

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

MARTA DOS SANTOS DINIZ

**DETERMINAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES IRGAROL E
DIURON EM ÁREAS PORTUÁRIAS DA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

São Luís

2017

MARTA DOS SANTOS DINIZ

**DETERMINAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES IRGAROL E
DIURON EM ÁREAS PORTUÁRIAS DA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado na Coordenação do
Curso de Química Bacharelado da
Universidade Federal do Maranhão
como requisito básico para a
conclusão do Curso de Química
Bacharelado.

Orientadora: Prof^a. Dra. Teresa
Cristina Rodrigues dos Santos
Franco

São Luís

2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

dos Santos Diniz, Marta.

DETERMINAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES IRGAROL E
DIURON EM ÁREAS PORTUÁRIAS DA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO /
Marta dos Santos Diniz. - 2017.

43 p.

Orientador(a): Teresa Cristina Rodrigues dos Santos
Franco.

Monografia (Graduação) - Curso de Química, Universidade
Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

1. Cromatografia líquida de alta eficiência. 2.
Diuron. 3. Espectrometria de massa. 4. Irgarol. I.
Rodrigues dos Santos Franco, Teresa Cristina. II. Título.

MARTA DOS SANTOS DINIZ

**DETERMINAÇÃO DOS BIOCIDAS ANTI-INCRUSTANTES IRGAROL E DIURON
EM ÁREAS PORTUÁRIAS DA ILHA DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado na Coordenação do Curso
de Química Bacharelado da Universidade
Federal do Maranhão como requisito
básico para a conclusão do Curso de
Química Bacharelado.

Aprovada em: 19 / 01 / 2017

BANCA EXAMINADORA:


Orientadora: **Prof.ª Dra. Teresa Cristina R. dos Santos Franco**, representada
por **Prof.º Dr. Ulisses Magalhães Nascimento**


Prof.º Dr. Márcio Aurélio Pinheiro Almeida
Membro da Banca – UFMA


Prof.ª Dra. Cáritas de Jesus Silva Mendonça
Membro da Banca – UFMA

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial a minha mãe Raimunda, meu pai Martinho, meu padastro Antônio e todos os meus Irmãos Wellyngton, Maria, Fernanda, Eliana, Jacinta, Francisco, José e Fernandinho.

A Aluizio Filho, Dionatan, Anívia, Sandra e Aluizio amigos muito queridos.

A meus amigos que sempre me apoiaram no decorrer da vida, Josi, Mario Jorge, Jeiza, Matheus Oliveira, Leidiana, Caio, Liane, Naja, Thaynara e todos aqueles que participaram de alguma forma nesse período.

A Prof^a. Dra. Teresa Cristina Rodrigues dos Santos Franco pela orientação. E ao Prof. Dr. Ulisses Magalhães Nascimento por representá-la na banca.

A Prof^a. Dra. Cáritas de Jesus Silva Mendonça e Prof^o Dr. Márcio Aurélio Pinheiro Almeida por aceitarem o convite e participarem da banca.

Aos meus professores da graduação que contribuíram para meu aprendizado durante estes 4 anos.

Ao Romeu Costa, Marisa (a Chaves), Lucas, Lia, Heloana, Euzelia e Virgínia pelo apoio durante o tempo que passei no LAEC.

Ao Prof^o. Dr. Gilberto Fillmann grande parceiro no grupo do LAEC.

A EMAP por conceder acesso ao porto do Itaqui e Ferry-boat para Fazermos as coletas de amostras.

RESUMO

Este trabalho objetivou determinar as concentrações presentes de dois biocidas simultaneamente em amostras de água do mar de locais com intenso tráfego de embarcações. A análise dos biocidas irgarol e diuron foi realizada usando Extração em Fase Sólida como preparo de amostra e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas – CLAE/EM, na área costeira da Ilha de São Luís – MA. Foi possível a detecção e quantificação de irgarol com limite de detecção e quantificação de 0,405 ng/mL e 1,227ng/mL respectivamente. A concentração de irgarol mais alta registrada foi na rampa Campos Melo, 3,81ng/mL. Enquanto que nos piers 100, 103 e 106 e Portinho da Vovó ficaram abaixo do limite de quantificação.

Palavras-Chave: Cromatografia líquida de alta eficiência; Espectrometria de massa; Irgarol; Diuron.

ABSTRACT

This work aimed to determine simultaneously the concentrations of two biocides in samples of sea water from sites with intense traffic of vessels. The analysis of the biocides irgarol and diuron was performed using Solid Phase Extraction as sample preparation and high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry - HPLC / MS, in the coastal area of São Luís. It was possible to detect and quantify irgarol with detection limit and quantification of 0.405 ng/mL and 1.227 ng/mL, respectively. The highest recorded irgarol concentration was in the Campos Melo ramp, with the value of 3.81 ng/mL. Whereas in piers 100, 103 and 106 and Portinho da Vovó were below the limit of quantification.

Keywords: High performance liquid chromatography; Mass spectrometry; Irgarol; Diuron.

LISTA DE SÍMBOLOS

CE₅₀ - concentração de efeito

CL₅₀ - concentração letal

CG - Cromatografia em fase gasosa

CG-DCE - Cromatografia em fase gasosa com detector de captura de elétrons

CG-EM - Cromatografia em fase Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas.

CLAE-EM - Cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a detector de espectrometria de massas.

DCOIT - 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazoline-3-one – Sea-nine-211

IMO - International Marine Organization

LD - Limite de Detecção

log K_{ow} - logaritmo do coeficiente de partição octanol-água

LQ - Limite de Quantificação

min – minuto

MM - massa molar

m/z - razão massa carga

NE - não encontrado

t_R - tempo de retenção

t_{1/2} - Meia vida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral	11
2.2. Objetivos Específicos	11
3. REFERÊNCIAL TEÓRICO	12
3.1. Irgarol 1051	12
3.2. Diuron	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1. Materiais e Reagentes	18
4.2. Coletas de Amostras	18
4.3. Extração de Fase Sólida (EFS)	21
4.4. Análise Cromatografia por CLAE/EM	22
5. RESULTADOS DISCUSSÕES	25
5.1 Otimização do Método	25
5.2 Linearidade	27
5.4 Concentrações de Irgarol e Diuron nas amostras coletadas	30
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

A incrustação biológica é um fenômeno natural que consiste no acúmulo de algas, bactérias e organismos marinhos diversos. No entanto, quando ocorre em superfícies submersas construídas pelo homem, tais como cascos de embarcações, torna-se um problema, causando diversos prejuízos às atividades marítimas como aumento do consumo de combustível, devido às irregularidades adquiridas pela superfície, aumentando o arrasto e reduzindo a velocidade (GAMA *et al.*, 2009; MARTINS & VARGAS, 2013). A isto se deve o uso, a nível global, das tintas que previnem e/ou evitam o desenvolvimento da bioincrustação nas embarcações. Este tipo de tinta é chamada de tinta anti-incrustante e são a maneira mais econômica para minimizar esse problema.

As tintas anti-incrustantes são utilizadas há décadas e são classificadas em 3 (três) gerações. A primeira geração era composta de tintas que continham os óxidos de cobre e de zinco em sua formulação. A 2ª geração de tintas anti-incrustantes tinha como princípio ativo os compostos organoestânicos como tributilestanho (TBT) e/ou trifenilestanho (TPT) (CASTRO *et al.* 2011). Tais compostos são potencialmente danosos a organismos marinhos devido a sua toxicidade elevada. Sendo este o motivo pelo banimento do uso dos organoestânicos em tintas anti-incrustantes pela IMO (International Maritime Organization) na década de 80.

Com o banimento das tintas a base de organoestânicos, surgiu uma nova geração de tintas anti-incrustantes, cujos biocidas homologados pela IMO para utilização em tintas anti-incrustantes de embarcações, são constituídos de compostos orgânicos não-metálicos (Irgarol, Diuron, Sea-nine 211, Diclofluanida, Clorotalonil, Tiram, Busan, Densil, Capsaicina, Medetomidine, Econeal (tralopyril), Tolyfluanid e Trifenilborano piridina), compostos organometálicos (Cobre piritiona, Naftenato de cobre, Zinco piritiona, Ziram e Maneb) e substâncias inorgânicas (óxido e tiocianato de cobre). Nas Tabelas 1.1 e 1.2, temos as propriedades físico-químicas e as estruturas dos biocidas de terceira geração, respectivamente.

Os biocidas de terceira geração que compõem as tintas anti-incrustantes são substâncias que potencializam o efeito dos metais presentes na formulação da tinta. Esta associação promove a maior durabilidade dos revestimentos ao longo do tempo devido à taxa constante de liberação dos biocidas (CASTRO *et al.* 2011).

Destes biocidas os mais frequentes nas formulações das tintas anti-incrustantes são o Irgarol 1051 e Diuron. O irgarol 1051 pertence ao grupo das triazinas. Possui moderada solubilidade em água (7mg/L) e pode levar até 36 dias com sua estrutura molecular intacta, o que caracteriza baixa degradação no meio aquoso. É o biocida mais detectado no mundo e atua como inibidor da atividade fotossintética. O diuron é um herbicida que pertence ao grupo das fenilureias com solubilidade em água de 36,4 mg/L e sofre hidrólise em pH alcalino e ácido. E, assim como o irgarol 1051, é um inibidor da fotossíntese, promovendo a redução na fixação do carbono pelos seres autotróficos o que diminui a produção de carboidratos.

As técnicas mais utilizadas para a determinação de anti-incrustantes da 3ª geração têm sido a extração em fase sólida (EFS), usando-se preferencialmente cartuchos de adsorção de fase-reversa (LAMOREE *et al.*, 2002; DOMINGUEZ, 2010; CAI *et al.*, 2006; GATIDOU *et al.*, 2005; LANDA *et al.*, 2006), micro-extração em fase sólida (MEFS) (LAM *et al.*, 2005; LAMBROPOULOU; SAKKAS; ALBANIS, 2002) e, em menor extensão, extração líquido-líquido (ELL) (GATIDOU *et al.*, 2005). Para amostras aquosas, entretanto, a técnica de pré-concentração mais efetiva é a extração em fase sólida (EFS) devido às várias vantagens que apresenta, dentre as quais o uso de menor consumo de solvente orgânico, redução de material tóxico, maior recuperação dos analitos e a facilidade de automatização com as técnicas analíticas de separação tornando-a a técnica mais acessível. (JARDIM, 2010)

No que se refere ao processo de determinação dos compostos, têm-se feito uso de técnicas cromatográficas. Para a determinação do Irgarol 1051 e seus produtos de degradação, por exemplo, utiliza-se a cromatografia a gás (CG) com detecção por espectrometria de massas (CG-EM) por ser um método extremamente sensível e que propicia informações de natureza tanto qualitativa quanto quantitativa. Por meio de tal método, os analitos e seus produtos de degradação podem ser adequadamente separados e, em seguida, detectados com seletividade e sensibilidade satisfatórias (DINIZ, 2011). Outros sistemas de detecção como o de ionização de chama (DIC) são também adequadamente sensíveis para a determinação de Irgarol 1051. Embora a cromatografia gasosa com detecção por captura eletrônica (CG-DCE) seja extremamente sensível, o método não apresenta sensibilidade satisfatória para Irgarol devido à falta de haletos na molécula do biocida (GODOI; FAVORETO; SILVA, 2003).

