UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista

Avaliação da toxicidade crônica de biocidas nanotecnológicos utilizados em tintas anti-incrustantes no sedimento com o copépodo bentônico *Nitokra* sp.

Vitória Nogueira Soares

São Vicente
2024

Instituto de Biociências - Campus do Litoral Paulista
Praça Infante D. Henrique s/no - CEP 11330-900 -
São Vicente (SP) - Brasil Tel. (13) 3569-71

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA ''JÚLIO DE MESQUITA FILHO'' INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CAMPUS DO LITORAL PAULISTA

Vitória Nogueira Soares

Avaliação da toxicidade crônica de biocidas nanotecnológicos utilizados em tintas anti-incrustantes no sedimento com o copépodo bentônico *Nitokra* sp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da UNESP – Campus do Litoral Paulista para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, modalidade Gerenciamento Costeiro.

Orientador: Caio Cesar Ribeiro
Coorientador: Denis Moledo de Souza Abessa

São Vicente
2024

S676a

Soares, Vitória

Avaliação da toxicidade crônica de biocidas nanotecnológicos utilizados em tintas anti-incrustantes no sedimento com o copépodo bentônico Nitokra sp / Vitória Soares. -- São Vicente, 2024

29 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientador: Caio Cesar-Ribeiro

Coorientador: Denis Abessa

1. nanomateriais. 2. toxicidade. 3. anti-incrustante. 4. sedimento. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Resumo

Bioincrustação é o processo de fixação e consequente colonização de organismos em superfícies duras submersas, resultando em danos e gastos na manutenção de embarcações, dutos e plataformas de petróleo, e podendo ser também uma importante causa de bioinvasão. Tintas anti-incrustantes contendo biocidas vêm sendo historicamente desenvolvidas, destacando-se o 4,5-Dicloro-2-octilisotiazol-3(2H)-ona (DCOIT), difundido em zonas costeiras e alvo de preocupação ambiental. Recentemente foi proposto seu encapsulamento em nanocápsulas de sílica (SiNC) ou nanocápsulas de sílica revestidas com prata (SiNC-Ag) para reduzir impactos e aumentar sua eficiência, através da liberação controlada. Porém, são necessários estudos sobre a toxicidade dessas substâncias em organismos aquáticos bentônicos, pois o sedimento é repositório da maioria das substâncias introduzidas nos ambientes aquáticos. A toxicidade crônica do DCOIT livre em solução, das nanocápsulas vazias (SiNC), e do biocida nanoestruturado (SiNC-DCOIT) e revestido de prata (SiNC-DCOIT-Ag) foram avaliadas considerando a reprodução do copépodo *Nitokra* sp. O sedimento foi artificialmente contaminado usando o método da agência ambiental norte-americana, tendo sido misturado às substâncias nas concentrações desejadas, agitado por 30 minutos, e mantido no escuro e refrigerado por 24h. O ensaio foi realizado em quadruplicata, em frascos contendo 2 g de sedimento e 15 mL de água reconstituída (salinidade 17); controle negativo consistiu em sedimento limpo. Foram introduzidas cinco fêmeas ovadas em cada réplica, que foram alimentadas com ração, e expostas por 10 dias, sob um fotoperíodo 16h:8h, temperatura de 25±2°C. Posteriormente, foram fixadas com formaldeído e coradas com rosa de bengala. Os organismos foram contados e identificados como fêmeas (F), náuplios (N) e copepoditos (C), e a taxa de fecundidade foi calculada [(N+C)/F]. Os dados foram verificados quanto à normalidade e homocedasticidade. ANOVA e o Teste de Dunnett (ou equivalentes não paramétricos) foram usados para comparar os tratamentos com o controle e estimar as concentrações de efeito não observado (CENO) e efeito observado (CEO). A concentração de efeito a 50% dos organismos ($CI_{50\text{-}10d}$) foi calculada pelo método dos probitos e por ajuste de regressão logística no Python. Os resultados mostraram que o DCOIT apresentou a maior toxicidade, sendo o que mais inibiu a taxa de fecundidade dos copépodes, pois sua $CI_{50\text{-}10d}$ foi a menor entre as substâncias testadas (1,18 µg/g). A SiNC apresentou uma menor toxicidade, com uma $CI_{50\text{-}10d}$ de 54,46 (54,06 - 54,88) µg/g, porém diminuiu significativamente a taxa de fecundidade dos copépodes em concentrações muito baixas. Se presumia que a SiNC fosse inerte, mas a toxicidade pode ser atribuída à presença do surfactante catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) utilizado no processo de produção das nanocápsulas. O SiNC-DCOIT, em comparação tanto com o DCOIT quanto com o SiNC, foi menos tóxico, sendo a substância que apresentou menor toxicidade, com uma $CI_{50\text{-}10d}$ de 86,86 (71,05 - 102,67) µg DCOIT/g mostrando que essa associação pode ser eficiente em reduzir a toxicidade do DCOIT e do SiNC para organismos não-alvo. Já o SiNC-DCOIT-Ag apresentou uma toxicidade menor que o DCOIT livre porém maior que a do SiNC-DCOIT ($CI_{50\text{-}10d}$ = 26,78 (22,01 - 31,54) ug DCOIT/g). As CEO do SiNC e do DCOIT foram, respectivamente, 0,1 µg/g e 0,5 µg/g, sendo para ambas as substâncias a concentração mais baixa utilizada. Para o SiNC-DCOIT-Ag a CEO foi de 50 ug DCOIT/g, enquanto para o SiNC DCOIT houve diferença significativa em relação ao controle na concentração de 0,18 µg DCOIT/g, porém nesta concentração houve um aumento da taxa de fecundidade em relação ao controle, apresentando uma curva resposta característica de hormese - definido como um comportamento bifásico, no qual uma característica biológica é estimulada por baixas doses de um composto, mas inibida por altas doses do mesmo. A concentração mais baixa que causou uma diminuição na taxa de fecundidade dos copépodes foi de 100 ug DCOIT/g. Dessa forma, a toxicidade crônica dos compostos testados, de acordo com os valores de $CI_{50\text{-}10d}$, pode ser resumida da seguinte forma: DCOIT>SiNC-DCOIT Ag>SiNC>SiNC DCOIT.

Palavras-chave: nanomateriais, anti-incrustante, toxicidade, sedimento

Abstract
Biofouling is the process of attachment and subsequent colonization of organisms on submerged hard surfaces, resulting in damages and maintenance costs for vessels, pipelines, and oil platforms, as well as being a significant cause of bioinvasion. Anti-fouling paints containing biocides have been historically developed, with particular emphasis on 4,5-Dichloro-2-octylisothiazol-3(2H)-one (DCOIT), widely used in coastal zones and a subject of environmental concern. Recently, its encapsulation in silica nanocapsules (SiNC) or silica nanocapsules coated with silver (SiNC-Ag) has been proposed to mitigate impacts and enhance its efficiency through controlled release. However, studies on the toxicity of these substances to benthic aquatic organisms are necessary, as sediment acts as a repository for most substances introduced into aquatic environments. The chronic toxicity of free DCOIT, empty nanocapsules (SiNC), and the nano-structured biocide (SiNC-DCOIT) coated with silver (SiNC-DCOIT-Ag) was evaluated by assessing the reproduction of the benthic copepod Nitokra sp. Sediment was artificially contaminated using the U.S. Environmental Protection Agency's method, by mixing substances at desired concentrations, agitating for 30 minutes, and storing in darkness at low temperatures for 24 hours. The assay was conducted in quadruplicate, using vials containing 2 g of sediment and 15 mL of reconstituted water (salinity 17). The negative control consisted of clean sediment. Five ovigerous females were introduced into each replicate, fed, and exposed for 10 days under a 16:8 h light-dark photoperiod at 25±2°C. Afterwards, the organisms were fixed with formaldehyde and stained with Bengal rose. The organisms were counted and identified as females (F), nauplii (N), and copepodites (C), and the fecundity rate was calculated as [(N+C)/F]. Data were checked for normality and homoscedasticity. ANOVA and Dunnett's test (or non-parametric equivalents) were used to compare treatments with the control and to estimate the no observed effect concentration (NOEC) and the lowest observed effect concentration (LOEC). The concentration causing a 50% effect (LC50-10d) was calculated using probit analysis and logistic regression in Python. The results showed that DCOIT presented the highest toxicity, significantly inhibiting the copepods' fecundity rate, as its LC50-10d was the lowest among the tested substances (1.18 µg/g). SiNC exhibited lower toxicity, with an LC50-10d of 54.46 (54.06 - 54.88) µg/g, but significantly reduced copepod fecundity at very low concentrations. SiNC was presumed to be inert, but its toxicity may be attributed to the cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) used during nanocapsule production. SiNC-DCOIT was less toxic compared to both DCOIT and SiNC, showing the lowest toxicity among the tested substances, with an LC50-10d of 86.86 (71.05 - 102.67) µg DCOIT/g, indicating this combination could effectively reduce the toxicity of DCOIT and SiNC to non-target organisms. Conversely, SiNC-DCOIT-Ag exhibited lower toxicity than free DCOIT but higher than SiNC-DCOIT, with an LC50-10d of 26.78 (22.01 - 31.54) µg DCOIT/g. The LOECs for SiNC and DCOIT were 0.1 µg/g and 0.5 µg/g, respectively, corresponding to the lowest concentrations tested. For SiNC-DCOIT-Ag, the LOEC was 50 µg DCOIT/g, while for SiNC-DCOIT, a significant difference from the control was observed at 0.18 µg DCOIT/g. However, at this concentration, an increase in fecundity rate was observed compared to the control, exhibiting a hormesis response—a biphasic behavior where a biological feature is stimulated by low doses of a compound but inhibited at high doses. The lowest concentration causing a decrease in copepod fecundity rate was 100 µg DCOIT/g. Thus, the chronic toxicity of the tested compounds, based on LC50-10d values, can be summarized as follows: DCOIT > SiNC-DCOIT-Ag > SiNC > SiNC-DCOIT.

