

CHAMADA Bolsas FUNBIO – Conservando o Futuro 2019

Identificação da proposta

Projeto de pesquisa científica:

Impacto das tintas anti-incrustantes na Baía da Ilha Grande: traçadores de risco para a biodiversidade marinha

Bolsa solicitada: Doutorado

Programa de Pós-Graduação em Geoquímica e Geotectônica do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo

Aluno: Bruno C. A. Cunha - Mestre em Geociências (Geoquímica Ambiental)

Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/890480784139190>

Endereço Profissional: [Rua do Lago, 562 – Butantã, São Paulo, SP – 05508-080](#)

Orientadora: Marly Babinski – PhD – Professora Associada do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo

Link Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4670096853727080>

Endereço Profissional: [Rua do Lago, 562 – Butantã, São Paulo, SP – 05508-080](#)

1 Introdução

Em escala global, os ambientes marinhos mesmo quando livres de fontes pontuais (lançamentos de efluentes urbanos e industriais) frequentemente estão expostos a possíveis efeitos de biocidas derivados das tintas largamente utilizadas nos cascos das embarcações, como o caso dos biocidas organometálicos e metálicos. Desde o início do século 21, o cobre é usado, em altas concentrações, como o biocida mais importante em tintas. Os metais são introduzidos no ambiente marinho a partir de fontes pontuais (efluentes industriais e urbanos) e difusas (águas de rejeito, deposição atmosférica úmida e seca), em forma de partículas ou dissolvidos (Adriano, 2001). Alguns metais (como exemplo Cu e Zn) são micronutrientes essenciais para metabolismo dos organismos (Sparks, 2005), no entanto, a toxicidade dos metais essenciais é registrada mesmo com baixas concentrações. De um modo geral, a poluição dos recursos costeiros tem consequências sociais, econômicas e ambientais, uma vez que:

- Comprometem o equilíbrio dos ecossistemas, dificultando a conservação da flora e da fauna.
- Comprometem a saúde pela degradação da qualidade dos recursos hídricos, mas também indiretamente alimentos (pesca, piscicultura/criação);
- Impedem o desenvolvimento socioeconômico, ao prejudicar as atividades de recreação e pesca e as propostas paisagísticas; produção de alimentos, navegação e turismo.

A Ilha Grande e Paraty foram contempladas em julho de 2019 com o título de Patrimônio Mundial pela UNESCO, sendo a primeira vez que o Brasil tem um sítio misto reconhecido pela importância cultural e da natureza. Com isso, um aumento no turismo e urbanização são esperados para a região. A Baía da Ilha Grande, localizada entre as cidades de Angra dos Reis e Paraty, foi adotada como estudo de caso em função de sua importância ecológica e por sofrer fortes pressões ligadas a urbanização e turismo desordenados, além das atividades portuárias inerentes a região. Assim, esta região possui uma crescente demanda de dimensionamento do transporte de contaminantes e da identificação das contribuições de suas diferentes fontes de emissão.

Estabelecer as fontes e o destino dos metais é crucial para o gerenciamento ambiental, tanto para ações de remediação como para manter as emissões em níveis sustentáveis. Algumas limitações estão associadas ao uso somente das concentrações para níveis de monitoramento, por exemplo, existe uma dificuldade em diferenciar entre fontes naturais e antrópicas. Para superar essas limitações, as técnicas isotópicas são

empregadas com sucesso para as traçar fontes. Esta aplicação permite avaliar as contribuições relativas das diferentes fontes, quando suas “assinaturas” são identificadas pelas razões isotópicas. A possibilidade de traçar o ciclo dos metais no ambiente a partir das análises isotópicas constitui desta maneira, uma valiosa ferramenta em estudos de impactos ambientais (Chen et al., 2008).

1.1 Cobre no ambiente

O cobre é um metal de transição e ocorre em 4 estados de oxidação, Cu 0, Cu I, Cu II e raramente Cu III. Além de atuar como micronutriente, ele é produzido em grandes quantidades para diversas aplicações, incluindo biocida. O Cu é encontrado na crosta terrestre ligado a vários minerais, sendo o mais comum a calcopirita, CuFeS_2 . Na água, o óxido de cobre se dissocia e o estado mais prevalente de oxidação é o Cu^{2+} (íon cúprico). Cu^{2+} é também a forma principal responsável pelos efeitos biocidas do cobre.