O Diuron tem sido normalmente analisado a partir de matrizes aquosas utilizando Extração de Fase Sólida, enquanto que a técnica mais frequentemente empregada para sedimentos é a agitação mecânica da amostra em solventes orgânicos, como acetonitrila (HARINO, 2007). A identificação e quantificação é feita por Cromatografia Líquida com detecção por Espectrometria de Massas (CL/EM), podendo também ser utilizada a cromatografia a gás com detector de Espectrometria de Massas (CG/EM). Neste último caso, é necessária uma etapa prévia de derivatização por alquilação com iodometano (GERECKE, 2001 apud Castro et al. 2011; VOULVOULIS, 1999 apud Castro et al. 2011).

A técnica de separação Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) vêm se destacando na química analítica pela capacidade de realizar análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, dentre outros RIBANI (2004). A Espectrometria de Massas (EM) é largamente usada na química para análise de amostra complexas. Na espectrometria de massas, os íons formados são separados pela razão massa carga (m/z) após aplicação de energia para que as moléculas do analito sejam convertidas em íons pela aplicação de energia sobre elas. A partir dos íons produzidos é gerado um gráfico de espectro de massas relacionando a abundância dos íons pela m/z . (SKOOG et al. 2014)

A CLAE é muitas vezes preferida na determinação do Irgarol e diuron devido não haver necessidade de derivação (DEMOLINER *et al.* 2010; DOMINGUEZ *et al.* 2014; CAI *et al.* 2006;). O desenvolvimento de novas interfaces para o acoplamento da Cromatografia Líquida com a Espectrometria de Massas (EM) também tornaram a técnica mais usada na detecção das substâncias (GIMENO; MARC; BORRULL, 2004).

Um método analítico para determinação de qualquer analito em uma amostra para que seja confiável deve ser validado seguindo parâmetros de normas de órgãos regulamentadores como ANVISA e INMETRO. Os parâmetros usualmente investigados para avaliação da confiabilidade do método são: precisão, limite de quantificação, limite de detecção.

Tabela 1.1: Propriedades Físico-Químicas dos biocidas anti-incrustantes de 3ª Geração.

Biocida	log K _{ow}	S.A. (mg/L)	M.M.
Não metálicos			
Irgarol 1051	3,95	7	253,4
Diuron	2,85	36,4	233,1
DCOIT	2,85	0,0065	213,3
Clorotalonil	2,64	0,6	265,9
Diclofluanida	3,7	0,006	333,2
Tiram	1,7	30	240,4
TCMTB	3,3	45	238,4
TCMS Piridina	NE	0,025	294,9
Trifenilborano Piridina	NE	1	321,2
Medetomidine	NE	NE	236,74
Tolyfluanid	NE	NE	347,26
Capsaicina	3,04	NE	305,4
Econea	NE	NE	349,53
Metálicos			
Zinco Piritiona	0,97	6	317,7
Ziram	1,23	17	305,8
Maneb	NE	6	265,3
Óxido cuproso	NE	NE	145,1
Tiocianato de cobre	NE	NE	179,7
Naftenato de cobre	NE	NE	405,9

Fonte: (Castro *et al*, 2011)(Adaptado); (THOMAS & BROOKS, 2015)

Tabela 1.2 : Biocidas de 3ª Geração homologados pela IMO

Biocida	Estrutura	Biocida	Estrutura
Irgarol 1051 (2-metiltio-4-terc-butilamino-6-ciclopropilamino-s-triazina)		Capsaicina (8-metil-n-vanilil-6-nonenamido)	
Diuron (3-(3,4-Diclorofenil)-1,1-dimetilurea)		Tolyfluanid 1,1-dicloro-N- [(dimetilamino)sulfonyl]- 1-fluoro-N-(4-metilfenil) metanesulfenamido	
DCOIT (4,5-Dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona)		Medetomidine (RS)-4-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]- 3imidazol	
Clorotalonil (2,4,5,6Tetracloroisofaltonitrila)		Cobre Piritiona / CP (Cobre,bis(1,hidroxi- 2(1H)-piridinationato O,S))	
Diclofluanida (N,N-Dimetil-N-fenil-N-(diclorofluorometiltio)sulfamid a)		Zinco Piritiona / ZP (Zinco,bis-(hidroxi-2(1H)- piridinationato-O,S))	
Tiram (Tetrametiltiuramdissulfida)		Ziram (Zinco dimetilditiocarbamato)	
TCMTB / Busan (2-(tocianometiltio) benzotiazol)		Maneb (Manganesetileno bis(ditiocarbamato) (polimérico))	
TCMS Piridina / Densil (2,3,3,6-tetracloro-4-metilsulfonyl)piridina)		Óxido cuproso	
Trifenilborano Piridina / TPBP		Tiocianato de cobre	
Econea (tralopyril) 4-bromo-2-(4-clorofenil)-5-(trifluorometil)-1H-pirrol-3-carbonitrila		Naftenato de cobre	

Fonte: CASTRO *et al.* 2011(adaptado); (THOMAS & BROOKS, 2015)

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar a presença de biocidas anti-incrustantes em áreas sob a influência do Complexo Portuário de São Luís (MA).

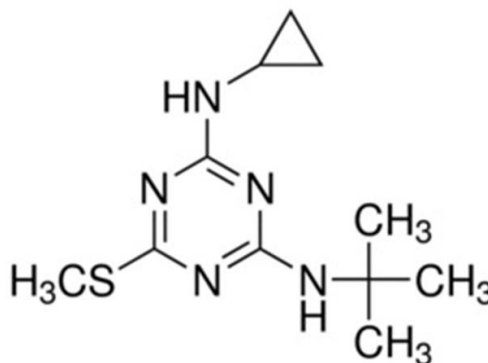
2.2. Objetivos Específicos

- Aplicar metodologia analítica usando CLAE/EM na determinação dos anti-incrustantes irgarol e diuron em amostras de água da região portuária de São Luís (MA) e adjacências;
- Avaliar os efeitos dos biocidas anti-incrustantes em áreas de manguezal da Ilha de São Luís, Maranhão.

3. REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1. Irgarol 1051

Figura 3.1: Estrutura do Irgarol 1051.



Irgarol 1051

O Irgarol 1051 ou simplesmente irgarol é o nome comercial do 2-metiltio-4-terbutilamino-6-ciclopropilamino-s-triazina um herbicida algicida pertencente ao grupo de compostos s-triazina (Sakkas *et al*, 2002). Sua meia vida ($t_{1/2}$) em água de 100 a 250 dias. Ao se degradar, o irgarol tem como principais produtos de degradação: M1 (2-metiltio-4-terc-butilamino-6-amino-s-triazina), M2 (2-amino-propanal-4-terc-butilamino-6-metiltio-s-triazina) e M3 (2,4(diamino-di-terc-butil)-6-metiltio-s-triazina) (THOMAS & BROOKS, 2015). E, Sakkas, Lambropoulou & Albanis (2002) propuseram um mecanismo para a reação de degradação do irgarol 1051 em águas naturais (Figura 3.2).

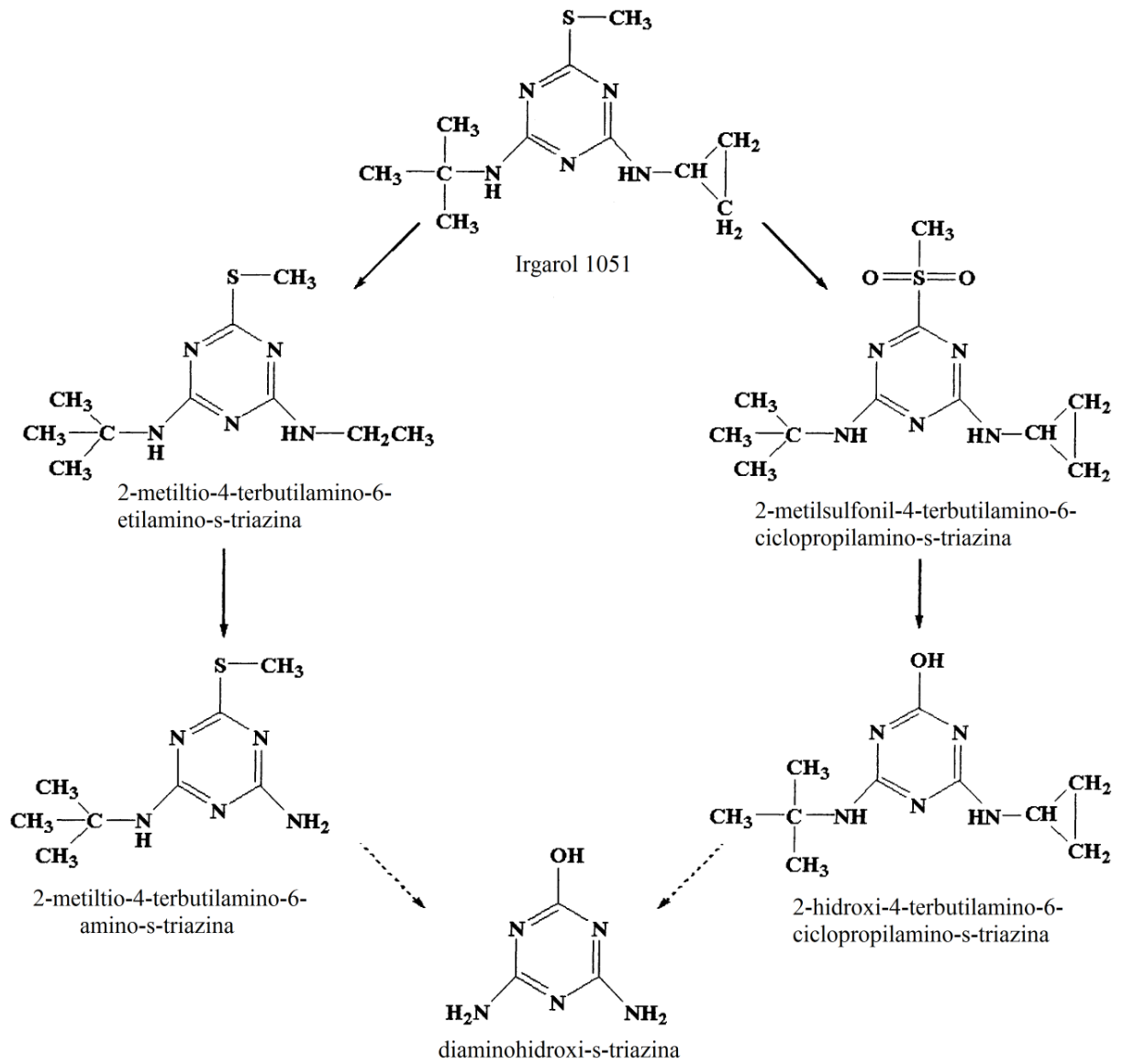
É adicionado a tintas anti-incrustantes devido à sua alta eficiência como um inibidor de crescimento de algas marinhas e de água doce através de interações com seu sistema fotossintético (LAMOREE *et al*, 2002). Este composto inibe a fixação do carbono provocando uma redução na produção de carboidratos por seres autotróficos. É o biocida anti-incrustante mais frequentemente detectado no mundo (CASTRO *et al*, 2011). A extração deste composto a partir de amostras de água do mar é realizada normalmente com Extração em Fase Sólida (EFS) (LAMBROPOULOU *et al*, 2002; GATIDOU *et al*, 2005; BATISTA-ANDRADE *et al*, 2016; FERRER; BARCELÓ, 2001), enquanto que a determinação é realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Detector por Captura de Elétrons (ECD) e

detectores de Espectroscopia de Massas (MS) (SAKKAS *et al*, 2002; CASTRO *et al*, 2011).