Keywords: nanomaterials, antifouling, toxicity, sediment

Sumário

1. Introdução 3
2. Objetivo 6
3. Materiais e Métodos 7
4. Resultados e discussão 10
5. Conclusão 15
6. Referências Bibliográficas 16

1. Introdução

A bioincrustação é o processo no qual ocorre a fixação e colonização de organismos como invertebrados, algas e bactérias em superfícies submersas naturais ou artificiais, como rochas, embarcações, plataformas de petróleo, tubulações submarinas, estruturas subaquáticas e resíduos plásticos (Vellwock e Yao, 2021; Subías-Baratau et al., 2022). Esse processo provoca impactos econômicos e ambientais de várias maneiras. Reduz a eficiência das embarcações ao alterar sua hidrodinâmica, e como resultado, há um aumento nos custos de manutenção, maior consumo de combustível e diminuição da eficiência dos motores, o que leva a uma maior emissão de CO_2, contribuindo para a poluição atmosférica e as mudanças climáticas (Schultz et al., 2010; Demirel et al., 2017). Na aquicultura a bioincrustação causa um impacto econômico significativo, que vem principalmente da manutenção e limpeza dos tanques e redes de espécies incrustantes, que deve ser periódica e traz custos adicionais para a produção, além de diminuir a vida útil dos tanques. Tais custos adicionais variam entre as diferentes pisciculturas, indo de R$ 36,73 por m³ a R$ 122,92 por m³, mas a taxa de impacto pode ser menor se as estruturas forem revestidas por algum material que prejudique a aderência dos organismos e reduza os procedimentos frequentes de retirada, como as tintas anti-incrustantes (da Costa et al, 2018).

Entre os impactos ambientais causados pela bioincrustação pode-se destacar a bioinvasão. Organismos incrustados em cascos de embarcações se deslocam entre diferentes regiões no mundo e quando essas embarcações atracam na costa, os organismos podem tornar-se espécies bioinvasoras (Machado et al., 2019). Organismos bioinvasores são espécies exóticas, ou seja, encontradas fora da sua área de distribuição geográfica, que podem se estabelecer em uma comunidade nativa, cujo ambiente abiótico pode ser muito similar ao seu ambiente de origem. Elas possuem a capacidade de aumentar sua abrangência e densidade substancialmente, criando interações ecológicas e modificando as comunidades receptoras com a sua presença. A bioinvasão tem um impacto ecológico significativo, pois os organismos invasores podem prejudicar a teia trófica ao competir de forma agressiva, predar espécies nativas, introduzir patógenos e destruir habitats, desestabilizando os ecossistemas locais (Chan et al., 2017; Papacostas et al., 2017). A bioincrustação é uma das principais formas de invasão biológica no ambiente marinho, cujos impactos ambientais são amplamente reconhecidos entre a comunidade científica, contudo a bioinvasão associada com a bioincrustação ainda carece de regulamentação jurídica específica no Brasil para sua prevenção, controle e mitigação (Machado et al., 2019).

Historicamente, para prevenir a bioincrustação e seus possíveis impactos, foram desenvolvidas tintas anti-incrustantes contendo diferentes biocidas como princípio ativo, as quais são aplicadas como sistemas de proteção sobre superfícies expostas à água, e acabam sendo alvo de preocupação ambiental por serem altamente difundidos em zonas costeiras devido a sua ampla utilização e terem potencial de causar toxicidade para a biota, sendo necessários estudos sobre a toxicidade e destino desses contaminantes no ambiente (Castro et al., 2011).

Os óxidos de cobre e zinco foram os primeiros biocidas utilizados de forma regular em tintas anti-incrustantes, sendo estas denominadas de primeira geração, porém elas possuíam baixa eficiência e durabilidade de apenas um ano após a aplicação, sendo substituídas por tintas de segunda geração a base de compostos organoestânicos como o tributilestanho (TBT) e/ou trifenilestanho (TPT) (Castro et al., 2001; Paz-villarraga et al., 2022). Apesar da maior durabilidade e funcionalidade dos anti-incrustantes de segunda geração, esses compostos começaram a mostrar elevada toxicidade às espécies não alvo. Em moluscos, foram identificados efeitos deletérios como alterações morfológicas e fisiológicas, neurotoxicidade, disrupção endócrina, e o efeito denominado imposex, que é o surgimento de órgãos sexuais masculinos em organismos fêmeas, o que pode causar infertilidade (IP et al., 2024). Em peixes, por sua vez, foram registrados danos na reprodução e no comportamento em doses muito baixas (Dimitriou et al., 2003). Além disso, os compostos organoestânicos são persistentes e têm uma degradação lenta, com uma meia-vida que varia de 5 semanas a 6 meses, e sua degradação nos sedimentos é significativamente mais lenta. Essas características levaram a proibição de novas

aplicações desses compostos em 2003 e completo banimento em 2008 pela Organização Marítima Internacional (Antizar-Ladislao, 2008; Kyei et al., 2020; Castro, 2011; IP et al., 2024). A partir disso houve a necessidade de encontrar alternativas às tintas a base de organoestânicos, e assim diversos biocidas orgânicos passaram a ser usados com esta finalidade, como Irgarol, Diuron e Diclofluanida, destacando-se o DCOIT (4,5-dicloro-2-n-octil-4- isotiazolina-3-1) ou Sea-Nine 2011 por ser o único biocida da nova geração desenvolvido especificamente com a finalidade de compor tintas anti-incrustantes, prometendo ter uma tecnologia de rápida degradação que reduziria seus efeitos e riscos sobre a biota, tendo meia vida estimada em 13 dias na água e < 0,5 dia no sedimento (Jacobson e Willingham, 2000 Tornero e Hanke, 2016). Entretanto, estudos recentes demonstraram que a persistência do DCOIT pode variar no ambiente, assim como sua biodisponibilidade, capacidade de degradação, e toxicidade, devido à fatores abióticos como turbidez, salinidade, temperatura e granulometria, e também por processos que causam a ressuspensão do sedimento, como a bioturbação (Thomas e Brooks, 2010). As partículas de tinta representam um problema mais específico, já que acabam sendo consumidas por comedores de depósito, podendo apresentar toxicidade e/ou bioacumulação e transferência aos níveis tróficos superiores (Torres et al., 2021). Foi demonstrado que o DCOIT, quando disponível no ambiente por meio de fragmentos de tinta, sofre uma modificação do tempo de permanência no ambiente, estando protegido de fatores de degradação e tendo um aumento do seu tempo de meia-vida. Essas partículas agem como "hotspots" de contaminação, liberando continuamente o biocida na água (Abreu et al., 2020). Isso pode fazer com que o DCOIT se comporte como um poluente pseudo-persistente em áreas com alto tráfego de navios. Poluentes pseudo-persistentes são aqueles que são continuamente introduzidos no ambiente, fazendo com que as taxas de remoção e degradação sejam continuamente compensadas pela sua introdução constante (Chen e Lam, 2017). Além disso já foi demonstrado que o biocida pode apresentar toxicidade a organismos não alvo e de interesse econômico, como o camarão *Litopenaeus vannamei* (Su et al., 2019), bivalves (Santos et., al 2020), copépodes (Wendt, 2016), algas marinhas, crustáceos, poliquetas (Onduka et al., 2013), e peixes da espécie *Oryzias melastigma* (Liu et al., 2024).

Outro aspecto que reforça a importância de pesquisas a respeito das implicações dessas substâncias sobre a biodiversidade é a ampla distribuição desses biocidas, detectados em regiões aquáticas de diversos locais do mundo. Eles têm sido encontrados em diferentes matrizes, como água, sedimentos e organismos aquáticos, o que evidencia seu potencial de dispersão e persistência nesses ecossistemas. Apesar do banimento de compostos organoestânicos no Japão, Harino et al (2007) detectaram TBT e TPT no sedimento e em moluscos da baía de Otsuchi em quantidades médias de 13 μg kg^{-1} e 3 μg kg^{-1} de peso seco, respectivamente. Também foram detectados outros biocidas - DCOIT, Diuron, Diclofluanida, Irgarol 1501 e Piritionato de Cobre. As concentrações do contaminante variaram ao longo da baía, sendo que as maiores concentrações foram detectadas nas proximidades de áreas com alto tráfego de embarcações, indicando serem provenientes de tintas de revestimento. Lam et al., (2017) encontraram concentrações de TBT, Diuron e Irgarol 1051 nos sedimentos das baías Gwangyang, Ulsan e Busan, na Coréia do Sul, que ultrapassam as diretrizes globais de qualidade de sedimentos, o que poderia representar riscos adversos para organismos marinhos. Foram registradas concentrações extremamente elevadas de TBT, chegando a até 2304 ng/g. O TBT apresentou uma frequência de detecção de 20%, com uma média de 0,84 ng/L, enquanto o TPT foi detectado em 16% das amostras, com uma média de 0,23 ng/L. O diuron foi encontrado em todas as amostras, destacando-se como um biocida anti-incrustante predominante, com concentrações variando de < 0,31 a 96,2 ng/L. Além disso, foram detectados Irgarol 1051 e DCOIT, com médias de 0,15 ng/L e 0,17 ng/L, respectivamente. Níveis de biocidas que ultrapassam diretrizes internacionais de qualidade de sedimentos também foram detectados no Panamá por Batista-Andrade et al (2018) para Irgarol 1051 e Diuron. Também detectou a presença de DCOIT, mas que não ultrapassam estas diretrizes. Os níveis de Irgarol 1051, diuron

e DCOIT variaram de <0,08 a 2,8 ng g−1, <0,75 a 14,1 ng g−1 e <0,38 a 81,6 ng g−1, respectivamente. Os níveis mais altos de Irgarol 1051, além de um nível relevante de DCOIT (5,7 ng g^{-1}), foram obtidos próximos a uma marina. Adicionalmente, valores relativamente altos de Diuron também foram encontrados no Canal do Panamá, associados a um porto comercial. As concentrações de DCOIT estavam relacionadas à presença de partículas de tinta anti-incrustante em sedimentos coletados nas proximidades de estaleiros ou locais de manutenção de embarcações. O DCOIT é o biocida mais frequentemente encontrado em sedimentos da costa brasileira, detectado em 77% dos sedimentos do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, e com níveis de contaminação estimados em 3.2 – 74.6 ng g^{-1} (Abreu et al., 2020). Na Lagoa dos Patos – Rio Grande do Sul, os níveis de contaminação encontrados foram de 0.13 ± 0.03 ug/g^{-1} (Soroldoni et al., 2017). Em seguida estão o Diuron, o Clorotalonil e o Diclofluanida, respectivamente (Abreu et al., 2020). Uma revisão realizada por De Campos et al., (2020) demonstrou que concentrações ambientais de DCOIT encontradas variam bastante entre diferentes países. Na Suécia, os níveis detectados são extremamente baixos, chegando a 0,003 mg/L, seguidos por 0,006 mg/L na Coreia e 0,01 mg/L no Japão. Em países como Grécia e Dinamarca, as concentrações são mais elevadas, com 0,05 mg/L e 0,28 mg/L, respectivamente. As maiores concentrações ambientais de DCOIT encontradas na água e no sedimento, respectivamente, foram registradas na Espanha, com 3,7 mg/L e na Coréia com 0,28 µg/g (De Campos et al., 2020).

