

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares

SiNC-DCOIT-Ag: um novo anti-incrustante e seus impactos nos invertebrados marinhos de espécies não-alvo

João Vítor Castro¹; [0000-0003-2243-1162](tel:0000-0003-2243-1162)

Marcos Gabriel Silva Santos¹;

Paloma Richter Santos¹;

Caio Cesar Ribeiro¹; [0000-0002-7558-4958](tel:0000-0002-7558-4958)

Denis Moledo de Souza Abessa¹; [0000-0003-4609-1668](tel:0000-0003-4609-1668)

Roberto Martins¹; [0000-0002-6904-8550](tel:0000-0002-6904-8550)

Isabella Beverari Couto¹; [0000-0003-2614-3432](tel:0000-0003-2614-3432)

1 – Núcleo de Estudos em Poluição e ecotoxicologia aquática (NEPEA), Laboratório; UNESP IB CLP (São Vicente, São Paulo, Brasil).
paloma.richter@unesp.br

Resumo: As tintas anti-incrustantes são usadas para diminuir a incrustação nos cascos de embarcações marítimas, tendo como composição no passado o estanho e outros metais pesados como cobre e zinco que foram proibidas devido a sua alta toxicidade. A partir disso outras tintas anti-incrustantes necessitaram de alterações visando uma menor agressão a biota marinha. Utilizando uma nova tecnologia e tendo como objetivo uma menor ação tóxica, tintas anti-incrustantes à base de DCOIT (4,5-Dicloro-2- octilisotiazol-3(2H) -ona) surgiram no mercado, se tornando muito utilizadas até os dias atuais, principalmente em áreas com alto tráfego de embarcações. A sua utilização é considerada um contaminante pseudo-persistente e tóxico para espécies não-alvo, sendo assim o presente estudo visa avaliar a toxicidade do SiNC-DCOIT-Ag, nanopartícula de prata em ensaios ecotoxicológicos com diferentes organismos marinhos, como: artêmias (*Artemia salina*) e mexilhões (*Perna perna*). Com resultado dos estudos foi verificado que o composto SiNC-DCOIT-Ag é tóxico para ambas as espécies analisadas que tiveram os CE50-24h de 38.02 µg/L para *P. perna* e CEO 8 mg/L e CENO 1.6 mg/L para *A. salina*.

Palavras-chave: Incrustação. Toxicidade. Nanopartículas.

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares

INTRODUÇÃO

No ambiente marinho, o fenômeno de bioincrustação é referido como a colonização indesejada de organismos marinhos em superfícies naturais ou antropogênicas que são imersas na água do mar. Existem diversos organismos envolvidos no desenvolvimento gradual da incrustação (do termo em inglês *biofouling*), como bactérias, diatomáceas, cracas, vermes tubulares, mexilhões, tunicados e algas marinhas (Chen *et al.*, 2017). A bioincrustação excessiva nas superfícies de navios gera grandes perdas econômicas, devido ao aumento do atrito no casco e perda de velocidade das embarcações (Chen *et al.*, 2017).

Visando lidar com esse problema, surgiram as tintas anti-incrustantes, as quais tem a finalidade desejada de impedir ou reduzir essa incrustação. A primeira geração de tintas anti-incrustantes incluía metais na sua composição, mas estas eram pouco eficientes e causavam efeitos tóxicos sobre a biota. Uma segunda geração possuía composição à base de biocidas anti-incrustantes (AF) organoestênicos (COEs), os quais foram posteriormente considerados persistentes e altamente tóxicos para organismos marinhos (Abreu *et al.*, 2020). Estas tintas incluíam substâncias como o tributilestanho (TBT) e o trifenilestanho (TPT). Por fim, uma terceira geração de anti-incrustantes incorporou outros biocidas organoclorados, como Irgarol, Diuron, Clorotalonil, Diclofluanida e o DCOIT (4,5- dicloro-2-octil-2H -isotiazol-3-ona), com o intuito de introduzir no mercado tintas menos tóxicas para a biota aquática e de rápida degradação (Fonseca *et al.*, 2020). No entanto, o DCOIT foi encontrado em água e sedimentos de vários países, e estudos demonstraram a alta toxicidade deste biocida para organismos não-alvo (Santos *et al.*, 2020). Recentemente, o DCOIT foi classificado como “muito tóxico para a vida aquática, com efeitos duradouros” pela Agência Europeia de Produtos Químicos (Santos *et al.*, 2020).

Um método para tornar o uso de DCOIT mais eficiente e menos prejudicial ao ambiente está na sua associação com nanomateriais, como por exemplo a utilização de nanocápsulas esféricas de sílica mesoporosa (SiNCs), de onde o biocida é liberado gradativamente, principalmente por difusão, sob estímulos pré-definidos (pH, temperatura e concentração de NaCl). A lógica por trás deste método é a

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares



prevenção da interação direta do biocida com os componentes do revestimento, o controle da taxa de lixiviação e a diminuição da quantidade absoluta de biocidas necessários para preparar uma formulação com eficácia AF idêntica (Figueiredo *et al.*, 2019).

Esse trabalho visa compreender os efeitos ecotoxicológicos do SiNC-DCOIT- Ag, uma nanopartícula contendo prata para aumentar a ação biocida, em organismos marinhos não-alvo: microcrustáceo (*Artemia salina*) e mexilhão (*Perna perna*).

MÉTODOS

1. Preparação das concentrações e testes de parâmetros

O SiNC-DCOIT-Ag foi fornecido pela empresa SmallMatek Ltda. Sais foram diluídos em água do mar filtrada e preparada a solução estoque (100 mg/L) SE100, a qual foi homogeneizada em sonicador por 40 min para melhor dispersão coloidal das partículas. As soluções de exposição foram produzidas através do processo de diluição seriada a partir da SE100, considerando um gradiente de concentrações para a execução de ensaios definitivos. Para artemias foram utilizadas concentrações de 0; 0,064; 0,32; 1,6; 8; 40 e 200 mg/L e para mexilhões foram usadas as concentrações 0; 6; 32; 162; 808 e 4040 µg/L.

2. Ensaio de desenvolvimento embriolarval em *Artemia salina*

O ensaio foi conduzido de acordo com o protocolo ISO (2017). Para a realização do teste de toxicidade aguda, cistos de *Artemia salina* adquiridos comercialmente foram preparados para eclosão em água do mar de pH 7,0. A incubação ocorreu em temperatura ambiente e com aeração forte e constante (Koutsaftis & Aoyama, 2007). Após o período de eclosão (72 h), dez náuplios foram coletados e adicionados a cada tubo de ensaio contendo 10 mL de solução-teste, considerando 4 réplicas para cada concentração testada. O ensaio foi mantido em estufa com fotoperíodo controlado 12h/12h (claro/escuro), a 25±2°C, por 48 horas. Após o período de exposição, os organismos foram imediatamente verificados sob

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares



lupa, de modo a contabilizar os organismos sobreviventes.

3. Ensaio de desenvolvimento embriolarval em *Perna perna*

Os ensaios de toxicidade crônica com embriões de *Perna perna* seguiram a metodologia estabelecida pela norma NBR 16456 (ABNT, 2016). A liberação dos gametas foi obtida por indução térmica (Zaroni *et al.*, 2005; ABNT, 2016). Após a fecundação, 1 mL da solução de ovos foi diluída para o volume final de 100 mL com água de diluição. Foram expostos cerca de 400 embriões em cada réplica de cada concentração das substâncias estudadas. Durante o período de exposição (48h), os tubos foram mantidos em estufa com fotoperíodo de 12h:12h (claro/escuro), e temperatura controlada ($25\pm 2^\circ\text{C}$). O teste foi encerrado pela adição de formaldeído (4%) tamponado, e foi verificada a taxa de desenvolvimento de larvas D (veliconcha) normais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

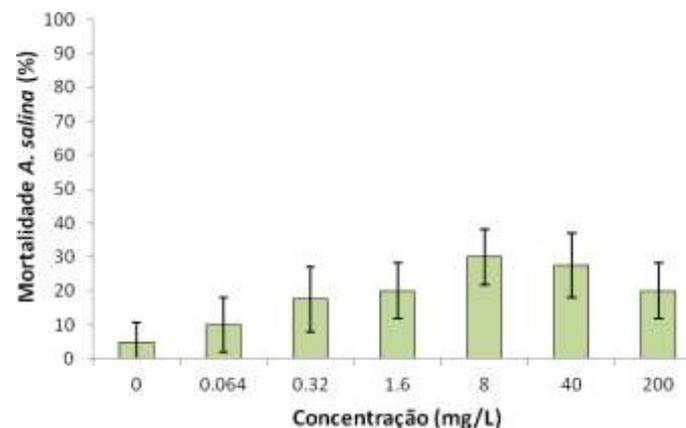
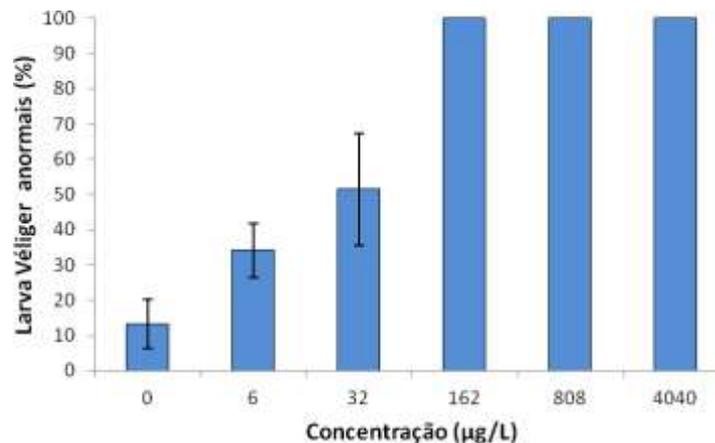
Os parâmetros físico-químicos foram medidos ao final do teste, no qual a salinidade se manteve a 35, o pH variou de 7,5 a 8,3 e o oxigênio dissolvido de 6,3 a 7,2 mg/L. Para os testes realizados com *A. salina* expostas a concentrações de SiNC-DCOIT-Ag no período de 48h a concentração de efeito (CEO) observada foi de 8 mg/L e a concentração de efeito não observada (CENO) foi de 1.6 mg/L. Para os testes realizados em *P. perna* no período de 24h foi observada concentração efetiva a 50% dos organismos (CE50) de 38.02 $\mu\text{g/L}$ (Figura 1).

Os resultados de *P. perna* obtidos pelo trabalho condizem com os esperados com os analisados pelo trabalho de Santos *et al.* (2020). Comparando com os resultados de Figueiredo *et al.* (2019), houve uma divergência nos resultados, quais no presente estudo os microcrustáceos foram menos sensíveis. Estes resultados são esperados, pois *A. salina* é considerada menos sensível do que embriões do mexilhão *Perna perna*.

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares

Figura 1 - O gráfico da esquerda demonstra o número em porcentagem da mortalidade de *A. salina* em contato com concentrações(mg/L) de SiNC-DCOIT-Ag. O gráfico da direita relaciona o número percentual de larvas anormais de *P. perna* (larva véliger) em concentrações(mg/L) de SiNC-DCOIAg.



Fonte: Autor

CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que apesar do encapsulamento do DCOIT em SiNC ser usado para amenizar os impactos sobre a biota marinha, a toxicidade não é totalmente eliminada, havendo efeitos adversos sobre organismos não-alvo. Isto pode acarretar em alterações fisiológicas e comportamentais dessas espécies. Considerando a vulnerabilidade de algumas espécies ao serem expostas ao SiNC-DCOIT-Ag, nota-se ainda a necessidade de dar continuidade aos estudos de biocidas em espécies não-alvo, evitando maiores impactos à biota marinha.

Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares



AGRADECIMENTO

Agradecemos a toda equipe do laboratório NEPEA e a FAPESP (processo 2020/03004-0).

REFERÊNCIAS

ABREU, F. E. L., BATISTA, R. M., CASTRO, Í. B., & FILLMANN, G. Legacy and emerging antifouling biocide residues in a tropical estuarine system (Espírito Santo state, SE, Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 166, 112255, 2020.

Associação Brasileira de Normas Técnicas ABNT. NBR 16456: Ecotoxicologia Aquática - Método de ensaio de curta duração com embriões de bivalves (Mollusca - Bivalvae), 2016.

BAO, V. W., LEUNG, K. M., QIU, J. W., & LAM, M. H. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Marine pollution bulletin*, 62(5), 1147-1151. 2011

BASTOS, A. C., VILELA, C. G., QUARESMA, V. S., & ALMEIDA, F. K. Mid-to Late-Holocene estuarine infilling processes studied by radiocarbon dates, high resolution seismic and biofacies at Vitoria Bay, Espírito Santo, Southeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82, 761-770. 2010.

CHEN, L., & LAM, J. C. SeaNine 211 as antifouling biocide: A coastal pollutant of emerging concern. *Journal of Environmental Sciences*, 61, 68-79, 2017.

FONSECA, V.B., GUERREIRO, A.S., VARGAS, M.A., SANDRINI, J.Z. Efeitos do DCOIT (4,5-dicloro-2-octil-4-isotiazolin-3-ona) nos hemócitos de mexilhões *Perna perna*. *Comp. Bioquímica. Fisiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 232, 108737, 2020.

FIGUEIREDO, J.; LOUREIRO, S.; MARTINS, R. Hazard of novel anti-fouling nanomaterials and biocides DCOIT and silver to marine organisms. *Environmental Science: Nano*, v. 7, n. 6, p. 1670–1680, 2020.

FIGUEIRO, J., OLIVEIRA, T, FERREIRA, V., SUSHKOVA, A., SILVA, S., CARNEIRO, D., GONSALVES, S., MAIA, F. & MARTINS, R. (2019). Toxicity of innovative anti-fouling nano-based solutions to marine species. *Environmental Science: Nano*, 6(5), 1418-1429.



Tudo é Ciência: do Big Bang ao Metaverso

1º Congresso Brasileiro de Ciência
e Saberes Multidisciplinares

ISO, T. S. 20787. International Organization for Standardization, 2017.

SANTOS, JVNd, MARTINS R, FONTES MK, CAMPOS BGd, SILVA MBMdPe, MAIA F, ABESSA DMdS, PERINA, FC. A encapsulação do biocida DCOIT pode afetar a eficácia e a toxicidade anti-incrustantes em bivalves tropicais? Ciências Aplicadas . 2020; 10(23):8579.

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