A ocorrência de Irgarol é relatada em vários estudos (Tabela 3.1) na Ásia variando de 0,0057 a 1,6 ng/mL em Hong Kong (CAI *et al*, 2006; LAM *et al*. 2005) e de 0,011 a 0,055 ng/mL em Seto, Japão (BALAKRISHNAN, *et al.*, 2012). Na Europa as concentrações variam de 0,0024 ng/mL (Espanha) a 0,277ng/mL no Reino Unido (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ *et al*, 2011; LAMOREE *et al*, 2002; (THOMAS; McHUGH; & WALDOCK, 2002;) e na América Central e América do Sul concentrações de até 9,59 ng/mL (DOMINGUEZ *et al*, 2014; BATISTA-ANDRADE *et al*, 2016; DINIZ *et al*. 2014) . Em alguns países como Reino Unido, Dinamarca e Suécia (SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ *et al*, 2011) seu uso já é proibida devido a sua alta toxicidade sobre organismos aquáticos como algas, peixes e crustáceos. Algas são extremamente sensíveis a este herbicida, concentrações de 0,43 ng/mL é tóxica a curto prazo para a diatomácea *Skeletonema costatum* (Tabela 3.2).

No Brasil, ainda são poucos os estudos que tratam deste biocida. Porém, já foram relatados níveis que embora baixos sejam detectáveis em água de ambientes com tráfego intenso de embarcações como o Rio Paraíba do Sul (AZEVEDO *et al*. 2004 apud CASTRO *et al*. 2011) e o canal do São Gonçalo (DEMOLINER, 2010 apud CASTRO *et al*. 2011). E em estudo feito por Diniz (2014), foi detectado concentração com variação de 0,01 a 4,80 ng/mL na região do Porto do Itaqui. Em estudo realizado por Dominguez (2010), a concentração de Irgarol variou de $2,0 \times 10^{-4}$ ng/mL em água e 5,8ng/g em sedimentos na Zona Portuária da Lagoa dos Patos no Rio Grande do Sul.

Figura 3.2: Mecanismo para a reação de degradação do irgarol 1051.



Fonte: (SAKKAS; LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2002)

Tabela 3.1: concentração de irgarol e diuron em diversos países.

Irgarol (ng/mL)	Diuron (ng/mL)	Local	Autor
0,0024 – 0,147	0,0023 – 0,204	Espanha	SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2011
<0,004 – 0,0062	<0,004 – 0,0209	Rio Grande, Brasil	DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 2014
< 0,0003 – 0,005	<0,0027 – 0,070	Panamá	BATISTA-ANDRADE <i>et al.</i> , 2016
0,003 – 0,277	0,037 – 1,249	Reino Unido	THOMAS, McHUGH, & WALDOCK, 2002
0,011 – 0,055	0,01 – 0,062	Japão	BALAKRISHNAN <i>et al.</i> , 2012
0,1 – 1,6	–	Hong Kong, China	LAM <i>et al.</i> 2005
0,0057 – 0,0112	–	Hong Kong, China	CAI <i>et al.</i> , 2006
0,008 – 0,09	0,09 – 1,13	Holanda	LAMOREE <i>et al.</i> , 2002
<0,0031 – 0,136	–	Grécia	GATIDOU, THOMAIDIS, & ZHOU, 2007
0,01 – 4,80	0,05 – 7,80	São Luís, Brasil	DINIZ <i>et al.</i> 2014
1,2 – 9,59	1,2 – 6,2	São Luís, Brasil	DINIZ & FRANCO, 2016
0,56 – 3,81	–		Neste Trabalho

Fonte: Própria Autora.

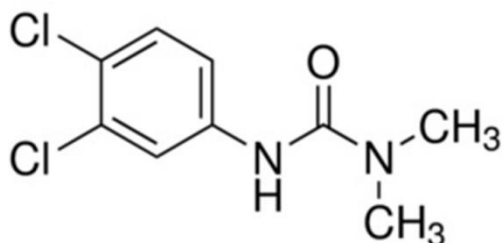
Tabela 3.2: Toxicidade de irgarol e diuron sobre diversos grupos de organismos.

Biocida	Grupo	Espécie	Efeito (tempo)	Concentração (µg/L)	
Irgarol	Alga	<i>Skeletonema costatum</i>	CE ₅₀ (120h)	0,43	
		<i>Dunaliella tertiolecta</i>	CE ₅₀ (120h)	0,56	
	Peixe	<i>Menidia beryllina</i>	CL ₅₀ (96h)	1.580	
		<i>Cyprinodon variegatus</i>	CL ₅₀ (96h)	3.500	
	Crustáceos	<i>Acartia tonsa</i>	CL ₅₀ (48h)	714	
		<i>Mysidopsis juniae</i>	CL ₅₀ (96h)	310	
		<i>Kalliapseudes schubartii</i>	CL ₅₀ (96h)	5600	
Diuron	Alga	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CE ₅₀ (72h)	36	
		<i>Dunaliella tertiolecta</i>	CE ₅₀ (96h)	0,7	
	Crustáceos	<i>Artemia salina</i>	CE ₅₀ (24h)	3.011	
		<i>Acartia tonsa</i>	CL ₅₀ (48h)	1.486	
		<i>Mysidopsis juniae</i>	CE ₅₀ (96h)	589	
			<i>Kalliapseudes schubartii</i>	CE ₅₀ (96h)	7.560
	Ouriço	<i>Paracentrotus lividus</i>	CL ₅₀ (48h)	2.390	
<i>Lytechinus variegatus</i>		CE ₅₀ (24h)	3.335		

Fonte: (CASTRO *et al.* 2011).

3.2. Diuron

Figura 3.2: Estrutura do Diuron



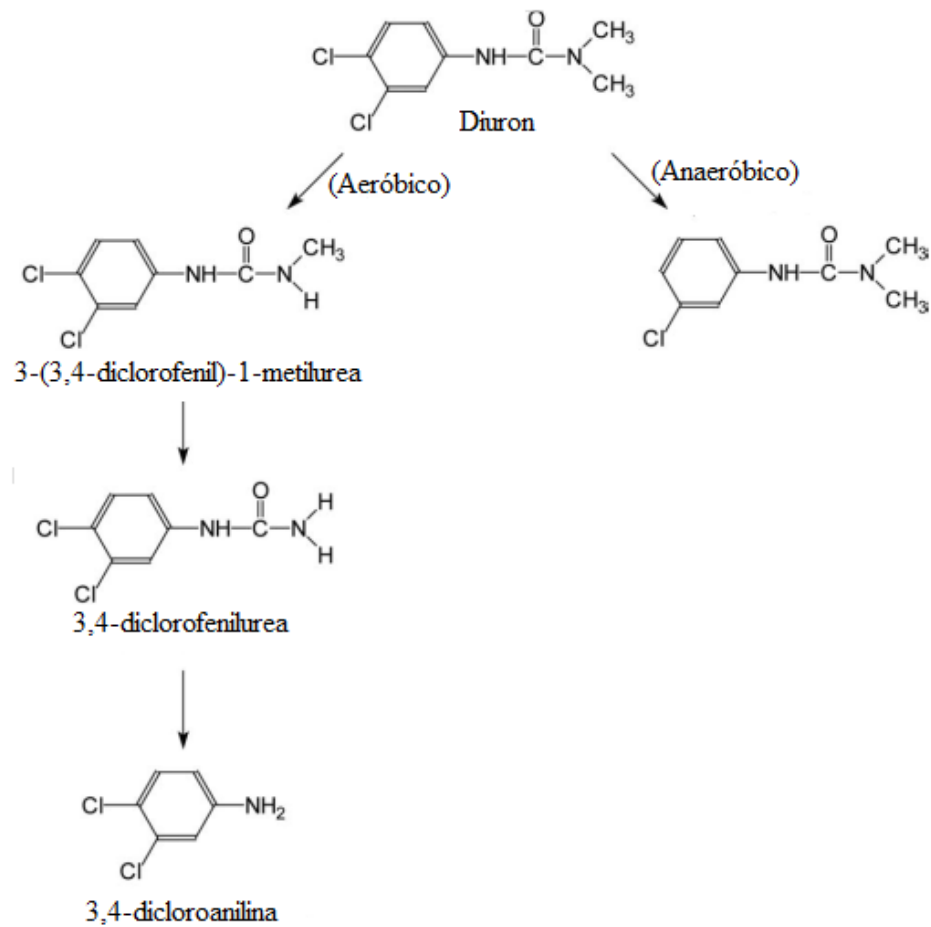
Diuron

O diuron (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea) pertencente ao grupo químico das fenilureia, é um herbicida usado na agricultura como controle geral de ervas daninhas (Lamoree *et al*, 2002). Em meio aquoso é relativamente persistente e em sedimento marinho tem meia vida ($t_{1/2}$) de 14 dias. Os principais produtos de degradação são 1-(3-clorofenil)-3,1-dimetilurea (CPDU), 1-(3,4-diclorofenil)-3-metilurea (DCPMU) e 1-(3,4-diclorofenil)urea(DCPU) como descrito na Figura 3.4 (THOMAS & BROOKS, 2015; GATIDOU *et al*, 2005). Apresenta toxicidade elevada para organismos fitoplanctônicos, crustáceos e ouriço. Concentração de 0,7 ng/mL possui efeito em curto prazo para a diatomácea *Dunaliella tertiolecta* em questões de horas, assim como para artemia salina (3011ng/mL) pequeno crustáceo que serve de alimento para organismos da cadeia alimentar (Tabela 3.2). A utilização deste composto foi proibida no Reino Unido e Países Baixos (Sánchez-Rodríguez *et al*.2011). Normalmente é analisado em matriz aquosa com utilização de EFS onde sua determinação e quantificação é realizada com a técnica analítica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada a um detector universal, o Espectômetro de Massas. A literatura relata ainda o uso da Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (CG-MS), todavia, há a necessidade da etapa de derivatização

Assim como o irgarol, o diuron tem sido estudado em outro países em água naturais com tráfego de embarcações. Estudo realizado no Japão, menciona concentrações do biocida variando de 0,01 a 0,062 ng/mL enquanto que na Europa variam de 0,0023 a 1,249 ng/mL no Reino Unido (BALAKRISHNAN, TAKEDA, & SAKUGAWA, 2012); SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ *et al*. 2011; THOMAS, MCHUGH; WALDOCK, 2002). Em estudo realizado no Panamá, BATISTA-ANDRADE *et al*.