Com o objetivo de diminuir o potencial tóxico do DCOIT, foi proposta a sua incorporação em nanocápsulas de sílica (SiNC), ou seja, partículas de tamanhos de 100 nanômetros ou menos, que serviriam para controlar a liberação do composto no ambiente, reduzindo seu impacto ambiental (Maia et al., 2015; Avelelas et al., 2017). Nanocápsulas são estruturas porosas, onde podem ser inseridas moléculas ativas. As funcionalidades do núcleo e da concha podem ser ajustadas, dando novas propriedades às nanocápsulas e tornando-as uma excelente plataforma para transportar e liberar essas moléculas. No núcleo, ou sítios ativos nos poros, podem ser encapsuladas substâncias de interesse, como medicamentos, genes, proteínas, biocidas e catalisadores, e a concha fornece diversas propriedades e serve como uma camada de proteção para o núcleo encapsulado (Wibowo et al., 2016; Zhang et al., 2014). Essas propriedades fornecidas pela concha são: capacidade de proteger a substância dentro da cápsula contra decomposição prematura, causada por luz, água, micro-organismos ou reações químicas, aumento da sua durabilidade; diminuição da toxicidade da substância para o ambiente ao redor; permitir a liberação controlada da substância; e melhorar a dispersão e a estabilidade das nanocápsulas no meio em que estão (Ferreira et al., 2023). A sílica inorgânica é considerada uma boa alternativa de material de casca para encapsular núcleos devido a suas características, como transparência óptica; estabilidade e facilidade de dispersão em água; capacidade de agir como uma barreira de difusão; biocompatibilidade (a FDA dos EUA reconhece a sílica não cristalina como um material seguro para uso, classificado como Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS)); e com propriedades físicas e químicas ajustáveis, como espessura, porosidade, resistência, carga elétrica, funcionalidade e reatividade. Essas características tornam a sílica um material versátil e supostamente seguro para revestir e proteger o conteúdo das nanocápsulas (Wibowo et al., 2016). De forma prática, essa estrutura permite um armazenamento significativo de substâncias e a sua liberação de forma controlada e em resposta a certos estímulos ambientais, que serviriam como gatilhos específicos. Isso significa que podem ser úteis para liberar substâncias que inibem processos específicos de forma controlada e prolongada, como é o caso dos biocidas utilizados como anti-incrustantes (Maia et al., 2012).

Alguns destes aditivos estão sendo produzidos pela empresa Smallmatek, Lda, que desenvolveu uma nova versão do anti-incrustante DCOIT encapsulado nomeado de SiNC-DCOIT-Ag, que possui uma cobertura externa de prata que aumenta a sua eficácia antibacteriana (Figueiredo et al., 2020). Isso é especialmente interessante para a composição de tintas anti-incrustantes pois a formação de biofilme é a primeira etapa da formação de

incrustações (Callow & Callow, 2002). Pesquisas demonstraram que as formas encapsuladas do DCOIT, como o SiNC-DCOIT e o SiNC-DCOIT-Ag tendem a apresentar menor toxicidade aguda para espécies não-alvo que os biocidas livres em solução, e são eficientes em prevenir o assentamento de espécies alvo (Figueiredo et al., 2019), como o mexilhão *Perna perna* ((de Campos et al., 2022).

Até o presente momento, há o conhecimento de apenas um estudo que analisou a toxicidade do DCOIT em associação com o sedimento (Campos et al., 2023). Existe na literatura uma lacuna no conhecimento relacionado a contaminação do sedimento por poluentes de interesse emergente, como o DCOIT, sendo uma área da ecotoxicologia que ainda apresenta muitos desafios. Os sedimentos são importantes reservatórios para muitos produtos químicos, incluindo contaminantes orgânicos e inorgânicos, nutrientes e elementos-traço, que na maioria dos casos são encontrados em misturas complexas. Essas substâncias podem ficar armazenadas por longos períodos de tempo até serem liberadas novamente para o ambiente sob certas condições, desencadeadas por processos como ressuspensão e bioturbação, ou absorção pelos organismos bentônicos (Chapman et al., 1998; Knox et al., 2020). Isso inclui substâncias químicas antigas que foram gradualmente eliminadas ou banidas, bem como poluentes mais recentes (Burton, 2013). É conhecido que o sedimento desempenha um papel vital no transporte, destino e biodisponibilidade dessas substâncias químicas nos ecossistemas aquáticos, e que essas substâncias podem causar sérios efeitos sobre a biota aquática e outros processos ecológicos fundamentais, como a diversidade de organismos bentônicos e o equilíbrio de ecossistemas (Burton, 2013). Contudo, a avaliação da toxicidade de sedimentos nas legislações ao redor do mundo ainda enfrenta uma série de lacunas e desafios. Embora o uso de testes de toxicidade de sedimentos seja bem estabelecido em regiões como a União Europeia, América do Norte e Australásia, sua aplicação em outras partes do mundo, como na Ásia, Europa não pertencente à UE, América Latina e Brasil, ainda é limitada e inconsistente, tendo procedimentos regulatórios frequentemente desorganizados e que faltam padronização global. Por conta dessa inconsistência os testes ecotoxicológicos com sedimento são feitos predominantemente com espécies de clima temperado, e há uma falta de dados sobre a toxicidade em espécies de clima tropical (Leppanen et al., 2024). Campos et al. (2023) afirmaram, por meio de avaliação de risco com base em testes de toxicidade, que espécies tropicais são cerca de 1.7 vezes mais sensíveis ao DCOIT do que as espécies de clima temperado e polar. Devido a esses fatores é de extrema importância a avaliação da toxicidade desses anti-incrustantes para uma variedade de espécies, de clima tropical, subtropical e polar, de hábitos bentônicos e pelágicos. Para melhorar a eficácia da avaliação de riscos ecológicos em sedimentos, é necessário o desenvolvimento de protocolos para testes com novas espécies, e que sejam flexíveis para incorporar endpoints sensíveis e robustos, especialmente em países que ainda não adotaram essas práticas de maneira consistente. O copépode *Nitokra* Sp. é um ótimo modelo para o desenvolvimento de testes ecotoxicológicos com sedimento, por ser um organismo-teste que apresenta um ciclo de vida relativamente curto, apresenta alta sensibilidade a contaminantes, é estuarino e facilmente cultivado em laboratório. Constitui um elo crucial na cadeia alimentar marinha, conectando o fluxo de energia e biomassa dos produtores primários aos consumidores, uma vez que servem como fonte alimentar significativa para uma variedade de organismos marinhos (Turner, 2004). Lotufo e Abessa (2002) propuseram um protocolo para avaliar alterações na taxa de fecundidade dos copépodes expostos às diversas concentrações dos contaminantes, possibilitando a avaliação da toxicidade crônica, o que é de extrema relevância pois os dados obtidos de estudos até o momento apenas avaliam a toxicidade aguda das formas livre e nanoestruturadas do DCOIT.

Portanto, são necessários novos estudos para avaliar a toxicidade do DCOIT e suas formas nanoestruturadas em SiNC, quando presentes no sedimento, em espécies bentônicas de clima tropical e não-alvo, com ensaios de toxicidade crônica e comparar suas formas livre e encapsulada, com e sem o revestimento de prata, já que atualmente existe uma lacuna em

relação a este conhecimento na literatura. Esse estudo tem como hipótese: A nanoencapsulação do DCOIT em SiNC diminui sua toxicidade crônica para espécies bentônicas não-alvo em ambientes tropicais, com impacto variando conforme a forma livre, encapsulada ou revestida com prata, devido a modificações na biodisponibilidade e interação com sedimentos. Esses efeitos podem ser mais pronunciados em organismos expostos ao sedimento contaminado em comparação com outras matrizes ambientais, indicando que a forma nanoestruturada e os revestimentos podem desempenhar papel fundamental na mitigação dos efeitos tóxicos.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho é avaliar e comparar a toxicidade crônica do biocida anti-incrustante DCOIT em suas formas livres e encapsuladas em SiNC, com e sem revestimento de prata, e da nanocápsula de sílica vazia, sobre indivíduos do copépode *Nitokra* sp., a partir da avaliação da sua taxa de fecundidade.

3. Materiais e Métodos

3.1 Substâncias utilizadas

Quatro compostos químicos foram testados: o biocida DCOIT, obtido a partir da empresa Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e três nanomateriais, sendo SiNC base e impregnados com um ou dois biocidas (SiNC-DCOIT e SiNC-DCOIT-Ag), fornecidos pela empresa Smallmatek Lda (Aveiro, Portugal).

3.2 Preparo das concentrações

As concentrações das substâncias-teste no sedimento foram determinadas com base em dados disponíveis na literatura ou por meio dos ensaios "piloto". Essa abordagem visa estabelecer os níveis de efeito e não efeito para diferentes espécies e *endpoints* selecionados. As concentrações definitivas estão expressas na Tabela 1. Os biocidas nanoestruturados tiveram suas concentrações calculadas por porcentagem de DCOIT, para que a toxicidade estimada esteja de acordo com a quantidade desse contaminante na amostra. Cada composto foi pesado em balança de precisão analítica, diluído em 10 ml de água reconstituída e adicionado ao sedimento de forma seriada para que as concentrações desejadas fossem atingidas.

Tabela 1. Concentrações definitivas dos diferentes compostos utilizados nos testes de toxicidade.

ug/g		**ug/g DCOIT**	
SiNC	**DCOIT**	**SiNC-DCOIT**	**SiNC-DCOIT Ag**
0,1	0,5	0,183	0,144
1	1	1,83	1,44
10	10	9,15	7,2
50	100	18,3	14,4
100	500	50	50
500		100	100

3.3 Contaminação do sedimento

Para preparar os sedimentos fortificados contendo as substâncias-teste, foi seguido o método proposto pela USEPA (2001). O sedimento utilizado nos testes foi coletado no estuário de Cananeia, litoral sul de SP, dentro da Área de Proteção Ambiental do Lagamar. Inicialmente,

o sedimento foi defaunado por meio de congelamentos consecutivos a -80 °C, com o objetivo de reduzir a carga microbiológica e, consequentemente, diminuir a taxa de degradação ou biotransformação dos compostos testados. Posteriormente, o sedimento foi misturado às substâncias-teste nas concentrações desejadas e agitado vigorosamente por 30 minutos com o auxílio de um bastão de vidro. Após essa etapa, foi deixado em repouso no escuro e refrigerado a 4 °C por no mínimo 24 horas, permitindo que o contaminante entrasse em equilíbrio com a água intersticial e a fração sólida do sedimento. Em seguida, os sedimentos foram distribuídos nos recipientes destinados aos testes.