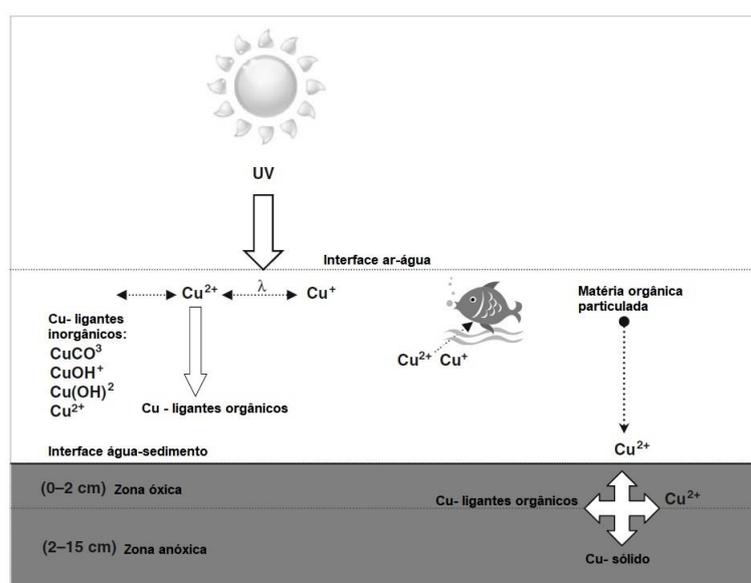


Figura 1 – Modelo de interação entre sedimento-água-biota para o óxido de cobre (modificado de Kiaune e Singhasemanon, 2011)

Apesar dos sedimentos atuarem como acumuladores de metais pesados, a sua remobilização pode atuar como uma fonte majoritária de elementos tóxicos para a coluna d’água. Em águas superficiais, o cobre é adsorvido pela matéria orgânica particulada (MOP) e, com o fluxo descendente, ocorre eventualmente a deposição. Na interface água-sedimento (Fig. 1), após a deposição, acontecem as mudanças físicas, químicas e biológicas (diagênese). A especiação do cobre na água intersticial do sedimento é influenciada pela diagênese e depende de fatores como pH, nível de

oxigênio, temperatura e tipo de sedimento. Ao se depositar, os processos diagenéticos podem causar a liberação do cobre que estava associada a MOP e o cobre é liberado para a água intersticial do sedimento, onde este elemento pode particionar de volta para a coluna d'água ou para a fase sólida do sedimento.

Os organismos aquáticos se diferenciam em sensibilidade ao cobre. Alguns animais como os moluscos podem tolerar altas concentrações do metal (Damiens et al., 2006) enquanto outros são prejudicados por concentrações baixíssimas de cobre. Os maiores fatores que influenciam a toxicidade induzida pelo cobre são o carbono orgânico dissolvido (COD) e a salinidade. O COD reduz a toxicidade do cobre ao sequestrar a fração biodisponível, formando complexos orgânicos. A salinidade, por outro lado, influencia a biodisponibilidade do cobre no ambiente em que vive o organismo e também afeta a biodistribuição do metal e a bioacumulação no organismo. Alguns estudos mostraram o impacto do cobre em crustáceos, gastrópodes e bivalves (Brown et al 2004), onde foi evidenciado uma maior perturbação no meio celular e neurológico dos organismos. O cobre também se mostrou problemático para larvas e indivíduos juvenis de bivalves e poliquetas, levando ao dano no DNA dos organismos juvenis e anormalidade nas larvas (Sussarellu et al., 2018; Watson et al., 2018). Sendo assim, a contaminação dos sistemas costeiros representa um risco também mutagênico para a biota, afetando as ligações entre a biodiversidade e os processos do ecossistema. Por isso, uma reavaliação urgente das fontes de entrada atuais de cobre em ambientes costeiros é de extrema importância.

1.2 Isótopos estáveis do cobre

Os avanços na instrumentação de espectrometria de massa atômica, incluindo o advento de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado multi-coletores (MC-ICP-MS), permitem hoje em dia determinar com alta precisão as razões isotópicas em vários elementos. O cobre é um metal de transição, e possui dois isótopos estáveis, ^{63}Cu e ^{65}Cu , com abundâncias naturais de 69,17 e 30,83%, respectivamente.