(2016) relata concentração baixa porem quantificavel do biocida em água do mar (0,070 ng/mL). No Brasil, a ocorrência deste biocida foi relatada em São Luís na área do Porto do Itaqui (0,05 – 7,80 ng/mL) e no estuário da Lagoa dos Patos sob influência do porto de Rio Grande – RS (0,0209 ng/mL) (DINIZ et al. 2014; Dominguez, 2014).

Figura 3.3: Mecanismo para degradação do diuron em condições aeróbica e anaeróbica.



Fonte: (THOMAS; BROOKS, 2015)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais e Reagentes

Para o processo de extração foi realizado com cartuchos SPE Strata C18 da Phenomenex concentração foi utilizado um sistema de extração constituído por Syncore Analyst com bomba de vácuo V-700 e controlador de vácuo V-855 e Chiller F-108 fornecidos pela Büchi (Suíça). Sistema analítico composto por bomba de HPLC 1525µ Binary com injeção manual e detector por Espectrometria de Massas SQ Detector 2 (Figura 4.1) e Coluna cromatográfica XSelect HSS todos da Waters Corporation (EUA). Metanol e Acetonitrila grau HPLC 99% de pureza e Ácido fórmico (89-90)% da Merck (Alemanha). Os Padrões analíticos de Irgarol e diuron(99%), ambos da Sigma-Aldrich.

Figura 4.1: Bomba de HPLC e Detector MS.



Foto: Própria Autora.

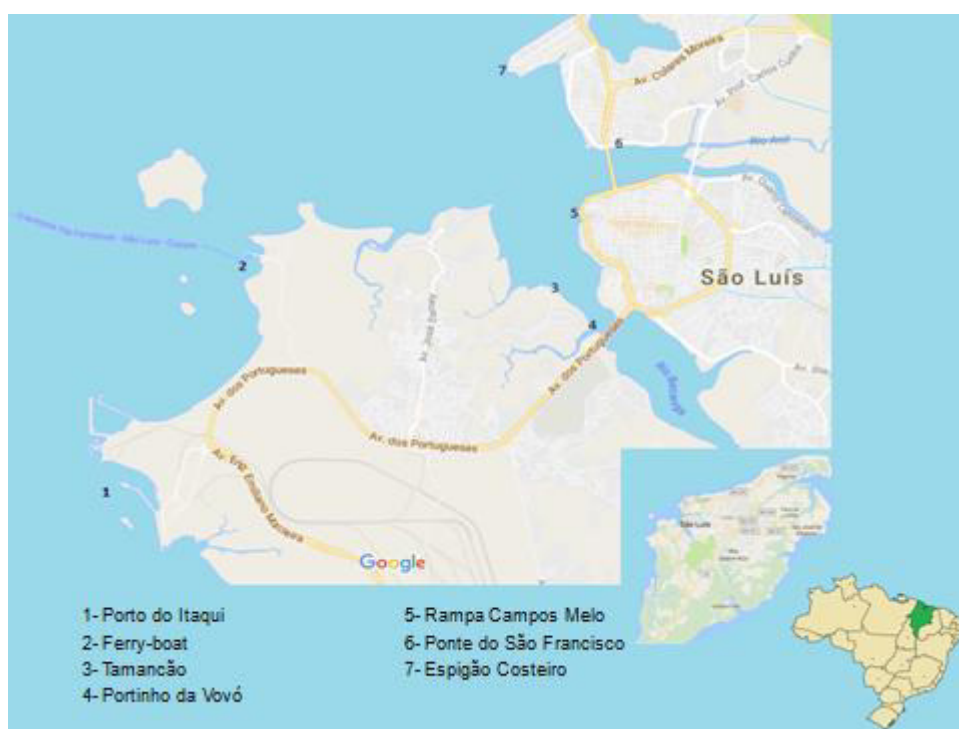
4.2. Coletas de Amostras

Os locais onde foram coletadas as amostras são: Terminal de Espera do Ferry-boat, Estaleiro Escola do Sítio Tamancão, Portinho da Vovó, Rampa Campos

Melo, Ponte do São do Francisco (Ponte José Sarney), Espigão Costeiro da Ponta da Areia, Raposa e Porto do Itaqui (Pier 100, Pier 103 e Pier 106)(como são mostrados no mapa da Figura 4.2. Estes são ambientes em que há de navios cargueiros, embarcações pesqueiras e de transporte de passageiros como demonstrado nas Figuras 4.3.

Os pontos de amostragem Portinho da Vovó e Estaleiro Escola do Sítio Tamancão são estuários do Rio Bacanga e a Ponte do São Francisco (Ponte José Sarney) é Estuário do Rio Anil. Estuários são ambientes em que existe uma grande variedade de organismos vivos que são parte do ecossistema da área.

Figura 4.2: Pontos de coletas de amostras.



Fonte: Google Maps, 2016 (Adaptado).

Figura 4.3: Momento da Coleta e de Amostra de água no Porto do Itaqui.



Foto: Arquivo da Autora.

Figura 4.4: Terminal de Espera do Ferry-boat.



Foto: Arquivo da autora

4.3. Extração de Fase Sólida (EFS)

No processo de Extração em Fase Sólida a amostra é transportada para um cartucho aplicando-a uma pressão constante seja por seringa ou mesmo por bomba de vácuo. As moléculas orgânicas então são extraídas da amostra e concentradas na fase sólida que posteriormente são eluídas por um solvente orgânico (SKOOG et al. 2002).

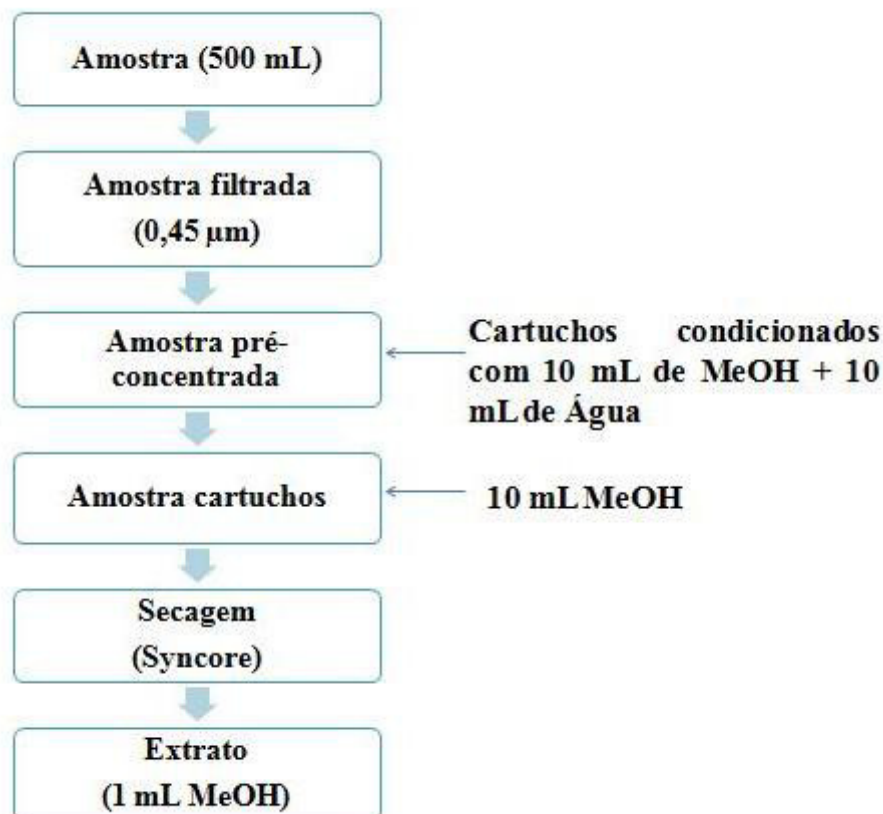
O processo para extração em fase sólida foi realizado com base na metodologia citada em GATIDOU (2005), porém, ocorreu a modificação do detector utilizado no sistema cromatográfico. Coletou-se cerca de 1000 mL de água do mar, fez-se a filtração em filtro de acetato de celulose 0,45 μm (Sartorius Brolab Products) e após esta etapa, as amostras foram pré-concentradas, sendo todo o procedimento realizado em duplicata para todos os pontos de amostragem, em cartuchos SPE (Phenomenex Strata C18-E (55 μm , 70A) 500mg / 6mL), condicionados previamente em 10 mL de metanol (Merck-Germany) e 10mL de água (Mili-Q) no sistema de extração e concentração de amostra Syncore Analyst com bomba de vácuo V-700 (Figura 4.6). O fluxo durante o condicionamento da amostra foi de 4mL/min sendo controlado pela pressão usando o controlador de vácuo V-855. Para eluição dos cartuchos foi utilizado 10 mL de metanol que posteriormente foi evaporado. O volume final obtido foi cerca de 1 mL, como evidenciado no fluxograma da Figura 4.5. Os extratos foram acondicionados em geladeira.

Figura 4.6: Condicionamento de cartucho para concentração da amostra no Syncore Anayst.



Fonte: Própria Autora.

Figura 4.5: Fluxograma de preparo de amostra por Extração em Fase Sólida.



Fonte: Própria Autora.

4.4. Análise Cromatografia por CLAE/EM

Neste trabalho foram determinadas as concentrações de Irgarol e Diuron em amostras de água utilizando-se pré-concentração em cartuchos em fase sólida, seguido de análise Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Espectrometria de Massas – CLAE-EM. As condições cromatográficas para análise com detecção por espectrometria de massas utilizou coluna analítica X Select HSS C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 µm) e coluna de guarda, ambos da Phenomenex, fase móvel com metanol e ácido fórmico, em fluxo 1mL/min. Para a pré-concentração, amostras de água (500 mL) foram passadas através de cartuchos SPE Strata C18-E (500 mg / 6mL de capacidade), previamente condicionados com metanol e água. Para o sistema de detecção, foram determinadas as condições cromatográficas para identificação e quantificação dos compostos a serem analisados.

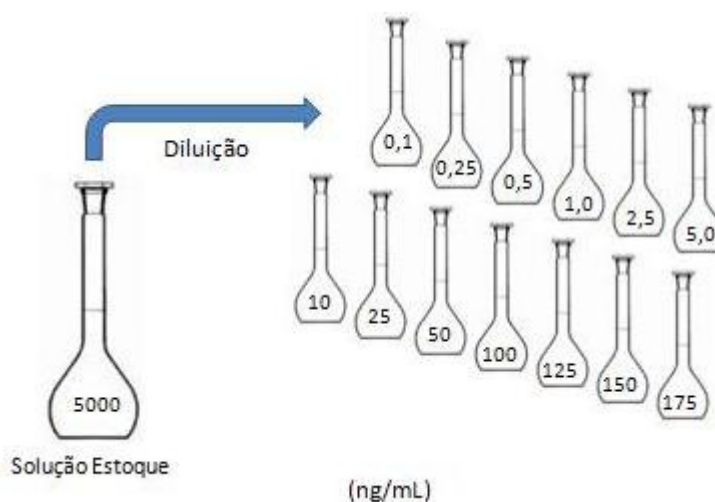
As condições cromatográficas do detector necessárias foram definidas previamente para monitorar os íons Irgarol 1051 ($m/z = 254$) e diuron ($m/z = 233$). O

modo de ionização que tem maior representação na infusão dos padrões é a fonte de ionização positiva ESI (+) (Ionização por Electrospray, modo positivo). Íons de Electrospray positivos são produzidos pela adição de um íon positivo (H^{++} , NH^+ , Na^+). Nesta metodologia utilizamos ácido fórmico para garantir a protonação. No fim do processo, foi gerado, no capilar, íons em excesso, produzindo o sinal com sensibilidade apropriada para a detecção.

A voltagem do capilar, para neutralizar o contra-íon, foi de 3,72 kV. A voltagem do cone para fazer a interface entre a pressão atmosférica e o vácuo, foi de 10 V. O fluxo de gás de dessolvatação, neste caso nitrogênio, foi de 1000L/h com temperatura de 500°C para eliminar as moléculas de solvente.

Para obtenção da curva analítica preparou-se uma solução estoque de 5 ng/mL com a dissolução dos padrões sólidos Irgarol e Diuron em metanol. A partir da solução estoque, foram preparadas soluções em concentrações menores. Para os 2 (dois) biocidas as concentrações foram de 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 25,0, 50,0, 100,0, 125,0, 150, e 175,0 ng/mL como mostra o esquema de diluição da Figura 4.7. Estas soluções foram preparadas na forma de mix de irgarol e diuron, ou seja, contendo uma mistura dos padrões na mesma solução.

Figura 4.7: esquema de diluição de soluções dos padrões analítico



Fonte: Própria Autora.

Assim a construção de uma curva analítica é a melhor forma de se fazer quantificação de analitos presentes em uma amostra. É a relação entre as áreas e a quantidade de analito a ser quantificado. Sendo a linearidade um procedimento

analítico usado para obter resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra podendo ser medida pela inclinação da linha de regressão da curva analítica da substância que se quer determinar.

O gradiente de eluição (Tabela 4.1) para este método foi otimizado com fluxo de 1mL/min e tempo de corrida de 8 minutos. A fase móvel do gradiente de eluição é composta de fase aquosa e fase orgânica. A fase aquosa é a mistura de Água pura e 0,1% de Ácido Fórmico. A fase orgânica é acetonitrila pura.

Tabela 4.1: Gradiente de eluição do método.

Tempo (min)	A (%)	B (%)
0	45	55
5	45	55
6	20	80
7	20	80
7,01	45	55
8	45	55

A = Água + 0,1 % Ácido Fórmico; B = Acetonitrila.
Tempo de corrida: 8,0 minutos. Fluxo de solvente: 1mL/min.

Fonte: Própria Autora

5. RESULTADOS DISCUSSÕES

5.1 Otimização do Método

Os analitos foram identificados considerando os tempos de retenção obtidos através da injeção de uma mistura de padrões analíticos e nos íons ($M+M^{+1}$) dos biocidas, diuron em 3,91 minutos e $m/z = 233$ e irgarol 1051 em 4,88 minutos e $m/z= 254$. As figuras 5.1, 5.2 e 5.3 apresentam o cromatograma dos analitos de interesse com seus respectivos tempos de retenção e o espectro de massas do irgarol e diuron, respectivamente.

Figura 5.1: Cromatograma para irgarol 1051 e diuron.

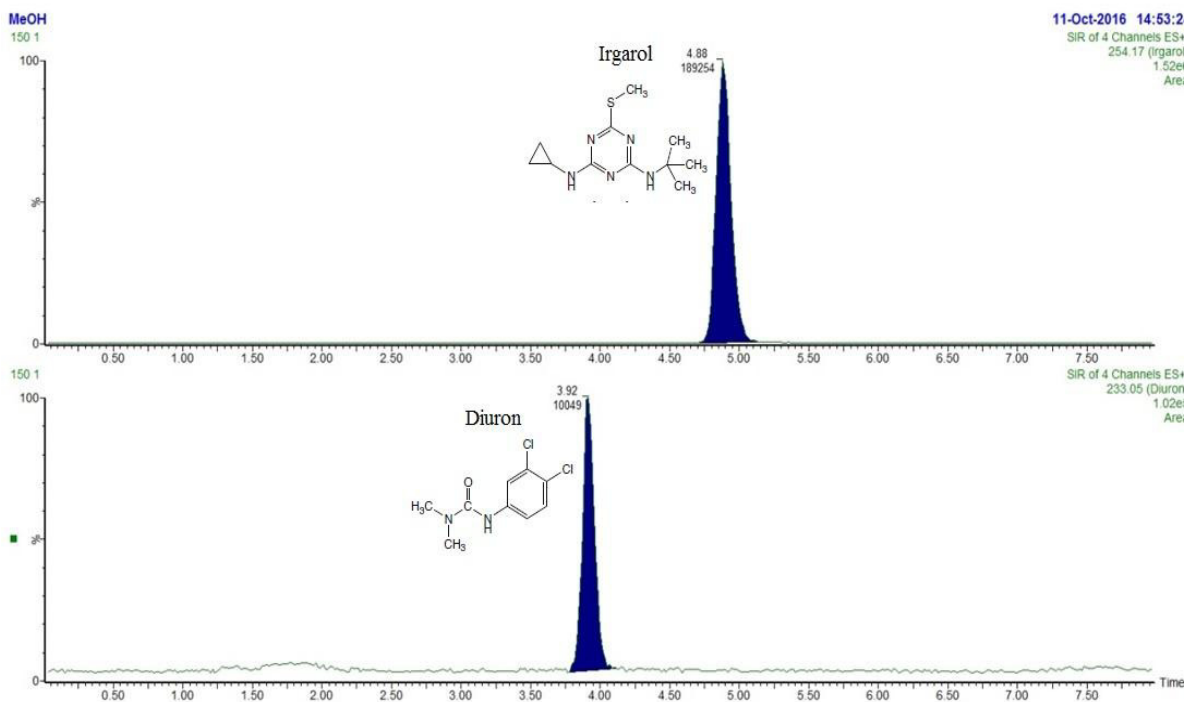


Foto: Própria Autora / Software Masslynx (Adaptado)

Figura 5.2: Espectro de massas para o Irgarol

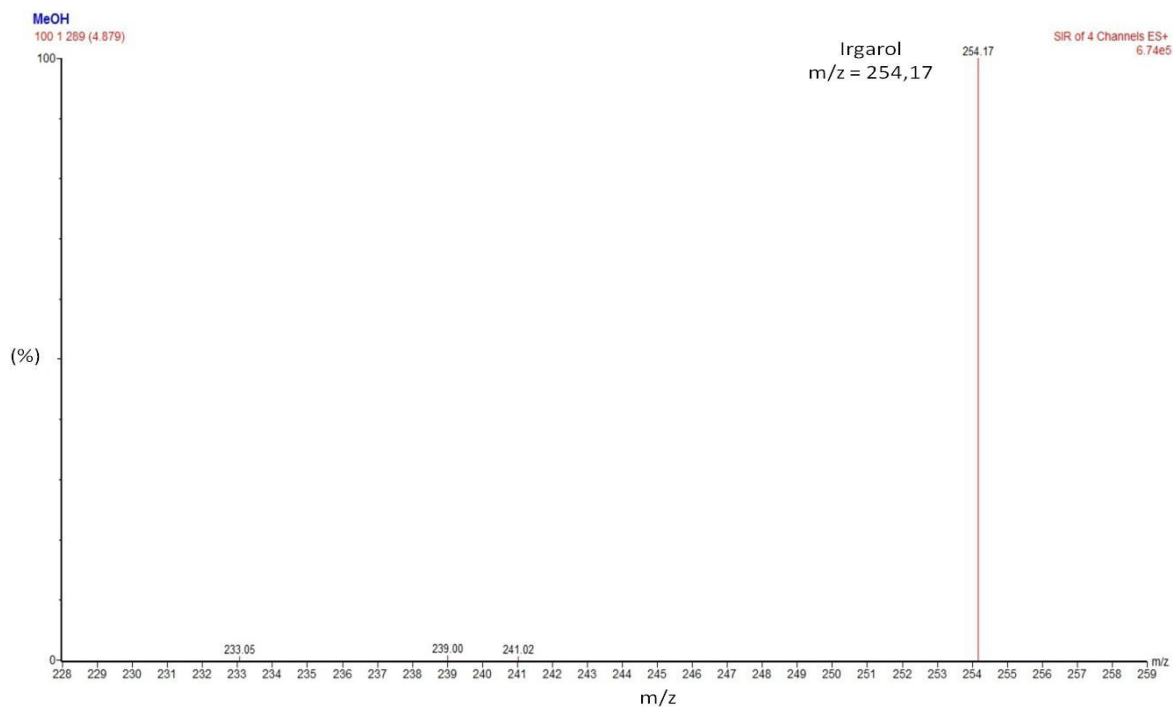


Foto: Própria Autora / Software Masslynx (Adaptado)

Figura 5.3: Espectro de massas para o Diuron

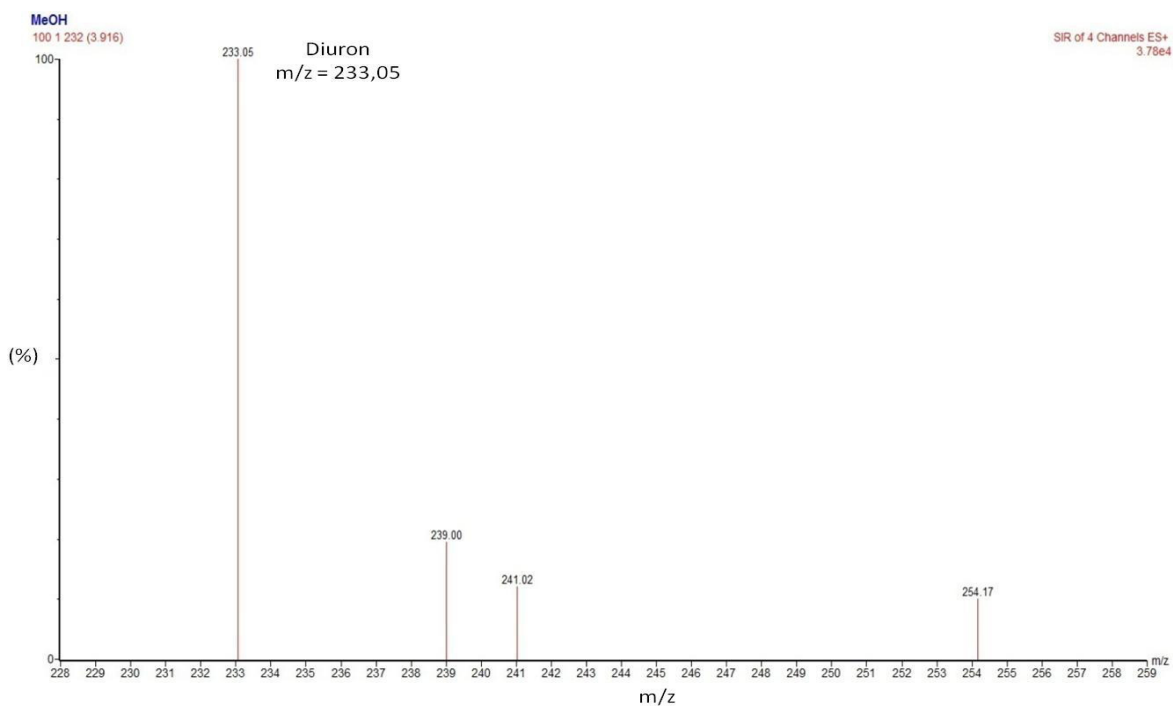


Foto: Própria Autora / Software Masslynx (Adaptado)

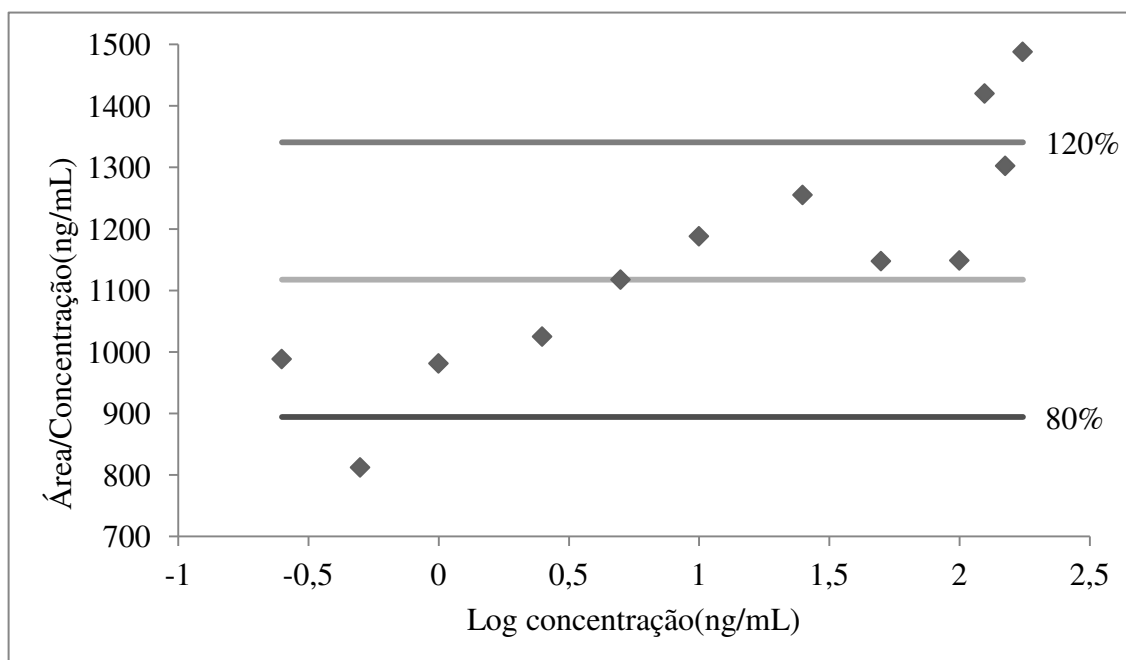
5.2 Linearidade

Para avaliação da linearidade, soluções em concentrações variando de 0,1 a 175,0 ng/mL, foram injetadas e os resultados foram usados para obtenção da reta de regressão da área do pico em função da concentração com relação ao cálculo de analito, usando-se o método dos mínimos quadrados.

Foi realizado o teste de linearidade obtendo assim uma faixa linear para os dois biocidas (Figuras 5.4 e 5.5), logo, com a faixa linear, a seleção das concentrações e suas áreas de pico, foi possível a construção a curva analítica para o irgarol e diuron (Figuras 5.6 e 5.7). A faixa linear para o irgarol foi de 1 a 100 ng/mL. Para o diuron a faixa linear ficou de 5 a 150 ng/mL.

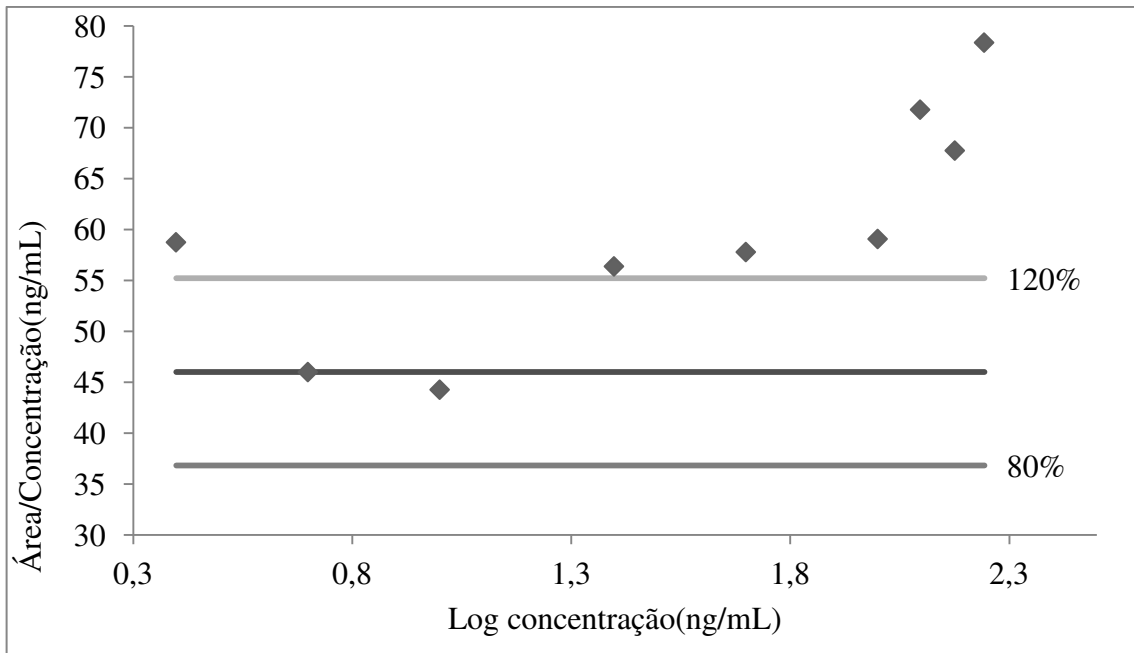
A linearidade do método também foi investigada através da avaliação do coeficiente de determinação (R^2), obtido pela equação da reta da curva analítica. Desta forma, para o irgarol a curva possui evidenciou um R^2 igual a 0,9994 e para o diuron um R^2 de 0,9907. É importante mencionar que a ANVISA recomenda um R^2 superior ou igual a 0,990, nestes termos o método apresenta uma boa linearidade.

Figura 5.4: Linearidade para irgarol.



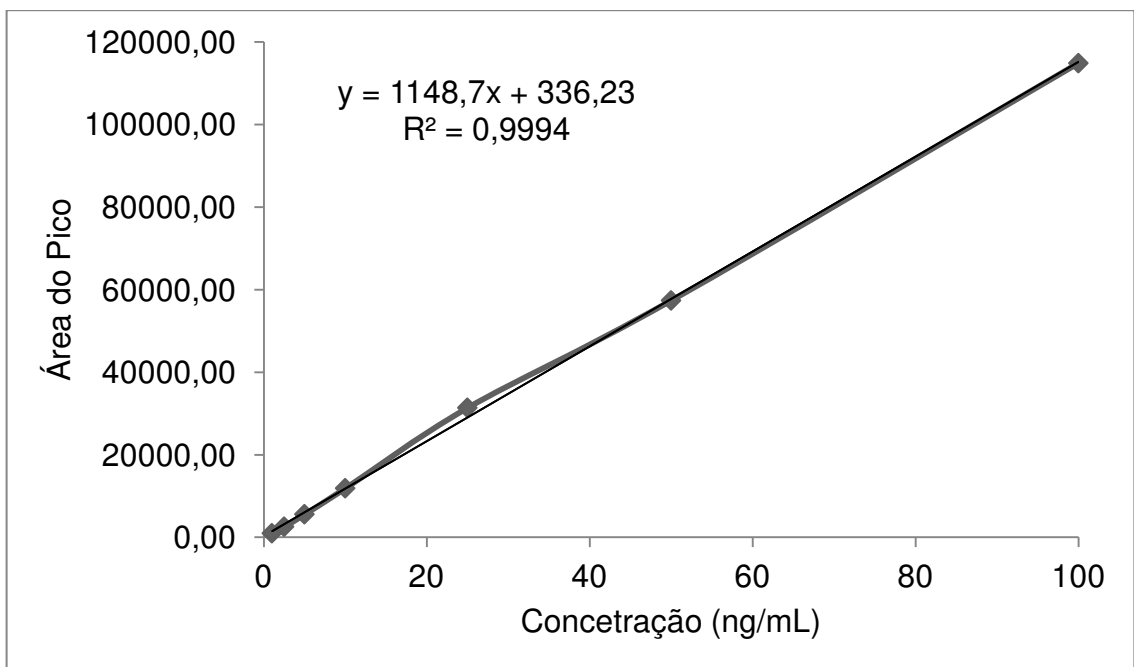
Fonte: Própria Autora.

Figura 5.5: Teste de linearidade para o diuron.



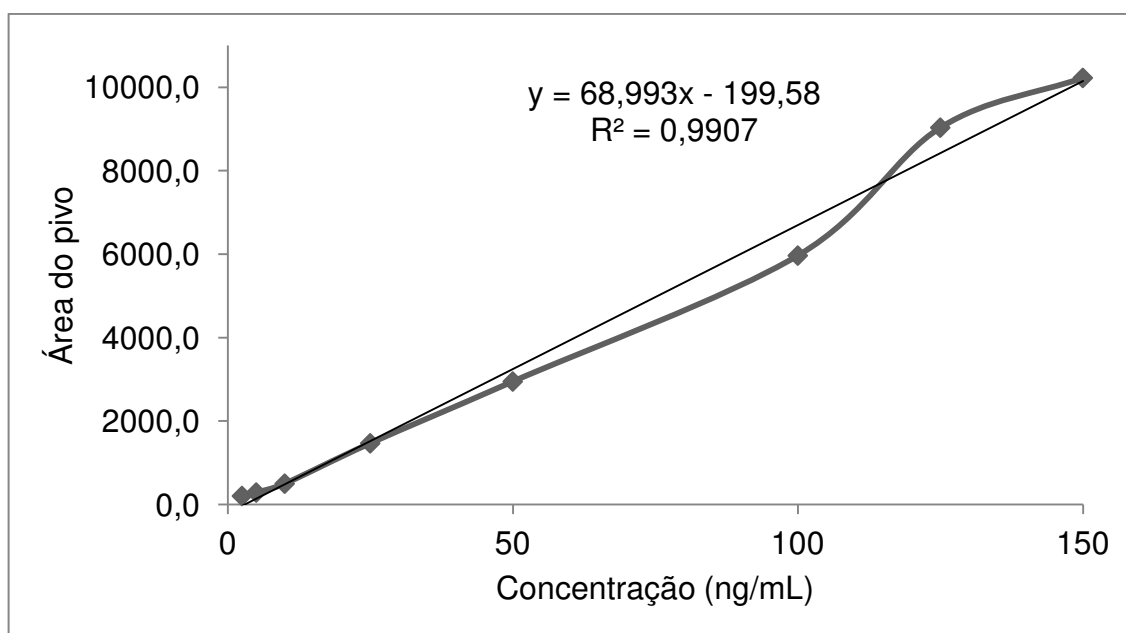
Fonte: Própria Autora.

Figura 5.6: Curva analítica para o irgarol (Área do pico vs. Concentração em ng/mL).



Fonte: Própria Autora

Figura 5.7: Curva analítica para o Diuron (Área do pico vs. Concentração em ng/mL).



Fonte: Própria Autora

O Limite de Detecção – LD é a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob condições experimentais estabelecidas. É determinado pela equação:

$$LD = (3,3 \cdot Dp) / (C.A) \quad [1]$$

onde: Dp = desvio-padrão ; C.A = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do aparelho). Dp_{irgarol 1051} = 141,00; Dp_{diuron} = 61,49.

$$LD_{\text{irgarol 1051}} = (3,3 \cdot 141,00) / 1148,7 = 0,405 \text{ ng/mL}$$

$$LD_{\text{diuron}} = (3,3 \cdot 61,49) / 68,993 = 2,941 \text{ ng/mL.}$$

O Limite de Quantificação – LQ é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitável, sob as condições experimentais adotadas.

$$LQ = (10 \cdot Dp) / (C.A) \quad [2]$$

Onde: Dp = desvio-padrão; C.A = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do aparelho).

$$LQ_{\text{irgarol } 1051} = (10 * 141) / 1148,7 = 1,227 \text{ ng/mL}$$

$$LQ_{\text{diuron}} = (10 * 61,4938) / 68,993 = 8,913 \text{ ng/mL.}$$

Tabela 5.1: Parâmetros das curvas analíticas obtidos por CLAE/EM.

	Equação da reta	c.a	R ²	DP	L.D(ng/mL)	L.Q(ng/mL)
Irgarol	y = 1148,7x + 336,23	1148,7	0,9994	141,00	0,405	1,227
Diuron	y = 68,993x - 199,58	68,993	0,9907	61,49	3,323	8,9

c.a.: coeficiente angular da equação da reta. R²: coeficiente determinação. DP: Desvio Padrão

5.4 Concentrações de Irgarol e Diuron nas amostras coletadas

A concentração do analito na amostra é calculada a partir da equação da reta da curva analítica obtida para cada um dos biocidas substituindo a área do pico na equação.

Nas amostras do Portinho da Vovó e nos Piers 100, 101 e 106 que encontram-se abaixo do Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ), 0,405 ng/mL e 1,227 respectivamente. Em todas as outras amostras foi detectada a presença de irgarol, em concentrações que variam de 1,49 a 3,81 ng/mL (Figura 5.8).

Como estas amostras foram coletadas no mês de setembro de 2016, entre os dias 19 a 23, que é um dos meses mais secos do ano. Porém, é o mês do ano em que há um fenômeno chamado de Maré de Sizígia que ocorre nas luas novas e cheio do mês, sendo influenciado pelos efeitos lunares e solares que atuam em conjunto e produzem as maiores marés altas e menores marés baixas do ano. Esse efeito das marés pode contribuir para a maior diluição dos analitos influenciando assim sua concentração no ambiente. Diniz & Franco (2016), relata a ocorrência de irgarol variando de 5,01 – 9,59 ng/mL em dezembro de 2015 (período seco) e de 1,2 – 6,0 ng/mL em março 2016 (período chuvoso) em São Luís. Isto, leva a conjecturar que um volume maior de água pode contribuir para a diluição da concentração do analito.

As propriedades físico-químicas como pH e temperatura contribuem para a concentração destes biocidas em água. Em pH alcalino, o diuron sofre hidrólise. O pH das amostras de água analisadas é alcalino em média de 8,01. (Tabela 5.2).

Mesmos com efeitos naturais ocasionando um volume maior de água e conseqüentemente diminuindo a concentração do analito, as concentrações detectadas permitem observar a contaminação em ambientes estuarinos que são de fundamental importância para a sobrevivência e manutenção do ecossistema costeiro da ilha de São Luís.

O ecossistema costeiro da Ilha de São Luís faz parte da Área de Proteção Ambiental das Reentrâncias Maranhenses (APA das Reentrâncias Maranhenses) criada pelo Decreto Nº 11.901 de 11 de Junho de 1991 pelo Governo do Estado do Maranhão. Esta área possui alta densidade e diversidade de organismos bentônicos e peixes (SILVA, [201-]). Esses organismos atraem grandes densidades de aves limícolas por constituírem sua principal fonte alimentar (SILVA; RODRIGUES, 2015).

Tabela 5.2: Condições das Físico-Química das Amostras.

Local	Data	Horário	pH	Temp.(°C)	Sal
Ferry-boat	20/09/2016	09:10	8,05	27,95	30,22
Tamancão	20/09/2016	09:45	7,88	27,38	29,77
Rampa C. Melo	20/09/2016	10:23	8,03	28,01	30,49
P. da Vovó	20/09/2016	10:37	8	27,98	29,77
Raposa	22/09/2016	09:10	7,92	27,28	33,59
Espigão Costeiro	22/09/2016	10:07	8,05	28,16	31,01
P. São Francisco	22/09/2016	10:20	8,05	28,31	30,29
Pier 100	23/09/2016	10:55	8	28,34	29,35
Pier 103	23/09/2016	11:05	8,06	28,08	29,6
Pier 106	23/09/2016	11:10	8,08	28,91	29,75

Temp. Média(°C) = 28,04; pH Médio = 8,01; Salinidade Média = 30,38.

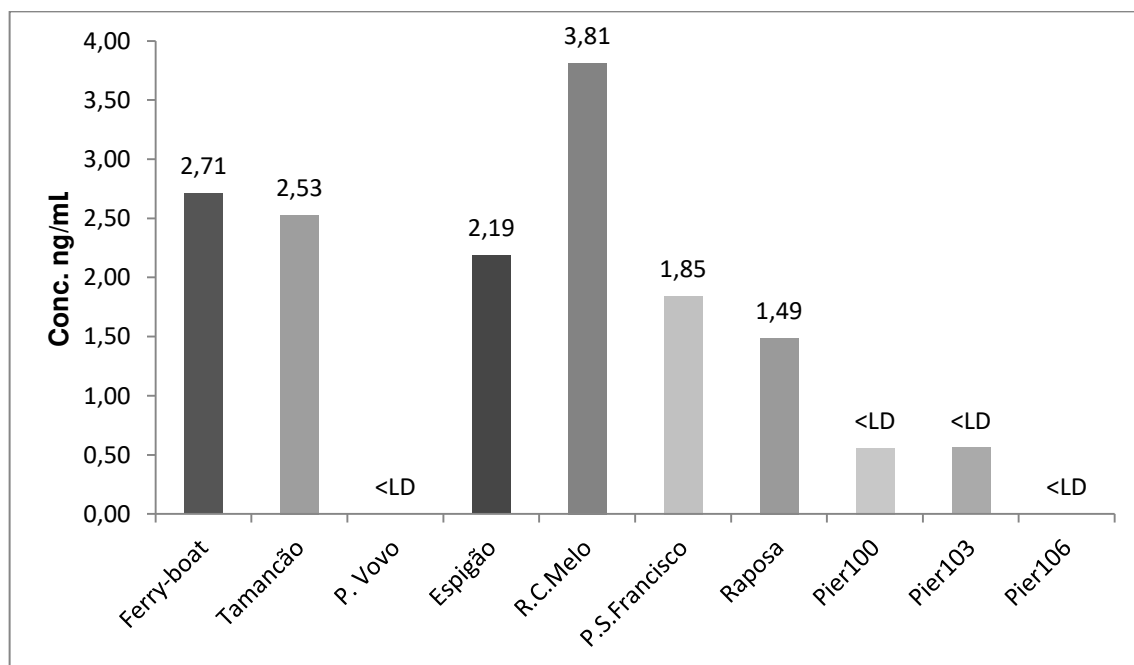
Os níveis de irgarol encontrados nas amostras de água, de acordo com os testes ecotoxicológicos encontrados na literatura, causam danos sérios a organismos aquáticos. Podem causar danos como deformações físicas, esterilidade e anomalias sexuais em machos e fêmeas.

A detecção do Diuron ficou impossibilitada pela presença de um pico de substância desconhecida que foi detectado em tempo de retenção muito próximo ao do diuron. Assim, o diuron pode ter co-eluído com a substância desconhecida. Por problemas de natureza técnica e da complexidade em realizar uma nova coleta de amostra não foi possível refazer sua análise.

O cromatograma apresentado na Figura 5.9, obtido no modo SIR, permite verificar o pico cromatográfico no tempo de retenção 4,05 minutos no cromatograma do Diuron e em 4,03 minutos no cromatograma do Irgarol 1051. Uma vez que o pico aparece em tempos de retenção próximos e no cromatograma dos dois analitos nos sugere dizer apenas que houve uma contaminação por uma substância desconhecida em um dos passos do preparo da amostra.

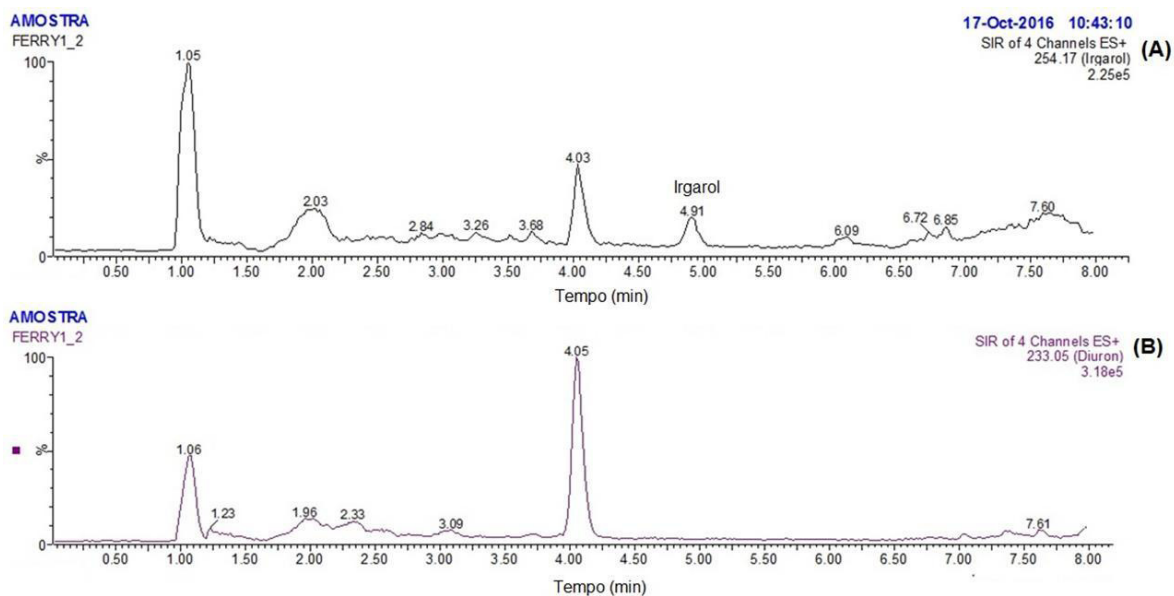
A ocorrência do irgarol 1051 em água do mar foi relatada por Diniz & Franco (2016), varia entre 3,2 e 3,3 ng/mL para o mês em dezembro de 2015, período considerado seco, e de 1,2 a 3,5 ng/mL em março de 2016 período chuvoso.

Figura 5.8: concentração de Irgarol 1051 nas amostras coletadas.



<LD: menor que o Limite de detecção (LD)

Figura 5.9: Cromatograma do irgarol 1051 e diuron para amostra do Ferry-boat.



Cromatogramas no modo SIR da repetição de injeção para Amostra do Ferry-boat: (A) Cromatograma para irgarol 1051 ($T_r = 4,91$ min) e (B) Cromatograma para o diuron ($m/z = 233$).

Fonte: Própria Autora.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A determinação de irgarol foi realizada, obtendo como resultado concentrações variando de 1,49 a 3,81 ng/mL com um limite de quantificação de 1,227ng/ml. A concentração mais alta encontrada do irgarol foi de 3,81ng/mL na Rampa campos Melo enquanto que nos Portinho da Vovó e nos Piers 100, 103 e 106 a concentração do biocida ficou abaixo do limite de quantificação. São concentrações próximas às relatadas na literatura e que preocupam devido à alta toxicidade a organismos aquáticos.

Para o diuron não foi possível à detecção. Motivado por uma substância desconhecida que co-eluiu próximo ao tempo de retenção do analito de interesse.

Esses biocidas são substâncias que causam danos sérios aos organismos vivos do ecossistema aquático podendo levar a morte em poucas horas. Como não existe produção agrícola suficiente, na região alvo do estudo, para lançar esta quantidade de irgarol em água do mar, a única outra fonte possível são as tintas anti-incrustantes.

Devido ao impacto significativo dos biocidas anti-incrustantes para organismos da base da cadeia alimentar no ecossistema aquático, deve-se manter constante estudo destas substâncias em água do mar e em outras matrizes como sedimento para avaliar com maior detalhamento o efeito no ambiente estuarino em que foram coletadas as amostras de água.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, D.A.; GERCHON, E.; REIS, E. O. **Monitoring of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Journal of the Brazilian Chemical Society**, V. 15, Nº. 2, 2004.

BALAKRISHNAN, S.; TAKEDA, K; SAKUGAWA, H. **Occurrence of Diuron and Irgarol in seawater, sediments and planktons of Seto Inland Sea, Japan. Geochemical Journal**, V. 46, pp. 169-177. 2012.

BATISTA-ANDRADE, J. A. et al. **Antifouling booster biocides in coastal waters of Panama: First appraisal in one of the busiest shipping zones. Marine Pollution Bulletin** . 2016.

CAI, Z. et al. **LC-MS analysis of antifouling agent irgarol 1051 and its decyclopropylated degradation product in seawater from marinas in Hong Kong. Talanta**, n. 70, p. 91-96, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Ed. da UNICAMP, 2006.

DA GAMA, B.A.P., PEREIRA, R.C. & COUTINHO, R. Bioincrustação marinha. In: Pereira, R.C. & Soares-Gomes, A. (orgs.) **Biologia Marinha**. 2.Ed., editora Interciência, Rio de Janeiro, p, 299-318, 2009.

DECRETO Nº 11.901 DE 11 DE JUNHO DE 1991. GOVERNO DO ESTADO DO MARANHÃO. Disponível em: <https://documentacao.socioambiental.org/ato_normativo/UC/304_20100823_150533.pdf> Acessado em 08/01/2017 as 17h:22min. São Luís, 11/Jun/1991.

DEMOLINER, A. et al. **Development and Validation of a Method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the determination of Multiple Classes of Pesticides and Metabolites in Water Samples. Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 21, Nº. 8, 1424-1433, 2010.

DINIZ, L.G.R et al. **First Appraisal of water contamination by antifouling booster biocide of 3rd generation at Itaqui Harbor (São Luís - Maranhão - Brazil)**. Journal of the Brazilian Chemical Society. v 25. p.380-388. 2014.

DINIZ, M.S.; FRANCO, T.C.R.S. **Determinação dos biocidas anti-incrustantes irgarol, diuron e diclofluanide em áreas portuárias da Ilha de São Luís, Maranhão**. Livros de resumos:, p.656, São Luís. 2016.

DOMINGUEZ, L. A. E. et al. **The Influence of Salinity and Matrix Effect in the Determination of Antifouling Biocides in Estuarine Waters of Patos Lagoon (Southern Brazil)**. Journal of the Brazilian Chemical Society., Vol. 25, No. 7, 1302-1310, 2014.

FERRER, I; BARCELÓ, D.. **Identification of a new agent degradation product Anti-fouling Irgarol 1051 in natural samples**. Journal of Chromatography A, v. 926, cap.1 , p. 221-228. 2001.

FRANCO, S. **Otimização, validação e aplicação de método para análise de diuron e seus metabólitos em urina de ratos utilizando SPE e HPLC/DAD**. Dissertação de mestrado do Instituto de Química, UEP - ARARAQUARA, 2009.

GATIDOU, G.; KOTRIKLA, A. THOMAIDIS, N.S; LEKKAS, T.D.. **Determination of the antifouling booster biocides irgarol 1051 and diuron and their metabolities in sea water by high performace liquid chromatograph-diode array detector**. Analytica Chimica Acta p. 89-99. 2005.

GIMENO, R. A. MARC, R. M. BORRULL, F. **Determination of organic contaminants in coastal water**. Trends in Analytical Chemistry, v. 23, n. 4, p. 341-350, 2004.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SILVA, M. S. **Contaminação ambiental por compostos organoestânicos**. Química Nova, n. 26, p. 708-716, 2003.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos: **Documento de caráter orientativo**. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 04 – Jul / 2011. Disponível em:<http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf> Acessado em: 05 de janeiro de 2017 as 09h:11min.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida: **Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas**. Scientia Chromatographica V.2, N°1, p.13-25, 2010.

LAM, K. et al. **Identification of a new Irgarol-1051 related s-triazine species in coastal waters**. Environmental Pollution, n. 136, p. 221-230, 2005.

LAMBROPOULOU, D. A.; SAKKAS, V. A.; ALBANIS, T. A. **Analysis of antifouling biocides irgarol 1051 and sea nine 211 in environmental water samples using solid-phase microextraction and gas chromatography**. Journal of Chromatography A., v. 952, p. 215-227, 2002.

LAMOREE, M.H. et al. **Determination of diuron and the antifouling paint biocide Irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal Waters**. Journal of Chromatography A, 970 (2002) 183–190.

LANDA, et al. **Occurrence of antifouling paint booster biocides in selected harbors and marinas inside the Gulf of Napoli: a preliminary survey**. Marine Pollution Bulletin, n. 52, p. 1541-1546, 2006.

MARTINS, T.L. & VARGAS, V.M.F. **Riscos à biota aquática pelo uso de tintas anti-incrustantes**. Ecotoxicol. Environ. Contam., v. 8, n. 1, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C.; JARDIM, I. C. F. S.; MELO, L. F. C. **Validação de métodos cromatográficos**. Química Nova, n. 5, p. 771-80, 2004.

SAKKAS, V. A.; LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A.. **Photochemical degradation study of irgarol 1051 in natural waters: influence of humic and**

fulvic substances on the reaction. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 147 (2002) 135–141.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J., **Applicability of microwave-assisted extraction combined with LC– S/MS in the evaluation of booster biocide levels in harbour sediments.** Chemosphere 82 (2011) p.96–102.

SAKKAS, V.A. et al. **Survey for the occurrence of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment of greece.** *Environmental Science & Pollution Research*, n. 9, p. 327-332, 2002.

SILVA, L.M.R. **Área de Proteção Ambiental das Reentrâncias Maranhenses.** [201-]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/205/_arquivos/apa_reentrncias_205.pdf> acessado em: 08/01/2017 às 16h.

SILVA, L.M.R.; RODRIGUES, A.A.F. **Densidade e distribuição espacial de aves limícolas em habitats de forrageio na costa amazônica brasileira.** *Ornithologia* 8(1): p.17-21, jun/2015

SKOOG; WEST; HOLLER; CROUCH et al. **Fundamentos de Química Analítica.** Editora Thomson. 8. Ed. 2002

THOMAS, K. V.; MCHUGH, M.; WALDOCK, MIKE. **Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters: inputs, occurrence and environmental fate.** *The Science of the Total Environment* p.117–127. 2002

THOMAS, K.V. & S. BROOKS, S. **The environmental fate and effects of antifouling paint biocides,** *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm*. V. 26, Nº 1, p.73 – 88. 2010.

THOMAS, K. V.; McHUGH, M.; WALDOCK, M.. **Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters: inputs, occurrence and environmental fate**. The Science of the Total Environment p. 117–127. (2002)

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F.; RIEDO, C. R. F. **Análise quantitativa por cromatografia**. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com/artigo/12/0>>. Acesso em :01 jan. 2017.