Análises químicas de amostras de sedimento contendo DCOIT e SiNC-DCOIT Ag estão em execução na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e na IO-USP (Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo), respectivamente. Posteriormente esses resultados poderão ser utilizados para uma melhor compreensão e interpretação dos resultados encontrados neste estudo.

3.4 Granulometria do sedimento

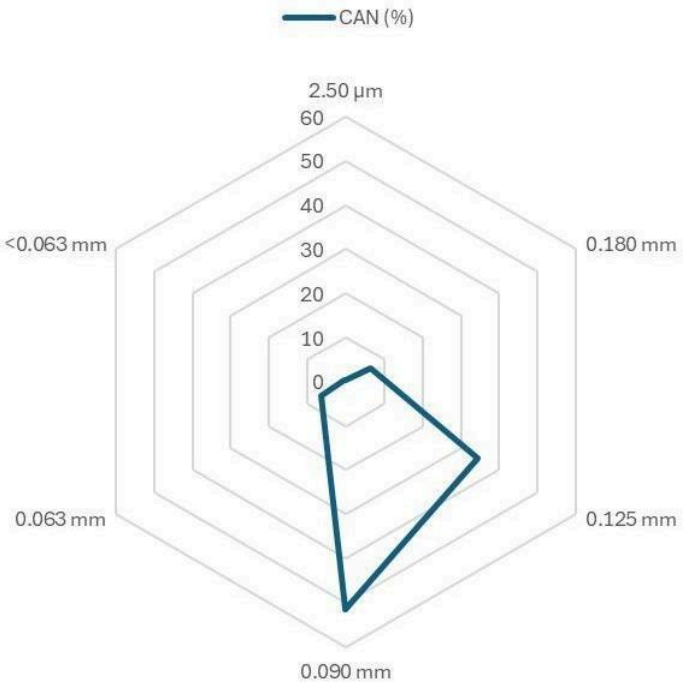
A determinação da granulometria do sedimento foi realizada em duas etapas, conforme o procedimento descrito por Mudroch et al. (1994). Inicialmente, 50 g de sedimento seco foram submetidos ao peneiramento úmido utilizando uma malha de 0,062 mm, separando as frações de silte e argila. A diferença entre o peso inicial e final do sedimento resultou na fração "lamosa", que corresponde a 16,9 g (33,8%) do total. Na segunda etapa, o sedimento seco retido na malha de 0,062 mm foi colocado em um agitador RO-TAP, utilizando um conjunto de peneiras com intervalos de meio Ø, conforme a escala de Wentworth. O sedimento foi então separado nas frações arenosas, que foram pesadas individualmente. A fração de areia média (0,250 - 0,90 mm) foi a mais abundante, representando 49,76% do total. As frações de areia fina (0,180 - 0,250 mm) e areia muito fina (0,062 - 0,180 mm) corresponderam, respectivamente, a 6,06% e 0,38% do sedimento. O restante foi composto por frações de areia grossa (6,28%) e sedimento muito grosso (0,56%) (Tabela 2).

Os resultados demonstram que a amostra de sedimento é composta predominantemente por areias lamosas, com uma significativa presença de areia média, enquanto as frações lamosas representaram uma porção menor da amostra.

Tabela 2. Porcentagens das diferentes fracções granulométricas do sedimento usado como controle e como base das amostras fortificadas.

Fração Granulométrica	Malha (mm)	Peso (g)	Porcentagem (%)
Fração Lamosa	Menor que 0,062 mm	16,9	33,80%
Areia muito fina	0,062 - 0,180 mm	0,19	0,38%
Areia fina	0,180 - 0,250 mm	3,03	6,06%
Areia média	0,250 - 0,90 mm	24,88	49,76%
Areia grossa	0,90 - 2,0 mm	3,14	6,28%
Areia muito grossa	Maior que 2,0 mm	0,28	0,56%
Total		50 g	100%

Figura 1. Porcentagem de grãos em cada tamanho de malha.



.3.5 Testes ecotoxicológicos

O teste de toxicidade crônica com *Nitokra* sp. seguiu uma adaptação do protocolo proposto por Lotufo & Abessa (2002) para avaliar alterações na taxa de fecundidade dos copépodes expostos a diversas concentrações de contaminantes. O ensaio foi realizado em quadruplicata, com um controle negativo (sedimento limpo), utilizando frascos de vidro como câmaras-teste, contendo aproximadamente 2 g de sedimento e 15 mL de água reconstituída com salinidade 17. Foram introduzidas cinco fêmeas ovadas em cada réplica, obtidas de cultivos com copépodes em estágios variados de desenvolvimento, separadas utilizando pipetas de vidro e placas de Petri sob a lupa. As fêmeas foram identificadas pela presença da bolsa de ovos ou gônadas maduras, caracterizadas por duas estrias pardas longitudinais. O tempo de exposição foi de 10 dias, com fotoperíodo mantido em 16h:8h (claro) em uma câmara de germinação a 25 °C (±2). Logo após a introdução dos organismos nos frascos, foi realizada a alimentação, consistindo na adição de 0,1 mL de uma mistura de levedura e água (3 mg/mL) em cada câmara-teste. Ao final da exposição, as réplicas foram fixadas com solução de formaldeído a 10% e coradas com rosa de bengala a 1%, sendo mantidas no escuro por dois dias para permitir a coloração adequada dos organismos.

Posteriormente, foi utilizada sílica coloidal LUDOX (SiO_2) como agente floculante, que permite que os organismos presentes na amostra flutuem na superfície, facilitando sua separação do sedimento para posterior contagem. O LUDOX foi utilizado na densidade de 1,18 (uma parte de LUDOX para três partes de água destilada), adicionado em cada frasco na proporção de uma parte de LUDOX para cinco partes de sedimento e misturado com uma espátula. A solução foi deixada agindo por 40 minutos; após esse período, o sobrenadante foi peneirado em malha de 45 µm, e os organismos retidos foram identificados como fêmea (F), copepodito (C) e náuplios (N), sendo contados em câmaras de contagem de zooplâncton sob a lupa. O sedimento também foi verificado para garantir que todos os copépodos foram retirados e identificados. A taxa de fecundidade foi calculada pela expressão [(N+C)/F].

3.6 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram inicialmente verificados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homocedasticidade pelo teste de Levene. Os dados foram normalizados para uma melhor interpretação dos resultados. Os dados de todos os testes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo Teste de Dunnett (ou seus equivalentes não paramétricos), para comparar a fecundidade em cada concentração com os controles, com o objetivo de estimar as concentrações de efeito não observado (CENO) e as concentrações de efeito observado (CEO). A escolha e utilização de métodos estatísticos em estudos ecotoxicológicos frequentemente representam um desafio, principalmente devido à complexidade dos dados gerados. Em muitos casos, os dados podem apresentar comportamentos não lineares, como a hormese. Esse fenômeno pode resultar em padrões de distribuição incomuns, como distribuições bimodais, que complicam a aplicação de métodos tradicionais de análise. Para a determinação da CI50, foram testados diferentes métodos de análise, incluindo abordagens realizadas no software Statistica e em Python. Para o SiNC, SiNC-DCOIT e SiNC-DCOIT Ag optou-se por apresentar os resultados obtidos pelo método dos probitos no Statistica, que melhor representaram os valores das concentrações inibitórias, fornecendo intervalos de confiança mais curtos. Já para o DCOIT os resultados mais confiáveis utilizados foram os encontrados por meio de ajuste de regressão logística no Python.

3.7 Garantia de qualidade

Em todos os testes realizados, os parâmetros físico-químicos da água e do sedimento, como salinidade, temperatura, pH e teores de oxigênio dissolvido, foram medidos no início e no fim dos testes, com auxílio de sensores. Em paralelo a cada ensaio, foi realizado um teste com a substância de referência dodecil sulfato de sódio (DSS), um surfactante aniônico comumente utilizado em testes de toxicidade. Essa substância apresenta ação rápida e toxicidade consistente, agindo dentro de uma faixa estreita de concentrações, sendo recomendada como substância de referência em ensaios de curta duração (Environment Canada, 1990; Melo & Abessa, 2002). Esses valores estão expressos no material suplementar.

4. Resultados e discussão

Os resultados mostraram que, entre todos os contaminantes, o DCOIT foi o que exibiu uma maior toxicidade, reduzindo grandemente a taxa de fecundidade dos copépodes, e apresentando a menor Concentração de Inibição a 50% dos copépodes em 10 dias ($CI_{50\text{-}10d}$) entre todas as substâncias testadas (1,18 (nd – 3,8) µg/g). A nanocápsula de sílica (SiNC) apresentou uma menor toxicidade, com uma $CI_{50\text{-}10d}$ de 54,46 (54,06 - 54,88) µg /g. O SiNC-DCOIT teve $CI_{50\text{-}10d}$ de 86,86 (71,05 - 102,67) µg DCOIT/g, tendo sido a substância menos tóxica entre as testadas, mostrando que a associação do DCOIT com as nanocápsulas pode ser eficiente em reduzir a toxicidade tanto do DCOIT como do SiNC sobre organismos não-alvo. Já o SiNC-DCOIT-Ag apresentou uma toxicidade menor que o DCOIT livre, porém maior que a toxicidade do SiNC-DCOIT, com uma $CI_{50\text{-}10d}$ de 26,78 (22,01 - 31,54) ug DCOIT/g. As CEO do SiNC e do DCOIT foram, respectivamente, 0,1 µg/g e 0,5 µg/g, sendo que essas concentrações, para ambas as substâncias, foram as mais baixas testadas. Para o SiNC-DCOIT-Ag, a CEO foi de 50 ug DCOIT/g. No entanto, a primeira concentração do SiNC-DCOIT que causou diferença significativa em relação ao controle foi de 0,18 µg/g DCOIT, porém essa diferença se deu por um aumento da taxa de fecundidade em relação ao controle, de modo que a resposta a esse composto apresentou uma curva resposta característica de hormêse, ou seja, um comportamento bifásico, no qual uma característica biológica é estimulada por baixas doses de um composto, mas inibida pelas suas altas doses (Calabrese et al., 2017). A concentração mais baixa que causou uma diminuição na taxa de fecundidade dos copépodes (CEO) foi de 100 ug DCOIT/g. Dessa forma, a toxicidade crônica dos compostos testados, de acordo com os valores de $CI_{50\text{-}10d}$, pode ser resumida da seguinte forma: DCOIT>SiNC-DCOIT-Ag>SiNC>SiNC-DCOIT (Tabela

3). Esses valores estão representados em gráficos de barras (Figura 1) e gráficos de dispersão (Figura 2).