Estudos realizados na última década demonstram a aplicação dos isótopos não-tradicionais como traçadores dos processos químicos, físicos, biológicos e geológicos que regulam o ciclo destes elementos (Wiederhold, 2015). As assinaturas dos isótopos estáveis gerados por fracionamento dependente e independente da massa, entre diferentes fontes ou o uso de traçadores isotópicos enriquecidos (spike) em ensaios experimentais representam novas ferramentas para monitorar a dinâmica de

Proponente: Bruno Cunha

contaminantes no meio ambiente. Em estudos ambientais, os isótopos do Zn e Cu, têm sido aplicados com sucesso para a discriminação das fontes naturais e antropogênicas (Sivry et al., 2008; Araújo et al., 2017; 2019). As fontes antropogênicas de cobre, incluindo pesticidas e tintas anti-incrustantes utilizadas na França, apresentam uma alta variação nos valores de $\delta^{65}\text{Cu}$, entre -0,39 e +1,81‰ (Bigalke et al., 2010; Briant et al., 2013; El Azzi et al., 2013; Petit et al., 2013; Babcsányi et al., 2016) sendo muito maior que o fracionamento observado em sedimentos clásticos não poluídos ($\delta^{65}\text{Cu}$; +0,08 ‰; Asael et al., 2007). Portanto, as diferenças significativas em composições isotópicas derivadas de fontes antropogênicas e naturais (solos e rochas, por exemplo) podem permitir o uso de isótopos do Cu para rastrear as fontes associadas às atividades humanas como mineração, metalúrgica, industrial e agrícola.

As primeiras determinações de composições isotópicas de Cu com alta precisão foram realizadas por Maréchal et al. (1999) que publicaram uma variedade de composições isotópicas em uma variedade de minerais e materiais biológicos. Os valores de $\delta^{65}\text{Cu}$ tradicionalmente são reportados em relação aos padrões do NIST SRM 976:

$$\delta^{65}\text{Cu} = \left[\frac{\frac{^{65}\text{Cu}}{^{63}\text{Cu}} \text{ Amostra}}{\frac{^{65}\text{Cu}}{^{63}\text{Cu}} \text{ NIST}} - 1 \right] \times 1000$$

Apesar de todo o esforço científico, ainda é escasso o conhecimento sobre a magnitude dos fracionamentos dos isótopos do cobre em diversos ambientes, como, por exemplo, o manguezal, sistema altamente dinâmico e complexo pressionado por diversas fontes antropogênicas. Por isso, o estudo pretendido aqui possui extrema importância, sendo pioneiro no Brasil (e no mundo).

2 Qualificação do principal problema a ser abordado

As maiores fontes de contaminação por metais são as atividades industriais (mineração, refinamento e indústrias químicas), urbanas (esgoto e rejeitos urbanos) e na agricultura (fertilizantes e pesticidas). A propriedade biocida do cobre deu origem a

uma outra aplicação utilizada intensamente no mundo, as tintas anti-incrustantes aplicadas em embarcações e construções navais (Omae, 2003; Srinivasan e Swain, 2007).

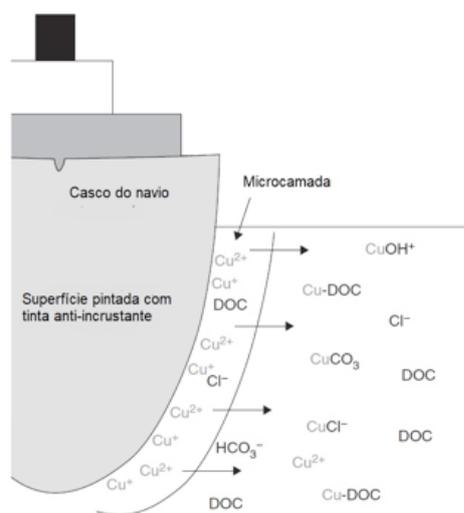


Figura 1 – Processo teórico da liberação de cobre de uma tinta anti-incrustante. O cobre é lixiviado do casco da embarcação para a água como o íon instável Cu^+ , que rapidamente se oxida para a forma mais estável Cu^{2+} . