omae, 2003).....	16
Figura 8: Distribuição e destino dos COEs no ambiente aquático (Adaptado de Hoch, 2001). ....	17
Figura 9: Fêmea de gastrópode <i>Stramonita hemastoma</i> apresentando imposex (Adaptado Castro <i>et al.</i> ,(2012a). ....	21
Figura 10: Índice de desenvolvimento de imposex proposto para a espécie <i>Stramonita haemastoma</i> (Queiroz <i>et al</i> (2007). ....	23
Figura 11: Distribuição do sedimento superficial dentro da baía de Todos os Santos (Adaptado de Lessa <i>et al.</i> , 2010). ....	34
Figura 12: Pontos de amostragem de sedimentos (o) e moluscos bivalves (+) coletados entre fevereiro de 2010 e abril de 2011 na baía de Todos os Santos. ....	35
Figura 13: Pontos de amostragem de moluscos da espécie <i>Stramonita rustica</i> ( $\Delta$ ) e sedimentos ( $\bullet$ ) coletados em junho de 2012 na baía de Todos os Santos. ....	37
Figura 14: Coleta do sedimento superficial com pegador do tipo Van Veen (a), caixas de alumínio contendo amostras (b) e caixas contendo as amostras armazenadas em caixa de isopor (c).....	39
Figura 15: Aspecto das conchas de <i>Anomalocardia brasiliiana</i> (a) e <i>Mytella guyanensis</i> (b).....	41

Figura 16: Etapas do preparo de amostras de sedimento superficial e moluscos bivalves para análise de compostos butilestânicos. ....	46
Figura 17: Cromatógrafo de fase gasosa. ....	50
Figura 18: Percentuais de COT e de finos nas estações onde foi amostrado sedimento na baía de Todos os Santos. ....	55
Figura 19: Concentrações de COT dos sedimentos superficiais coletados nas campanhas 2010/2011 e 2012 na baía de Todos os Santos. ....	56
Figura 20: Níveis de butilestânicos (ng Sn g <sup>-1</sup> ) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011. ....	59
Figura 21: Níveis de butilestânicos normatizados pelos teores de COT (ng Sn g <sup>-1</sup> COT) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011. ....	60
Figura 22: Níveis de butilestânicos em moluscos bivalves coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011. ....	66

## **LISTA DE REAÇÕES E EQUAÇÕES**

Reação 1: Quebra da ligação éster do metacrilato de TBT e consequente liberação do biocida.	10
Reação 2: Reação de alquilação de Grignard.....	48
Equação 1: Equação utilizada para normalização dos dados pelo COT.....	53
Equação 2: Equação utilizada para calcular o Índice de Degradação dos compostos	
Butilestânicos (IBD). .....	53

## LISTA DE TABELAS

---

---

Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos principais compostos organoestânicos.....	14
Tabela 2: Grupos de organismos afetados pela contaminação por compostos orgânicos de estanho e seus respectivos efeitos.....	20
Tabela 3: Concentrações de TBT, DBT e MBT (ng Sn g <sup>-1</sup> , peso seco) em sedimentos oriundos de áreas portuárias de diversas regiões do mundo antes do banimento mundial.....	24
Tabela 4: Concentrações de TBT, DBT e MBT (ng Sn g <sup>-1</sup> peso seco) em organismos marinhos habitantes de áreas portuárias de diversas regiões do mundo antes do banimento mundial. ....	25
Tabela 5: Estações de coleta de sedimento superficial e biota na baía de Todos os Santos.....	38
Tabela 6: Reagentes e solventes utilizados na análise química. ....	44
Tabela 7: Massa molar e seus respectivos íons de quantificação (Q) e confirmação (C1 e C2) dos compostos analisados.....	50
Tabela 8: Padrões utilizados durante o procedimento analítico.....	51
Tabela 9: Valores encontrados para o TBT, DBT e MBT (ng Sn g <sup>-1</sup> ) em biota no padrão certificado (PACs - 2) (n=5). ....	51
Tabela 10: Valores encontrados para TBT, DBT e MBT (ng Sn g <sup>-1</sup> ) em sedimentos no padrão certificado (CE – 477) (n = 4).....	51
Tabela 11: Concentração média (± desvio padrão, n=2) de butilestânicos (TBT, DBT e MBT) (ng Sn g <sup>-1</sup> de peso seco), % de recuperação (% R), % de carbono orgânico total (% COT), % de finos e concentração de TBTn, DBTn e MBTn normalizados pelo carbono orgânico total (ng Sn g <sup>-1</sup> COT) em amostras de sedimentos coletadas na baía de Todos os Santos durante a campanha 2010/2011. ....	58
Tabela 12: Concentração de butilestânicos (TBT, DBT e MBT) (ng Sn g <sup>-1</sup> peso seco) e % de recuperação do TPrT em amostras de moluscos bivalves coletadas na baía de Todos os Santos no período entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011. ....	64

Tabela 13: Comparação das concentrações médias de TBTn, DBTn e MBTn normalizadas pelos teores de COT (ng Sn g <sup>-1</sup> COT peso seco) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos em 2010/2011 e 2012.....	68
Tabela 14: Comparação das concentrações médias ( $\pm$ desvio padrão, n=2) de TBT, DBT e MBT (ng Sn g <sup>-1</sup> peso seco) e Índice de Degradação dos Butilestânicos (IBD) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos em 2010/2011 e 2012.	69
Tabela 15: Parâmetros biométricos por sexo (tamanho da concha e tamanho do pênis) e níveis de imposex em <i>Stramonita rustica</i> coletada na baía de Todos Santos em junho de 2012. dv= desvio padrão. ....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

1. AFS, Convenção Internacional sobre o Controle de Sistemas Anti-Incrustrantes em Navios, do inglês *International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships*
2.  $\text{Bu}_3\text{SnCl}$ , cloreto de tributilestanho
3.  $\text{Bu}_3\text{SnCO}^-$ , ânion carbonato de tributilestanho
4.  $\text{Bu}_3\text{SnOH}$ , hidroxitributilestanho
5.  $\text{Bu}_3\text{SnOH}^+$ , íon hidroxitributilestanho
6. C, carbono
7. CLC, cromatografia líquida clássica
8. COEs, compostos orgânicos de estanho
9. CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente
10. COT, carbono orgânico total
11. DBTCl, cloreto de dibutilestanho, do inglês *dibutyltin dichloride*
12. DLLME, Microextração Dispersiva Líquido-Líquido, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid. Microextraction*
13. EFSA, Autoridade Europeia de Saúde Alimentar, do inglês *European Food Safety Authority*
14. FBC, fator de bioacumulação
15. GC, Cromatografia de fase gasosa, do inglês *gas chromatography*
16. HS- SDME, Microextração em gota suspensa, do inglês *Headspace – Single Drop Microextraction*
17. IBD, Índice de Degradação de Butilestânicos
18. IMO, Organização Marítima Internacional, do inglês *International Maritime Organization*
19.  $K_d$ , coeficiente de partição
20.  $K_{ow}$ , coeficiente de partição octanol-água
21. LC, Cromatografia de fase Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*

22. MBTCl, cloreto de monobutilestanho, do inglês *monobutyltin trichloride*
23. MEPC, Comitê de Proteção do Meio Ambiente, do inglês *Marine Environmental Protection Committee*
24. NaBH<sub>4</sub>, borohidreto de sódio
25. n-Bu, n-butil
26. NORMAN, Normas da Autoridade Marítima
27. OSPAR, Convenção de Oslo e Paris
28. PARCON, Convenção de Paris
29. PE, padrão externo
30. PeMgBr, brometo de pentilmagnésio
31. pH, potencial hidrogeniônico
32. PI, padrão interno
33. PR, padrão de recuperação
34. RPLI, índice do comprimento relativo do pênis, do inglês *relative penis length index*
35. RPSI, Índice do tamanho relativo do pênis, do inglês *relative penis size index*
36. SBSE, Extração por sorção com barra de agitação, do inglês *Sxtraction with Stir Bar Sorptive*
37. Sn, estanho
38. SnCl<sub>4</sub>, tetracloreto de estanho
39. SPE, Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Extraction*
40. SPME, Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid- Phase Microextraction*
41. TBT-Cl, cloreto de tributilestanho, do inglês *chloride tributyltin*
42. TBT-SPC, tintas de auto-polimento do inglês *tributyltin self-polishing copolymer paints*
43. TCMS, tetracloro-metilsulfonil
44. TCMTB, 2-(tiocianometiltio) benzotiazol
45. TeBTCl, cloreto tetrabutilestanho, do inglês *tetrabutyltin chloride*
46. THF, tetrahidrofurano, do inglês *tetrahydrofuran*



47. TPBP, trifenilborano piridina
48. TPrT, tripropilestanho, do inglês *tripropyltin*
49. TPTCl, cloreto de trifenilestanho, do inglês *triphenyltin chloride*
50. UFBA, Universidade Federal da Bahia
51. UV, ultravioleta
52. VDSI, índice da sequencia do desenvolvimento do vaso deferente, do inglês *vas deferens development stage*

## RESUMO

---

### **Título: CONTAMINAÇÃO POR COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS**

Autor: Vanda Artifon Pereira

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fillmann

Uma avaliação espaço-temporal da contaminação de compostos organoestânicos foi realizada na baía de Todos os Santos utilizando sedimentos superficiais, tecidos de moluscos bivalves e a ocorrência de imposex. Para a abordagem espacial foi feita análise química dos sedimentos superficiais (10 pontos) e moluscos bivalves (9 pontos) (*Mytella guyanensis* e *Anomalocardia brasiliiana*) coletadas entre 2010 e 2011. Para a análise temporal 7 destas amostras de sedimento superficial foram recoletadas no ano de 2012. Adicionalmente, em 2012 foi também avaliada a ocorrência de imposex (RPLI, FPLI, VDSI e % imposex) em *Stramonita rustica* (11 pontos) em comparação com resultados de 2004. Todos os pontos amostrados foram escolhidos baseados na presença do tráfego de embarcações que é intenso dentro da baía de Todos os Santos. A avaliação espacial mostrou que elevados níveis de TBT (262 ng Sn g<sup>-1</sup> para sedimentos superficiais e 421 ng Sn g<sup>-1</sup> para tecidos de moluscos bivalves) foram encontrados na parte mais interna da baía, onde há uma menor hidrodinâmica e maior predomínio de sedimentos finos com maiores teores de carbono orgânico. Os valores detectados nos moluscos bivalves coletados na estação Rio do Cunha (S8) representam riscos potenciais à saúde, visto que *M. guyanensis* (sururu) é bastante consumida pela população local e as concentrações de TBT encontradas foram acima dos limites máximos de ingestão diária (250 ng kg<sup>-1</sup> dia). Na avaliação temporal não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de TBT nos sedimentos coletados em 2010/2011 e 2012. Porém, o predomínio dos metabólitos (IDB > 1) nos sedimentos de 2012 indica uma degradação dos aportes antigos de TBT. Apesar disso, a redução nos índices de imposex em *S. rustica* ao longo da última década indica uma diminuição da contaminação por TBT, pelo menos na região mais externa e, possivelmente, menos impactada da baía. Sendo assim, os resultados sugerem que os aportes recentes de TBT são menores do que foram no passado. Esta melhoria está relacionada a implantação de legislações a nível nacional e internacional que, a vários anos, vêm proibindo o uso de TBT em tintas anti-incrustantes. No entanto, os níveis de contaminação TBT ainda são relevantes, especialmente na parte interna da baía de Todos os Santos, pois estão acima dos que causam toxicidade a biota.

## ABSTRACT

---

---

Title: **ORGANOTINS CONTAMINATION ALONG *TODOS OS SANTOS* BAY**

Author: Vanda Artifon Pereira

Advisor: Prof. Dr. Gilberto Fillmann

A spatial and temporal evaluation of organotins (OTs) contamination was performed in *Todos os Santos* bay using surface sediments, bivalve tissues and imposex occurrence. The spatial approach used chemical analyses of surface sediments (10 sites) and bivalve samples (9 sites) (*Mytella guyanensis* and *Anomalocardia brasiliiana*) collected between 2010 and 2011. For the temporal trend analyses, 7 of those sediment samples were recollected in 2012. In addition, during 2012 the imposex occurrence (RPLI, FPLI, VDSI and % imposex) in *Stramonita rustica* (11 sites) was verified and compared with studies from 2004. All sampled sites were chosen based in the presence of ship and/or boat traffic, which are very intense inside *Todos os Santos* bay. The spatial evaluation showed that higher TBT levels (262 ng Sn g<sup>-1</sup> for surface sediments and 421 ng Sn g<sup>-1</sup> for bivalve tissues) were found at the innermost part of the bay, which is less hydrodynamic and surface sediment is finer and richer in organic carbon. The TBT levels detected in tissues of *Mytella guyanensis* from *Rio do Cunha* (S8) represent a potential risk to the human health, since this specie is often eaten by local population and tissue levels were higher than the recommended maximum daily intake dose (250 ng kg<sup>-1</sup>/day). No significant difference (p>0.05) was seen between TBT concentration from sediments sampled in 2010/2011 and 2012. However, the predominance of metabolites (DBI>1) in sediments from 2012 indicates the degradation of old TBT inputs. Thus, the results suggest that recent TBT inputs are lower than those of the past. Nevertheless, a reduction of imposex parameters in *S. rustica* over the last decade indicates a reduction in the contamination by TBT, at least in the outermost and possible less impacted region of the bay. This improvement is related to the implementation of national and international legislations that, for many years, have been prohibiting the use of TBT- based antifouling paints. However, the TBT contamination levels are still environmentally relevant, especially in the inner part of the *Todos os Santos* Bay, since they are above those that cause toxicity to biota.

# 1 INTRODUÇÃO

---

---

Os efeitos da contaminação marinha tem sido uma preocupação de muitas organizações nacionais e internacionais, pois a influência antropogênica sobre os ecossistemas marinhos tem se tornado mais intensa com o passar das décadas. Grande parte dos contaminantes despejados nos mares são originários de fontes terrestres e tendem a se concentrar nas regiões costeiras causando riscos à saúde pública, contaminação das comunidades aquáticas ou mesmo efeitos danosos como, por exemplo, alterações no sistema endócrino (Clark, 2001).

Entre as diferentes formas de contaminação dos ambientes costeiros e oceânicos pela atividade humana pode-se destacar a contaminação causada pelo uso de tintas anti-incrustantes utilizada para combater a incrustação produzida em estruturas submersas por organismos vivos (Castro *et al.*, 2011a). A bioincrustação em embarcações e em outras estruturas pode acelerar os processos de corrosão, aumentar a frequência das atividades de manutenção, gerar maior volume de resíduos, introduzir espécies exóticas no ambiente aquático, bem como aumentar a resistência entre a embarcação e a água devido à rugosidade gerada, provocando redução na velocidade, perda da capacidade de manobra e aumento no consumo de combustível (Yebra *et al.*, 2004).

As tintas anti-incrustantes possuem em sua composição biocidas que minimizam ou inibem o estabelecimento e o crescimento de comunidades incrustantes indesejáveis (*fouling*). Esses biocidas são lixiviados gradativamente para coluna d'água provocando danos ao sistema aquático, principalmente em regiões onde se observa intenso fluxo de embarcações, como por exemplo, as áreas costeiras sobre influência de portos, marinas e estaleiros (Kotrikla, 2009). Sistemas anti-incrustantes são

utilizados desde a antiguidade, quando os cascos das embarcações eram revestidos com uma combinação de óleo, enxofre e arsênio. Em meados do século XX, os óxidos de cobre e zinco passaram a ser amplamente difundidos como biocidas e continuam sendo utilizados atualmente, porém concomitante a outros compostos (Castro *et al.*, 2011a; Yebra *et al.*, 2004).

A fim de melhorar a eficiência biocida e aumentar o tempo entre as docagens, em 1961, foi desenvolvida a primeira tinta anti-incrustante a base de compostos orgânicos de estanho (COEs). Essas tintas utilizavam como princípio ativo tributilestanho (TBT) e/ou trifenilestanho (TPT) em sua composição (Horiguchi *et al.*, 2006). Apesar da eficácia dessas tintas, por volta de 1980 começaram a ser observados impactos relacionados à toxicidade ambiental, mesmo em concentrações muito baixas. Entre os principais efeitos prejudiciais causados por compostos orgânicos de estanho pode-se destacar o “*imposex*”, alteração endócrina que ocorre em moluscos gastrópodes (Ketata *et al.*, 2008), assim como anomalias no desenvolvimento e alteração nas conchas de ostras, fenômeno conhecido como “*balling*” (Alzieu, 2000a)

Devido à elevada toxicidade das tintas a base de compostos organoestânicos sobre espécies não alvo, a Organização Marítima Internacional (OMI) propôs o banimento mundial dessas tintas em 2003, cuja proibição efetiva entrou em vigor somente em 2008 (IMO, 2008). Em decorrência dos problemas ambientais apresentados e o consequente banimento dos COEs, outros biocidas passaram a ser utilizados a partir de 1987. Os biocidas homologados pela OMI para serem utilizados atualmente nas embarcações compreende um grupo de compostos metálicos e orgânicos de diferentes classes químicas, que podem ser utilizados concomitantemente em uma mesma formulação comercial a fim de intensificar a atividade biocida (Thomas e Brooks, 2010). Os compostos que atualmente substituem o TBT em tintas anti-

incrustantes são: Diuron, Irgarol 1051, Sea-Nine (DCOIT), Clorotalonil, Diclofluanida, Tiram, Busan (TCMTB), TCMS Piridina e Trifenilbornano Piridina (TPBP), Zinco Piritiona, Cobre Piritiona, Ziram, Maneb, Óxido Cuproso, Tiocianato de Cobre e Naftenato de Cobre. Esse grupo de compostos é conhecido na literatura especializada como “*Booster biocides*” visto que sua função prioritária é intensificar o efeito biocida dos metais presentes nas tintas (Fernandez e Pinheiro, 2007). Além destes, Tolifluanida, Medetomidina, Capsaicina e a Econeá<sup>®</sup> vem sendo testados como biocidas anti-incrustantes (Thomas e Brooks, 2010).

Embora o uso do TBT tenha sido proibido pela OMI em 2008, sua elevada persistência em sedimentos (principalmente anóxicos – 3 décadas) bem como seu possível uso ilegal geram um passivo ambiental que representa risco real para ecossistemas aquáticos (Castro *et al.*, 2012a). Além disso, os níveis de compostos organoestânicos frequentemente detectados em matrizes ambientais ao redor do mundo estão na mesma faixa de concentração ou acima dos níveis que provocam efeitos danosos à biota, fazendo do mesmo uma contaminante prioritário em áreas sob a influência de tráfego de embarcações (Meador *et al.*, 2011). Por outro lado, os níveis ambientais de TBT e imposex tem reduzido significativamente em vários locais do mundo após a implementação do banimento (Morton, 2009). Sendo assim, é fundamental conhecer as concentrações das espécies de butilestânicos presentes no sedimento e/ou na biota, uma vez que essas informações podem ser valiosas na avaliação do grau de contaminação, histórico dos aportes, bem como sobre as possíveis fontes de contaminação por esses compostos. Além disso, verificar a efetividade das legislações impostas ao uso desse composto em sistemas anti-incrustantes também é fundamental para o gerenciamento do problema.

Nesse contexto, a baía de Todos os Santos, por ser um dos maiores acidentes geográficos da costa brasileira, e abrigar em seu interior polos industriais, terminais portuários, estaleiros e marinas de grande e médio porte, é uma área extremamente susceptível ao impacto produzido pela utilização de sistemas anti-incrustantes (Hatje e Andrade, 2009). Nesse aspecto, estudos previamente realizados nessa região demonstraram a existência de níveis detectáveis de TBT em amostras ambientais (Felizzola *et al.*, 2008; Pletsch *et al.*, 2010). Entretanto, até o momento nenhum estudo de carácter temporal ou relacionado ao pós-banimento mundial do TBT foi realizado na baía de Todos os Santos.

## 1.1 Objetivo Geral

Avaliar espaço-temporalmente a contaminação por compostos butilestânicos (em sedimento superficial e biota) e seu principal efeito (imposex) ao longo da baía de Todos os Santos.

### 1.1.1 Objetivos específicos

- Avaliar espacialmente a contaminação por TBT, dibutilestanho (DBT), monobutilestanho (MBT) em sedimentos superficiais e moluscos bivalves (*Mytella guyanensis* e *Anomalocardia brasilliana*) coletados ao longo da baía de Todos os Santos;
- Avaliar temporalmente a contaminação por butilestânicos em sedimentos superficiais coletados entre os períodos de 2010-2011 e 2012 ao longo da baía de Todos os Santos;
- Avaliar temporalmente os níveis de imposex na espécie *Stramonita rustica* coletados antes (2004) e após (2012) o banimento mundial do TBT ocorrido em 2008.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1 Compostos orgânicos de estanho e aplicações

Os COEs tiveram sua primeira menção de aplicação comercial como “agentes anti-traças” (patenteado em 1925). No entanto, nunca foram utilizados com essa finalidade (Yebra *et al.*, 2004). Anos após, foram usados como estabilizadores em óleo de transformadores e capacitores (patenteado em 1932) e, por volta de 1940, os compostos dibutilestanho e monobutilestanho começaram a se destacar largamente como agentes estabilizantes com a expansão da indústria de plásticos (patenteado em 1940 e em 1943) (Yebra *et al.*, 2004).

A aplicabilidade destes compostos como biocidas contra fungos, bactérias, insetos, entre outros, foi descoberta através de um estudo sistemático realizado pelo Conselho Internacional de Pesquisas sobre Tintas, no Instituto de Química Orgânica em Utrecht, durante a década de 1950 (Godoi *et al.*, 2003). Logo em seguida, esses compostos começaram ser comercialmente utilizados como fungicidas, acaricidas e demais pesticidas (Castro *et al.*, 2007c; Clark *et al.*, 1988). Sendo assim, por volta de 1960, fungicidas estanho (Sn) foram desenvolvidos e comercializados pelas maiores indústrias químicas multinacionais. A companhia alemã Aventis S.A., por exemplo, desenvolveu o herbicida Brestan, utilizando o acetato de trifenilestanho como biocida. A Philips Dufan comercializou o Du-ter baseado no hidróxido de trifenilestanho e provou sua ação no controle de fungos fitopatogênicos que atacam lavouras. Ainda em 1967, a Dow Chemical, lançou o acaricida Plictran baseado no hidróxido de tricicloexilestanho (cyhexatin) e a Bayer AG produziu o Peropal baseado no tricicloexilestanho-1,2,4-triazol (azocyclotin) (Oyewo, 1989).

Na década de 1960, os compostos TBT e TPT passaram a ser utilizados, de forma isolada ou concomitante, como biocidas em tintas anti-incrustantes a fim de evitar a bioincrustação. Esses produtos destacaram-se na época pela sua elevada eficiência e versatilidade (Horiguchi, 1994).

### 2.1.1 Bioincrustação

A bioincrustação é definida como o acúmulo indesejável de micro-organismos, plantas e invertebrados em superfícies submersas na água (Yebra *et al.*, 2004). A Figura 1 mostra exemplos de incrustação em embarcações causada por organismos marinhos.



Figura 1: Embarcações sob ação de incrustações marinhas.

O processo de incrustação consiste, geralmente, em quatro etapas sucessivas (Figura 2). Primeiramente, devido à adsorção promovida por forças físicas e interações eletrostáticas, ocorre o condicionamento de moléculas orgânicas como, proteínas, glicoproteínas e polissacarídeos que estão dissolvidas, na superfície do substrato recém submerso. Em seguida, neste substrato ocorre a colonização por seres unicelulares, tais como bactérias e diatomáceas, formando um biofilme microbiano em um período aproximado de 24 horas. Posteriormente, há a formação de um filme macroscópico devido à aderência de esporos de macroalgas, protozoários e bactérias

que podem ter desorvido na etapa anterior. Finalmente, após algumas semanas, ocorre o estabelecimento do filme propriamente dito formado por organismos eucarióticos. Essa sucessão ecológica proporciona aos organismos incrustantes maior proteção contra predadores, toxinas, variações ambientais e fornece uma fonte de nutrientes. Dessa forma, qualquer superfície mesmo protegida por biocidas pode ser coberta por um biofilme em condições estáticas (Yebera *et al.*, 2004).

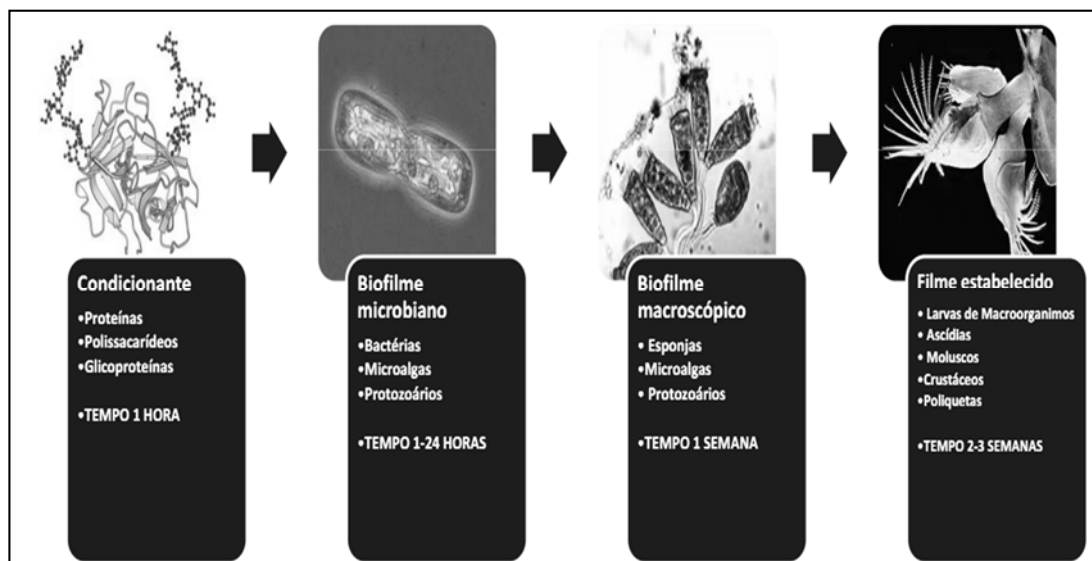


Figura 2: Estabelecimento e crescimento da bioincrustação

Considerando a necessidade de proteger os cascos das embarcações de incrustações biológicas marinhas, muitos compostos foram utilizados em sistemas anti-incrustantes. Entre as diferentes soluções propostas ao longo da história da navegação, as tintas a base de TBT foram as mais bem sucedidas em combater eficientemente a incrustação em embarcações (Almeida, 2007).

Em 1961, foi desenvolvida a primeira tinta anti-incrustante incorporando compostos orgânicos de estanho como biocida (Fernandez e Pinheiro, 2007). Devido a sua grande eficiência, durabilidade e disponibilidade de cores variadas, essas tintas dominaram o mercado a partir da década de 1970. Nessa época essas tintas passaram

a ser utilizados por um grande número de embarcações, revestindo os cascos de 90% de todos os navios construídos no mundo durante a década de 1980 (Godoi *et al.*, 2003; Swennen *et al.*, 1997).

As primeiras tintas a base de organoestânicos continham haletos de tributilestanho misturados diretamente na tinta, ou seja, o biocida era adicionado livremente na resina da matriz sem que houvesse nenhuma combinação química com a mesma. Dessa forma, após a pintura da embarcação ocorria uma rápida e incontrollável liberação do biocida (Figura 3). Como consequência dessa liberação rápida e descontrolada o desempenho do sistema anti-incrustante era rapidamente atenuado. Sendo assim, a durabilidade desse tipo de tinta era inferior a 15 meses, obrigando os proprietários de embarcações a submetê-las a frequentes e onerosos procedimentos de manutenção e repintura (Almeida *et al.*, 2007).

Essas tintas de livre associação começaram a ser desenvolvidas na década de 1950 quando o óxido de cobre era usado como biocida. Elas possuem agentes ligantes baseados em resinas, onde são incorporados os biocidas (Yebra *et al.*, 2004). Estas resinas, por serem solúveis em água do mar, apresentavam fraca resistência mecânica. Além disso, esse tipo de tinta necessitava ser aplicada em camadas relativamente finas e com isso a taxa de liberação dos biocidas não era eficiente, pois a quantidade do composto liberado inicialmente é muito maior que o necessário (Almeida *et al.*, 2007).

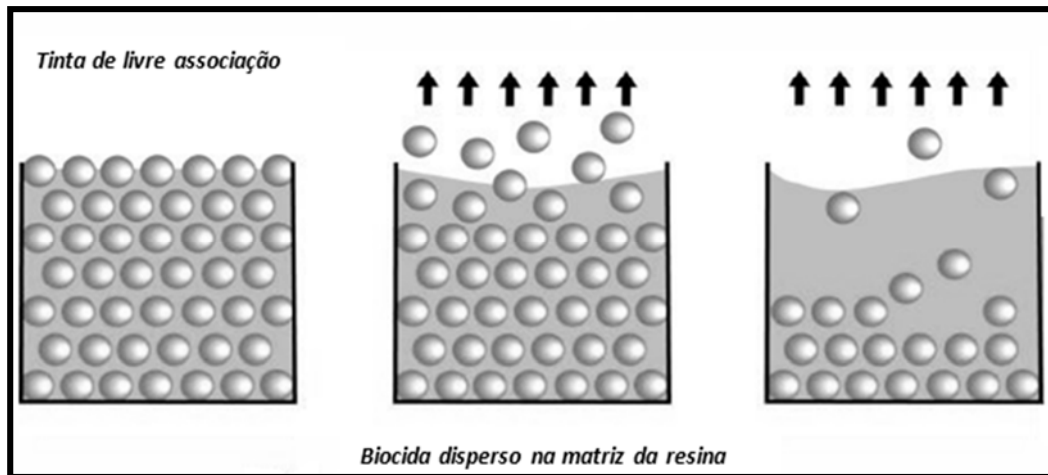
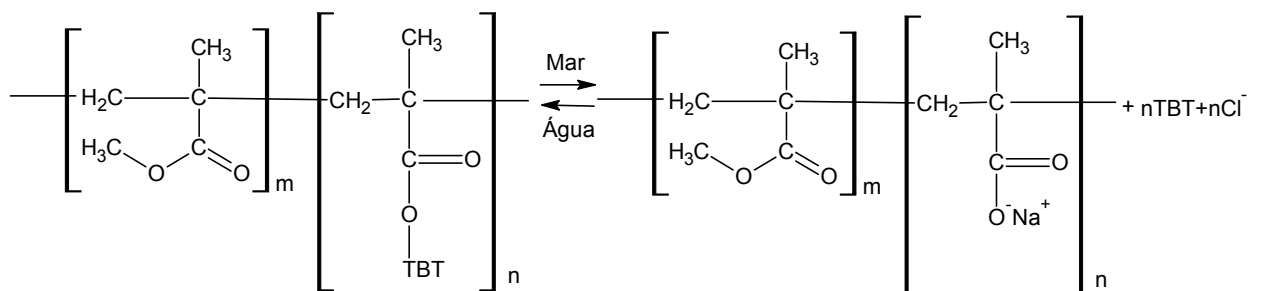


Figura 3: Esquema mostrando o mecanismo de liberação do biocida em tintas de livre associação. (Adaptado de Omae, 2003).

A fim de ampliar a durabilidade das tintas anti-incrustantes disponíveis no mercado foi desenvolvida e patenteada pela Milne e Hails em 1974, a tecnologia de tintas de auto-polimento a base de TBT (TBT-SPC) (Yebra *et al.*, 2004). Essas tintas eram baseadas na combinação de moléculas de TBT com monômeros de acrílico como o metilacrilato de metila. Com a polimerização desses monômeros, através de ligações éster moderadamente solúveis em água do mar, formava-se então o copolímero metacrilato de TBT. Sob condições levemente básicas ocorre, nesse tipo de tinta, a quebra da ligação entre o composto organoestânico e a matriz na presença de água (Reação 1).



Reação 1: Quebra da ligação éster do metacrilato de TBT e consequente liberação do biocida.

Como consequência, os pigmentos solúveis da tinta em contato com a água do mar iniciam um processo de diluição homogênea. Como o copolímero tem caráter hidrofóbico impede que a água penetre na película (camadas da tinta). Dessa forma, conforme as ligações do polímero vão sendo rompidas e a superfície da tinta vai sendo desgastada de forma controlada, há uma liberação a uma taxa constante do biocida. Desta maneira, a liberação de TBT é feita pelo movimento da água sobre a superfície da tinta, a qual vai lentamente sendo polida. Como a liberação do biocida é conduzida pela quebra da ligação química entre o copolímero e o grupo TBT, ao invés da dissolução da partícula na tinta, a taxa de liberação da tinta copolimérica é muito mais lenta quando comparada as tintas de livre associação (Figura 4). Com isso a proteção das embarcações contra a incrustação pode durar de 5 a 7 anos.

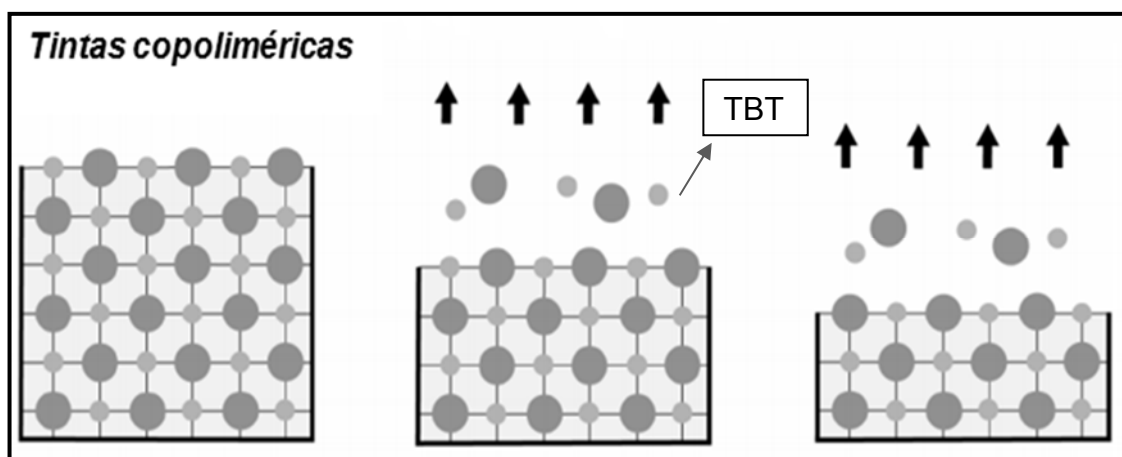


Figura 4: Esquema mostrando o mecanismo de liberação do biocida em tintas copoliméricas. (Adaptado de Omae, 2003).

Desde o início de sua comercialização, em 1974, as tintas de autopolimento têm sido largamente utilizadas nos cascos das embarcações em todo o mundo, pois apresentavam vantagens quando comparadas as tintas de livre associação, tais como: i) liberação de taxas mínimas e constantes de TBT, as quais são controladas pelas condições de polimerização; ii) diminuição na rugosidade da embarcação, bem como

das taxas de corrosão e atrito ocasionando em menor consumo de combustível; iii) elevada eficiência devido ao amplo espectro de organismo atingidos; iv) realização de procedimentos de repintura sem remover a pintura antiga, além da secagem rápida e elevada resistência mecânica (Omae, 2006).

## 2.2 Propriedades físico-químicas dos COEs

Os compostos organoestânicos são caracterizados pela presença de um átomo de estanho (Sn) ligado covalentemente a pelo menos um átomo de carbono (C) e apresentam fórmula geral  $R_n-SnX$ , onde R corresponde aos substituintes orgânicos aril ou alquil (metil, etil, butil, propil, fenil) e X é a espécie aniônica (óxido, hidróxido, cloreto, fluoreto) (Omae, 2006).

O número de ligações Sn-C tem um grande efeito sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas dos COEs, permitindo uma série de aplicações (Hoch, 2001). Entre os compostos butilestânicos (Figura 5), os tetraorganoestânicos não apresentam atividade biológica significativa, enquanto que os triorganoestânicos exibem elevada toxicidade (Omae, 2006).

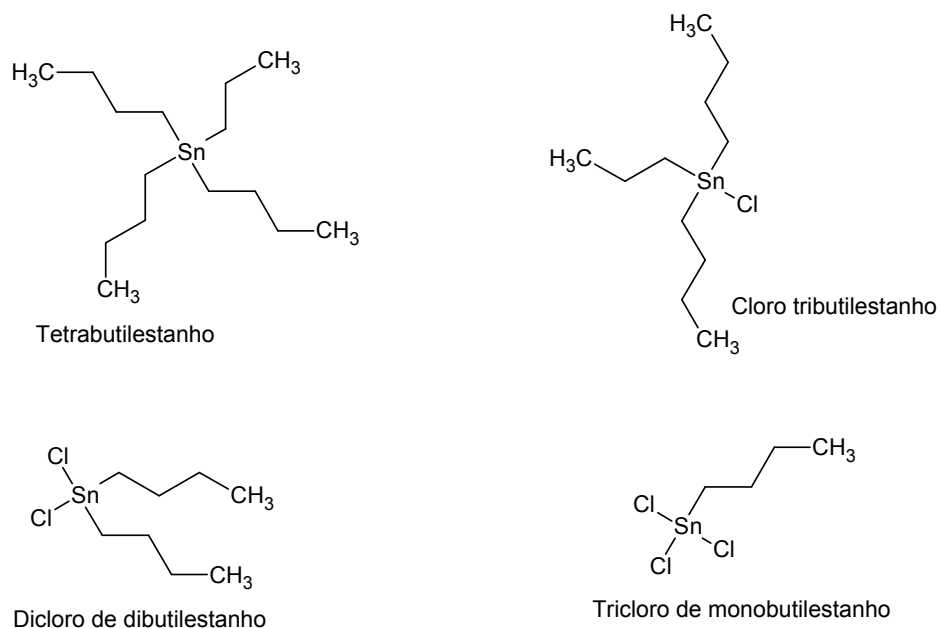


Figura 5: Fórmulas estruturais dos principais butilestânicos clorados.

A ligação Sn-C é estável na presença de água, oxigênio e temperaturas de até 200 °C e, por isso, a degradação térmica não é significativa sobre condições ambientais. Entretanto, sob condições favoráveis como incidência da radiação UV (300-350 nm), ácidos fortes e agentes eletrofilicos, essas ligações são rompidas facilmente e compostos como o tributilestanho podem sofrer sucessivas desalquilações, produzindo o dibutilestanho, monobutilestanho e estanho inorgânico (Gadd, 2000; Hoch, 2001).

Os COEs de interesse ambiental apresentam propriedades que favorecem seu acúmulo no ambiente aquático, como por exemplo, baixa solubilidade em água, caráter lipofílico (elevado  $k_{ow}$ ) e alto coeficiente de partição ( $K_d$ ) (Tabela 1) facilitando, dessa forma, a adsorção ao material particulado em suspensão e ao sedimento (Hoch, 2001).



Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos principais compostos organoestânicos.

Propriedades físico químicas	(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>3</sub> SnX	(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>2</sub> SnX <sub>2</sub>	(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) SnX <sub>3</sub>
Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	325,51 <sup>a</sup>	303,84 <sup>a</sup>	282,18 <sup>a</sup>
Temp. Ebulição (C °)	173 <sup>b</sup>	135 <sup>c</sup>	93 <sup>a</sup>
Densidade (g cm <sup>3</sup> )	1,21 <sup>c</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,69 <sup>a</sup>
Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )	5-50 <sup>d</sup>	5-17 <sup>d</sup>	8,2 <sup>e</sup>
pK <sub>a</sub>	5,51 <sup>d</sup>	n.d.	n.d.
K <sub>ow</sub> (log K <sub>ow</sub> )	3,54 <sup>b</sup>	1,89 <sup>e</sup>	0,18 <sup>e</sup>
K <sub>oc</sub> (log K <sub>oc</sub> )	4,5 <sup>f</sup>	3,35 <sup>e</sup>	1,76 <sup>e</sup>
Coef. Partição (K <sub>D</sub> ) (kg L <sup>-1</sup> )	1,1 x 10 <sup>4a</sup> 4,9 x 10 <sup>5g</sup>	8,5 x 10 <sup>3a</sup> 6,0 x 10 <sup>5g</sup>	4,8 x 10 <sup>3a</sup> 1,3 x 10 <sup>5g</sup>

n.d. não disponível, <sup>a</sup> Sigma-Aldrich, 2012, <sup>b</sup> WHO, 1999 água do mar, <sup>c</sup> Hoch, 2001, <sup>d</sup> Rudel, 2003, <sup>e</sup> Dobson *et al.*, 2006, <sup>f</sup> Meador, 2002, <sup>g</sup> Berg *et al.*, 2001.

Estudos experimentais realizados por Omae (2006) observaram que 87% do TBT (300 ng) adicionado a um sistema composto por 500 mL de água e 1 g de sedimentos estava adsorvido ao material em suspensão após 2 horas (Figura 6), demonstrando assim uma rápida sorção do TBT no sedimento (Langston *et al.*, 2009; Omae, 2006).

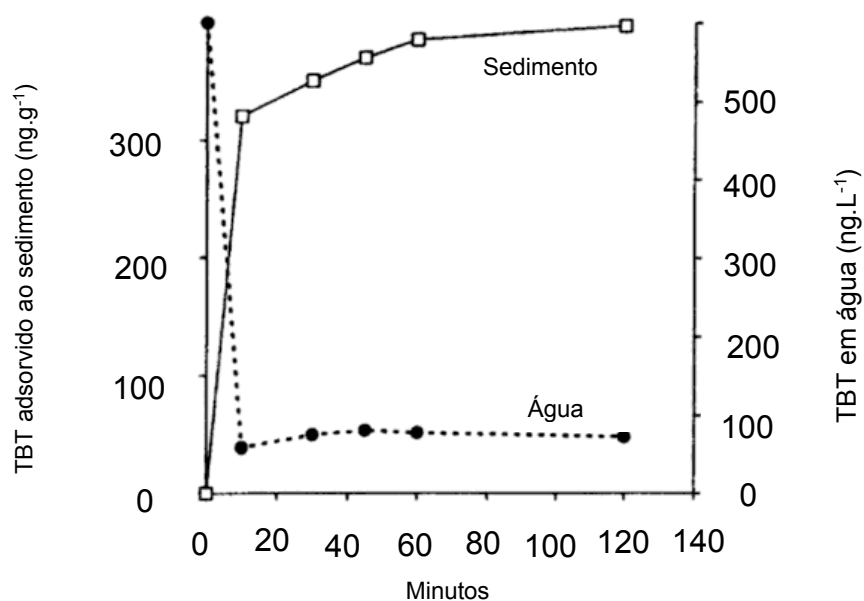


Figura 6: Equilíbrio do TBT entre material particulado e água (Adaptado Omae, 2006).

A solubilidade destes compostos em água do mar depende do pH, da força iônica, da salinidade e da temperatura. Sendo assim, esses compostos podem existir no meio aquoso na forma de par iônico neutro, complexos ou cátions (Rudel, 2003). Geralmente, em condições ambientais com valores de pH menores que 7 predominam as espécies catiônicas como  $\text{Bu}_3\text{SnOH}_2^+$ . Em pH 8 (como observado geralmente na água do mar) encontram-se espécies neutras como  $\text{Bu}_3\text{SnCl}$ ,  $\text{Bu}_3\text{SnOH}$  e  $\text{Bu}_3\text{SnCO}_3^-$ , enquanto que para valores de pH acima de 10 predominam as espécies  $\text{Bu}_3\text{SnOH}$  e  $\text{Bu}_3\text{SnCO}_3$  (EHC, 1990).

O coeficiente de partição octanol/água ( $k_{ow}$ ) mede a distribuição de um composto entre água e matéria orgânica ou biota (Rudel, 2003). Os valores de  $K_{ow}$ , reportados para TBT-OH e TBT-Cl, sob condições de pH e temperatura controlados, estão na faixa de 2,2 a 4,4 e 2,02 a 4,08, respectivamente. Por exemplo, em pH entre 4 e 7, o DBT adsorve mais fortemente em sedimento quando comparado ao TBT. Porém, para valores de pH maiores que 8, a afinidade desses compostos é invertida correspondendo a hidrofobicidade dos compostos (Rudel, 2003).

O tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) do TBT na água do mar pode variar desde horas a semanas. Em condições ambientais e comparativamente a degradação biológica, a fotólise pouco contribui para a degradação dos COEs e tem se mostrado um processo lento ( $t_{1/2} > 89$  dias). Isso ocorre em virtude da baixa transmitância da luz na água já que quase toda energia emitida pela radiação UV (290 nm) é previamente absorvida pela camada de ozônio. Embora a energia dessa radiação seja de  $300 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  e, portanto, suficientemente forte para promover a dissociação de ligações Sn-C que se quebram na faixa de  $190 - 200 \text{ kJ mol}^{-1}$ , isso somente ocorre quando há absorção dessa energia incidente diretamente nos locais aonde se encontram os contaminantes (Carvalho e Santelli, 2010; Omae, 2006). Por outro lado, quando os compostos

organoestânicos são submetidos à degradação química em condições experimentais, ambos os reagentes eletrofilicos e nucleofílicos podem promover a quebra da ligação (Clark *et al.*, 1988).

Geralmente, a presença de espécies mono e dissubstituídas dos compostos organoestânicos no ambiente está relacionada a fatores de degradação bióticos como natureza e densidade da população microbiana, ou abiótica como, por exemplo, fotólise e degradação química (Figura 7). Esta, por sua vez, ocorre em função das espécies predominantes de Sn ( $\text{Sn}^{+2}$  ou  $\text{Sn}^{+4}$ ), da estrutura química, aspectos funcionais da molécula, concentração destes compostos além das condições físico químicas do ambiente (Carvalho e Santelli, 2010).

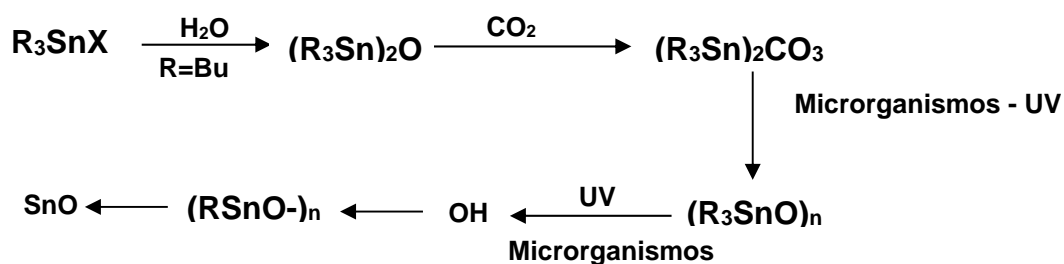


Figura 7: Etapas de degradação dos organoestânicos trissubstituídos. (Adaptado de Omae, 2003).

### 2.3 Distribuição de COEs no ambiente marinho

Os COEs podem entrar no sistema aquático através de diferentes fontes como a lixiviação dos compostos utilizados na agricultura, as redes de esgoto das indústrias de plásticos e as embarcações que trafegam em regiões portuárias, de estaleiros e marinas, sendo esta fonte a mais impactante (Figura 8).

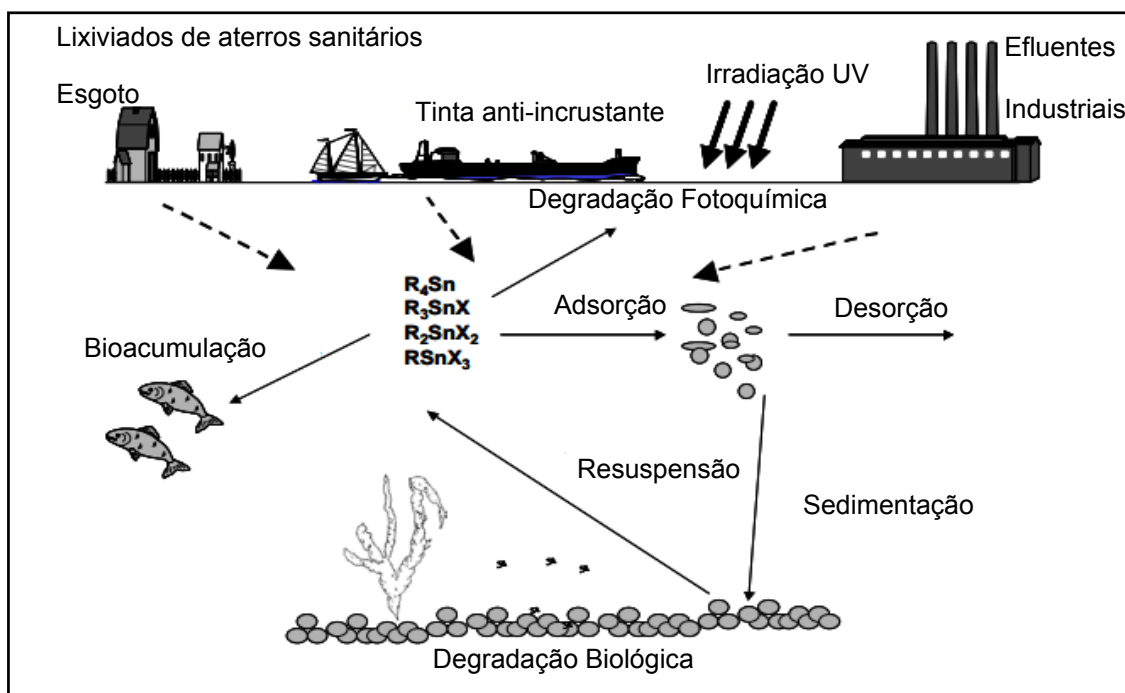


Figura 8: Distribuição e destino dos COEs no ambiente aquático (Adaptado de Hoch, 2001).

Uma vez no ambiente marinho esses compostos, geralmente, são distribuídos nos compartimentos água, sedimento e biota de acordo com as propriedades físico químicas dos contaminantes, condições ambientais, intensidade dos aportes e mecanismos de degradação (Carvalho e Santelli, 2010; Hoch, 2001; Yebra *et al.*, 2004).

### 2.3.1 COEs nos sedimentos

Conforme apresentado anteriormente, no ambiente aquático os compostos triorganoestânicos possuem baixa solubilidade e baixa mobilidade, sendo facilmente adsorvido ao material particulado em suspensão. A deposição desse material leva os COEs para o sedimento e concentrações consideráveis de tributilestanho e seus metabólitos podem ser detectadas nesse compartimento. (Hoch, 2001). Sendo assim, as elevadas concentrações de COEs encontradas nos sedimentos obtidos nas proximidades de áreas com tráfego de embarcações e atividades portuárias são

normalmente provenientes da liberação de TBT pelas tintas anti-incrustantes (Carvalho e Santelli, 2010).

Normalmente, os sedimentos marinhos são vistos como sumidouros de contaminantes e poluentes. No entanto, eles podem agir como fonte de contaminação quando são perturbados ou removidos (Carvalho e Santelli, 2010). A resuspensão dos sedimentos, além de dificultar a recuperação de áreas contaminadas historicamente, pode liberar os compostos para a coluna d'água causando efeitos potenciais à biota exposta. A resuspensão pode ser o resultado de processos naturais, por exemplo, a ação das ondas, correntes de maré, bioturbação e tempestades ou atividades antropogênicas como a dragagem e pesca de arrasto (Carvalho e Santelli, 2010).

### 2.3.2 COEs na biota

Quando os compostos organoestânicos são liberados na coluna d'água rapidamente são absorvidos por algas e bactérias ou adsorvidos ao material em suspensão (Gadd, 2000). As características como hidrofobicidade e persistência no ambiente auxiliam nos processos de bioacumulação e no potencial de biomagnificação ao longo da cadeia trófica (Antizar-Ladislao, 2008).

Enquanto algumas bactérias apresentam uma notável habilidade em acumular contaminantes como o TBT sem maiores efeitos toxicológicos, outros organismos como bivalves e crustáceos são extremamente afetados (Hoch, 2001). Os bivalves podem acumular concentrações significativas de TBT (acima de  $5 \mu\text{g g}^{-1}$ ), enquanto que os crustáceos e peixes acumulam menores concentrações em função do que seu mecanismo enzimático pode metabolizar mais eficientemente esse contaminante (Hoch, 2001).

A acumulação dos contaminantes em organismos pode ocorrer por meio da absorção destes compostos presentes na água ou sedimento através da superfície do

corpo (bioconcentração) ou por meio da alimentação de acordo com a cadeia trófica (biomagnificação) (Rudel, 2003). A bioacumulação dos COEs ocorre principalmente em tecidos com elevado teor lipídico (fígado, vísceras, músculo) e sua extensão é influenciada pela metabolização. Além disso, os fatores de bioconcentração (BCF) de organoestânicos podem variar consideravelmente de acordo com o grupo taxionômico e condições ambientais (Ohji, 2009).

## 2.4 Toxicidade dos compostos orgânicos de estanho

A toxicidade dos compostos orgânicos de estanho para organismos aquáticos está diretamente relacionada com o tempo de exposição, níveis de concentração, biodisponibilidade, sensibilidade dos organismos bem como sua persistência ambiental (Rudel, 2003).

Os efeitos biológicos dos compostos orgânicos de estanho dependem tanto da natureza quanto do número de grupamentos orgânicos ligados ao átomo de estanho (Hoch, 2001). Os compostos trissubstituídos ( $R_3-SnX$ ) apresenta maior toxicidade quando comparado com o composto dissustituído ( $R_2-SnX$ ) que, por sua vez, apresenta maior toxicidade que o composto monossustituído ( $R_1-SnX$ ). Já os tetrasubstituídos apresentam baixa toxicidade e o Sn inorgânico é um elemento essencial para o organismo (Arambarri *et al.*, 2003; Hoch, 2001). Além disso, a toxicidade dos COEs está relacionada com as interações entre os contaminantes e a membrana lipídica devido a lipofilicidade destes compostos (Rumengan e Ohji, 2009). Adicionalmente, estudos realizados por White *et al* (1999) mostraram que os COEs atuam toxicologicamente tanto na membrana citoplasmática quanto no meio intracelular (Rumengan e Ohji, 2009)

Cerca de 20 anos após a introdução e intensa utilização dos compostos orgânicos de estanho em sistemas anti-incrustantes foram detectados efeitos deletérios graves sobre organismos não alvo (Kotrikla, 2009). O primeiro caso em que foi comprovada ação tóxica destes compostos ocorreu no final dos anos 70 em ostras da espécie *Crassostrea gigas* na baía de Arcachon (França), em uma área cercada por marinas e pequenos portos (Alzieu, 2000a). Devido à elevada contaminação do ambiente por TBT houve uma diminuição significativa do número de jovens recém-fixados, anomalias no desenvolvimento das larvas e uma alteração no formato das conchas (denominada “balling”), causada por uma deficiência na calcificação (Alzieu, 2000a).

Posteriormente ao caso da baía de Arcachon, um grande número de estudos reportaram efeitos deletérios do TBT sobre uma grande variedade de organismos (Tabela 2). Esses efeitos variavam conforme o grupo taxonômico ou o grau de exposição.

Tabela 2: Grupos de organismos afetados pela contaminação por compostos orgânicos de estanho e seus respectivos efeitos.

Grupo	Efeito (faixa de concentração)	Referência
Moluscos bivalves	Anomalias reprodutivas (20 ng L <sup>-1</sup> ) Anomalias nas conchas (<2 ng L <sup>-1</sup> )	(Alzieu, 2000b)
Moluscos gastrópodes	Imposex (<1 ng L <sup>-1</sup> )	(Blaber, 1970; Smith, 1971)
Crustáceos	Anomalias reprodutivas (<500 µg L <sup>-1</sup> )	(Ohji, 2009)
Urochordata	Alterações a nível celular (10 µg L <sup>-1</sup> )	(Villa <i>et al.</i> , 2003)
Peixes	Alterações metabólicas (1 – 10 µg L <sup>-1</sup> )	(Meador <i>et al.</i> , 2011; Mochida e Fujii, 2009)
Aves	Imunossupressão (~10 µg g <sup>-1</sup> )	(Kannan <i>et al.</i> , 1997; Tanabe, 2002)
Mamíferos	Imunossupressão (~10 µg g <sup>-1</sup> )	((Kannan <i>et al.</i> , 1997);Tanabe, 2002)

O efeito biológico mais relevante relacionado à exposição de organismos vivos aos COEs é o “*imposex*”. Neste fenômeno ocorre o desenvolvimento de caracteres sexuais masculinos, como por exemplo, túbulos seminais e/ou canais deferentes e pênis em fêmeas de gastrópodes (Figura 9). O mecanismo de indução e desenvolvimento do imposex não se encontra ainda totalmente esclarecido, porém a hipótese mais aceita é que o TBT atua na inibição da excreção de testosterona livre em moluscos gastrópodes (Fent, 2003; Fromme *et al.*, 2005; Gibbs e Bryan, 1987; Ronis e Mason, 1996). Os níveis e a frequência de “*imposex*” estão diretamente relacionados as concentrações de TBT detectadas no ambiente e estes são frequentemente mais intensos nas proximidades de portos, estaleiros e marina (Godoi *et al.*, 2003).

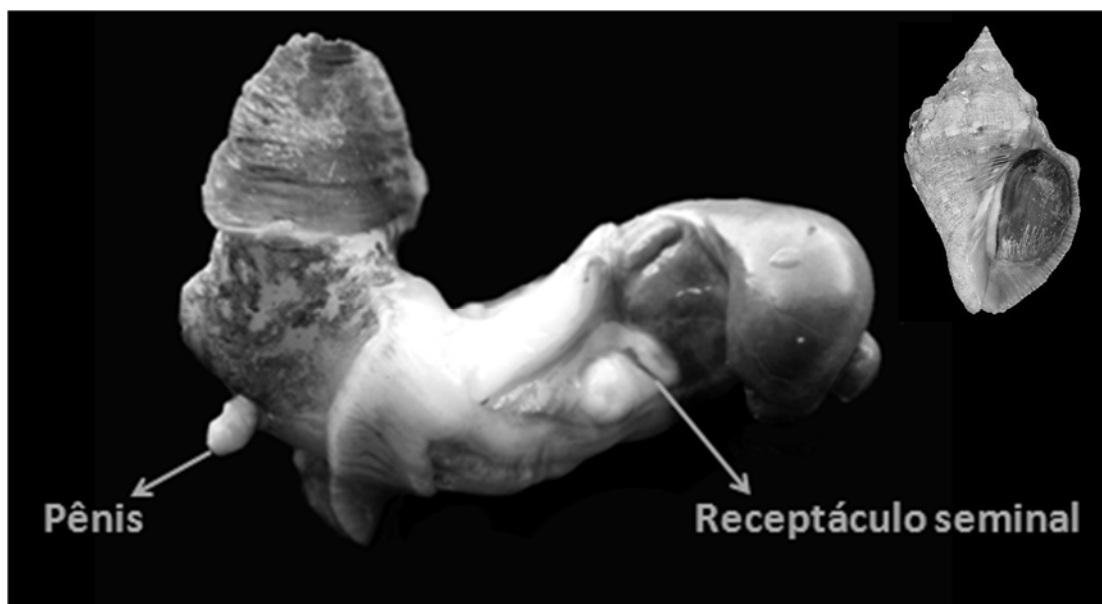


Figura 9: Fêmea de gastrópode *Stramonita hemastoma* apresentando imposex Adaptado Castro *et al.*,(2012a).

Devido a existência de uma relação direta entre os níveis de contaminação ambiental por TBT e a ocorrência de imposex, essa alteração tem sido usada com um importante biomarcador de baixo custo e fácil aplicação para mapear áreas impactadas por esse contaminante (Matthiessen e Gibbs, 1998). Os níveis de imposex podem ser quantificados baseados na relação entre o comprimento do pênis das fêmeas e dos



machos, tais como o índice do comprimento relativo do pênis (RPLI) e índice do tamanho relativo do pênis (RPSI). Além disso, o índice de desenvolvimento do vaso deferente em fêmeas (VDSI), proposto por Gibbs e Bryan para a espécie *Nucella lapillus*, também pode ser utilizado para quantificar a intensidade dessa alteração.

Adicionalmente, um estudo realizado por Queiroz *et al* (2007) foi baseado em três diferentes sequencias para o desenvolvimento de caracteres sexuais masculinos, (Figura 10). Segundo os autores, em “a” ocorre imposex com o desenvolvimento do pênis e do vaso deferente, enquanto que em “b” ocorre o desenvolvimento do vaso deferente sem o desenvolvimento do pênis, permanecendo apenas com uma papila, e em “c” incide somente o desenvolvimento do vaso deferente. Além disso, cada sequencia (a, b ou c) foi dividida em quatro fases, conforme descrito a seguir:

Ia: surgimento da papila próximo ao tentáculo direito.

Ila: ocorre o desenvolvimento de um vaso deferente com 1/3 do comprimento do pênis (inferior a 2 mm).

III: o pênis é maior que 2 mm e os canais deferentes atinge 2/3 do seu comprimento total.

IV: o vaso deferente está completo ligado a glândula da cápsula.

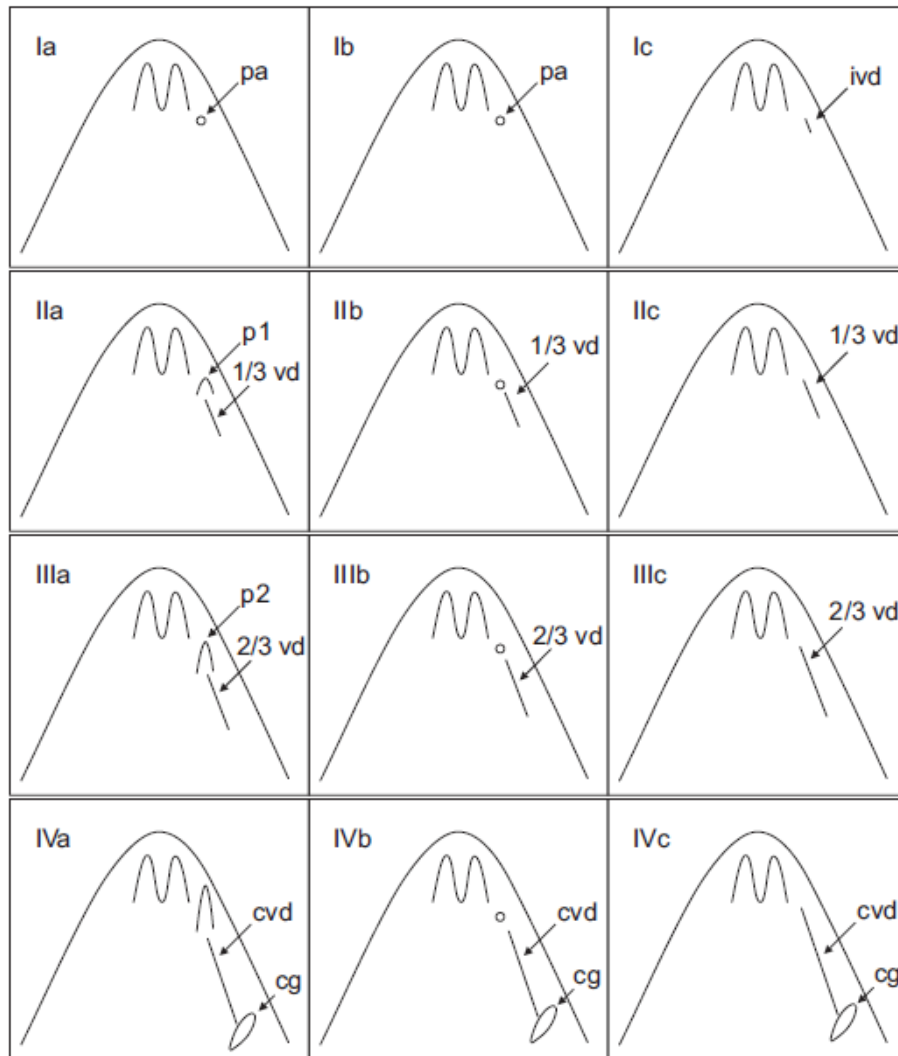
Para as sequencias b e c as fases foram baseadas somente no desenvolvimento do vaso deferente:

I: papila ou inicio da formação do vaso deferente iniciais.

II: vaso deferente com 1/3 do seu comprimento.

III: vaso deferente atinge 2/3 do seu total comprimento.

IV: vaso deferente completamente formado.



Pa: papila; Ivd: início vaso deferente; P1: pênis menor que 2 mm; 1/3vd: vaso deferente com 1/3 de comprimento; p2: pênis maior que 2mm; 2/3 vd: vaso deferente com 2/3 do comprimento; cg: glândula da cápsula.

Figura 10: Índice de desenvolvimento de imposex proposto para a espécie *Stramonita haemastoma*. (Queiroz et al., 2007)

## 2.5 Ocorrência ambiental de TBT e de seus produtos de degradação antes do banimento mundial

A intensa utilização do TBT gerou níveis elevados desse contaminante nos diferentes compartimentos marinhos, sobretudo em regiões onde havia atividades

portuárias, canais de navegação, marinas e estaleiros (Langston e Pope, 1995). Estudos mostraram que nestas regiões os sedimentos marinhos apresentam maiores níveis de contaminação quando comparados com sedimentos obtidos distante destes pontos (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações de TBT, DBT e MBT (ng Sn g<sup>-1</sup>, peso seco) em sedimentos oriundos de áreas portuárias de diversas regiões do mundo antes do banimento mundial.

Local (Referência)	TBT	DBT	MBT
Baía Blanca, Argentina (Delucchi <i>et al.</i> , 2006)	3288	1645	Na
Crystal Lake, EUA (Landmeyer <i>et al.</i> , 2004)	14000	350	320
Barreira de coral, Austrália (Haynes e Loong, 2002)	1275	71	161
Costa de Sanricu, Japão (Harino <i>et al.</i> , 2007)	14000	3400	3300
Costa nordeste, Espanha (Díez <i>et al.</i> , 2002)	7673	3519	1131
Porto de Barcelona, Espanha (Díez <i>et al.</i> , 2006)	4702	2607	440

Na: Não analisado

Cabe ressaltar que, nos dados apresentados abaixo, as concentrações de TBT são, em geral, bem maiores que as concentrações dos produtos de degradação, indicando, portanto, um aporte recente desse composto nas respectivas áreas (Díez *et al.*, 2003). Similarmente, para organismos marinhos, antes do banimento mundial do TBT, os níveis detectados desses compostos eram também extremamente elevados (Tabela 4).

Tabela 4: Concentrações de TBT, DBT e MBT (ng Sn g<sup>-1</sup> peso seco) em organismos marinhos habitantes de áreas portuárias de diversas regiões do mundo antes do banimento mundial.

Local (Referência)	TBT	DBT	MBT
<u>Cetáceos</u>			
Costa do Japão (Iwata <i>et al.</i> , 1994)	700	2900	1300
Ayukawa, Japão (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	350	1200	510
Taiji, Japão (Kim <i>et al.</i> , 1996b)	820	2400	430
Sanriku, Japão (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	230	430	97
Taiji, Japão (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	180	1600	710
Hong Kong, Japão (Takahashi, 2000)	530	2200	920
Itália (Kannan <i>et al.</i> , 1996)	330	1200	180
Florida, EUA (Kannan <i>et al.</i> , 1997)	200	1900	640
Rio São Lourenço, Canadá (Yang <i>et al.</i> , 1998)	12.4	78.9	82,5
Mar Brack, Turquia (Madhusree <i>et al.</i> , 1997)	26	132	23
Dongshan, China (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	70	670	130
Mar Sulu, Filipinas (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	21	32	3,1
Baía de Bengala, Índia (Tanabe <i>et al.</i> , 1998)	54	47	22
Hokkaido, Japão (Kim <i>et al.</i> , 1996a)	21	110	90
<u>Moluscos Bivalves</u>			
Shiangsan, Taiwan (Hung <i>et al.</i> , 1998)	1510	122	24
Rinella, Malta (Axiak <i>et al.</i> , 2000)	1630	4200	5500
Porto Brandão, Portugal (Barroso <i>et al.</i> , 2004)	789	345	605
St. Lawrence, Canadá (St-Jean <i>et al.</i> , 1999)	671	378	161
San Anton, Espanha (Ruiz <i>et al.</i> , 2005)	1856	2094	1243
Bohai, China (Yang <i>et al.</i> , 2006)	205	26	21
<u>Moluscos Gastrópodes</u>			
Baía Mirs, China (Chan <i>et al.</i> , 2008)	199	174	15
Ilhas Virgens, Caribe (Strand <i>et al.</i> , 2009)	101	78	62
Ria Aveiro, Portugal (Barroso e Moreira, 2002)	147	180	77
Barcelona, Espanha (Sole <i>et al.</i> , 1998)	58	34	12

Pelo exposto conclui-se que as elevadas concentrações dos TBT e seus produtos de degradação no sistema marinho tornou-se um grave problema ambiental e de ordem mundial. Para minimizar os impactos ambientais causados, os organismos governamentais locais, regionais e, mais tarde, de ordem mundial, estabeleceram medidas restritivas quanto à utilização de compostos organoestânicos em tintas anti-incrustantes.

## 2.6 Legislação

A toxicidade dos compostos orgânicos de estanho em organismos não alvos levou vários países a regulamentar o uso de tintas anti-incrustantes a base de TBT (Dafforn *et al.*, 2011). O governo Francês foi o primeiro a propor medidas restritivas quanto à utilização das tintas anti-incrustantes contendo biocidas organoestânicos. Isso ocorreu após um grande impacto na produção de ostras na Baía de Arcachon (Alzieu, 2000a). Sendo assim, em janeiro de 1982 o ministério do meio ambiente Francês proibiu o uso dessas tintas em embarcações com comprimento inferior a 25 m. Essa medida levou em consideração o fato de que embarcações de pequeno porte passam a maior parte do tempo atracadas em marinas e, conseqüentemente, eram as maiores contribuintes para a contaminação de TBT através da lixiviação passiva de seus revestimentos. Entretanto, o uso de sistemas a base de TBT continuou permitido na França para embarcações com cascos de alumínio com tamanho superior a 25 m (Alzieu, 2000a; Dafforn *et al.*, 2011).

Medidas semelhantes foram adotadas na Inglaterra em 1987, que estabeleceu limites da concentração de TBT de  $2 \text{ ng L}^{-1}$  em água, além da proibição do uso das tintas em embarcações menores que 25 m de comprimento (Champ, 2000).

Posteriormente, diversos países como Estados Unidos em 1988, Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Suécia em 1989, Alemanha e Japão em 1990 também impuseram restrições ao uso do TBT em sistemas anti-incrustantes (Champ, 2000).

Até meados de 2001 várias convenções regionais, nacionais e internacionais foram estabelecidas a fim de regulamentar a utilização dos compostos orgânicos de estanho (Sonak *et al.*, 2009). A convenção de Barcelona foi aprovada em 1980 a fim de proteger o Mar Mediterrâneo contra poluição de fontes terrestres (Sonak *et al.*, 2009). Em 1989 as Partes da convenção proibiram o uso de tintas anti-incrustantes baseadas em organoestânicos para cascos de embarcações com comprimento inferior a 25 metros (Champ, 2000). Similarmente, a Convenção de Helsínquia aprovada em 1992 com objetivo proteger o ambiente marinho do Mar Báltico, proibiu a utilização de compostos organoestânicos em tintas anti-incrustantes para estruturas de pesca e embarcações de lazer (Sonak *et al.*, 2009).

Em 1992, em Paris, foi aprovada a PARCON (Convenção de Paris), que proibiu a comercialização e uso das tintas anti-incrustantes à base de TBT em embarcações de lazer e estruturas destinadas a aquicultura (PARCOM, Recomendações 87/1). Adicionalmente, a PARCOM adotou medidas para reduzir a contaminação por estes compostos provenientes das atividades de docagem (PARCON, Recomendações 88/1). Em 1998, a PARCON foi substituída pela OSPAR (Oslo e Paris), a qual tinha como principal objetivo proteger o ambiente marinho do Atlântico Norte (Sonak *et al.*, 2009).

Além destas, várias outras convenções que visam à proteção do ambiente marinho estão indiretamente relacionadas com a contaminação por organoestânicos, como por exemplo, a Convenção de Água de Lastro, Convenção de Bamako, Convenção de Londres, Convenção da Basileia, entre outros (Sonak *et al.*, 2009).

Apesar das sanções impostas ao uso do TBT através das convenções citadas, o caráter regional das mesmas produziu pouco impacto sobre os níveis de contaminação. Sendo assim, a Organização Marítima Internacional (OMI) propôs a proibição global do uso de COEs em sistemas anti-incrustantes. Para isso, criou o comitê de Proteção do Ambiente Marinho (MEPC) em outubro de 2001 e estabeleceu a Convenção Internacional sobre o Controle de Sistemas Anti-incrustantes em Navios (ASF). Sob esta convenção o banimento global da aplicação dos organoestânicos em tintas anti-incrustantes foi agendado para janeiro de 2003, tendo prazo até janeiro de 2008 para a remoção completa destes revestimentos nos cascos das embarcações (IMO, 2005). Sob os termos dessa Convenção, as Partes (46 países, inclusive o Brasil) estariam obrigadas a proibir e/ou restringir o uso de compostos organoestânicos em sistemas anti-incrustantes nas embarcações (IMO, 2005). Entretanto, muitos países asiáticos como China, Malásia, Taiwan entre outros, não assinaram a convenção AFS de 2001 e também não restringiram o uso de organoestânicos nas tintas anti-incrustante. Tal situação pode prejudicar o objetivo da convenção AFS contribuindo com o aumento da contaminação por COEs no ambiente marinho (Sonak *et al.*, 2009).

Alguns países da América do Sul também adotaram medidas para regulamentar o uso de organoestânicos. Na Argentina, a Prefeitura Naval, instituição que regulamenta o transporte marítimo, proibiu em 1998 através da Resolução 04/98 o uso de tintas anti-incrustantes a base de TBT em todas as embarcações. No Chile foi estabelecida pelo instituto nacional de normalização uma resolução apenas para estanho metálico, onde o limite permitido para este composto em áreas de proteção costeira é de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  (Castro *et al.*, 2012b).

No Brasil, o uso de tintas anti-incrustantes à base de TBT foi banido em novembro de 2007 através da portaria 23 das Normas da Autoridade Marítima para o

Controle de Sistemas Anti-incrustantes Danosos em Embarcações (NORMAM-23/DPC). Adicionalmente, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), na resolução nº 357 de 2005 estabeleceu limites máximos de TBT em água estabelecendo concentrações máximas permitidas de acordo com a classificação das mesmas. Para águas salobras de Classe I a concentração é de  $0,010 \mu\text{g L}^{-1}$ , águas doces de Classe II de  $0,063 \mu\text{g L}^{-1}$ , águas salinas e salobras de Classe II de  $0,37 \mu\text{g L}^{-1}$  e para águas doces de Classe III a concentração é de  $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$  (CONAMA, 2005).

Considerando as propriedades físico químicas do TBT, como sua baixa solubilidade em água, elevada afinidade pelo material particulado e alta persistência ambiental, o compartimento preferencial para acúmulo desse composto é o sedimento. Porém, somente na Resolução nº 454 de 2012, que dispõe sobre a qualidade de sedimentos e material dragado, foram estabelecidas concentrações máximas permitidas para o TBT. Esta mesma Resolução estabelece a realização de ensaios químicos e ecotoxicológicos quando houver evidência ou histórico de uso desse composto no local a ser dragado. Os limites máximos de concentração permitidos para o sedimento proveniente de águas salinas ou salobras é de  $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$  (Nível 1) e  $1000 \mu\text{g Kg}^{-1}$  (Nível 2) (CONAMA, 2012). Entretanto, no Brasil, apesar da legislação vigente proibir o uso de TBT em tintas anti-incrustantes, a empresa CESBRA Química S/A indica que o óxido e o cloreto de tributilestanho são produzidos e comercializados livremente no Brasil (CESBRA, 2013).

## **2.7 Preparo de amostras e técnicas de quantificação**

A determinação precisa dos níveis de compostos organoestânicos em amostras ambientais requer, geralmente, um preparo de amostras e análise química constituídos



de várias etapas que dependem das propriedades físico-químicas dos compostos a serem analisados, da matriz em estudo e da técnica de análise utilizada.

O preparo da amostra é considerado uma das etapas mais importantes da análise química, pois cada etapa analítica pode afetar a exatidão e a precisão do resultado final. Assim, a amostra deve ser submetida a um tratamento adequado visando sua preparação para determinar os analitos (Antizar-Ladislao, 2008). Em uma amostra sólida, por exemplo, o tratamento pode variar desde um simples polimento na superfície da amostra, até a completa transformação da mesma para que se torne compatível com o método de determinação (Antizar-Ladislao, 2008).

Considerando o impacto ambiental causado pela contaminação por COEs, vários métodos analíticos foram desenvolvidos a fim de verificar a ocorrência e o comportamento ambiental desses compostos (Abalos *et al.*, 1997). A maioria dos programas de monitoramento da contaminação por TBT realizam análises na biota (principalmente moluscos gastrópodes e bivalves) e sedimento, pois estas matrizes acumulam maiores concentrações e permitem avaliar a contaminação proveniente de aportes mais antigos (Godoi *et al.*, 2003). Os COEs estão distribuídos nas matrizes ambientais concomitantemente com outros compostos químicos ou associados a outros, como por exemplo, carbonatos, hidróxidos, entre outros, e em função disso, é necessário fazer um tratamento prévio para eliminar interferentes das amostras e garantir a quantificação exata da concentração dos analitos de interesse (Abalos *et al.*, 1997).

A extração dos analitos a partir de amostras de sedimento é, geralmente, realizada através da lixiviação ácida utilizando os ácidos clorídrico, acético ou bromídrico, pois os compostos organoestânicos não estão envolvidos em processos mineralógicos, estando apenas adsorvidos à superfície do sedimento, sendo

desnecessária a dissolução completa da matriz (Abalos *et al.*, 1997). As técnicas de extração tradicionalmente usadas para matrizes sólidas são banho de ultrassom, agitação mecânica, soxhlet, radiação micro-ondas ou extração com líquido pressurizado. Já os solventes orgânicos normalmente utilizados são o hexano, tolueno ou diclorometano (Antizar-Ladislao, 2008; Godoi *et al.*, 2003).

As concentrações de organoestânicos em água, na maioria das vezes, estão na faixa de  $\text{ng L}^{-1}$  e para quantificá-las são necessárias técnicas sensíveis e/ou grande volume de amostra, juntamente com a aplicação técnicas de pré-concentração (Antizar-Ladislao, 2008). Normalmente, as técnicas de extração de organoestânicos em água do mar envolvem derivatização direta com organoboratos ou hidreto em meio ácido, seguido de extração líquido-líquido, extração em fase sólida (SPE), micro-extração em fase sólida (MSPD) ou extração por sorção com barra de agitação (SBSE). Recentemente estão sendo propostas técnicas miniaturizadas, como a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e microextração em gota suspensa – *Headspace* (HS-SDME) (Antizar-Ladislao, 2008).

Para a identificação e quantificação dos COEs presente nas amostras ambientais as técnicas devem apresentar sensibilidade e seletividade. A cromatografia de fase gasosa (CG) é a técnica mais utilizada, pois apresenta maior resolução e permite a determinação simultânea de espécies como os COEs mono-, di- e tris-substituídos. Além disso, essa técnica apresenta grande versatilidade no acoplamento com detectores como espectrometria de absorção atômica, espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, detecção por ionização de chama, detecção por captura de elétrons, detecção fotométrica de chama, detecção fotométrica de chama pulsante, detecção por espectrometria de massas, sendo este último um dos mais utilizados (Abalos *et al.*, 1997).

Para serem analisados por CG, entretanto, os analitos de interesse devem ser voláteis e estáveis em temperaturas até 380 – 400 °C (Abalos *et al.*, 1997). Sendo assim, como os COEs não atendem a esse pré-requisito, para empregar esta técnica é necessário a obtenção dos derivados voláteis dos organoestânicos mono, di e tris-substituídos. Dessa forma, diferentes procedimentos de derivação podem ser realizados, tais como geração de hidreto com boro hidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), etilação com tetraetilborato de sódio (NaBEt<sub>4</sub>) e formação de derivados alquilados via reação de Grignard, sendo este último o mais utilizado (Abalos *et al.*, 1997).

A cromatografia de fase líquida (CL) apesar da grande vantagem de não necessitar o processo de derivação, apresenta algumas limitações como baixa sensibilidade e identificação de um número menor de espécies em comparação a CG. Mesmo assim, a CL é utilizada na análise de compostos organoestânicos e suas condições cromatográficas ainda estão sendo otimizadas para melhorar o desempenho analítico (Abalos *et al.*, 1997; Camino-Sánchez *et al.*, 2012).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

---

---

#### 3.1 Área de estudo

A baía de Todos os Santos, localizada no estado da Bahia e situada próxima a cidade de Salvador (12° 50' S e 38° 38' W), é o segundo maior recuo da costa brasileira com uma área aproximada de 1233 km<sup>2</sup> e uma profundidade média de 9,8m. Além disso, é bordejada por manguezais dos estuários dos rios Paraguaçu, Subaé, Jaguaripe, entre outros. Apresenta riqueza de fauna e flora e ainda agrega duas pequenas baías em seu interior: baía do Iguape e de Aratu. O entorno da baía apresenta elevado índice demográfico (aproximadamente cerca de 2,7 milhões de pessoas) (IBGE, 2010), e comporta o maior complexo petroquímico do hemisfério sul, além da indústria de celulose e extração dos recursos naturais.

##### 3.1.1 Distribuição do sedimento superficial

Na baía de Todos os Santos são encontradas diferentes distribuições texturais dos sedimentos superficiais, podendo ser de origem terrígena e/ou biogênica (Figura 11) (Lessa e Dias, 2009). Observa-se fácies arenosa distribuída principalmente no canal de Salvador, no centro-leste da baía e no canal do rio Subaé no extremo norte. Ao norte, na baía de Iguape, concentram-se as fácies argilosa e argilo-arenosa, além do canal de Itaparica. As fácies arenosas também estão concentradas no canal de São Roque em alguns pontos no canal de Itaparica, no centro e norte da baía de Todos os Santos.

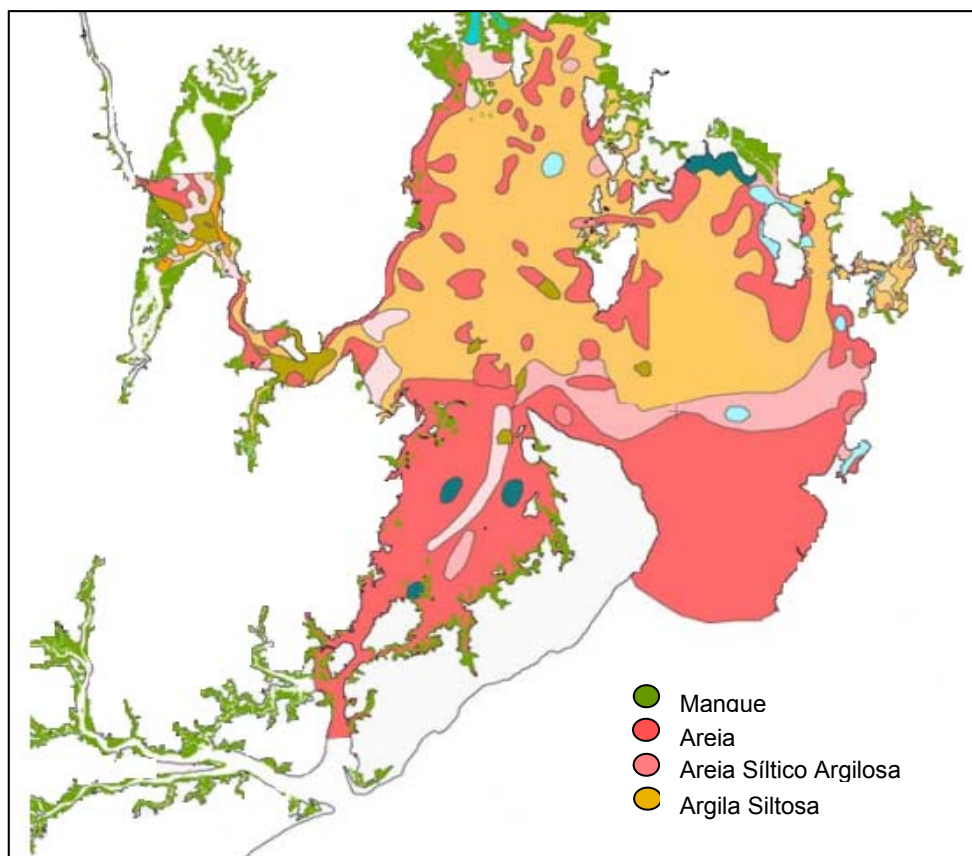


Figura 11: Distribuição do sedimento superficial dentro da baía de Todos os Santos (Adaptado de Lessa *et al.*, 2010).

### 3.1.2 Ciclo hidrológico

A baía de Todos os Santos é uma reentrância costeira que pode ser geomorfologicamente classificada como “baía de maré”. Por “baía de maré” entende-se uma classe de estuários, formados por processos tectônicos de larga escala e apresentando salinidades que variam de oceânica à salobra (Lessa e Dias, 2009).

A circulação da água no interior da baía de Todos os Santos é forçada predominantemente pelas marés e não varia significativamente ao longo do ano. Por outro lado, as estações como o inverno e o verão causam alterações expressivas nas propriedades das águas no interior da baía. Durante o período seco, a água dentro da baía apresenta características oceânicas, com exceção na foz do Rio Paraguaçu. Durante o período chuvoso, com o aumento do aporte de água doce, ocorrem

variações na salinidade o que pode dificultar a entrada da água oceânica predominando água costeira ao longo de toda a baía (Genz *et al.*, 2006).

### 3.2 Avaliação da contaminação por COEs na baía de Todos os Santos

A avaliação dos níveis produzidos pelo uso de tintas anti-incrustantes a base de TBT na baía de Todos os Santos foi realizada inicialmente através de uma abordagem espacial, onde foram avaliados os níveis de butilestânicos (TBT, DBT e MBT) em amostras de sedimentos e moluscos bivalves coletados entre os meses de Fevereiro de 2010 e Abril de 2011 em 11 pontos distribuídos na baía de Todos os Santos (Figura 12, Tabela 5).

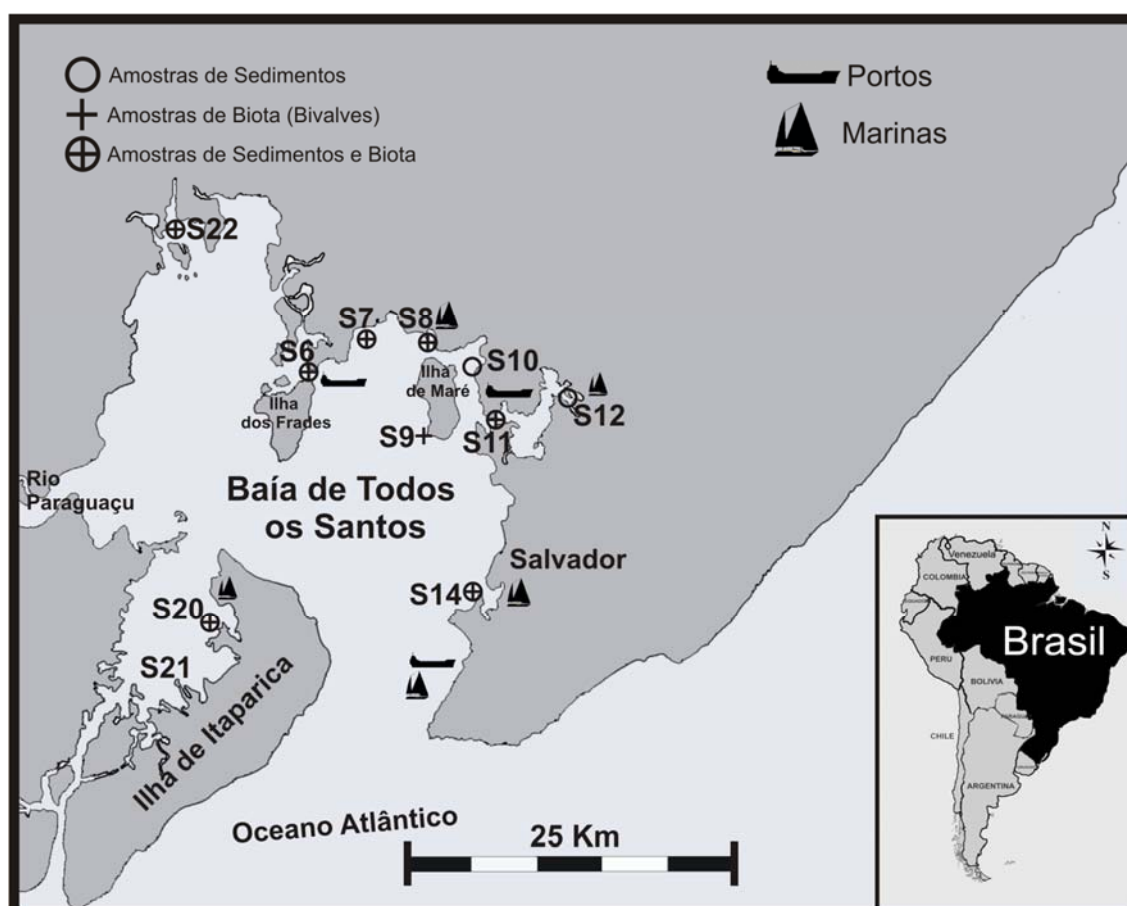


Figura 12: Pontos de amostragem de sedimentos (o) e moluscos bivalves (+) coletados entre fevereiro de 2010 e abril de 2011 na baía de Todos os Santos.

Posteriormente, durante o mês de junho de 2012, foi realizada uma avaliação da ocorrência de imposex na espécie *Stramonita rustica* coletada em 17 pontos sendo 7 destes os mesmos estudados em 2004 por Castro et al. (Castro *et al.*, 2007b) (Figura 13), possibilitando assim uma avaliação temporal. Da mesma forma, durante a amostragem de 2012 também foram coletadas amostras de sedimentos em 10 pontos, sendo alguns dos mesmos pontos amostrados para a avaliação espacial realizada entre 2010 e 2011 (Tabela 5).

As amostragens correspondentes a campanha de 2010/2011 foram realizadas pelo Laboratório de Oceanografia Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e as coletas referentes à campanha de 2012 foram realizadas no âmbito do projeto “Impacto da utilização de tintas anti-incrustantes nos principais terminais brasileiros (AIBRASIL)” o qual é financiado pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

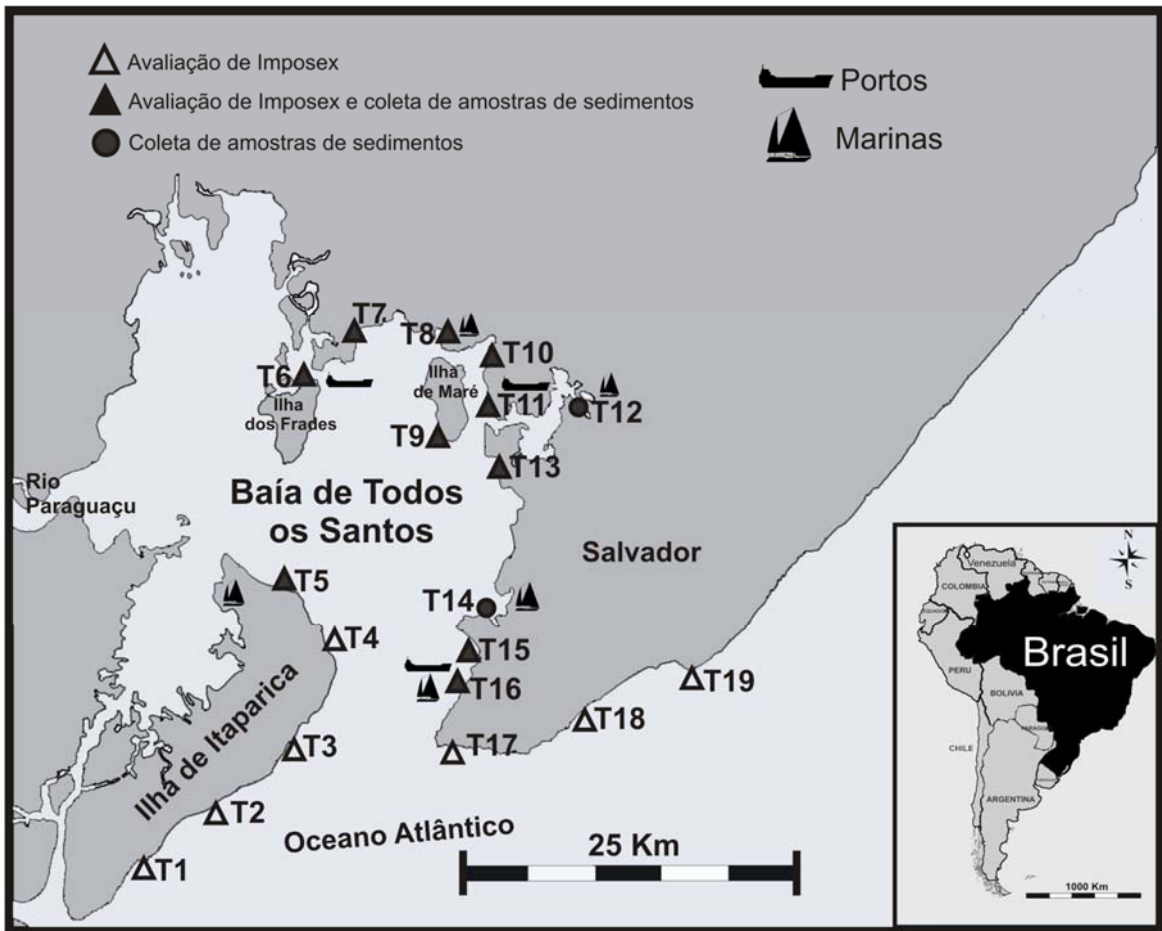


Figura 13: Pontos de amostragem de moluscos da espécie *Stramonita rustica* (Δ) e sedimentos (●) coletados em junho de 2012 na baía de Todos os Santos.



Tabela 5: Estações de coleta de sedimento superficial e biota na baía de Todos os Santos.

Estação	Descrição	Amostragem	
		2010/11	2012
T1	Praia de Aratuba. Presença de poucas embarcações de pesca de subsistência.	-	Imposex
T2	Praia de Acapulco. Presença de poucas embarcações de pesca de subsistência.		
T3	Praia de Barra Grande. Presença de poucas embarcações de pesca de subsistência.		
T4	Praia Grande. Terminal de desembarque de lanchas que fazem o transporte de passageiros entre Salvador e a Ilha de Itaparica	-	Imposex e Sedimento
T5	Bom Despacho. Terminal de desembarque embarcações de grande porte que fazem o transporte de passageiros, veículos e cargas entre Salvador e a Ilha de Itaparica.		
S6/T6	Terminal Marítimo Almirante Alves Câmara: destinados ao recebimento e embarque de petróleo e seus derivados processados pela Refinaria Landulfo Alves (PETROBRAS). Esta situada ao sul da ilha de Madre de Deus e ao norte da BTS.	Sedimento e Biota	Imposex e Sedimento
S7/T7			
S8/T8	Foz do Rio do Cunha. Área de manguezais com comunidade de pescadores e diversos embarcações de pesca de subsistência.	Biota	Imposex e Sedimento
S9/T9	Ilha de Maré. Presença de um cais de atracação com grande quantidade de embarcações de pesca e de turismo.		
S10/T10	Caboto. Área situada próximo ao terminal portuário de Aratu, Essa área é dominada por manguezais.	Sedimento	Imposex e Sedimento
S11/T11	Baía de Aratu: Possui em seu entorno um clube náutico, indústrias químicas e um complexo portuário. Situado na região nordeste da BTS.	Sedimento e Biota	Imposex e Sedimento
S12/T12		Sedimento	Sedimento
T13	Ponto localizado a Sudeste da entrada da baía de Aratu	-	Imposex e Sedimento
S14/T14	Baía da Ribeira. Adensamentos populacionais da grande Salvador e diversas marinas de médio e grande porte	Sedimento e Biota	Sedimento
T15	Porto de Salvador. Área influenciada pelo terminal portuário comercial e diversas marinas de grande porte. Tráfego naval extremamente extenso	-	Imposex e Sedimento
T16	Capitania dos Portos. Área influenciada pelo terminal portuário comercial e diversas marinas de grande porte. Tráfego naval extremamente extenso		
T17	Farol da Barra. Praia turística praticamente sem embarcações presentes localizada em área urbana de Salvador.	-	Imposex
T18	Praia de Ondina. Praia turística praticamente sem embarcações presentes localizada em área urbana de Salvador.		
T19	Praia de Itapoã Praia turística praticamente sem embarcações presentes localizada em área urbana de Salvador.		
S20	Canal de Itaparica localizado na margem Oeste da ilha de Itaparica. Área com a presença de uma marina de médio porte	Sedimento e Biota	-
S21			
S22	Foz do Rio Subaé. Recebe os efluentes do Centro industrial de Subaé. Não existem estruturas de atracação para embarcações.		

### 3.2.1 Amostragem de sedimento

Durante as campanhas de amostragens os sedimentos foram coletados com auxílio de uma draga de aço inoxidável do tipo “Van Veen”. Após a coleta, a draga foi aberta em uma superfície previamente descontaminada. Utilizando-se um espátula de aço inoxidável foram então recolhidos aproximadamente 2 cm da camada superficial do sedimento e acondicionados em caixas de alumínio previamente calcinadas. A camada de sedimento coletado equivale a fração sedimentada oxidada e pode ser identificada pela sua coloração mais clara em relação aos sedimentos mais profundos (Figura 14 a, b). Após a coleta as caixas de alumínio contendo as amostras foram armazenadas em uma caixa de isopor (Figura 14 c) e conduzidas ao laboratório. Essas amostras foram mantidas em freezer a temperatura de - 20 °C a fim de garantir a estabilidade dos compostos organoestênicos até a realização das análises químicas.

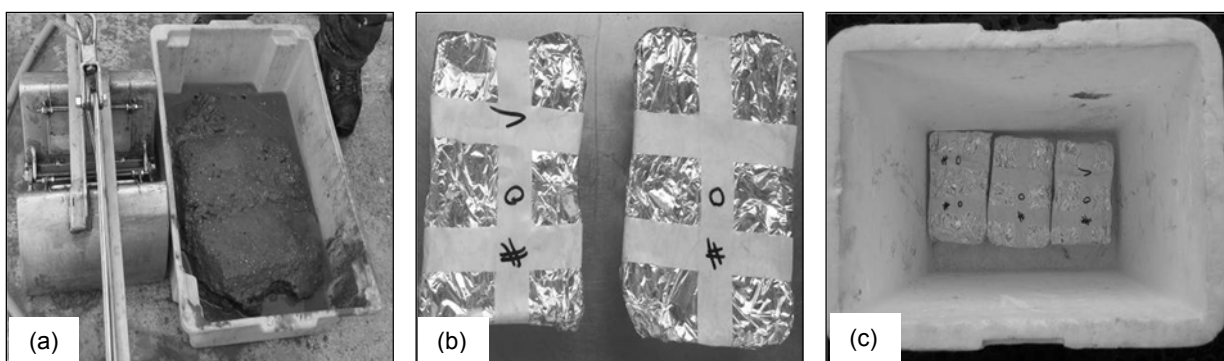


Figura 14: Coleta do sedimento superficial com pegador do tipo Van Veen (a), caixas de alumínio contendo amostras (b) e caixas contendo as amostras armazenadas em caixa de isopor (c).

### 3.3 Amostragem de moluscos bivalves (*Mytella guyanensis* e *Anomalocardia brasiliiana*).

Os moluscos bivalves são organismos filtrantes cujo processo de alimentação ocorre pelo batimento ciliar branquial formando correntes de água para seu interior. Alimentam-se principalmente de fitoplâncton, zooplâncton e matéria orgânica particulada em suspensão. Adicionalmente, após a fase larval, apresentam características sésseis, podendo formar populações densas em estuários, costões ou regiões de mangue, onde permanecem por toda sua vida (Rodrigues *et al.*, 2010).

Moluscos da espécie *Mytella guyanensis*, também conhecidos na região como sururu, são encontrados ao longo do litoral brasileiro. Estes organismos vivem enterrados entre 1 e 2 cm nos substratos lodosos em zona entre marés de ambientes estuarinos, preferencialmente em ecossistemas de manguezais. Apresentam a parte anterior das valvas voltada em direção à superfície e o umbo direcionado para o sedimento em posição vertical, de forma que os animais podem enterrar-se até uma profundidade de 15 cm, utilizando o bisso para se fixar em raízes subterrâneas (Pereira *et al.*, 2003). Os moluscos da espécie *Anomalocardia brasiliiana*, também conhecidos na região como chumbinho, apresentam hábito alimentar cavador superficial vivendo em substrato arenoso ou areno lodoso entre 2 e 5 cm de profundidade. Habitam águas rasas na faixa entre marés, protegidas da ação de ondas e das correntes (Rodrigues *et al.*, 2010).

Amostras de indivíduos adultos da espécie *Mytella guyanensis* (Sururu) (Figura 15 a) foram coletadas manualmente junto aos sedimentos das estações S8, S11, S20, S21 e S22, enquanto que nas estações S6, S7, e S14 foram coletados indivíduos adultos de *Anomalocardia brasiliiana* (Chumbinho) (Figura 15 b).

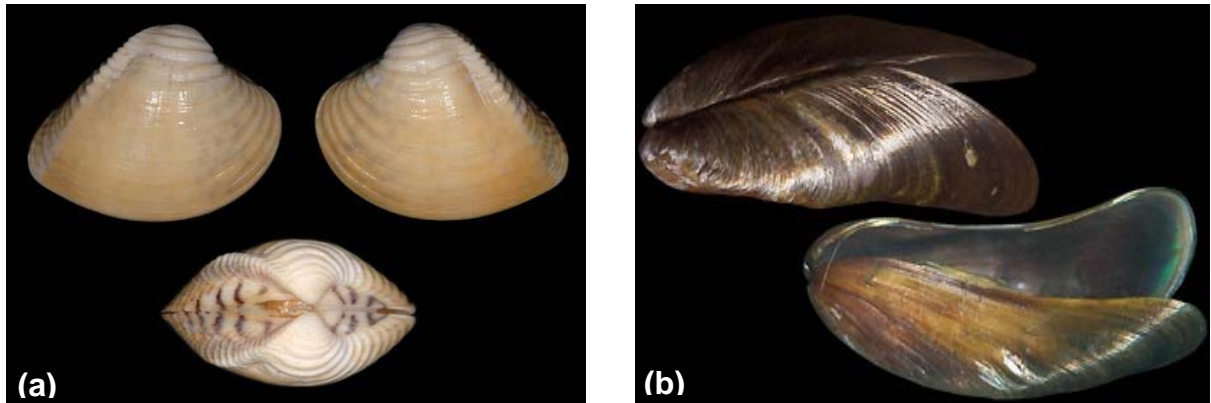


Figura 15: Aspecto das conchas de *Anomalocardia brasiliiana* (a) e *Mytella guyanensis* (b)

Imediatamente após as coletas os organismos de ambas as espécies foram removidos de suas conchas com auxílio de uma espátula e os tecidos moles integrais foram congelados para posterior liofilização e desagregação. Após essas etapas as amostras foram congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise química.

### 3.3.1 Amostragem e determinação do imposex em gastrópodes

Em cada um dos 17 pontos listados na Tabela 5, foram coletados sempre que possível 30 organismos adultos da espécie *Stramonita rustica*. Para verificar a ocorrência do imposex os organismos foram previamente narcotizados através de imersão em uma solução de  $\text{MgCl}$  3,5% durante 2 horas. Após esse período as conchas dos organismos foram medidas com um paquímetro digital (0,01mm) da ponta da espira até a extremidade do canal sifonal, sendo posteriormente removidas para análise morfológica dos tecidos.

A identificação sexual foi realizada com base da presença de receptáculo seminal em fêmeas e de próstata em machos. Adicionalmente a coloração das gônadas foi utilizada como critério de distinção entre os sexos. As fêmeas que apresentaram estruturas sexuais masculinas tais como pênis e/ou vaso deferente

foram consideradas com algum nível de imposex. A ocorrência de imposex foi quantificada através dos índices: % de imposex, FPLI (média dos comprimentos dos pênis das fêmeas), RPLI ( $[\text{média dos comprimentos dos pênis das fêmeas} / \text{média dos comprimentos dos pênis dos machos}] \times 100$ ), e VDSI conforme descrito por Fernandez *et al.* (Fernandez *et al.*, 2005a).

Após a análise dos parâmetros de imposex, os organismos integrais foram congelados a -20 °C para análise química de butilestânicos. Entretanto, essas análises não foram realizadas em virtude da perda destas amostras durante um incêndio ocorrido nas dependências do Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática.

### 3.4 Preparo e caracterização das amostras de sedimento

Após o congelamento, as amostras de sedimentos, coletadas em 2012, foram liofilizadas até a completa remoção da água, desagregadas usando gral e pistilo de porcelana e finalmente caracterizadas quanto a sua granulometria e teor de carbono orgânico total (% COT).

#### 3.4.1 Análise do carbono orgânico total (COT)

As análises de carbono orgânico total foram realizadas no Laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A análise consistiu em pesar um grama de sedimento (previamente liofilizado), o qual foi transferido para uma placa de etri (previamente descontaminadas em solução de HCl 10%, por 24 h) e, posteriormente, colocado em um dessecador sob vapor ácido (HCl concentrado) para descarbonatação. O dessecador fechado ficou protegido da luz, em uma capela, durante 24 horas. Após esse período, as amostras foram secas (estufa a 60 °C) até peso constante. Para a determinação de COT foi pesado entre 2,5 a 3 mg do

sedimento descarbonatado, transferido para cápsulas de alumínio e posteriormente quantificado utilizando um analisador elementar CHNS (Perkin Elmer).

#### 3.4.2 Análise granulométrica

A análise granulométrica foi realizada no Laboratório de Oceanografia Geológica do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A metodologia da análise granulométrica foi baseada no método descrito por Suguio (1973). Os sedimentos foram colocados em bacias de alumínio contendo água destilada a fim de retirar o excesso de sais dos sedimentos. Em seguida, os sedimentos arenosos (grosseiros) foram secos em estufa a uma temperatura entre 80 e 100 °C enquanto que, os sedimentos argilosos (finos) a temperatura não deve ultrapassar 60 °C. Adicionalmente, utilizando um gral e pistilo revestido com ponta de borracha, foi feita a desagregação da amostra para possibilitar a homogeneização da mesma.

A análise granulométrica da fração grosseira dos sedimentos foi realizada através da técnica de peneiramento. Esta consiste em passar aproximadamente 50 g da amostra por um conjunto de peneiras com malhas de diferentes aberturas. A quantidade de amostra retida em cada peneira é pesada e, posteriormente, transformada em porcentagem de peso total peneirado, que é usado para representar a distribuição granulométrica. Os sedimentos considerados finos são aqueles que passam pela peneira de malha 0,062 mm. A análise granulométrica foi realizada pelo método da pipetagem, baseado na velocidade de decantação das partículas.

### 3.5 Reagentes e solventes

A fim de evitar eventuais interferentes que pudessem comprometer os resultados, todos reagentes e solventes utilizados nas análises químicas foram de elevado grau de pureza (análise de resíduo). Esse cuidado foi necessário visto que os analitos de interesse encontram-se na faixa de concentração de  $\text{ng g}^{-1}$ . Os reagentes e solventes empregados estão listados na Tabela 6.

Tabela 6: Reagentes e solventes utilizados na análise química.

Reagente/Solvente	Fornecedor
Diclorometano	J.T. Baker®
Hexano	J.T. Baker®
Metanol	J.T. Backer®
Tolueno	J.T. Backer®
Água	Millipore Direct-Q UV3®
Cloreto de sódio	Merck
Tropolona 98,0%	Sigma Aldrich
Brometo de pentilmagnésio em solução de éter dietílico $2 \text{ mol.L}^{-1}$	Sigma Aldrich
Ácido Clorídrico 37 %	Merck

### 3.6 Descontaminação da vidraria

Toda vidraria utilizada nos procedimentos experimentais foi previamente descontaminada para garantir a ausência de possíveis interferentes e/ou contaminantes. No processo inicial de lavagem a vidraria ficou submersa em uma solução de detergente aniônico alcalino (5 %, v/v) Detertec ® por 12 horas. Posteriormente, a vidraria foi enxaguada com água corrente abundante e submersa em uma solução de ácido nítrico (5 %, v/v) por mais 12 horas. Subsequentemente, a vidraria foi lavada com água corrente abundante e seca em uma estufa com circulação

forçada de ar a 35 °C. Além disso, imediatamente antes do uso, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, a vidraria foi rinsada três vezes com acetona seguido de hexano.

### 3.7 Preparo das soluções analíticas

As soluções analíticas estoque foram preparadas pela diluição dos padrões puros de cloreto de tributil (TBTCl), cloreto de dibutil (DBTCl) e cloreto de monobutil (MBTCl) em hexano na concentração de 1 mg Sn mL<sup>-1</sup>. As soluções trabalho foram preparadas a partir da diluição das soluções estoque nas concentrações apropriadas. Após o preparo, essas soluções foram armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração de 4 °C.

### 3.8 Preparo de amostras: sedimento superficial e biota

A análise dos compostos orgânicos de estanho nas matrizes de sedimento superficial e biota envolveu diversos procedimentos analíticos para a preparação de amostras tais como secagem, extração com um solvente orgânico, derivação com reagente de “Grignard” e purificação (*clean-up*). Já a separação, identificação e quantificação foi realizada por cromatografia de fase gasosa com detecção por espectrometria de massas. A metodologia utilizada foi modificada e validada por Castro *et al.* (Castro *et al.*, 2012a) a partir da descrita por Morabito *et al.* (Morabito *et al.*, 2000) (Figura 16).

As análises químicas de todas as amostras de sedimentos superficiais (de ambas as campanhas) foram realizadas em duplicata. Entretanto, para as amostras de biota (moluscos bivalves) foi realizada apenas uma análise dos tecidos integrais.



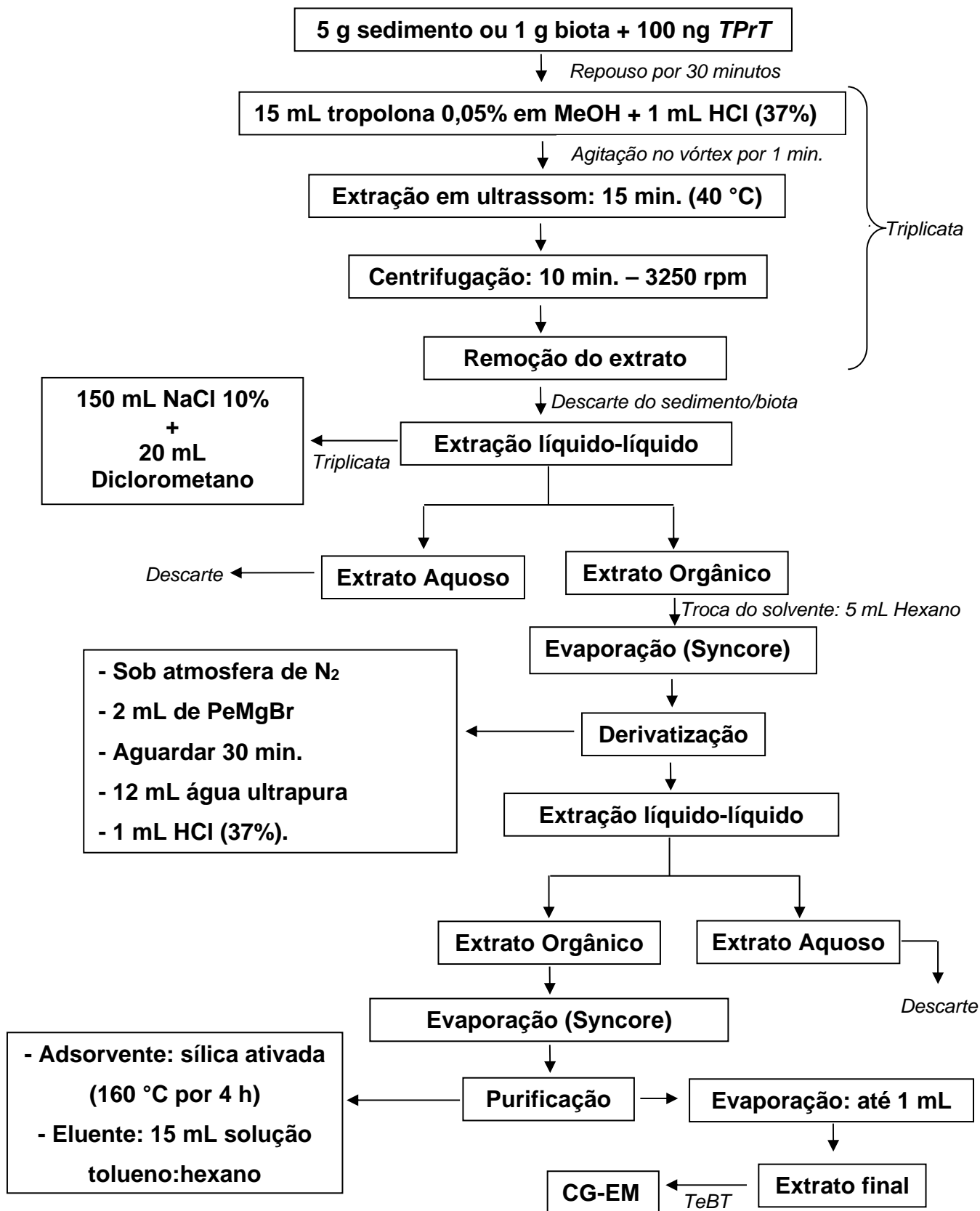


Figura 16: Etapas do preparo de amostras de sedimento superficial e moluscos bivalves para análise de compostos butilestânicos.

### 3.8.1 Extração

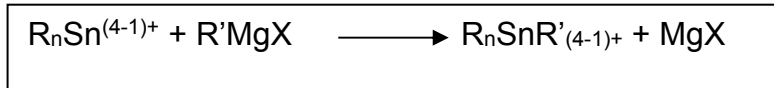
Aproximadamente 5 g de sedimento superficial ou 1g de amostra de biota, previamente liofilizados, foram pesados com uma balança analítica e colocados em frascos âmbar de 40 mL. Posteriormente essas amostras foram fortificadas com 100 ng de Tripropilestanho (TPrT, padrão de recuperação “*surrogate*”) e deixadas em repouso durante 30 minutos para atingir o equilíbrio entre a amostra e o padrão. Após, 15 mL da solução de tropolona 0,05 % (m/v) em metanol e 1,0 mL de ácido clorídrico (37 %) foram adicionados aos frascos contendo as amostras e agitados em vórtex durante 1 minuto. Então os frascos foram sonificados em banho por 15 minutos e centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. O procedimento de extração foi feito em triplicata para cada amostra analisada bem como para o material de referência certificado e os brancos analíticos.

### 3.8.2 Extração Líquido-Líquido

Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido, com auxílio de pipetas de Pasteur, para um funil de separação de 250 mL contendo 150 mL da solução de cloreto de sódio 10 % e extraídos, em triplicata, com 20 mL de diclorometano. A água foi removida dos extratos (fase orgânica) pela passagem por um funil contendo sulfato de sódio anidro, sendo coletados em um balão de fundo chato de 125 mL. Posteriormente foram adicionados 5 mL de hexano, e o volume total do extrato foi reduzido para 1 mL em sistema de evaporação Syncore®. Esses extratos foram transferidos para frascos âmbar de 40 mL com tampa septada (septo de teflon) e derivatizados.

### 3.8.3 Derivatização

O procedimento de derivatização foi feito de acordo com Morabito *et al.* (2000), tendo como objetivo tornar os compostos voláteis para posterior separação e quantificação por cromatografia de fase gasosa. Antes da derivatização o ar dos frascos foi purgado com gás nitrogênio através da inserção de 2 agulhas no septo dos frascos (uma agulha para entrada do N<sub>2</sub>, outra para a saída do ar do interior do frasco). A alquilação dos compostos obtidos no extrato (Reação 2) foi realizada pela adição de 2 mL de brometo de pentilmagnésio em solução de éter dietílico 2 mol L<sup>-1</sup> (Reagente de Grignard) utilizando uma seringa de vidro e uma agulha para a saída de N<sub>2</sub>.



Onde, R e R'= grupos orgânicos e n= 1,2 ou 3; X = Cl

Reação 2: Reação de alquilação de Grignard.

Após a adição do derivatizante, esses frascos foram agitados em vórtex por 1 minuto e deixados em repouso durante 30 minutos com agitação ocasional. Posteriormente, o excesso de derivatizante foi destruído pela adição de 12 mL de água ultra pura e 1 mL de ácido clorídrico (37%), ambos previamente resfriados a 4 °C. Esta etapa foi feita em banho de gelo a fim de evitar perdas por volatilização (Morabito *et al.*, 2000).

Em seguida, os butilestânicos e o Tripropilestanho alquilados foram extraídos da mistura através de uma extração líquido-líquido com 5 mL de hexano (triplicata), sendo evaporados a 1 mL em sistema de evaporação Syncore<sup>®</sup> e, em seguida, purificados.

#### 3.8.4 Purificação dos extratos

O processo de purificação (*clean up*) tem por finalidade remover os principais interferentes da amostra e, para isso, foi realizada a técnica cromatografia em coluna clássica (CLC). Em uma coluna de vidro foram adicionados 3,5 g de sílica ativada (450 °C, 6 h) e 1 g de sulfato de sódio anidro, condicionados com uma mistura de hexano - tolueno (1:1). O extrato obtido anteriormente foi colocado na coluna e eluído com 15 mL da mistura hexano – tolueno. Os eluatos foram recolhidos em tubos de vidro graduados, evaporados sob fluxo de nitrogênio até aproximadamente 0,5 mL, transferidos para frascos de 1,5 mL, fortificados com 100 ng de tetrabutilestanho (padrão interno) e aferidos em 1 mL com hexano. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para análise por cromatógrafo de fase gasosa.

#### 3.8.5 Separação, identificação e quantificação dos COEs

As análises dos compostos orgânicos de estanho foram feitas em um cromatógrafo de fase gasosa equipado com um amostrador automático, injetor *Split/Splitless* e detector de espectrometria de massas tipo quadrupolo (Perkin Elmer modelo Clarus 500 MS) (Figura 17). Foi utilizada uma coluna cromatográfica capilar Elite – 5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm), revestida com 5 % difenil dimetilpolisiloxano. A temperatura do injetor foi de 280 °C, modo de injeção *split* com fluxo constante de 1,7 mL min<sup>-1</sup> do gás hélio de elevada pureza (99,999 %). A temperatura do forno foi programada da seguinte forma: 2 minutos a 80 °C e posteriormente elevada a 300 °C a taxa de 11 °C min<sup>-1</sup>. O tempo total de análise foi de 13 minutos.

Os íons monitorados (um para quantificação e dois para confirmação) e as respectivas massas molares utilizados para a identificação dos compostos estudados estão apresentados na Tabela 7. O espectrômetro de massas foi operado no modo de

Ionização por Elétrons (IE) e a energia de ionização (impacto eletrônico) foi de 70 eV.



Figura 17: Cromatógrafo de fase gasosa.

Tabela 7: Massa molar e seus respectivos íons de quantificação (Q) e confirmação (C1 e C2) dos compostos analisados.

Compostos	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	Q (m/z)	C <sub>1</sub> (m/z)	C <sub>2</sub> (m/z)
TPrTCI	291,06	273	275	277
TeBTCI	382,62	177	233	235, 291
TBTCI	325,50	179	261	263, 319
DBTCI	303,84	249	317	319, 315
MBTCI	282,17	193	317	319

### 3.9 Controle analítico

Para garantir a confiabilidade dos dados gerados durante as etapas da análise química foram utilizados padrão interno, padrão de recuperação e padrões externos dos analitos determinados. Em seguida, são apresentados os padrões analíticos utilizados para o desenvolvimento deste trabalho (Tabela 8), bem como os valores encontrados para o material de referência certificado das matrizes de biota, o PACs –

2, da *National Research Council do Canadá* (Ottawa - Canadá), e sedimentos superficiais certificado para TBT e DBT (Tabela 9), CE-477, da *Sigma* (Tabela 10).

Tabela 8: Padrões utilizados durante o procedimento analítico.

Compostos	Padrão	Fornecedor	Pureza
TPrTCI	Recuperação	Merck	98,9 %
TeBTCI	Interno	Merck	98,8 %
TBTCI	Externo	Sigma-Aldrich	98,2 %
DBTCI	Externo	Sigma-Aldrich	96,0 %
MBTCI	Externo	Sigma-Aldrich	95,0 %

Tabela 9: Valores encontrados para o TBT, DBT e MBT (ng Sn g<sup>-1</sup>) em biota no padrão certificado (PACs - 2) (n=5).

Compostos	Valor certificado	Valor encontrado
TBT	850 ± 105	852 ± 47
DBT	1047 ± 64	1035 ± 35
MBT	600*	557 ± 38

\*valor reportado.

Tabela 10: Valores encontrados para TBT, DBT e MBT (ng Sn g<sup>-1</sup>) em sedimentos no padrão certificado (CE - 477) (n = 4).

Compostos	Valor certificado	Valor encontrado
TBT	2200 ± 190	1858 ± 173
DBT	1540 ± 120	1412 ± 132
MBT	1500 ± 280	1387 ± 193

O padrão de recuperação (PR) ou “*surrogate*” cloreto de tripropilestanho (TPrTCI) foi adicionado às amostras, em concentração conhecida, no início do processo anteriormente a extração a fim de verificar a ocorrência de perdas ou contaminação.

O padrão interno (PI) cloreto de tetrabutilestanho (TeBTCI) foi adicionado ao extrato da amostra imediatamente antes da injeção no cromatógrafo. Em concentrações próximas a que se espera encontrar para os demais analitos, sua

função foi monitorar e amenizar as possíveis variações de sinal durante na análise. O PI deve apresentar propriedades químicas semelhantes aos analitos, não ser encontrado no ambiente além de estar disponível em elevado grau de pureza (Abalos *et al.*, 1997).

O padrão externo (PE) é um composto utilizado para a identificação e quantificação dos analitos em questão através da comparação entre os tempos de retenção e as áreas da substância a ser quantificada na amostra. Os padrões externos utilizados para este trabalho foram o TBTCI, DBTCI, e o MBTCI.

Para cada analito a ser quantificado na matriz de sedimento foi construída uma curva analítica por superposição da matriz, utilizando um sedimento previamente descontaminado por tratamento térmico a uma temperatura de 450 °C durante 6 horas. As concentrações estabelecidas para obtenção das curvas analíticas foram 2, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 ng Sn mL<sup>-1</sup> em hexano. Adicionalmente, para a quantificação dos analitos na matriz de biota foi feita a curva por adição de padrão, uma vez que não é possível obter a matriz isenta do analito de interesse, nas mesmas concentrações.

As curvas analíticas para as matrizes de sedimentos superficiais e biota bem os espectros de massa dos analitos de interesse estão apresentados nos anexos I e II, respectivamente.

### 3.10 Normalização por carbono orgânico total (COT)

Os dados de concentração de butilestânicos em sedimentos foram normalizados pelo teor de carbono orgânico total conforme Michelsen (Michelsen, 1992). Para fazer a normalização pelo carbono orgânico total, o peso seco de cada parâmetro foi dividido pela respectiva concentração de carbono, conforme a Equação 1.

$$\text{ng g}^{-1} \text{ COT} = \frac{\text{ng g}^{-1} (\text{peso seco}) \text{ amostra}}{\text{g COT g}^{-1} (\text{peso seco}) \text{ amostra}}$$

Equação 1: Equação utilizada para normalização dos dados pelo COT.

onde:

$\text{ng g}^{-1} \text{ COT}$  = ng de butilestânico (TBT, DBT ou MBT) por g de carbono orgânico.

$\text{ng g}^{-1} \text{ peso seco}$  = ng de butilestânico (TBT, DBT ou MBT) por g de peso seco de amostra.

### 3.11 Índice de degradação dos butilestânicos (IDB)

A estimativa da degradação do TBT e o prognóstico temporal do aporte desses compostos em sedimento foram avaliados através do índice de degradação de butilestânicos (IDB), utilizando a Equação 2:

$$\text{IDB} = [\text{DBT}] + [\text{MBT}] / [\text{TBT}]$$

Equação 2: Equação utilizada para calcular o Índice de Degradação dos compostos Butilestânicos (IDB).

Onde:

[MBT], [DBT] e [TBT] referem-se à concentração destes compostos no sedimento.

### 3.12 Análise estatística

A normalidade e a homogeneidade dos dados (parâmetros biométricos e concentrações de COEs) foram verificadas por meio de testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. Análise Spearman de correlação não paramétrica foi utilizada para investigar a relação entre o % COT, o % de sedimentos finos e as concentrações de TBT em sedimentos e tecidos bivalves. O teste *t* foi realizado para avaliar as



diferenças estatísticas nos valores de IDB obtidos entre as duas campanhas de amostragem. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando Statistica ® (versão 6.0 (Statsoft)), com um nível de significância de 0,05.

## 4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 4.1 Carbono orgânico total (COT) e granulometria

Os sedimentos superficiais coletados na campanha 2010/2011 nas regiões norte (S6, S7, S8, S10) sudeste (S11, S12), noroeste (S22), sudoeste (S20, S21) e sul da baía de Todos os Santos (S14) apresentaram teores de COT que variaram entre 0,4 e 5 % e granulometria com % de finos variando entre 1,1 e 73 % (Tabela 11 e Figura 18). Adicionalmente, foi verificado que os teores de carbono orgânico apresentaram uma correlação significativa com os percentuais de finos ( $r^2 = 0,65$ ,  $p < 0,05$ ). Variações semelhantes no teor de COT foram reportadas para sedimentos da baía de Todos os Santos em estudos realizados por Felizzola *et al.* (2008) e Pletsch *et al.* (2010). Da mesma forma os resultados obtidos na granulometria foram similares àqueles reportados por Lessa e Dias (2009), os quais foram previamente apresentados na Figura 11.

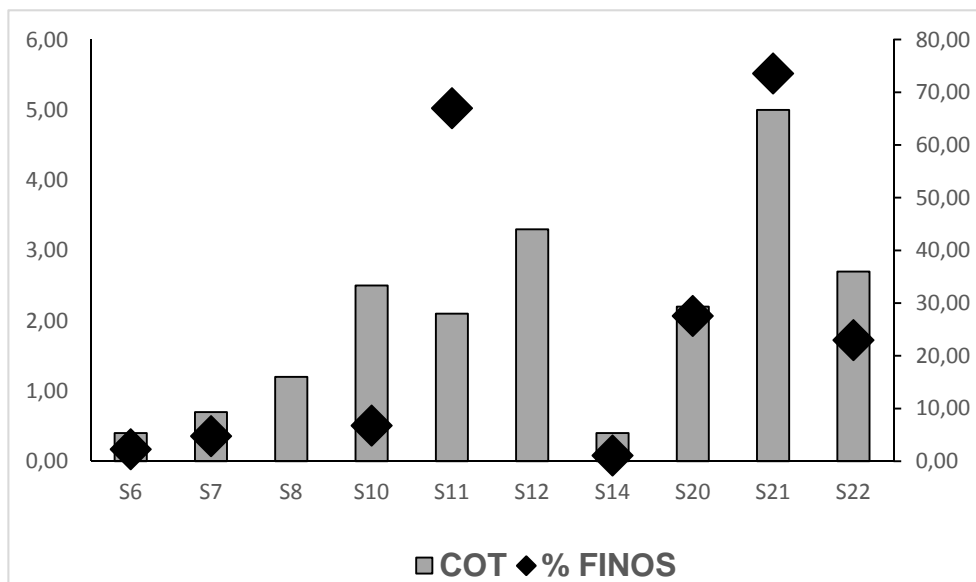


Figura 18: Percentuais de COT e de finos nas estações onde foi amostrado sedimento na baía de Todos os Santos.

Os sedimentos superficiais amostrados nas mesmas estações durante a campanha 2010/2011 (S6, S7, S8, S10, S11, S12 e S14) apresentaram diferenças na granulometria e no teor de COT quando comparados com os sedimentos coletados durante a campanha de 2012 (T6, T7, T8, T10, T11, T14). O % de finos variou entre 21 e 98%, enquanto que as concentrações de COT nos sedimentos superficiais das estações S6/T6, S7/T7 e S14/T14 foram pelo menos 50% maiores do que àquelas coletadas em 2010/2011. Por outro lado, as concentrações de COT nos sedimentos coletados nas estações S8/T8, S10/T10, S11/T11 e S12/T12 foram inferiores àquelas verificadas em 2010/2011 (Figura 19).

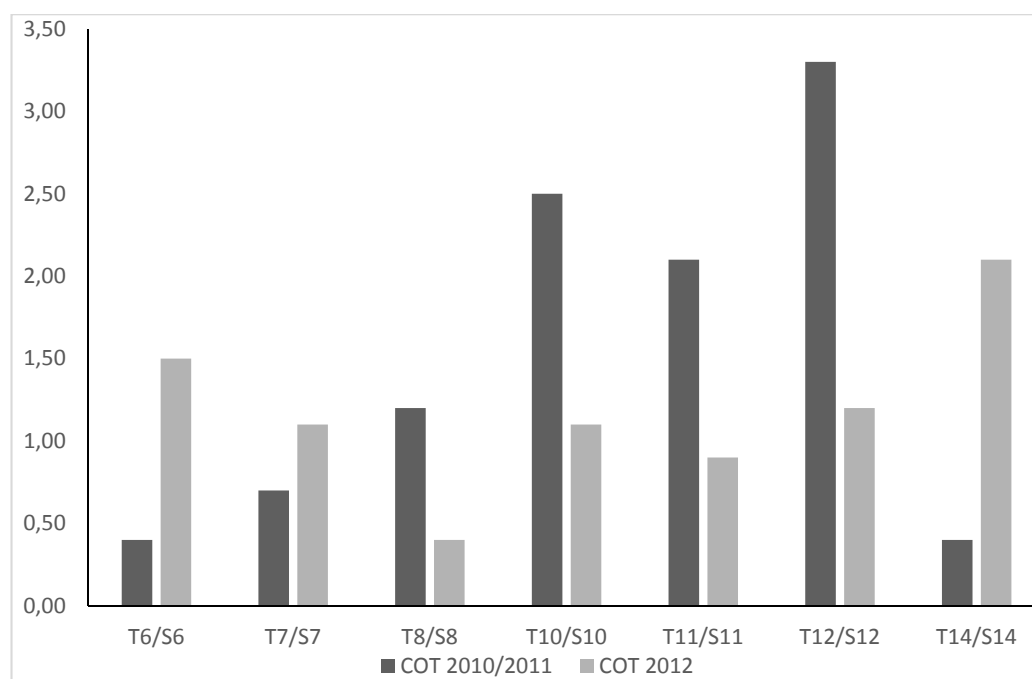


Figura 19: Concentrações de COT dos sedimentos superficiais coletados nas campanhas 2010/2011 (■) e 2012 (▨) na baía de Todos os Santos.

A correlação entre o percentual de finos e o teor de COT é frequentemente encontrada em amostras de sedimentos, uma vez que a matéria orgânica presente tende a se concentrar principalmente na fração fina (Gray, 1981). Desse modo, quanto

menor o tamanho da partícula maior a superfície de contato entre os fragmentos, permitindo maior acúmulo dos contaminantes. A fração orgânica ( $f_{oc}$ ) dos sedimentos é um parâmetro importante, pois estima a capacidade de sorção dos microcontaminantes orgânicos neste compartimento devido às semelhanças nas propriedades físico químicas e depende de fatores como pH e salinidade. Sendo assim, quanto maior a concentração de carbono orgânico nos sedimentos, maior a capacidade dos microcontaminantes em se adsorverem a estes (Di Toro e Rosa, 1991; Pinochet *et al.*, 2009).

Diante disso, e considerando a grande variação nos teores de carbono orgânico entre os sedimentos amostrados para este trabalho, foi realizada a normalização dos teores de TBT, DBT e MBT pelo carbono orgânico para melhor avaliação dos dados. A normalização pelo teor de COT é recomendada quando os contaminantes a serem determinados apresentam caráter iônico e os sedimentos exibem uma grande variação na fração orgânica (Hoch e Schwesig, 2004).

Desse modo, a variação de COT observada nos sedimentos superficiais entre as campanhas de 2010/2011 e 2012 pode influenciar tanto na concentração dos butilestânicos quanto na biodisponibilidade destes no sistema aquático. Devido a isso, foi realizada a normalização das concentrações de TBT, DBT e MBT pelos teores de carbono orgânico para melhor interpretação dos resultados.

## 4.2 Avaliação espacial da contaminação por butilestânicos na baía de Todos os Santos

### 4.2.1 Butilestânicos em sedimentos superficiais

Resíduos de compostos butilestânicos foram detectados em todas as amostras de sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos (Tabela 11). Os

dados são apresentados em ng Sn n<sup>-1</sup> (Figura 20) e de forma normalizada por COT (Figura 21). As faixas de concentração variaram de 150 a 21833 ng Sn g<sup>-1</sup> COT para TBT; de 160 a 1250 ng Sn g<sup>-1</sup> COT para DBT e de 20 a 250 ng Sn g<sup>-1</sup> COT para MBT, sendo que os maiores níveis foram encontrados nas estações S8 e S20.

Tabela 11: Concentração média (± desvio padrão, n=2) de butilestânicos (TBT, DBT e MBT) (ng Sn g<sup>-1</sup> de peso seco), % de recuperação (% R), % de carbono orgânico total (% COT), % de finos e concentração de TBTn, DBTn e MBTn normalizados pelo carbono orgânico total (ng Sn g<sup>-1</sup> COT) em amostras de sedimentos coletadas na baía de Todos os Santos durante a campanha 2010/2011.

Estação	TBT	DBT	MBT	%R	%COT	%Finos	TBTn	DBTn	MBTn
S6	27 ± 2,8	4 ± 1,4	<3	89	0,40	2,30	6750	1000	250
S7	15 ± 4,2	6 ± 1,4	<3	88	0,70	4,80	2142	857	142
S8	262 ± 14,1	6 ± 0,0	<3	95	1,20	*	21833	500	83
S10	6 ± 2,8	4 ± 1,4	<3	89	2,50	6,80	240	160	40
S11	10 ± 1,4	5 ± 1,4	<3	93	2,10	67,00	476	238	47
S12	13 ± 1,4	21 ± 0,0	<3	94	3,30	*	393	636	30
S14	<2 ± 0,8	5 ± 4,2	<3	87	0,40	1,10	150	1250	250
S20	138 ± 28,3	14 ± 0,0	4,5 ± 6,4	86	2,20	27,60	6272	636	204
S21	12 ± 0,0	5 ± 1,4	<3	84	5,00	73,60	240	100	20
S22	7 ± 2,8	5 ± 0,7	<3	91	2,70	23,00	259	166	37

\* Amostra perdida.

Elevadas concentrações de TBT (até 6272 ng Sn g<sup>-1</sup> COT) foram encontradas na costa leste da Ilha de Itaparica (S20). Esses níveis podem ser atribuídos a presença de uma zona de máxima turbidez localizada na entrada da baía de Iguape, em uma área muito próxima ao ponto amostrado (Di Toro e Rosa, 1991). Além disso, próximo a estação S20 encontra-se uma marina onde pequenas embarcações destinadas às atividades de lazer podem estar contribuindo para elevar os níveis da contaminação por TBT (Figura 20 e 21). Fato semelhante foi observado por Fernandez *et al.* (Genz *et al.*, 2006) nos sedimentos superficiais da baía de Guanabara, onde as concentrações de

TBT normalizadas pelo carbono orgânico aumentaram nas proximidades de marinas e iate clubes, indicando o uso específico deste composto em barcos de pequeno porte.

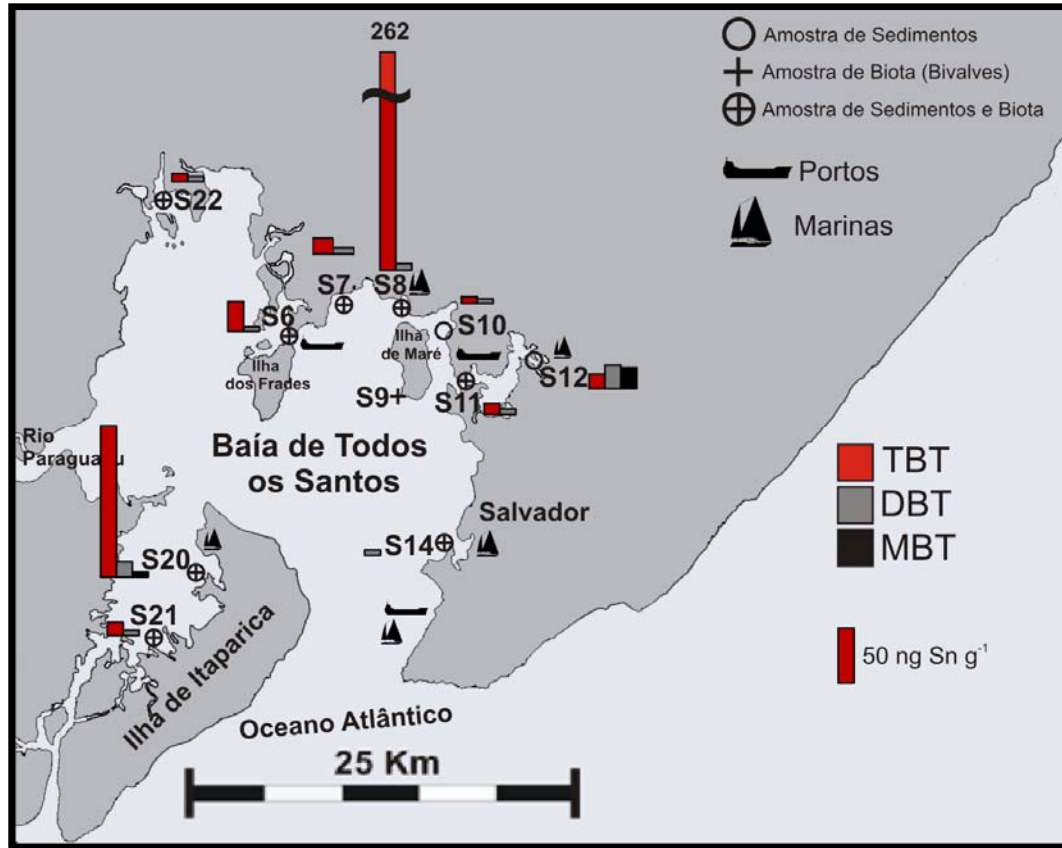


Figura 20: Níveis de butilestânicos (ng Sn g<sup>-1</sup>) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011.

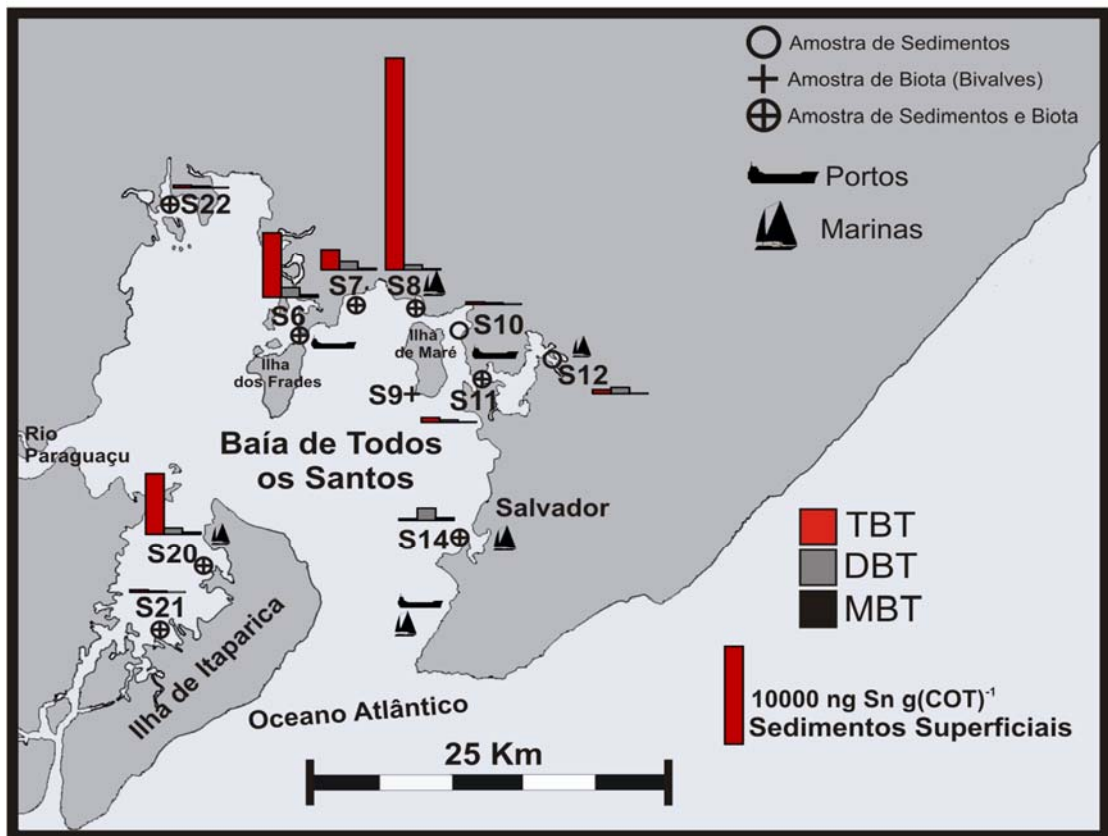


Figura 21: Níveis de butilestânicos normatizados pelos teores de COT ( $\text{ng Sn g}^{-1} \text{COT}$ ) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011.

Em contra partida, níveis proporcionalmente mais baixos de TBT foram encontrados na costa da mesma Ilha, em áreas distantes das marinas (S21 –  $240 \text{ ng Sn g}^{-1} \text{COT}$ ). Adicionalmente, nesta região observa-se uma baixa profundidade, o que possivelmente facilita o processo de degradação do TBT através da fotólise. De acordo com Diez *et al.* (Fernandez *et al.*, 2005a), a fotólise pela radiação UV e a atividade biológica são os mecanismos de degradação mais efetivos na coluna d'água e nos sedimentos superficiais, respectivamente, contribuindo para minimizar os efeitos causados pelos compostos butílicos no meio aquático.

Adicionalmente, na foz do Rio Subaé (S22) foi detectada baixa concentração de TBT ( $259 \text{ ng Sn g}^{-1} \text{COT}$ ). Essa estação está localizada nas proximidades da área de

escoamento de efluentes industriais do Centro Industrial do Subaé, onde se concentram várias indústrias de plásticos e artefatos de borracha, e que eventualmente podem atuar como fontes potenciais da contaminação por compostos orgânicos de estanho, assim como as pequenas embarcações utilizadas na pesca e a forte hidrodinâmica das correntes de maré da baía de Todos os Santos que podem dispersar os contaminantes das áreas mais impactadas para regiões mais distantes. Entretanto, os resultados obtidos indicam que esse polo industrial não contribui de forma significativa para contaminação por TBT na baía de Todos os Santos. Similarmente, em estudo realizado por Felizzola *et al.* (Díez *et al.*, 2002) na mesma área, foi também observada uma baixa concentração de TBT (6,9 ng Sn g<sup>-1</sup> peso seco) em um ponto de amostragem próximo a S22. Nesse estudo, os baixos níveis detectados nesse ponto foram atribuídos a distância das áreas onde se observam atividades portuárias e marinas.

Nas proximidades da ilha Madre de Deus foram detectadas concentrações de TBT de 6750 ng Sn g<sup>-1</sup> COT (S6), 2142 ng Sn g<sup>-1</sup> COT (S7) e de 476 ng Sn g<sup>-1</sup> COT na baía de Aratu (S11). Essas estações encontram-se sob a influência de fontes potenciais de TBT, tais como, movimentados terminais portuários comerciais caracterizados, sobretudo, pelo Tráfego de grandes embarcações. Essas concentrações relativamente moderadas, encontradas próximas a fontes potenciais de TBT, podem estar relacionadas ao banimento mundial deste composto em sistemas anti-incrustantes, o qual entrou em vigor em setembro de 2008 (Felizzola *et al.*, 2008). Comparativamente, um estudo realizado para terminais portuários do Sul do Brasil mostrou que de fato o impacto produzido pelo uso de sistemas anti-incrustantes à base de TBT tem reduzido nos últimos anos nos portos com tráfego internacional de embarcações no país (IMO, 2008). Adicionalmente, os níveis de TBT detectados nesses pontos de amostragem podem ser também atribuídos a dinâmica das correntes de maré predominantes no local



(Castro *et al.*, 2011b), as quais podem atuar na dispersão dos contaminantes. Além disso, nessas regiões a predominância de sedimentos argilo-arenosos com baixo teor de matéria orgânica dificulta a adsorção dos microcontaminantes aos sedimentos, favorecendo a resuspensão e posterior transporte dos mesmos pela a coluna d'água (Cirano e Lessa, 2007).

Em contra partida, na estação Rio do Cunha (S8) foi detectada uma concentração de 21833 ng Sn g<sup>-1</sup> COT. Esse elevado nível está provavelmente relacionado ao trânsito intenso de embarcações de pequeno porte na região, visto que, este ponto está localizado nas proximidades de um píer, e que não há outras fontes potenciais de contaminação por TBT na área. Além disso, a região é caracterizada por uma baixa hidrodinâmica, fato que provavelmente não favorece a dispersão dos contaminantes aportados nesse local, elevando sua tendência a se acumularem no local (Cao *et al.*, 2009).

Concentrações de TBT inferiores às demais estações foram determinadas em Caboto (S10 – 240 ng Sn g<sup>-1</sup> COT), baía de Aratu (S12- 393,9 ng Sn g<sup>-1</sup> COT) e baía da Ribeira (S14 – 150 ng Sn g<sup>-1</sup> COT). Essas áreas apresentaram faixas de concentração inferiores ao esperado, já que tanto na baía de Aratu quanto na Ribeira, existem muitas fontes potenciais de contaminação por TBT, tais como portos, marinas e estaleiros. Considerando que a sedimentação dos contaminantes na baía de Aratu é facilitada pela baixa dinâmica da água e o processo de adsorção do TBT aos sedimentos é favorecido pelo elevado teor de carbono orgânico e de finos, é possível prever que o TBT provavelmente não seja o biocida preferencialmente utilizado em sistemas anti-incrustante nas embarcações que trafegam nesta região. Comportamento hidrodinâmico semelhante foi observado por Garg *et al.* (2010), onde as concentrações médias de TBT nos sedimentos dos estuários de Mandovi e Zuary (Índia) foram de 17 ng Sn g<sup>-1</sup> e 5 ng

Sn g<sup>-1</sup> (peso seco), respectivamente, embora houvesse intenso tráfego de embarcações nesses estuários. Apesar disso, as concentrações de TBT detectadas na maioria das estações do presente estudo ainda estão acima dos níveis que podem causar efeitos a biota, considerando que concentrações baixas desse composto (12 ng Sn g<sup>-1</sup>) são capazes de induzir, por exemplo, imposex em várias espécies de moluscos gastrópodes, conforme foi reportado em um estudo realizado por Castro *et al.* (Castro *et al.*, 2012b) em regiões costeiras no Equador.

De modo geral, as concentrações de butilestânicos detectadas nos sedimentos superficiais da baía de Todos os Santos foram superiores àquelas observadas por Felizzola *et al.* (2008) e Pletsch *et al.* (2010) para a mesma região. Tal fato pode ser atribuído à realização de atividades de dragagens nos portos de Aratu e Salvador no ano de 2010, que acarreta na resuspensão e dispersão dos contaminantes (CODEBA, 2013). Por outro lado, com exceção das estações S8 e S20 foi observado que as concentrações de TBT e seus metabólitos nos sedimentos superficiais na baía de Todos os Santos foram inferiores àquelas observadas na literatura, em estudos realizados após o banimento mundial do TBT, para diferentes regiões do mundo. Tal fato ocorre provavelmente devido à grande profundidade da baía e conseqüente capacidade de dispersão dos contaminantes nela aportados (Pletsch *et al.*, 2010). Além disso, foi observado que as fontes potenciais de contaminação dos sedimentos por TBT parecem estar localizadas na região norte da baía de Todos os Santos e as áreas mais contaminadas foram localizadas principalmente próximas a marinas, e em menor proporção a portos comerciais. Tal fato indica forte relação entre as atividades que utilizam pequenas embarcações e possivelmente tintas anti-incrustantes a base de TBT.

#### 4.3.2 Avaliação espacial do TBT em moluscos bivalves

Todas as amostras de moluscos bivalves (*Anomalocardia brasiliiana* e *Mytella guyanensis*) analisadas apresentaram contaminação por compostos butilestânicos, cujas concentrações variaram de < 2 - 421 ng Sn g<sup>-1</sup> para TBT; 11 – 65 ng Sn g<sup>-1</sup> para DBT e < 3 – 126 ng Sn g<sup>-1</sup> para MBT, respectivamente (Tabela 12). A presença de níveis mais elevados de contaminantes orgânicos em tecidos de moluscos, quando comparados às concentrações detectadas em sedimentos, é uma observação frequente e pode ser justificada pela elevada capacidade desses organismos em bioacumular compostos orgânicos (Cirano e Lessa, 2007). Os moluscos bivalves, por serem organismos filtradores, podem absorver e bioacumular os microcontaminantes provenientes dos diferentes compartimentos ambientais e, por isso, são frequentemente utilizados como bioindicadores da contaminação ambiental (Rittschof e McClellan-Green, 2005). Além disso, o uso de diferentes espécies de bivalves com hábitos ecológicos semelhantes pode e tem sido frequentemente empregado nesse tipo de avaliação, já que os resultados gerados são intercomparáveis. (Yang *et al.*, 2008).

Tabela 12: Concentração de butilestânicos (TBT, DBT e MBT) (ng Sn g<sup>-1</sup> peso seco) e % de recuperação do TPrT em amostras de moluscos bivalves coletadas na baía de Todos os Santos no período entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011.

Estação/Espécie	TBT	DBT	MBT	(%) TPrT
S6 ( <i>Anomalocardia brasiliiana</i> )	67	28	45	89
S7 ( <i>Anomalocardia brasiliiana</i> )	37	65	38	103
S8 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	421	43	126	92
S9 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	<2	44	<3	102
S11 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	43	22	12	94
S14 ( <i>Anomalocardia brasiliiana</i> )	12	11	23	93
S20 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	15	17	19	90
S21 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	54	58	23	93
S22 ( <i>Mytella guyanensis</i> )	23	29	16	98

As concentrações de TBT determinadas em moluscos bivalves na baía de Todos os Santos corroboraram àquelas detectadas em amostras de sedimentos superficiais, porém apresentam faixas de concentração mais elevadas, com exceção da estação S20 onde o valor foi mais baixo. Considerando as estações onde foi possível coletar simultaneamente amostras de sedimentos e moluscos bivalves (S6, S7, S8, S11, S14, S20, S21 e S22) (Figura 22) foi observado uma significativa relação linear ( $r= 0,87$ ,  $p= 0,0007$ ) entre as concentrações de TBT detectadas em ambas as matrizes. Entretanto, essa correlação é fortemente influenciada pelos elevados níveis observados no ponto S8, que são pouco afetados pela discrepância dos resultados da estação S20, onde elevados valores de sedimento contrastam com baixos níveis de TBT em *M. guyanensis* ( $15 \text{ ng Sn g}^{-1}$ ). Tal relação com os níveis de contaminação observados em sedimentos é frequentemente encontrada quando são analisados moluscos bentônicos, tais como as espécies utilizadas no presente estudo (Sericano *et al.*, 1995).

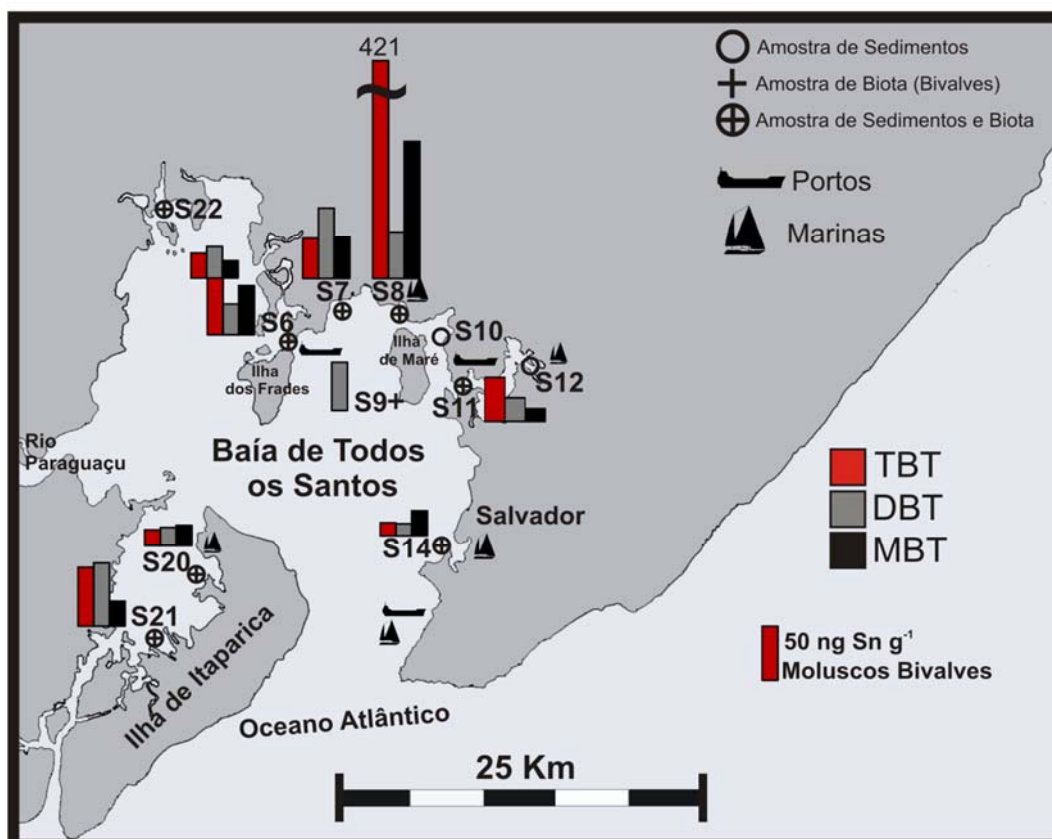


Figura 22: Níveis de butilestânicos em moluscos bivalves coletados na baía de Todos os Santos entre Fevereiro de 2010 e Abril de 2011.

A elevada concentração de TBT ( $421 \text{ ng Sn g}^{-1}$ ) detectada nas amostras de *Mytella guyanensis* coletadas na estação Rio do Cunha (S8) desperta preocupação de risco alimentar. Esta espécie é um dos bivalves mais consumidos pelas comunidades que sobrevivem da pesca de subsistência na região, bem como pela população em geral, sendo inclusive comercializado (Pereira *et al.*, 2003). Portanto, considerando a norma da Autoridade Europeia de Saúde Alimentar (EFSA – European Food Safety Authority) (Oehlmann e SchulteOehlmann, 2003) que determina que a ingestão diária máxima tolerável de TBT seja de 250 ng por kg de massa corporal, e considerando um adulto médio de 70 kg, o limite diário seguro de ingestão de TBT seria de até 17500 ng. Dessa forma, considerando o fator de conversão para estanho de 2,74, a concentração

de TBT na amostra obtida na estação S8 seria de 1153 ng g<sup>-1</sup> de TBT (peso seco). Sendo assim, assumindo que *M. guyanensis* possui um percentual de aproximadamente 90 % de água, a ingestão diária de 152 g (peso úmido) deste bivalve coletado na estação S8 seria suficiente para extrapolar o limite estabelecido pela EFSA. Estudo semelhante foi realizado por Fernandez *et al* (Fernandez *et al.*, 2005b) em moluscos da baía da Guanabara através de uma avaliação padronizada de risco alimentar, o risco quociente, segundo as normas da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency - EPA*, 1997). Neste estudo, os valores de TBT detectados em moluscos também estavam próximos ao limite máximo estabelecido (3,0 x 10<sup>-4</sup> mg TBT kg<sup>-1</sup> peso seco/dia). Apesar da preocupação com a saúde humana a disponibilidade dos dados na literatura relacionando os riscos de saúde alimentar e ingestão de frutos do mar contaminados por compostos butilestânicos, bem como os efeitos causados no organismo humano ainda são muito limitados.

#### 4.4 Avaliação temporal da contaminação por butilestânicos na baía de Todos os Santos.

##### 4.4.1 Avaliação temporal em sedimentos superficiais

Considerando os níveis de butilestânicos normalizados pelo % COT entre as campanhas de 2010/2011 e 2012 foi observada para o TBT uma redução nos pontos S6/T6, S7/S7 e S8/T8 e um aumento para as demais estações. Para o DBT os níveis foram mais elevados em 2012 nas estações S6/T6 e S7/T7, enquanto que para o MBT as concentrações foram mais elevados em todas as estações da última campanha (Tabela 13).

Tabela 13: Comparação das concentrações médias de TBTn, DBTn e MBTn normalizadas pelos teores de COT ( $\text{ng Sn g}^{-1}$  COT peso seco) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos em 2010/2011 e 2012.

Estação	TBTn		DBTn		MBTn	
	2010/11	2012	2010/11	2012	2010/11	2012
S6/T6	6750	1000	1000	47	250	1333
S7/T7	2142	1545	857	727	142	3182
S8/T8	21833	3000	500	5000	83	12000
S10/T10	240	727	160	909	40	1727
S11/T11	476	1888	238	2444	47	6667
S12/T12	393	1833	636	1000	30	4083
S14/T14	150	1380	1250	381	250	5143

Nas estações próximas ao terminal portuário Madre de Deus (S6/T6 – S7/T7) foi observado um aumento substancial nas concentrações de MBT, visto que durante a amostragem realizada em 2010/2011 os valores obtidos foram 250 e 142  $\text{ng Sn g}^{-1}$  COT, respectivamente, enquanto que para 2012 foram detectados valores de 1333 e 3182  $\text{ng Sn g}^{-1}$  COT. Similarmente os valores de TBT e DBT também reduziram nessas estações entre os dois períodos de amostragem. Adicionalmente, os valores de IDB das estações S6/T6 e S7/T7 que passaram de 0,2 e 0,1 (2010/11) para 1,3 e 2,5 (2012), respectivamente, indicam uma possível degradação do TBT a MBT, associado a possíveis aportes contínuos deste contaminante, mesmo que em baixas concentrações (Tabela 14).

Tabela 14: Comparação das concentrações médias ( $\pm$  desvio padrão,  $n=2$ ) de TBT, DBT e MBT ( $\text{ng Sn g}^{-1}$  peso seco) e Índice de Degradação dos Butilestânicos (IDB) em sedimentos superficiais coletados na baía de Todos os Santos em 2010/2011 e 2012.

Estação	TBT		DBT		MBT		IDB	
	2010/11	2012	2010/11	2012	2010/11	2012	2010/11	2012
S6/T6	27 $\pm$ 2,8	15 $\pm$ 1,4	4 $\pm$ 1,4	<3	<3	20 $\pm$ 2,8	0,2	1,3
S7/T7	15 $\pm$ 4,2	17 $\pm$ 1,4	6 $\pm$ 1,4	8 $\pm$ 0,0	<3	35 $\pm$ 4,2	0,1	2,5
S8/T8	262 $\pm$ 14,1	12 $\pm$ 2,8	6 $\pm$ 0,0	20 $\pm$ 11,3	<3	48 $\pm$ 8,5	<0,1	5,7
S10/T10	6 $\pm$ 2,8	8 $\pm$ 1,4	4 $\pm$ 1,4	10 $\pm$ 1,4	<3	19 $\pm$ 28,3	0,7	3,6
S11/T11	10 $\pm$ 1,4	17 $\pm$ 0,0	5 $\pm$ 1,4	22 $\pm$ 2,8	<3	60 $\pm$ 8,5	0,5	4,8
S12/T12	13 $\pm$ 1,4	13 $\pm$ 11,3	21 $\pm$ 0,0	12 $\pm$ 2,8	<3	49 $\pm$ 7,1	3,1	4,7
S14/T14	<2 $\pm$ 0,8	29 $\pm$ 2,4	5 $\pm$ 4,2	8 $\pm$ 1,4	<3	108 $\pm$ 11,3	0,1	4,0

Considerando a estação S8/T8 (Rio do Cunha) a avaliação temporal dos níveis de butilestânicos mostrou uma grande redução nas concentrações de TBT acompanhada de um aumento nas concentrações dos seus metabólitos (DBT e MBT). Como consequência, os valores de IDB passaram de <0,1 para 5,7 entre as duas campanhas refletindo uma possível redução nos aportes e a degradação do TBT. Resultados similares têm sido observados em regiões onde as legislações impostas ao uso do TBT em sistemas anti-incrustantes tem se mostrado efetivas (Antizar-Ladislao, 2008).

Indícios de aportes históricos de TBT, ou seja, com predomínio dos metabólitos (MBT>DBT>TBT), também foram observados em 2012 nas estações de Caboto (S10/T10) e baía de Aratu (S11/T11 e S12/T12), onde os valores do IDB foram de 3,6, 4,8 e 4,7, respectivamente. Entretanto, nessas estações os resultados observados foram acompanhados também por um aumento nas concentrações de TBT. Nesse caso, embora os valores de IDB indiquem aportes antigos de TBT, provavelmente ainda ocorram nesses locais aportes recentes desse composto. Situação similar foi observada em alguns estudos realizados recentemente (ex: baía da Babitonga - Brasil (TBT – 125; DBT – 394 e MBT – 312  $\text{ng Sn g}^{-1}$ ) (Sousa *et al.*, 2009) e baía de San



Vicente - Chile (TBT – 135; DBT – 766 e MBT – 470 ng Sn g<sup>-1</sup>) (Oliveira *et al.*, 2010). Para a estação S14/T14 localizada na baía da Ribeira ocorreu um aumento nas concentrações de TBT e MBT, associado a uma redução nos níveis de DBT. Porém, assim como observado nas estações S10/T10, S11/T11 e S12/T12, os valores de IDB nessa estação também mostraram uma elevação (0,1 para 4,0) entre as duas campanhas de amostragem.

Conforme observado, as concentrações dos metabólitos do TBT, principalmente o MBT, foram mais elevadas nas amostragens realizadas no ano de 2012 em todos os pontos. Esse resultado indica que, provavelmente, houve degradação do TBT historicamente depositado nas áreas estudadas. Adicionalmente, considerando o conjunto de todos os pontos avaliados nesse estudo temporal, uma diferença significativa (teste *t*, *p* = 0,004) foi detectada entre os valores de IDB obtidos para os anos de 2010/11 e 2012. O valor do IDB representa uma estimativa da contribuição dos compostos butilestânicos para o ambiente, onde os valores maiores que 1 indicam uma redução dos aportes contemporâneos ou, alternativamente, uma rápida degradação desses compostos baseada nas etapas de debutilação do TBT nos sedimentos superficiais (Pinochet *et al.*, 2009). Diante disso, pode ser verificado que a contaminação por TBT provavelmente não é recente nestas estações (IDB >1). Essas observações são corroboradas pelo fato de que, em anos anteriores a realização do presente estudo, entraram em vigor duas legislações proibindo a utilização de tintas anti-incrustantes à base de TBT. Tais legislações de caráter nacional (Díez *et al.*, 2006) e internacional (NORMAM/23, 2007) têm contribuído para redução do impacto produzido pelo uso de sistemas anti-incrustantes em outras regiões do Brasil (IMO, 2008) e do mundo (Castro *et al.*, 2012b), no caso da Convenção Internacional da IMO sobre o Controle de Sistemas Anti-incrustantes em Navios. Além disso, a Resolução CONAMA

454/2012 que trata das diretrizes para procedimentos referenciais para o gerenciamento de material dragado em águas jurisdicionais (Morton, 2009), estabeleceu limites para concentrações de TBT em sedimentos de regiões de água salobra ou salina (nível I – 100 ng g<sup>-1</sup> de TBT ou 36,5 ng Sn g<sup>-1</sup> e nível II - 100 ng g<sup>-1</sup> de TBT ou 365 ng Sn g<sup>-1</sup>). Sendo assim, com base nessa legislação todas as estações amostradas na campanha de 2012 estariam em conformidade.

Considerando a classificação de áreas impactadas por TBT proposta por Waite *et al.* (CONAMA, 2012), regiões levemente contaminadas apresentam concentrações que variam entre <10 e 50 ng Sn g<sup>-1</sup>; áreas moderadamente contaminadas variam entre 60 e 200 ng Sn g<sup>-1</sup> e áreas consideradas altamente contaminadas apresentam concentrações entre 300 e 1000 ng Sn g<sup>-1</sup>. Portanto, com base nos níveis de TBT observados nas estações amostradas durante o presente estudo, a baía de Todos os Santos pode ser classificada como levemente contaminada já que a maior concentração detectada em 2012 não ultrapassou 30 ng Sn g<sup>-1</sup> (S14/T14). Entretanto é importante enfatizar que essa observação é feita com base no conjunto de pontos amostrados e que algumas áreas da baía de Todos os Santos permanecem desconhecidas no que tange a contaminação por COEs. De fato, em comparação com outras regiões com intenso tráfego naval da América do Sul como: baía Blanca – Argentina (3228 ng Sn g<sup>-1</sup>, Delucchi *et al.*, 2006), baía de Paranaguá – Brasil (2796 ng Sn g<sup>-1</sup>, Santos *et al.*, 2009), golfo de Guayaquil - Equador (99,5 ng Sn g<sup>-1</sup>, Castro *et al.*, 2012a) e baía de Babitonga - Brasil (125 ng Sn g<sup>-1</sup>, Oliveira *et al.*, 2010), os níveis de contaminação de sedimentos superficiais observados na baía de Todos os Santos podem ser considerados baixos. Entretanto, é importante ressaltar que, apesar de baixas, essas concentrações são suficientemente elevadas para causar efeitos danosos a algumas espécies de organismos (Braithwaite e Fletcher, 2005).

#### 4.4.2 Avaliação temporal do imposex em *Stramonita rustica*

Nenhum indício de imposex foi observado nas populações de *Stramonita rustica* coletadas em junho de 2012 ao longo da baía de Todos os Santos, as quais apresentaram um comprimento médio de concha que variou entre 19,3 e 39,2 mm para os machos e 20,3 e 40,1 mm para as fêmeas (Tabela 15).

Tabela 15: Parâmetros biométricos por sexo (tamanho da concha e tamanho do pênis) e níveis de imposex em *Stramonita rustica* coletada na baía de Todos Santos em junho de 2012. dv= desvio padrão.

Estação	N	n♀	Conchas ♂ ± dv (mm)	Conchas ♀ ± dv (mm)	Pênis ♂ ± dv (mm)	Pênis ♀ ± dv (mm)	FPLI	RPLI	VDSI	% I
T1	30	15	28,8 ± 3,4	26,3 ± 2,2	7,4 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T2	25	13	26,1 ± 1,8	22,4 ± 2,1	9,1 ± 1,9	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T3	30	17	21,3 ± 4,3	22,5 ± 3,2	10,0 ± 1,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T4	27	14	20,8 ± 1,6	21,2 ± 1,5	9,3 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T5	30	11	19,3 ± 1,3	20,3 ± 2,0	8,2 ± 1,6	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T6	30	21	29,1 ± 2,5	27,3 ± 5,6	8,4 ± 1,8	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T7	30	19	32,9 ± 4,5	29,0 ± 3,8	8,9 ± 0,7	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T8	18	13	35,6 ± 4,3	34,3 ± 4,1	9,4 ± 0,8	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T9	30	12	30,3 ± 2,4	30,9 ± 2,8	11,4 ± 1,5	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T10	30	20	28,2 ± 2,3	25,5 ± 4,0	10,3 ± 2,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T11	15	8	38,3 ± 1,9	40,1 ± 3,5	7,9 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T13	30	16	39,2 ± 4,5	39,2 ± 4,3	8,2 ± 1,7	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T15	30	17	22,6 ± 2,6	23,5 ± 2,9	9,7 ± 1,4	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T16	23	14	24,7 ± 3,1	22,1 ± 2,4	12,3 ± 2,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T17	30	19	30,1 ± 2,9	30,3 ± 3,0	7,8 ± 1,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T18	30	15	28,2 ± 3,3	29,5 ± 2,6	9,0 ± 1,3	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0
T19	30	23	29,7 ± 3,4	25,7 ± 2,5	8,9 ± 1,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0	0,0

Por outro lado, Castro et al.(Castro *et al.*, 2007a) observaram que várias das estações estudadas em 2004 apresentavam organismos com algum nível de imposex (Tabela 16). Quando comparadas com o presente estudo, as populações correspondentes às estações de coleta T1, T2, T3, T4, T5, T11, T13, T15, T16 e T17 (as quais foram coincidentes ao estudo realizado em 2004) apresentaram uma redução

nos níveis de imposex. Somente as estações T4 e T5 não apresentaram imposex em 2004, permanecendo inalteradas durante as amostragens realizadas em 2012. Uma redução estatisticamente significativa nos níveis de RPLI ( $p=0,0002$ ), FPLI ( $p=0,0002$ ) e VDSI ( $p=0,0002$ ) é observada nas populações de *S. rustica*, comparando o conjunto de estações amostradas em 2004 e 2012.

Tabela 16: Comparação dos níveis de imposex (RPLI, FPLI, VDSI e %I) em *Stramonita rustica* coletada em estações coincidentes em 2004 e 2012 ao longo da baía de Todos os Santos.

Estação	Índice/Ano de Coleta							
	RPLI		FPLI		VDSI		% I	
	2004	2012	2004	2012	2004	2012	2004	2012
T1	2,1	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	3,8	0,0
T2	1,6	0,0	0,4	0,0	0,4	0,0	43,5	0,0
T3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	6,3	0,0
T4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T11	1,3	0,0	0,3	0,0	0,4	0,0	38,5	0,0
T13	3,3	0,0	1,1	0,0	1,2	0,0	100,0	0,0
T15	14,8	0,0	1,4	0,0	1,5	0,0	100,0	0,0
T16	1,8	0,0	0,8	0,0	0,9	0,0	83,0	0,0
T17	1,8	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	10,0	0,0

Apesar de não haver indícios de imposex nos organismos coletados em 2012, cabe ressaltar que essa campanha de amostragem foi realizada com base em organismos obtidos na região mais externa da baía, onde as concentrações de TBT foram relativamente inferiores. Entretanto, devido à distribuição das populações de *S. rustica*, não existem informações sobre a ocorrência de imposex nas áreas onde foi detectado maior contaminação por TBT nos sedimentos, isto é, nas regiões mais internas da baía de Todos os Santos.

Reduções dos níveis de contaminação por TBT possibilitam a recuperação de populações de gastrópodes afetados por imposex, conforme reportado em vários estudos na Europa (Castro *et al.*, 2007b). Nesse sentido, Birchenough *et al.* (Douglas *et al.*, 1993; Evans *et al.*, 1991; Matthiessen *et al.*, 1995) relataram a recuperação de várias populações de *Nucella lapillus* em diversas regiões da Inglaterra que haviam desaparecido devido a elevada contaminação por organoestânicos. Segundo esses autores, houve uma recolonização de áreas anteriormente afetadas, após a diminuição do uso de sistemas anti-incrustantes a base de TBT, inclusive nas proximidades de fontes potenciais de contaminação. Adicionalmente, uma avaliação temporal (1992-2008) realizada por Lovisa *et al.* (Birchenough *et al.*, 2002) na região costeira da Islândia, mostrou uma lenta recuperação de populações de *Nucella lapillus* em regiões sobre a influência de portos. Um estudo realizado por Castro *et al.* (Guomundsdóttir *et al.*, 2011) para a costa brasileira demonstrou uma redução significativa nos índices de imposex observados em *Stramonita haemastoma* coletada entre os anos de 2006 e 2010 em áreas sob a influência de portos no sul do Brasil. Por outro lado, estudos realizados em Arraial do Cabo (RJ) mostraram um aumento da extensão das áreas afetadas pelo imposex na espécie *Stramonita haemastoma*, entre os anos de 2001 e 2008. Toste *et al.* {Castro, 2012 1525 /id /d}, indicando um aumento da contaminação por TBT. De qualquer forma, as observações feitas no presente estudo estão em concordância com diversos estudos recentes, onde tem sido observada uma redução nos níveis de imposex, bem como o reestabelecimento de populações de gastrópodes anteriormente afetadas, relacionam a redução dos níveis com a implantação de legislações restritivas ao uso do TBT (Toste *et al.*, 2011).

Embora, não tenham sido detectados quaisquer indícios de imposex em *S. rustica* durante as amostragens realizadas em 2012, e esse resultado demonstre uma

clara redução da contaminação por TBT na baía de Todos os Santos, é importante ressaltar que alguns estudos apontam para o fato de que *S. rustica* apresenta uma baixa sensibilidade à contaminação por TBT (Birchenough *et al.*, 2002; Galante-Oliveira *et al.*, 2011; Sousa *et al.*, 2009). Nesse sentido, é possível que outras espécies de gastrópodes que ocorram no local possam apresentar sinais de imposex, já que níveis mensuráveis de TBT foram detectados durante o presente estudo em amostras de sedimentos superficiais e moluscos bivalves oriundos da baía de Todos os Santos.

## 5. CONCLUSÕES

---

Com base nos resultados obtidos na avaliação espacial pode-se verificar que a contaminação por butilestânicos na baía de Todos os Santos apresentou-se mais elevada na região norte (fundo da baía), visto que existem múltiplas fontes potenciais desses contaminantes no interior da baía. Além disso, a contaminação parece não ser afetada somente por fontes diretas, mas também pelas características ambientais do local como a forte hidrodinâmica e a realização de atividades antrópicas, como por exemplo, as dragagens.

Com relação aos moluscos bivalves coletados na campanha 2010/2011, os valores detectados na estação S8 podem apresentar riscos potenciais à saúde, visto que *Mytella guyanensis* (sururu) é bastante consumida como fonte de proteínas e as concentrações de TBT observadas nesses organismos foram acima dos limites máximos estabelecidos pela Autoridade Europeia de Saúde Alimentar.

A análise temporal dos dados (2010/2011 e 2012) não detectou nenhuma redução significativa nos níveis da contaminação por TBT em sedimentos da baía de Todos os Santos, exceto para a estação 8. Entretanto, o predomínio dos metabólitos (DBT e MBT) em 2012 ( $IDB > 1$ ), associado aos níveis de TBT observados, indica a ocorrência concomitante de aportes recentes e processos de metabolização do TBT aportado historicamente. Apesar disso, o desaparecimento do imposex verificado na espécie *S. rustica* entre 2004 e 2012 indica uma diminuição da contaminação por TBT, pelo menos na região mais externa e, possivelmente, menos impactada da baía de Todos os Santos. Sendo assim, considerando as avaliações temporais realizadas no presente estudo, os resultados sugerem que os aportes recentes (2012) de TBT são menores do que foram no passado. Entretanto, os níveis de TBT detectados em

sedimentos das regiões mais interiores ainda são preocupantes, pois estão acima dos  
que causam toxicidade a biota.



## 6. PERSPECTIVAS FUTURAS

---

---

Com base nas conclusões do presente estudo é fundamental dar continuidade às avaliações temporais a fim de verificar a eficiência das legislações nacionais e internacionais e confirmar a tendência de redução da contaminação por TBT na baía de Todos os Santos.

Além disso, considerando os elevados níveis de TBT observados em moluscos da espécie *Mytella guyanensis* (sururu), é importante monitorar a concentração de TBT nesta espécie, visto que é consumida como um importante recurso alimentar na região estudada. Nesse contexto, uma ampla avaliação em outras espécies marinhas utilizadas como fonte de alimento, bem como na população humana que consome as mesmas, deve ser realizada a fim de confirmar a existência de um problema de saúde pública relacionado a contaminação por TBT na região.

Adicionalmente, a fim de possibilitar ações mitigatórias e legais, é fundamental identificar mais precisamente as fontes da contaminação por TBT. Para tanto, é necessário conhecer melhor os processos que envolvem a hidrodinâmica local e os fenômenos de transporte do TBT na coluna d'água, a ocorrência de zonas de turbidez máxima e os seus processos de metabolização em diferentes compartimentos. Além disso, devem ser monitoradas as atividades de dragagens para melhor compreender o seu papel na remobilização destes contaminantes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

---

- Abalos, M.; J.M. Bayona; R. Compano; M. Granados; C. Leal; e m.D. Prat. (1997). Analytical procedures for the determination of organotin compounds in sediment and biota: a critical review. **Journal of Chromatography A** 788, 1-49.
- Almeida, E.; T.C. Diamantino; e O. de Sousa. (2007). Marine paints: The particular case of antifouling paints. **Progress in Organic Coatings** 59, 2-20.
- Alzieu, C. (2000a). Environmental impact of TBT: the French experience. **Science of the Total Environment** 258, 99-102.
- Alzieu, C. (2000b). Impact of tributyltin on marine invertebrates. **Ecotoxicology** 9, 71-76.
- Antizar-Ladislao, B. (2008). Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. **Environment International** 34, 292-308.
- Arambarri, I.; R. Garcia; e E. Millan. (2003). Assessment of tin and butyltin species in estuarine superficial sediments from Gipuzkoa, Spain. **Chemosphere** 51, 643-649.
- Axiak, V.; A.J. Vella; D. Agius; P. Bonnici; G. Cassar; R. Cassone; P. Chircop; D. Micallef; B. Mintoff; e M. Sammut. (2000). Evaluation of environmental levels and biological impact of TBT in Malta (central Mediterranean). **Science of the Total Environment** 258, 89-97.
- Barroso, C.M.; S. Mendo; e M.H. Moreira. (2004). Organotin contamination in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from portuguese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin** 48, 1149-1153.
- Barroso, C.M., eM.H. Moreira. (2002). Spatial and temporal changes of TBT pollution along the Portuguese coast: inefficacy of the EEC directive 89/677. **Marine Pollution Bulletin** 44, 480-486.
- Birchenough, A.C.; S.M. Evans; C. Moss; e R. Welch. (2002). Re-colonisation and recovery of populations of dogwhelks *Nucella lapillus* (L.) on shores formerly subject to severe TBT contamination. **Marine Pollution Bulletin** 44, 652-659.
- Blaber, S.J.M. (1970). The occurrence of a penis-like out grow behind the right tentacle in spent females of *Nucella lapillus* (L.). **Proceedings of the Malacological Society of London** 39, 231-233.
- Braithwaite, R.A., eR.L. Fletcher. (2005). The toxicity of Irgarol 1051 and Sea-Nine 211 to the non-target macroalga *Fucus serratus* Linnaeus, with the aid of an image

- capture and analysis system. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 322, 111-121.
- Camino-Sánchez, F.J.; A. Zafra-Gómez; B. Oliver-Rodríguez; I. Ruiz-Naranjo; J. Ruiz-García; e J.L. Víchez. (2012). Validation of a method for the determination of tributyltin in seawater by stir bar sorptive extraction–liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1263, 14-20.
- Cao, D.; G. Jiang; Q. Zhou; e R. Yang. (2009). Organotin pollution in China: An overview of the current state and potential health risk. **Journal of Environmental Management** 90, S16-S24.
- Carvalho, O.R., eR.E. Santelli. (2010). Occurrence and chemical speciation analysis of organotin compounds in the environment: A review. **Talanta** 82, 9-24.
- Castro, I.B.; F.M. Arroyo; G.P. Costa; e G. Fillmann. (2012a). Butyltin compounds and imposex levels in Ecuador. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 62, 68-77.
- Castro, I.B.; C.E. Bemvenuti; e G. Fillmann. (2007a). Preliminary Appraisal of Imposex in Areas Under the Influence of Southern Brazilian Harbors. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology** 2, 73-79.
- Castro, I.B.; A.F.A. Lima; A.R.C. Braga; e C.A. Rocha-Barreira. (2007b). Imposex in Two Muricid Species (Mollusca: Gastropoda) from the Northeastern Brazilian Coast. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology** 2, 81-91.
- Castro, I.B.; L. Rodrigues-Queiroz; e C.A. Rocha-Barreira. (2007c). Compostos orgânicos de estanho: efeitos sobre a fauna marinha - uma Revisão. **Arquivos de Ciências do Mar** 40, 96-12.
- Castro, I.B.; E. Westphal; e G. Fillmann. (2011a). Tintas anti-incrustantes de terceira geração: novos biocidas no ambiente aquático. **Química Nova** 34, 1021-1031.
- Castro, Í.; M. Arroyo; P. Costa; e G. Fillmann. (2011b). Butyltin Compounds and Imposex Levels in Ecuador. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 1-10.
- Castro, Í.; F. Perina; e G. Fillmann. (2012b). Organotin contamination in South American coastal areas. **Environmental Monitoring and Assessment** 184, 1781-1799.
- CESBRA. Chemical products marketed by CESBRA.  
<http://www.cesbra.com.br/site/quimicos.asp> . 2013.
- Champ, M.A. (2000). A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. **Science of the Total Environment** 258, 21-71.
- Chan, K.M.; K.M.Y. Leung; K.C. Cheung; M.H. Wong; e J.W. Qiu. (2008). Seasonal changes in imposex and tissue burden of butyltin compounds in *Thais clavigera*

- populations along the coastal area of Mirs Bay, China. **Marine Pollution Bulletin** 57, 645-651.
- Cirano, M., eG.C. Lessa. (2007). Oceanographic characteristics of Baía de Todos os Santos, Brazil. **Revista Brasileira de Geofísica** 25, 363-387.
- Clark, E.L.; R.M. Sterrit; e J.N. Lester. (1988). The Fate of Tributyltin in the Aquatic Environment a Look at the Data. **Environmental Science and Technology** 22, 600-604.
- Clark,R.B. (2001) Marine Pollution. Oxford University Press, Oxford.
- CONAMA. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 357, 58-63. 2005. Brazil, Diário Oficial da União.
- CONAMA. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sobre jurisdição nacional. 454, -66. 2012. Brasil, Diário Oficial da União.
- Dafforn, K.A.; J.A. Lewis; e E.L. Johnston. (2011). Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. **Marine Pollution Bulletin** 62, 453-465.
- Delucchi, F.; N.B. Tombesi; R.H. Freije; e J.E. Marcovecchio. (2006). Butyltin compounds in sediments of the Bahia Blanca Estuary, Argentina. **Environmental Monitoring and Assessment** 132, 445-451.
- Di Toro, D. e Rosa, L.D. Equilibrium Partitioning and Organic Carbon Normalization. 1991.
- Díez, S.; M. Abalos; e J.M. Bayona. (2002). Organotin contamination in sediments from the Western Mediterranean enclosures following 10 years of TBT regulation. **Water Research** 36, 905-918.
- Díez, S.; J. Jimenez; e J.M. Bayona. (2003). Recent status and historical trends of the organotin contamination in sediments from the Western Mediterranean Sea. **Ciencias Marinas** 29, 547-560.
- Díez, S.; E. Jover; J. Albaiges; e J.M. Bayona. (2006). Occurrence and degradation of butyltins and wastewater marker compounds in sediments from Barcelona harbor, Spain. **Environment International** 32, 858-865.
- Douglas, E.W.; S.M. Evans; C.L.J. Frid; S.T. Hawkins; T.S. Mercer; e C.L. Scott. (1993). Assessment of Imposex in the Dogwhelk *Nucella lapillus* (L) and Tributyltin Along the Northeast Coast of England. **Invertebrate Reproduction & Development** 24, 243-248.

- Evans, S.M.; A. Hutton; M.A. Kendall; e A.M. Samosir. (1991). Recovery in Populations of Dogwhelks *Nucella-Lapillus* (L) Suffering from Imposex. **Marine Pollution Bulletin** 22, 331-333.
- Felizzola, J.F.; A.d.L.R. Wagener; A.C. Almeida; e W.O. Lin. (2008). Butyltin speciation in sediments from Todos os Santos Bay (Bahia, Brazil) by GC-PFPD. **Química Nova** 31, 89-93.
- Fent, K. (2003). Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. **Toxicology Letters** 140-141, 353-365.
- Fernandez, M.A., eF. Pinheiro. (2007). New approaches for monitoring the marine environment: the case of antifouling paints. **International Journal of Environmental and Health** 1, 427-448.
- Fernandez, M.A.; A.d.L.R. Wagener; A.M. Limaverde; A.L. Scofield; F.M. Pinheiro; e E. Rodrigues. (2005a). Imposex and surface sediment speciation: A combined approach to evaluate organotin contamination in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Environmental Research** 59, 435-452.
- Fernandez, M.A.; A.M. Limaverde; A.d.L. Scofield; e A.d.L.R. Wagener. (2005b). Preliminary evaluation of human health risks from ingestion of organotin contaminated seafood in Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography** 53, 75-77.
- Fromme, H.; A. Mattulat; T. Lahrz; e H. Ruden. (2005). Occurrence of organotin compounds in house dust in Berlin (Germany). **Chemosphere** 58, 1377-1383.
- Gadd, G.M. (2000). Microbial interactions with tributyltin compounds: detoxification, accumulation, and environmental fate. **Science of the Total Environment** 258, 119-127.
- Galante-Oliveira, S.; I. Oliveira; N. Ferreira; J.A. Santos; M. Pacheco; e C. Barroso. (2011). *Nucella lapillus* L. imposex levels after legislation prohibiting TBT antifoulants: temporal trends from 2003 to 2008 along the Portuguese coast. **Journal of Environmental Monitoring** 13, 304-312.
- Garg, A.; R. Meena; e N. Bhosle. (2010). Distribution of butyltins in waters and sediments of the Mandovi and Zuari estuaries, west coast of India. **Environmental Monitoring and Assessment** 165, 643-651.
- Genz, F.; G. Lessa; e M. Cirano. (2006). The impact of an extreme flood upon the mixing zone of the Todos os Santos Bay, Northeastern Brazil. **Journal of Coastal Research** 707-712.
- Gibbs, P.E., eG.M. Bryan. (1987). TBT paints and demise of the dog-whelk *Nucella lapillus* (Gastropoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 68, 1482-1487.
- Godoi, A.F.L.; R. Favoreto; e M. Santiago-Silva. (2003). Contaminação Ambiental Por Compostos Organoestânicos. **Química Nova** 26, 708-716.

- Gray, J.S. (1981) *The Ecology of Marine Sediments*. Cambridge, University Press, New York.
- Guomundsdóttir, L.Ó.; K.K.Y. Ho; J.C.W. Lam; J. Svavarsson; e K.M.Y. Leung. (2011). Long-term temporal trends (1992-2008) of imposex status associated with organotin contamination in the dogwhelk *Nucella lapillus* along the Icelandic coast. **Marine Pollution Bulletin** In Press.
- Harino, H.; Y. Yamamoto; S. Eguchi; S. Kawai; Y. Kurokawa; T. Arai; M. Ohji; H. Okamura; e N. Miyazaki. (2007). Concentrations of Antifouling Biocides in Sediment and Mussel Samples Collected from Otsuchi Bay, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 52, 179-188.
- Hatje, V., e J.B. Andrade. (2009) *Baía de Todos os Santos: Aspectos Oceanográficos*. EDUFBA, Salvador.
- Haynes, D., e D. Loong. (2002). Antifoulant (butyltin and copper) concentrations in sediments from the Great Barrier Reef World Heritage Area, Australia. **Environmental Pollution** 120, 391-396.
- Hoch, M. (2001). Organotin compounds in the environment - an overview. **Applied Geochemistry** 16, 719-743.
- Hoch, M., e D. Schwesig. (2004). Parameters controlling the partitioning of tributyltin (TBT) in aquatic systems. **Applied Geochemistry** 19, 323-334.
- Horiguchi, T.; M. Kojima; F. Hamada; A. Kajikawa; H. Shiraishi; M. Morita; e M. Shimizu. (2006). Impact of tributyltin and triphenyltin on ivory shell (*Babylonia japonica*) populations. **Environmental Health Perspectives** 114, 13-19.
- Hung, T.; T. Lee; e T. Liao. (1998). Determination of butyltins and phenyltins in oysters and fishes from Taiwan coastal waters. **Environmental Pollution** 102, 197-203.
- IBGE. Censo Demográfico 2010. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm> . 2010.
- IMO. Antifouling Systems. International Convention on the Control of Harmful Antifouling Systems on Ships. 2005. London, International Maritime Organization.
- IMO. Summary of the status of conventions as at 31 May 2007. <http://www.imo.org/> . 2008. United Kingdom, International Maritime Organization.
- Iwata, H.; S. Tanabe; N. Miyazaki; e R. Tatsukawa. (1994). Detection of Butyltin Compound Residues in the Blubber of Marine Mammals. **Marine Pollution Bulletin** 28, 607-612.
- Kannan, K.; S. Corsolini; S. Focardi; S. Tanabe; e R. Tatsukawa. (1996). Accumulation pattern of butyltin compounds in dolphin, tuna, and shark collected from Italian coastal waters. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 31, 19-23.

- Kannan, K.; K. Senthilkumar; B.G. Loganathan; S. Takahashi; D.K. Odell; e S. Tanabe. (1997). Elevated accumulation of tributyltin and its breakdown products in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) found stranded along the US Atlantic and Gulf coasts. **Environmental Science and Technology** 31, 296-301.
- Ketata, I.; X. Denier; A. Hamza-Chaffai; e C. Minier. (2008). Endocrine-related reproductive effects in molluscs. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology** 147, 261-270.
- Kim, G.B.; S. Tanabe; R. Iwakiri; R. Tatsukawa; M. Amano; N. Miyazaki; e H. Tanaka. (1996a). Accumulation of butyltin compounds in Risso's dolphin (*Grampus griseus*) from the Pacific coast of Japan: Comparison with organochlorine residue pattern. **Environmental Science and Technology** 30, 2620-2625.
- Kim, G.B.; S. Tanabe; R. Tatsukawa; T.R. Loughlin; e K. Shimazaki. (1996b). Characteristics of butyltin accumulation and its biomagnification in Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*). **Environmental Toxicology and Chemistry** 15, 2043-2048.
- Kotrikla, A. (2009). Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. **Journal of Environmental Management** 90, S77-S85.
- Landmeyer, J.E.; T.L. Tanner; e B.E. Watt. (2004). Biotransformation of tributyltin to tin in freshwater river-bed sediments contaminated by an organotin release. **Environmental Science and Technology** 38, 4106-4112.
- Langston, W.J., eN.D. Pope. (1995). Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. **Marine Pollution Bulletin** 31, 32-43.
- Langston, W.J.; H. Harino; e N.D. Pope. (2009). Behaviour of Organotins in the Coastal Environment. p. 75-94. *In* T.Arai, H.Harino, M.Ohji, and W.J.Langston (ed.) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. Springer, Springer.
- Lessa, G., eK. Dias. (2009). Distribuição espacial das litofácies de fundo da Baía de de Todos os Santos. **Quaternary and Environmental Geosciences** 1, 84-97.
- Madhusree, B.; S. Tanabe; A.A. Ozturk; R. Tatsukawa; N. Miyazaki; E. Ozdamar; O. Aral; O. Samsun; e B. Ozturk. (1997). Contamination by butyltin compounds in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) from the Black Sea. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** 359, 244-248.
- Matthiessen, P., eP.E. Gibbs. (1998). Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in molluscs. **Environmental Toxicology and Chemistry** 17, 37-43.
- Matthiessen, P.; R. Waldock; J.E. Thain; M.E. Waite; e S. Scropehowe. (1995). Changes in Periwinkle (*Littorina-Littorea*) Populations Following the Ban on Tbt-Based Antifouling on Small Boats in the United-Kingdom. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 30, 180-194.

- Meador, J.P.; F.C. Sommers; K.A. Cooper; e G. Yanagida. (2011). Tributyltin and the obesogen metabolic syndrome in a salmonid. **Environmental Research** 111, 50-56.
- Michelsen, C.T. Organic Carbon Normalization of Sediment Data. Washigton Department of Ecology. 0509050, 1-15. 1992.
- Mochida, K., e K. Fujii. (2009). Toxicity in Plankton and Fish. p. 364-382. *In* T.Arai, H.Harino, M.Ohji, and W.J.Langston (ed.) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. Springer, Springer.
- Morabito, R.; P. Massanisso; e P. Quevauviller. (2000). Derivatization methods for the determination of organotin compounds in environmental samples. **TrAC, Trends in Analytical Chemistry** 19, 113-119.
- Morton, B. (2009). Recovery from imposex by a population of the dogwhelk, *Nucella lapillus* (Gastropoda: Caenogastropoda), on the southeastern coast of England since May 2004: A 52-month study. **Marine Pollution Bulletin** 58, 1530-1538.
- NORMAM/23. Normas da Autoridade Marítima para o Controle de Sistemas Anti-incrustantes Danosos em Embarcações - NORMAM/23. 2007. Rio de Janeiro, Marinha do Brasil.
- Oehlmann, J., e U. SchulteOehlmann. (2003). Molluscs as Bioindicators. p. 577-635. *Bioindicators and biomonitors*. Elsevier, Elsevier.
- Ohji, M. (2009). Biological Effects of Tributyltin on the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda). p. 161-193. *In* T.Arai, H.Harino, M.Ohji, and W.J.Langston (ed.) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. Springer, Springer.
- Oliveira, C.R.; D.M. Santos; L.A. Santos Madureira; e M.R.R. Marchi. (2010). Speciation of butyltin derivatives in surface sediments of three southern Brazilian harbors. **Journal of Hazardous Materials** 181, 851-856.
- Omae, I. (2006). Chemistry and Fate of Organotin Antifouling Biocides in the Environment. p. 17-50. *In* I.K.Konstantinou (ed.) *Handbook of Environmental Chemistry: Antifouling Paints Biocides*. Springer-Verlag, Springer-Verlag.
- Oyewo, E.O. (1989). Organotin compounds, fouling and the marine environment. **Ocean & Shoreline Management** 12, 285-294.
- Pereira, M.O.; Hilberath, C.R.; Ansarah, C.A.R.P.; e Galvão, N.S.M. **Estimativa da produção de *Mytella falcata* e de *M. guyanensis* em bancos naturais do estuário de Ilha Comprida - SP - Brasil**. Boletim do Instituto de Pesca 29, 139-149. 2003.
- Pinochet, H.; C. Tessini; M. Bravo; W. Quiroz; e I. De Gregori. (2009). Butyltin compounds and their relation with organic matter in marine sediments from San Vicente Bay, Chile. **Environmental Monitoring and Assessment** 155, 341-353.
- Pletsch, L.A.; Beretta, M.; e Tania Mascarenhas Tavares, M.T. Distribuição espacial de compostos orgânicos de estanho em sedimentos costeiros e em *Phallusia nigra*



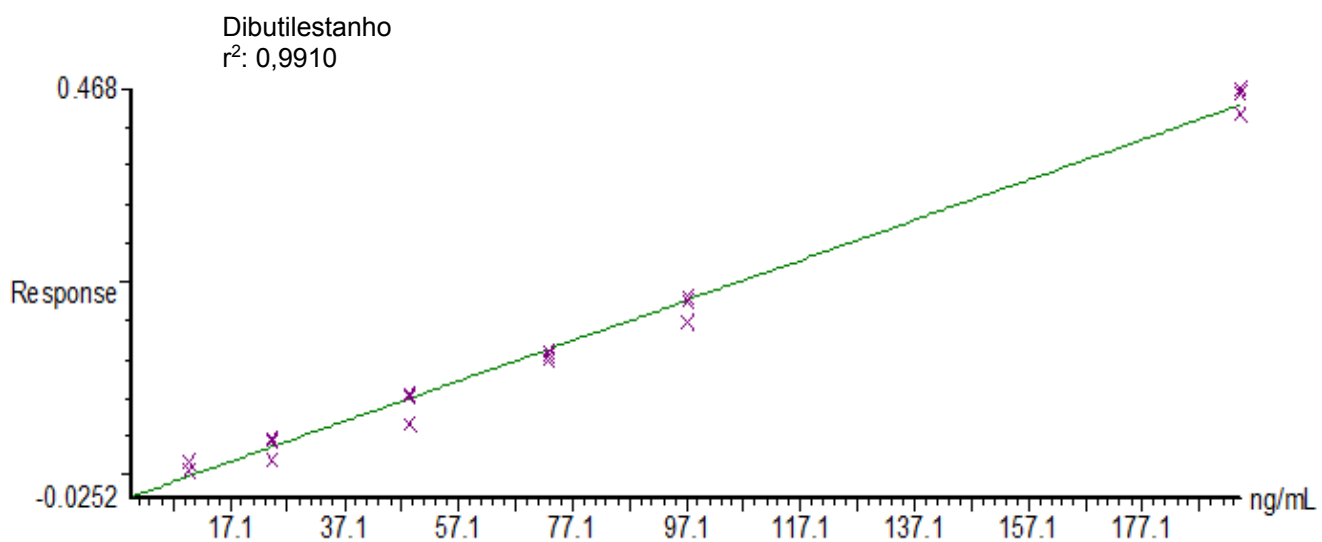
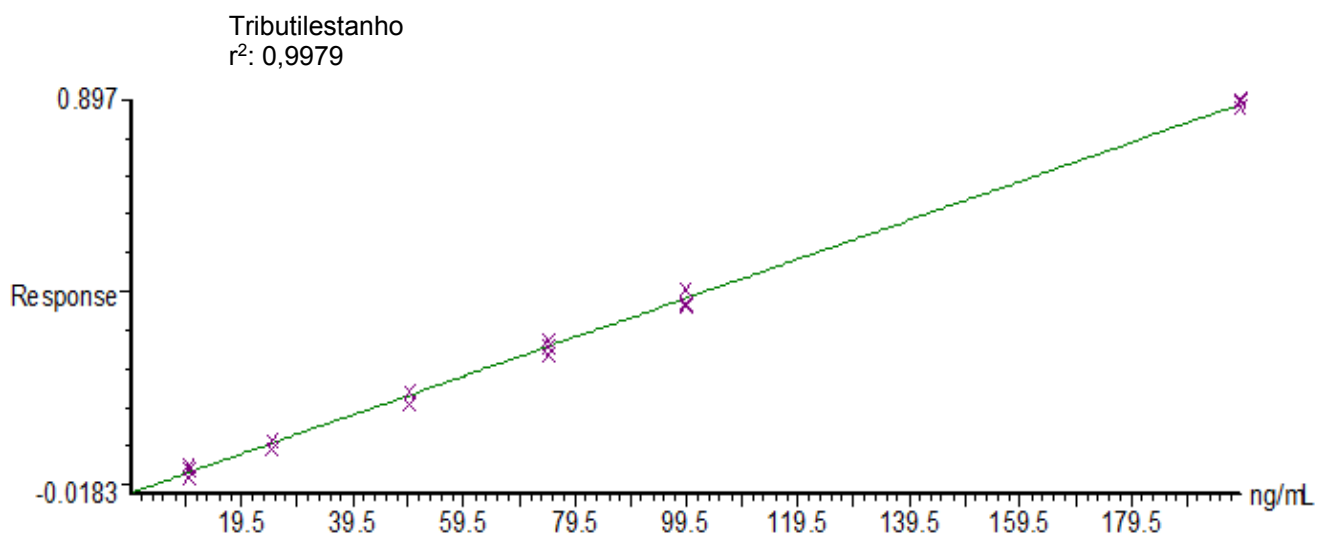
da baía de Todos os Santos e litoral norte da Bahia - Brasil. *Química Nova* 33[2], 451-457. 2010.

- Queiroz, L.; I.B. Castro; e C.A. Rocha-Barreira. (2007). New Imposex Development Index (IDI) for *Stramonita haemastoma* (Mollusca: Muricidae): A Transplantation Experiment in the Brazilian Northeast. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology** 2, 249-256.
- Rittschof, D., eP. McClellan-Green. (2005). Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. **Marine Pollution Bulletin** 50, 369-373.
- Rodrigues, L.M.A.; Azevedo, B.M.C.; e Silva, H.G.G. **Aspectos da biologia e ecologia do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae)** . Revista Brasileira de Biociências [1980-4849]. 2010.
- Ronis, M.J.J., eA.Z. Mason. (1996). The metabolism of testosterone by the periwinkle (*Littorina littorea*) in vitro and in vivo: Effects of tributyl tin. **Marine Environmental Research** 42, 161-166.
- Rudel, H. (2003). Case study: bioavailability of tin and tin compounds. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 56, 180-189.
- Ruiz, J.M.; R. Barreiro; e J.J. Gonzalez. (2005). Biomonitoring organotin pollution with gastropods and mussels. **Marine Ecology Progress Series** 287, 169-176.
- Rumengan, I.F.M., e M. Ohji. (2009). Plankton. p. 252-270. *In* T.Arai, H.Harino, M.Ohji, and W.J.Langston (ed.) *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*. Springer, Springer.
- Sericano, J.L.; T.L. Wade; T.J. Jackson; J.M. Brooks; B.W. Tripp; J.W. Farrington; L.D. Mee; J.W. Readmann; J.P. Villeneuve; e E.D. Goldberg. (1995). Trace organic contamination in the Americas: An overview of the US National Status & Trends and the International Mussel Watch programmes. **Marine Pollution Bulletin** 31, 214-225.
- Smith, B.S. (1971). Sexuality in the American mud-snail *Nassarius obsoletus* Say. **Proceedings of the Malacological Societ of London** 39, 377-378.
- Sole, M.; Y. Morcillo; e C. Porte. (1998). Imposex in the commercial snail *Bolinus brandaris* in the northwestern Mediterranean. **Environmental Pollution** 99, 241-246.
- Sonak, S.; P. Pangam; A. Giriyan; e K. Hawaldar. (2009). Implications of the ban on organotins for protection of global coastal and marine ecology. **Journal of Environmental Management** 90, S96-S108.
- Sousa, A.; F. Laranjeiro; S. Takahashi; S. Tanabe; e C.M. Barroso. (2009). Imposex and organotin prevalence in a European post-legislative scenario: Temporal trends from 2003 to 2008. **Chemosphere** 77, 566-573.

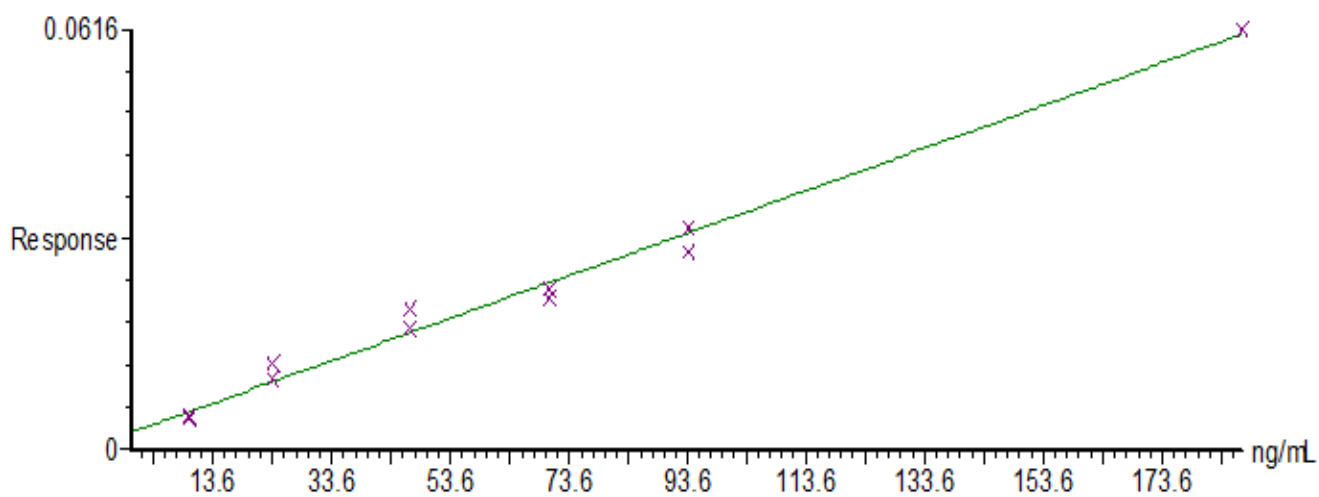
- St-Jean, S.D.; S.C. Courtenay; E. Pelletier; e R. St-Louis. (1999). Butyltin concentrations in sediments and blue mussels (*Mytilus edulis*) of the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. **Environmental Technology** 20, 181-189.
- Strand, J.; A. Jørgensen; e Z. Tairova. (2009). TBT pollution and effects in molluscs at US Virgin Islands, Caribbean Sea. **Environment International** 35, 707-711.
- Swennen, C.; N. Ruttanadakul; S. Ardseungnern; H.R. Singh; B.P. Mensink; e C.C. ten Hallers-Tjabbes. (1997). Imposex in sublittoral and littoral gastropods from the Gulf of Thailand and strait of Malacca in relation to shipping. **Environmental Technology** 18, 1245-1254.
- Tanabe, S.; M. Prudente; T. Mizuno; J. Hasegawa; H. Iwata; e H. Wata. (1998). Butyltin contamination in marine mammals from North Pacific and Asian coastal waters. **Environmental Science and Technology** 32, 193-198.
- Tanabe, S. (2002). Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds. **Marine Pollution Bulletin** 45, 69-77.
- Thomas, K.V., eS. Brooks. (2010). The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. **Biofouling** 26, 73-88.
- Toste, R.; M.A. Fernandez; I.d.A. Pessoa; M.A. Parahyba; e M.P. Dore. (2011). Organotin pollution at Arraial do Cabo, Rio de Janeiro State, Brazil: increasing levels after the TBT ban. **Brazilian Journal of Oceanography** 59, 111-117.
- Villa, L.; P.D. Agati; C. Pellerito; M. Scopelliti; T. Fiore; L. Nagy; e L. Pellerito. (2003). Effects of tributyltin (IV) chloride on the gametes and fertilization of *Ascidia malaca* (Ascidacea: Tunicata). **Applied Organometallic Chemistry** 17, 106-112.
- Yang, R.; D. Cao; Q. Zhou; Y. Wang; e G. Jiang. (2008). Distribution and temporal trends of butyltins monitored by molluscs along the Chinese Bohai coast from 2002 to 2005. **Environment International** 34, 804-810.
- Yang, R.; Q. Zhou; J. Liu; e G. Jiang. (2006). Butyltins compounds in molluscs from Chinese Bohai coastal waters. **Food Chemistry** 97, 637-643.
- Yebra, D.M.; S. Kiil; e K. Dam-Johansen. (2004). Antifouling technology: past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. **Progress in Organic Coatings** 50, 75-104.

# ANEXO I

## Curvas Analíticas

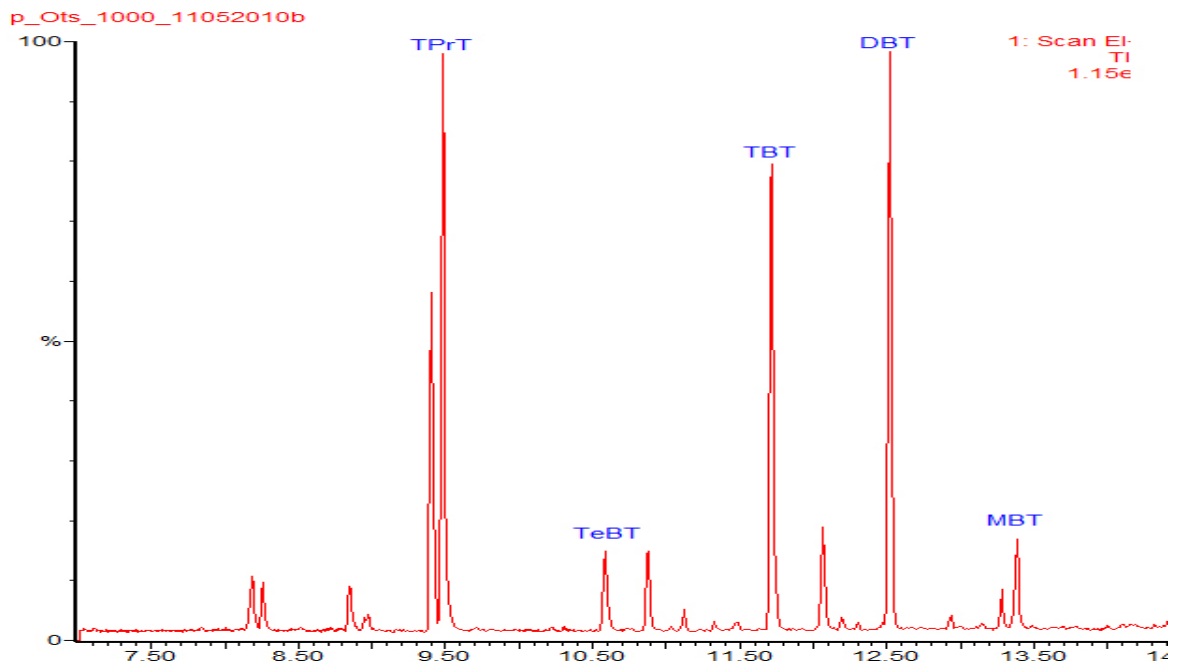


Monobutilestanho  
 $r^2: 0,9914$

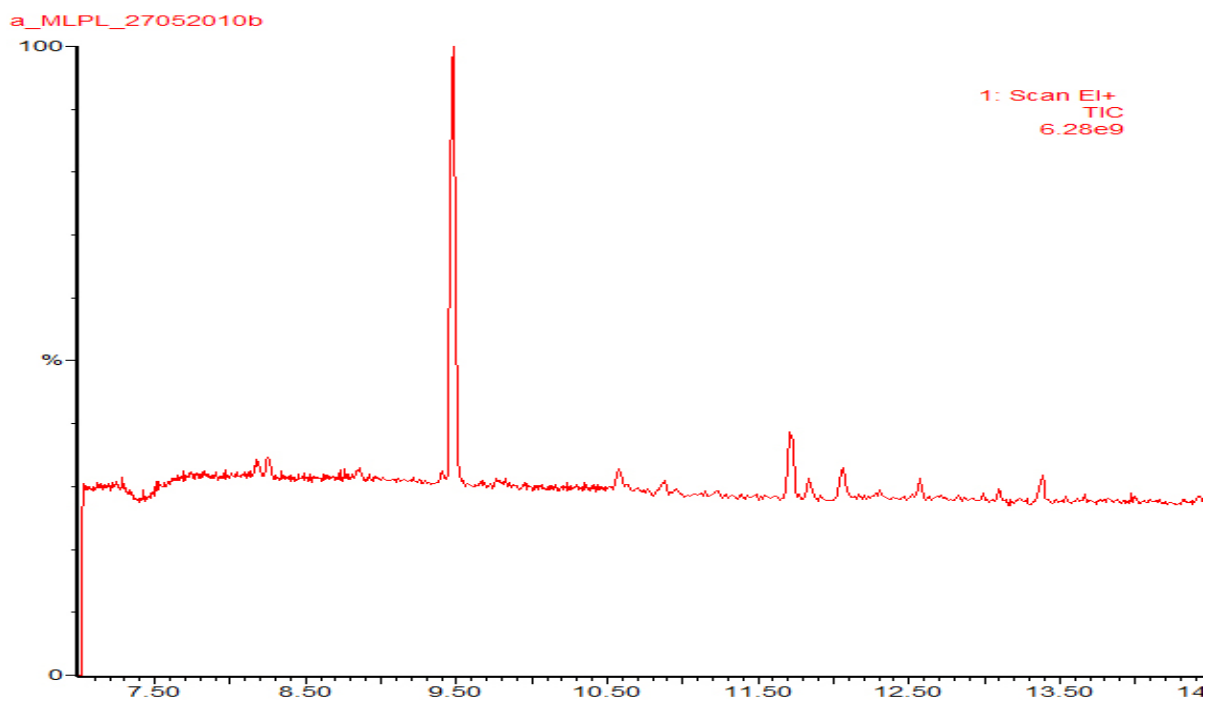


## ANEXO II

### Cromatogramas

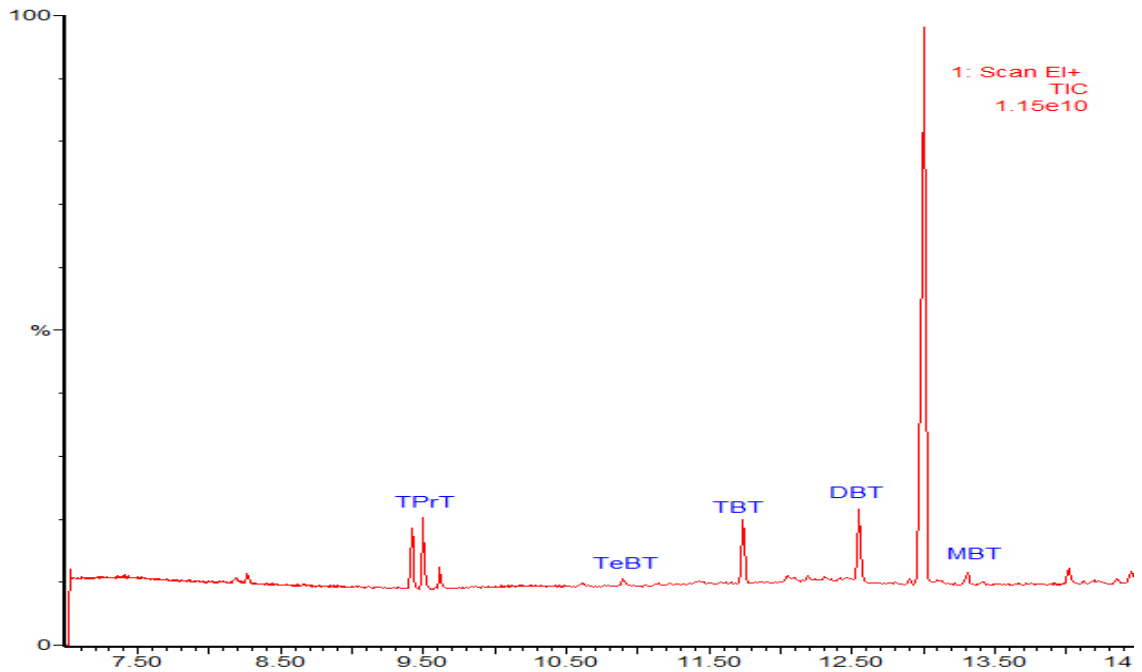


Cromatograma de padrões de Organoestânicos fortificados na matriz sedimentos.  
Concentração 1000 ng Sn g<sup>-1</sup>



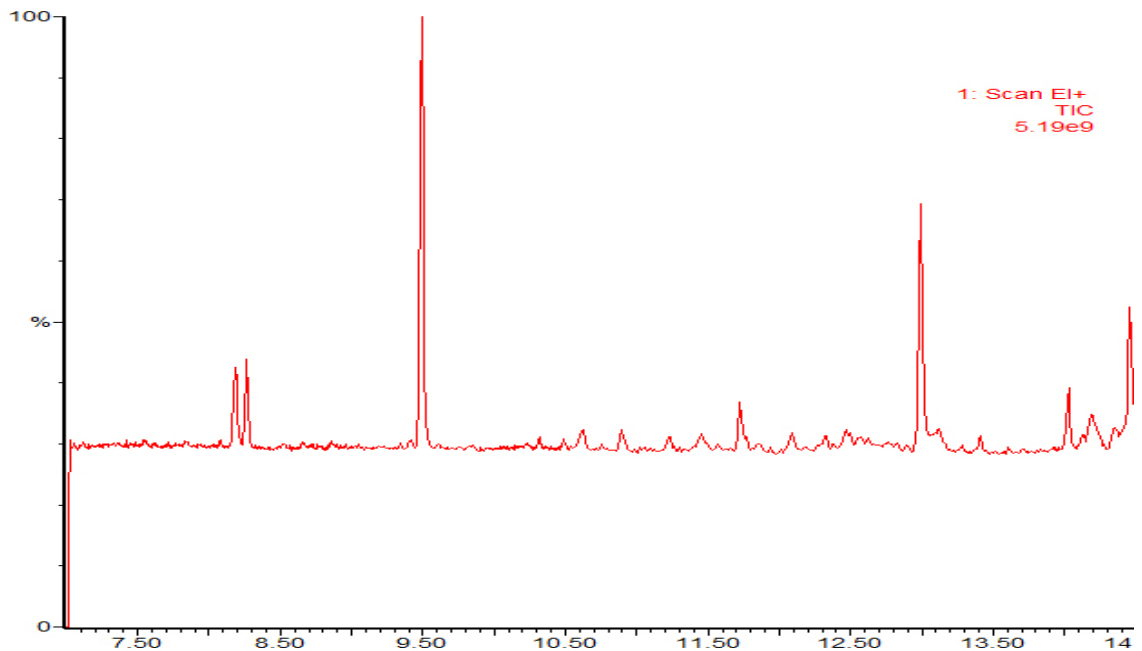
Cromatograma de uma amostra de sedimentos analisada quanto a presença de organoestânicos (Branco).

p\_biota\_1000\_08062010a



Cromatograma de padrões de Organoestânicos fortificados na matriz tecido de mexilhão. Concentração 1000 ng Sn g<sup>-1</sup>

a\_11PP\_gonada\_22062010a



Cromatograma de uma amostra de biota analisada quanto a presença de organoestânicos (Branco)