Figura 2. Gráfico de barras representando a taxa de fecundidade de *Nitokra* sp. (y) em resposta às diferentes concentrações (x) de SiNC, DCOIT, SiNC-DCOIT, e SiNC-DCOIT Ag. Asteriscos indicam diferenças significativas com os respectivos controles ($p<0.05$).

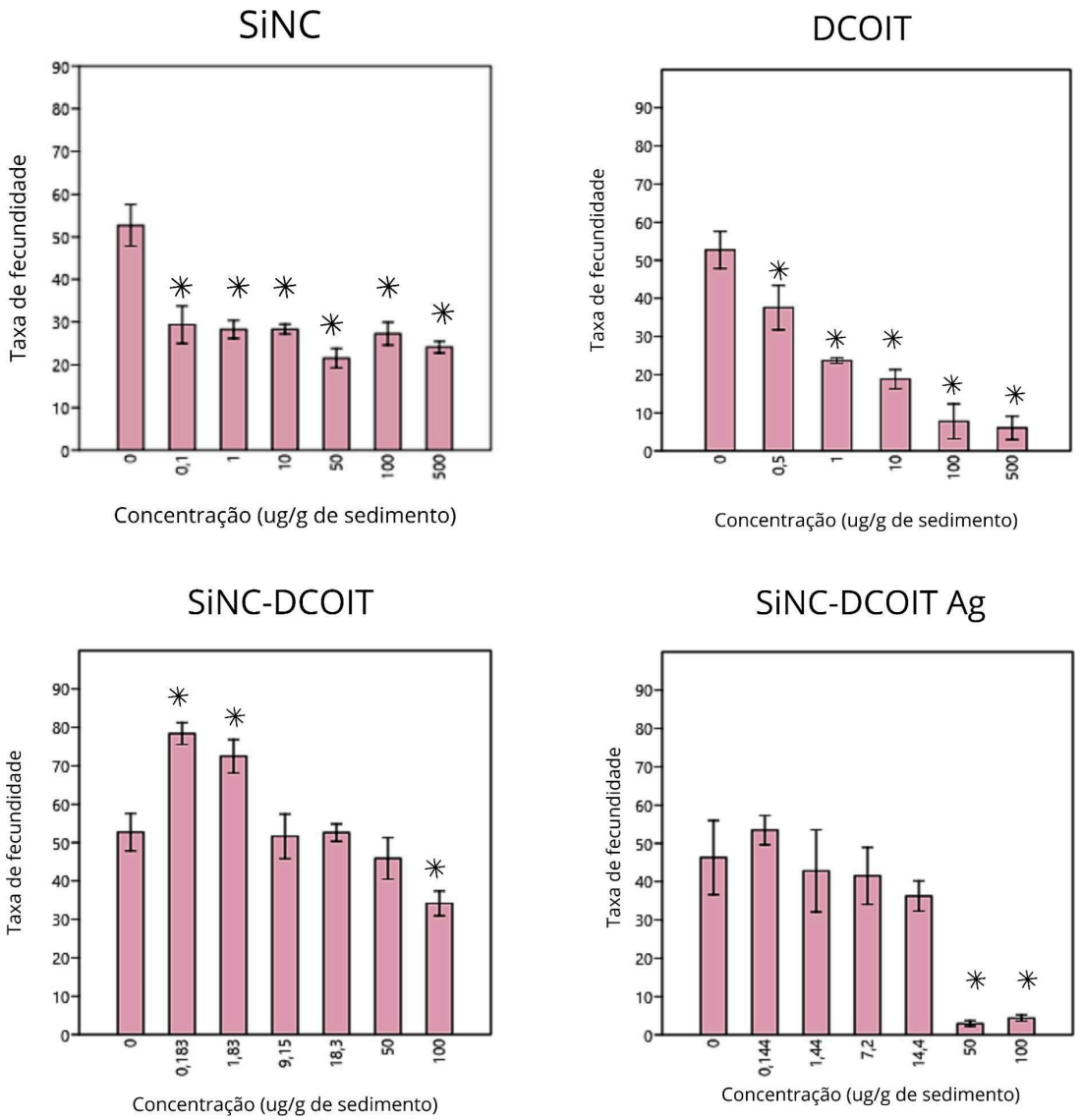
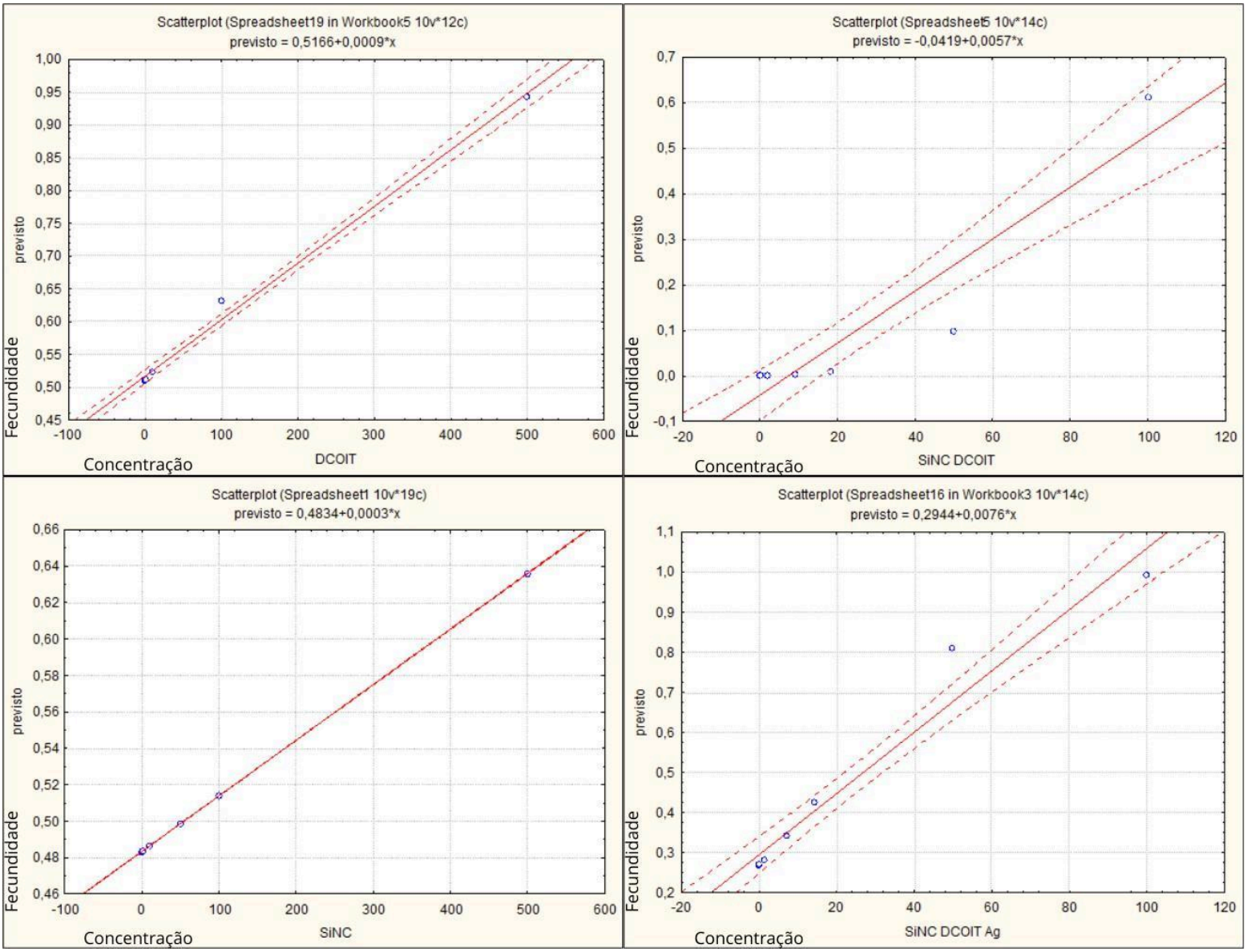


Tabela 3. Valores de Concentração de Inibição de 50% dos organismos após 10 dias ($CI_{50\text{-}10d}$), intervalo de confiança, CEO (concentração de efeito observado) e CENO (concentração de efeito não observado) para *Nitokra* sp. exposto a diferentes substâncias: DCOIT, SiNC, SiNC-DCOIT e SiNC-DCOIT Ag. Os valores estão em µg/g.

Substância	$CI_{50\text{-}10d}$	Intervalo de confiança	CEO	NOEC
DCOIT	1,18	(-, 3,80)	1	<0,1
SiNC	54,46	(54,06 - 54,88)	0,1	<0,1
SiNC DCOIT	86,86	(71,05 - 102,67)	0,18	<0,1
SiNC DCOIT Ag	26,78	(22,01 - 31,54)	50	14,4

Figura 3. Gráfico de dispersão com linha de regressão linear mostrando a relação entre a concentração de DCOIT, SiNC-DCOIT, SiNC e SiNC-DCOIT-Ag (x) e os valores previstos da taxa fecundidade de *Nitokra sp*. pelo método dos probitos. Os valores das concentrações estão em µg/g.



Os resultados para o SiNC-DCOIT geraram uma curva-resposta característica de hormese, onde uma característica biológica é estimulada por baixas doses de um composto, mas inibida por doses altas (Mattson, 2008), neste caso caracterizada pelo aumento da fecundidade das fêmeas. Baixas concentrações de contaminantes podem induzir mudanças adaptativas de mecanismos fisiológicos/moleculares, fazendo com que organismos fiquem mais capazes de lidar com situações de estresse. A consistência das respostas horméticas em diferentes organismos sugere que a hormese pode ser uma indicação de plasticidade biológica, que é a capacidade dos organismos de se adaptarem a diferentes níveis de exposição a substâncias. Esse comportamento resulta em uma curva dose-resposta em forma de U invertido ou em forma de J (Calabrese e Blain, 2011). Já foi demonstrado que esses efeitos podem ser transmitidos entre gerações (hormese transgeracional) e são aplicáveis a diversos organismos e tipos de estresse (Sebastiano et al., 2022) e é bem comum em copépodes, como demonstrado nos estudos a seguir. Brown et al., (2003) demonstraram que em concentrações muito baixas do organoclorado lindano (3,2 e 10 $\mu g\ l^{-1}$) houve um aumento significativo no número de descendentes produzidos por fêmea do copépode *Bryocamptus zschokkei* em comparação com os controles, mas em concentrações mais altas (32 $\mu g\ l^{-1}$), houve significativa redução do número de ovos e descendentes viáveis produzidos, o que foi interpretado como um efeito de hormese. Perez-Landa et al., (2011) sugeriram que doses baixas de cobre (Cu) poderiam estimular a produção de ninhadas de *Nitocra spinipes* e o desenvolvimento dos estágios de ovo/náuplio/copepodito. Isso foi indicado pela maior quantidade de fêmeas grávidas encontradas nas concentrações abaixo de 100 mg Cu/L em comparação com os controles, em um teste multi-geracional. Alguns estudos apontam que a hormese, quando considerada em um nível mais abrangente, pode afetar processos ecológicos como ciclagem de nutrientes e uso de energia, comprometendo a estabilidade dos ecossistemas (Bartell, 2000).

Apesar de apresentar uma menor toxicidade que o DCOIT e o SiNC-DCOIT Ag, a SiNC causou uma toxicidade relevante, diminuindo significativamente a taxa de fecundidade dos copépodes em comparação com o controle, mesmo em concentrações muito baixas (0,1 ug/g). Se presumia que a sílica fosse inerte ou tivesse baixa toxicidade, porém o presente estudo demonstrou que pode haver toxicidade associada à SiNC. De acordo com Figueiredo et al., (2019), esse efeito pode ser atribuído à presença do surfactante catiônico brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) utilizado no processo de produção das nanocápsulas de sílica. O CTAB é um composto de amônio quaternário (QACs), uma classe de surfactantes conhecidos por serem tóxicos para espécies aquáticas, como peixes, microcrustáceos, rotíferos, algas, protozoários e microrganismos (Zhang et al., 2015). Ele pode interferir na reprodução dos copépodes por meio de diversos mecanismos: Capacidade de interagir com as membranas celulares, desestabilizando-as, alterando sua permeabilidade e comprometendo as células reprodutivas, o que interfere na reprodução; Induz estresse oxidativo, gerando radicais livres que danificam proteínas, lipídios e DNA, prejudicando a qualidade das células reprodutivas e reduzindo a fecundidade; e pode também atuar como desregulador endócrino, afetando a produção hormonal e resultando em problemas como má formação dos gametas ou esterilidade. Mesmo em baixas concentrações, o CTAB é tóxico para gametas e embriões, causando deformações ou inviabilidade embrionária. Além disso, pode alterar o comportamento alimentar dos copépodes, reduzindo a ingestão de alimentos e desviando recursos energéticos para a sobrevivência, o que prejudica ainda mais a reprodução (Badmus et al., 2021). Dessa forma, a escolha do surfactante utilizado na etapa de produção dessas nanocápsulas é crucial para o

desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis. Kaczerewska et al (2020) demonstraram que o surfactante gêmeo QSB2-12 pode ser efetivamente sintetizado com as nanocápsulas de sílica, representando uma opção mais ecologicamente amigável e menos tóxica para a biota aquática.

Santos et al. (2020) realizaram ensaios de toxicidade com DCOIT em suas formas livre e encapsulada (SiNC-DCOIT) e de SiNC, expondo o mexilhão *Perna perna*, e analisando danos no desenvolvimento embrionário, sobrevivência, e fisiologia de indivíduos no estágio juvenil, também encontraram valores de toxicidade para o SiNC considerados maiores que o esperado, com uma $CI_{50\text{-}48h}$ de 0,0398 mg/L. Os valores estimados dos $CE_{50\text{-}48h}$ para o DCOIT foram de 0,0124 mg/L e para o SiNC-DCOIT 0,0068 mg/L DCOIT. A partir dos resultados obtidos, que diferem dos resultados encontrados neste estudo, observou-se que o SiNC-DCOIT apresentou uma maior toxicidade em relação à forma livre de DCOIT, já que a $CE_{50\text{-}48h}$ estimada para o SiNC-DCOIT foi significativamente menor do que a $CE_{50\text{-}48h}$ para a forma livre de DCOIT. Os autores demonstraram que o SiNC-DCOIT foi aproximadamente duas vezes mais tóxico para os embriões de *P. perna* do que a forma livre de DCOIT. Considerando que o mexilhão *P. perna* é um organismo alvo do biocida, isso sugere que ele é particularmente eficaz como agente anti-incrustante na fase pré-assentamento desses organismos incrustantes. Essa eficácia é provavelmente atribuída à liberação controlada por difusão proporcionada pelas nanocápsulas. Um biocida ideal para a formulação de tintas anti-incrustantes deve não só ser eficaz no controle da incrustação por espécies alvo, mas também deve minimizar a toxicidade para espécies não alvo. Ao comparar os resultados do estudo utilizando *P. perna* com os encontrados para *Nitokra* sp., observa-se que o SiNC-DCOIT atende a esses requisitos de maneira satisfatória.

Avelelas et al., (2017) também demonstrou que a encapsulação de biocidas reduziu sua toxicidade em relação à forma livre contra espécies não alvo, sem comprometer a eficácia anti-incrustante em relação ao mexilhão *Mytilus edulis.* Por outro lado, de Jesus et al. (2021) analisaram efeitos agudos e crônicos de biocidas nanoestruturados inovadores anti-incrustantes no microcrustáceo marinho tropical *Mysidopsis juniae.* De acordo com os resultados apresentados, a toxicidade aguda dos compostos testados por ele pode ser resumida da seguinte forma: DCOIT > SiNC-Ag > SiNC-DCOIT > SiNC-DCOIT-Ag > SiNC > Ag e a toxicidade crônica: SiNC-Ag > SiNC-DCOIT-Ag > DCOIT > Ag > SiNC. Comparando os biocidas livres e o SiNC-DCOIT-Ag, foi demonstrado que a encapsulação pelas nanocápsulas de sílica impregnadas com prata causou um aumento na toxicidade crônica do DCOIT, que foi considerada alta para a espécie não-alvo testada, e até mais alta que a forma livre do DCOIT, demonstrando que essa nanocápsula não foi eficaz na diminuição da toxicidade do DCOIT para essa espécie. Embora os resultados de Jesus et al. (2021) terem sido obtidos em dispersões aquosas, comparando seus dados com os resultados encontrados neste estudo, para as respostas agudas, o DCOIT também foi o composto mais tóxico, seguido do SiNC-DCOIT e SiNC-DCOIT-Ag. Para toxicidade crônica, os autores observaram maior toxicidade do SiNC-DCOIT-Ag. Portanto os resultados dos dois estudos apresentaram certa coerência entre si, sugerindo que o encapsulamento é capaz de reduzir a toxicidade do DCOIT. Já para o SiNC houve uma diferença entre os estudos, sendo que no estudo de Jesus et al., (2021) foi a substância menos tóxica testada e neste a segunda menos tóxica, sendo mais tóxico que o SiNC-DCOIT.

Figueiredo et al. (2020) realizaram testes de toxicidade em 8 organismos não alvo e 3 espécies alvo. Foram utilizadas SiNC-DCOIT, SiNC-Ag, SiNC-DCOIT-Ag, e suas contrapartes livres (DCOIT, prata iônica e SiNC). Os resultados encontrados confirmaram a eficácia extremamente alta de ambos os biocidas contra as espécies-alvo, que incluem a bactéria *Vibrio fischeri*, a diatomácea *Phaeodactylum tricornutum* e o mexilhão *Mytilus galloprovincialis*.

Bactérias e diatomáceas são os principais grupos de organismos que primeiro aderem às superfícies submersas durante o processo de bioincrustação, enquanto os mexilhões estão entre os últimos. Já para as espécies não alvo, o DCOIT também apresentou toxicidade, sendo considerado tóxico, altamente tóxico e até mesmo extremamente tóxico para as espécies que não formam incrustações. A significativa toxicidade do DCOIT em relação às espécies fotossintéticas (*Isocrysis galbana*, *Nannochloropsis gaditana*) e aos estágios larvais de equinodermos (*Paracentrotus lividus*) destaca uma sensibilidade de produtores e dos estágios iniciais de vida dos invertebrados a este biocida. Já em relação aos nanomateriais, os resultados demonstraram pela primeira vez que a encapsulação de biocidas em SiNC reduzia a sua toxicidade para praticamente todas as espécies testadas. Essa redução na toxicidade foi de até 214 vezes para SiNC-DCOIT, 35,6 vezes para SiNC-Ag e 44,4 vezes para SiNC-DCOIT-Ag. Adicionalmente, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo, os autores aferiram que as SiNC foram mais tóxicas para algumas das espécies testadas do que outros nanomateriais usados para o mesmo fim, nomeados hidróxidos de dupla camada (ou LDH's), e aconselharam o uso nanocápsulas mais sustentáveis, sendo a escolha do surfactante na sua produção crucial para essa redução da toxicidade. A respeito do DCOIT livre, os resultados do estudo estão em concordância com este e com outros estudos anteriores nos quais baixas concentrações de DCOIT também foram prejudiciais para outros organismos-alvo, como diatomáceas, macroalgas, crustáceos e bivalves. Conforme antecipado, o SiNC-DCOIT-Ag demonstrou uma tendência a ser mais tóxico em comparação aos nanomateriais contendo apenas um único composto ativo. A prata é um agente bactericida comum contra uma ampla gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, o que explica sua alta toxicidade para as espécies testadas, apresentando toxicidade semelhante ao DCOIT (Sotiriou, 2011). Contudo, o SiNC-DCOIT-Ag exibiu uma toxicidade inferior quando comparado aos biocidas convencionais não encapsulados. Essa descoberta sugere que o SiNC-DCOIT-Ag também pode representar uma alternativa promissora para mitigar o impacto ambiental dos biocidas de última geração atualmente utilizados, assim como o SiNC-DCOIT, sem comprometer sua eficácia no combate à incrustação, conforme evidenciado pelos resultados obtidos com as espécies-alvo e não-alvo (Figueiredo et al. 2020).

O estudo de Campos et al. (2023) foi o primeiro que avaliou a toxicidade do DCOIT no sedimento para as espécies bentônicas *Tiburonella viscana* e *Nitokra* sp*.,* analisando a mortalidade e a taxa de fecundidade dos organismos, respectivamente. Nesse estudo a $CE_{50\text{-}7d}$ para *Nitokra* sp. foi de 0,2 (0,01–0,48) µg/g µg/g e a $CL_{50\text{-}10d}$ para *Tiburonella viscana* de 0,5 (0,1–2,6) µg/g. Os resultados indicaram toxicidade mais elevada que a encontrada neste estudo (1,18 ug/g), sobretudo no teste realizado com *Nitokra* sp. pelos autores supracitados, com uma toxicidade levemente menor dos organismos aqui avaliados. No caso de *T. viscana*, as diferenças podem se dever a diferenças interespecíficas, enquanto para *Nitokra* sp., flutuações naturais na sensibilidade dos organismos cultivados podem ter causado as diferenças.

Soroldoni et al. (2017) analisaram quimicamente e realizaram testes de toxicidade aguda e crônica com partículas de tintas anti-incrustantes coletadas na marina da Lagoa dos Patos – Rio Grande do Sul, utilizando o copépode *Nitokra* sp**.** Em todas as amostras de partículas coletadas, o biocida DCOIT foi detectado, e nos sedimentos fortificados utilizados nos testes de toxicidade o biocida foi detectado nas maiores concentrações (1,25 e 6,25% de partículas), com médias (±DP) de 1,85±0,2 ng g^{-1} e 15,8±5 ng g^{-1}, respectivamente. O teste de toxicidade aguda teve $CL_{50\text{-}96}$ em níveis de exposição de 0,14% de partículas no sedimento, e o teste crônico apresentou uma significativa diminuição da taxa de fecundidade dos copépodes, evidenciando que o DCOIT pode ser tóxico em concentrações ambientalmente relevantes.

É amplamente reconhecido que o DCOIT provoca estresse oxidativo, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio, seguida por necrose e interrupção das vias metabólicas. Isso ocorre devido à inibição de enzimas desidrogenases, bloqueio da atividade da enzima glutationa redutase, esgotamento das reservas celulares de glutationa e inibição da síntese de ATP. (Su, 2018; Gabe, 2021), e esse conjunto de efeitos subcrônicos pode explicar a sua toxicidade aos organismos aquáticos. Assim, é de extrema importância a obtenção de alternativas sustentáveis ao DCOIT, que apresentem eficácia contra espécies alvo e baixa toxicidade a espécies não alvo, além de um baixo tempo de permanência no ambiente.

Embora a encapsulação ofereça vantagens em termos de controle da liberação do biocida, a busca por alternativas mais sustentáveis e menos tóxicas deve ser uma prioridade. A implementação de soluções que minimizem o impacto ambiental, sem comprometer a eficácia do biocida, é crucial para o desenvolvimento de estratégias de controle de organismos invasores ou patógenos em ambientes aquáticos, preservando a saúde dos ecossistemas e a biodiversidade de forma equilibrada e responsável.

5. Conclusão

Os resultados deste estudo destacam o potencial da encapsulação do biocida DCOIT em nanocápsulas de sílica (SiNC) como uma abordagem promissora para reduzir sua toxicidade em organismos bentônicos não-alvo, como o copépode *Nitokra* sp.. A classificação decrescente da toxicidade crônica (DCOIT>SiNC-DCOIT-Ag>SiNC>SiNC-DCOIT) confirma que a nanoestruturação e o revestimento de prata podem minimizar os impactos do DCOIT, preservando sua eficácia como agente anti-incrustante. Entretanto, a presença de toxicidade associada às nanocápsulas de SiNC, atribuída ao surfactante CTAB utilizado em sua produção, ressalta a importância de avaliar cuidadosamente os componentes e métodos de fabricação desses nanomateriais e possivelmente substituir este surfactante por alternativas menos tóxicas.

Além disso, os achados reforçam a necessidade de desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis e menos tóxicas, considerando não apenas a eficiência contra organismos alvo, mas também os potenciais riscos para espécies não-alvo e ecossistemas. Estudos adicionais são necessários para explorar formulações mais seguras e ecologicamente equilibradas, com protocolos que incorporem espécies de diferentes zonas climáticas e abordagens interdisciplinares para análise de riscos ambientais. Somente por meio de soluções inovadoras e responsáveis será possível alcançar um equilíbrio entre o controle eficaz da bioincrustação e a proteção da biodiversidade aquática.

6. Agradecimentos

Agradeço a agências de fomento pelo financiamento deste projeto, assim como as empresas que forneceram os nanomateriais utilizados na pesquisa: CNPq (Programa PIBIC e Processo #10206/2023-9). FAPESP (Processo #2020/03004-0), CAPES (Processo #88881.156405/2017–01), cooperação bilateral entre FCT e CAPES (ref. 4265 DRI/FCT); e Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) (contrato RM: 2021.00386.CEECIND/CP1659/CT0011;CESAM:UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020+LA/P/0094/2020).

7. Referências Bibliográficas

ABREU, F. EL; et al. Are antifouling residues a matter of concern in the largest South American port?. *Journal of Hazardous Materials*, v. 398, 2020, p. 122937. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122937.

ANTIZAR-LADISLAO, B. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. Environment international, v. 34, n. 2, p. 292-308, 2008.

AVELELAS, F.; et al. Efficacy and Ecotoxicity of Novel Anti-Fouling Nanomaterials in Target and Non-Target Marine Species. *Marine Biotechnology*, v. 19, p. 164–174, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/s10126-017-9744-4.

BADMUS, S. O.; AMUSA, H. K.; OYEHAN, T. A.; SALEH, T. A. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, p. 1-20.

BAO, V. WW; et al. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 5, p. 1147-1151, 2011.

BARTELL, S. M. Are ecosystems hormetic?. 2000.

BATISTA-ANDRADE, J. A. et al. From TBT to booster biocides: levels and impacts of antifouling along coastal areas of Panama. *Environmental pollution*, v. 234, p. 243-252, 2018.

BURTON, G. A. Assessing sediment toxicity: past, present, and future. 2013.

BROWN, R. J.; et al. A copepod life-cycle test and growth model for interpreting the effects of lindane. *Aquatic Toxicology*, v. 63, n. 1, p. 1-11, 2003.

CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. B. The hormesis database: the occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 61, n. 1, p. 73-81, 2011.

CALABRESE, E. J.; MATTSON, M. P. How does hormesis impact biology, toxicology, and medicine?. *NPJ Aging and Mechanisms of Disease*, v. 3, n. 1, p. 13, 2017.

CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A. Marine biofouling: a sticky problem. *Biologist*, v. 49, n. 1, p. 1-5, 2002.

CAMPOS, B. G.; et al. Water and sediment toxicity and hazard assessment of DCOIT towards neotropical marine organisms. *Environmental Pollution*, v. 330, 2023, p. 121797.

CAMPOS, B. G.; et al. A preliminary study on multi-level biomarkers response of the tropical oyster Crassostrea brasiliana to exposure to the antifouling biocide DCOIT. *Marine Pollution Bulletin*, v. 174, 2022, p. 113241.

CASTRO, I. B.; WESTPHAL, E. ; FILLMANN, G. Tintas anti-incrustantes de terceira geração: novos biocidas no ambiente aquático. *Química Nova*, v. 34, 2011, p. 1021-1031.

CHAN, F. T.; BRISKI, E. An overview of recent research in marine biological invasions. *Marine Biology*, v. 164, n. 6, p. 121, 2017.

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

CHEN, Lianguo; LAM, James CW. SeaNine 211 as antifouling biocide: A coastal pollutant of emerging concern. *Journal of Environmental Sciences*, v. 61, p. 68-79, 2017.

DA COSTA, J. I.; MARTINS, Maria Inez Espagnoli; AYROZA, DMM de R. Impact of control of the golden mussel on the production costs of tilapia bred in net cages. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 44, n. 1, p. 110-115, 2018.

DE CAMPOS, B. G; et al. Toxicity of innovative antifouling additives on an early life stage of the oyster Crassostrea gigas: short-and long-term exposure effects. Environmental Science and Pollution Research, v. 29, n. 18, p. 27534-27547, 2022.

DE CAMPOS, B. G. et al. Occurrence, effects and environmental risk of antifouling biocides (EU PT21): are marine ecosystems threatened?. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 52, n. 18, p. 3179-3210, 2022.

DE JESUS, E. P. S. et al. Acute and chronic effects of innovative antifouling nanostructured biocides on a tropical marine microcrustacean. *Marine Pollution Bulletin*, v. 164, p. 111970, 2021.

DEMIREL, Yigit Kemal; TURAN, Osman; INCECIK, Atilla. Predicting the effect of biofouling on ship resistance using CFD. *Applied ocean research*, v. 62, p. 100-118, 2017.

DIMITRIOU, P.; CASTRITSI-CATHARIOS, J.; MILIOU, H. Acute toxicity effects of tributyltin chloride and triphenyltin chloride on gilthead seabream, Sparus aurata L., embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 54, n. 1, p. 30-35, 2003.

EL AYARI, T.; BIERNE, N.; TRIGUI EL MENIF, N. Imposex incidence in Stramonita haemastoma (Gastropoda: Muricidae) from the Mediterranean and Atlantic coast after Tributyltin global ban. *Journal of Sea Research*, v. 134, p. 10-15, 2018.

FERREIRA, V.; FIGUEIREDO, J.; MARTINS, R.; SUSHKOVA, A.; MAIA, F.; CALADO, R.; TEDIM, J.; LOUREIRO, S. Characterization and Behaviour of Silica Engineered Nanocontainers in Low and High Ionic Strength Media. *Nanomaterials,* v. 13, p. 1738. 2023. https://doi.org/10.3390/nano13111738

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.

FIGUEIREDO, J.; et al. Toxicity of innovative anti-fouling nano-based solutions to marine species. *Environmental Science: Nano*, v. 6, n. 5, p. 1418-1429, 2019.

GABE, H. B.; GUERREIRO, A. S.; SANDRINI, J. Z. Molecular and biochemical effects of the antifouling DCOIT in the mussel Perna perna. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 239, p. 108870, 2021.

HARINO, H. et al. Concentrations of antifouling biocides in sediment and mussel samples collected from Otsuchi Bay, Japan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 52, p. 179-188, 2007.

IP, J. C. et al. Transcriptomic analysis reveals the endocrine toxicity of tributyltin and triphenyltin on the whelk Reishia clavigera and mechanisms of imposex formation. *Environment international*, v. 190, p. 108867, 2024.

JACOBSON, A. H.; WILLINGHAM, Gary L. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants. *Science of the Total Environment*, v. 258, n. 1-2, p. 103-110, 2000.

KACZEREWSKA, O. et al. Gemini surfactant as a template agent for the synthesis of more eco-friendly silica nanocapsules. Applied Sciences, v. 10, n. 22, p. 8085, 2020.

KNOX, A. S.; PALLER, M. H. Effect of bioturbation on contaminated sediment deposited over remediated sediment. *Science of the Total Environment*, v. 713, p. 136537, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136537.

KYEI, S. K.; DARKO, G.; AKARANTA, O. Chemistry and application of emerging ecofriendly antifouling paints: a review. *Journal of Coatings Technology and Research*, v. 17, p. 315-332, 2020.

LAM, Nguyen Hoang et al. Organotins and new antifouling biocides in water and sediments from three Korean Special Management Sea Areas following ten years of tributyltin regulation: Contamination profiles and risk assessment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 121, n. 1-2, p. 302-312, 2017.

LEPPANEN, Matti T. et al. Sediment toxicity tests: A critical review of their use in environmental regulations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2024.

LIU, M. et al. Developmental cardiotoxicity of 4, 5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in marine medaka (Oryzias melastigma). *Journal of Hazardous Materials*, v. 465, p. 133176, 2024.

LOTUFO, G. R.; ABESSA, D. M. S. Testes de toxicidade com sedimento total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos. In: NASCIMENTO, I. A. Métodos em Ecotoxicologia Marinha - aplicações no Brasil. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Industria, 2002. p. 151-162.4o

MACHADO, C; OLIVEIRA, L. P. S.; ARAÚJO JÚNIOR, L. R. S. A judicialização da bioinvasão por água de lastro e por bioincrustação no Brasil: uma resposta sustentável ao combate da bioinvasão?. *Revista Argumentum-Argumentum Journal of Law*, v. 20, n. 3, p. 1-143, 2019.

MAIA, F.; et al. Silica nanocontainers for active corrosion protection. *Nanoscale*, v. 4, n. 4, p. 1287-1298, 2012.

MATTSON, Mark P. Hormesis defined. *Ageing research reviews*, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2008.

MUDROCH, A.; MACKNIGHT, S. D. *Handbook of Techniques for Aquatic Sediments Sampling*. CRC press, 1994.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 91688, Kathon 930. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kathon-930. Acesso em: 19 set. 2024.

ONDUKA, T.; et al. Toxicity of the antifouling biocide Sea-Nine 211 to marine algae, crustacea, and a polychaete. *Fisheries Science*, v. 79, n. 6, p. 999-1006, 2013.

PAPACOSTAS, Katherine J. et al. Biological mechanisms of marine invasions. *Marine Ecology Progress Series*, v. 565, p. 251-268, 2017.

PAZ-VILLARRAGA, C. .; CASTRO, I. B. ; FILLMANN, G. Biocides in antifouling paint formulations currently registered for use. *Environmental Science and Pollution Research*, p. 1-12, 2022.

PEREZ-LANDA, V.; SIMPSON, S. L. A short life-cycle test with the epibenthic copepod Nitocra spinipes for sediment toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 30, n. 6, p. 1430-1439, 2011.

SANTOS, J.V.N.d.; MARTINS, R.; FONTES, M.K.; CAMPOS, B.G.d.; SILVA, M.B.M.d.P.e.; MAIA, F.; ABESSA, D.M.d.S.; PERINA, F.C. Can encapsulation of the biocide DCOIT affect the anti-fouling efficacy and toxicity on tropical bivalves? *Applied Sciences*, v. 10, p. 8579, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/app10238579.

SEBASTIANO, Manrico et al. Hormesis in ecotoxicological studies: a critical evolutionary perspective. *Current Opinion in Toxicology*, v. 29, p. 25-30, 2022.

SOROLDONI, S.; et al. Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment?. *Journal of Hazardous Materials*, v. 330, p. 76-82, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.01.016.

SOTIRIOU, G. A.; et al. Nanosilver on nanostructured silica: Antibacterial activity and Ag surface area. *Chemical Engineering Journal*, v. 170, n. 2-3, p. 547-554, 2011.

SUBÍAS-BARATAU, A.; et al. Marine biofouling organisms on beached, buoyant and benthic plastic debris in the Catalan Sea. *Marine Pollution Bulletin*, v. 175, p. 113405, 2022.

SU, Y.; et al. Endoplasmic reticulum stress mediates 4, 5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT)-induced toxicity and liver lipid metabolism changes in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). *Environmental Pollution*, v. 242, p. 1981-1987, 2018.

SU, Y.; et al. Toxicity of 4, 5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in the marine decapod Litopenaeus vannamei. *Environmental Pollution*, v. 251, p. 708-716, 2019.

SCHULTZ, M. P., Bendick, J. A., Holm, E. R., & Hertel, W. M. (2010). Economic impact of biofouling on a naval surface ship. Biofouling, 27(1), 87–98. doi:10.1080/08927014.2010.542809

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

TORRES, F. G.; DE-LA-TORRE, G. E. Environmental pollution with antifouling paint particles: Distribution, ecotoxicology, and sustainable alternatives. *Marine Pollution Bulletin*, v. 169, p. 112529, 2021.

TORNERO, A. M. V.; HANKE, G. Identification of marine chemical contaminants released from sea-based sources: A review focusing on regulatory aspects. 2016.

TURNER, J. T. The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. Zool. Stud, v. 43, n. 2, p. 255-266, 2004.

USEPA (United States Environmental Protection Agency). Methods for collection, storage and manipulation of sediments for chemical and toxicological analysis. EPA-823-B-01-002. Office of Water, Washington, DC, USA. 2001.

VELLWOCK, A. E.; YAO, H. Biomimetic and bioinspired surface topographies as a green strategy for combating biofouling: A review. *Bioinspiration & Biomimetics*, v. 16, n. 4, p. 041003, 2021.

WENDT, Ida; et al. The toxicity of the three antifouling biocides DCOIT, TPBP and medetomidine to the marine pelagic copepod Acartia tonsa. *Ecotoxicology*, v. 25, p. 871-879, 2016.

WIBOWO, D.; et al. Interfacial engineering for silica nanocapsules. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 236, p. 83-100, 2016.

ZHANG, Y.; HSU, B.Y.W.; REN, C.; LI, X.; WANG, J. Silica-based nanocapsules: synthesis, structure control and biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 2011. doi: 10.1039/x0xx00000x

8. Material suplementar

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos (Oxigênio Dissolvido e Salinidade) finais e iniciais.

Parâmetros iniciais 19/03/2024	OD	Salinidade	Parâmetros finais (29/03/2024)	OD	Salinidade
Controle	7.5	17	**Controle**	5.1	17
Sinc			**Sinc**		
C1	8.4	17	C1	7.6	18
C2	7	17	C2	5.2	19
C3	7.5	17	C3	6.7	18
C4	6.8	15	C4	6	15
C5	5	17	C5	5.2	17
C6	6.3	17	C6	5.4	16
DCOIT			**DCOIT**		
C1	7.2	17	C1	6.2	19
C2	7	17	C2	6.4	19
C3	6.7	17	C3	4.6	17
C4	7	17	C4	4.8	16
C5	6.9	17	C5	5.1	17
SiNC DCOIT			**SiNC DCOIT**		
C1	8.8	17	C1	8.1	18
C2	8.6	17	C2	8.1	18
C3	8.6	17	C3	8.1	17
C4	6.6	17	C4	5.5	15
C5	6.6	17	C5	5.7	17
C6	6.8	17	C6	5.8	15
SiNC DCOIT Ag			**SiNC DCOIT Ag**		
C1	9	17	C1	8.5	17
C2	9.1	17	C2	8.1	18
C3	8.8	17	C3	8.1	18
C4	7.5	17	C4	4.9	17
C5	6.5	17	C5	5.6	17
C6	6.7	17	C6	6.3	17

O teste de sensibilidade com a substância de referência teve resultados encontrados dentro da faixa de aceitabilidade previamente calculada para esta espécie e tipo de teste.

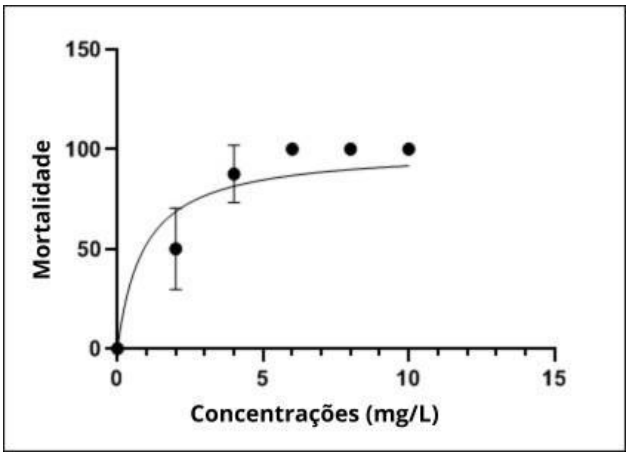


Figura 5. Gráfico de dispersão do teste de sensibilidade.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: VITÓRIA NOGUEIRA SOARES

Título: *"Avaliação da toxicidade crônica de biocidas nanotecnológicos utilizados em tintas anti-incrustantes no sedimento com o copépodo bentônico* Nitokra *sp."*

Orientador: Dr. Caio Cesar Ribeiro

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Gerenciamento Costeiro

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Dr. Caio Cesar Ribeiro	Aprovado
Dr. Roberto Carlos Domingues Martins	Aprovado

PARECER:

O documento está muito bem escrito e cientificamente adequado, atestanto um trabalho de elevada qualidade e com potencial para alimentar uma futura publicação científica.

A apresentação e a defesa foram muito boas e a Aluna mostrou conhecimentos abrangentes sobre o tópico.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Vitória Nogueira Soares** obteve o seguinte conceito:

APROVADO [x] REPROVADO [ ]

São Vicente, 12 de dezembro de 2024.

Dr. Caio Cesar Ribeiro

Assinado por: **Roberto Carlos Domingues Martins**
Num. de Identificação: 13308604
Data: 2024.12.12 16:47:46 +0000

Dr. Roberto Carlos Domingues Martins

Praça Infante D. Henrique s/nº - CEP 11330-900 - São Vicente (SP) - Brasil
Tel. (13) 3569-7100 - graduacao.clp@unesp.br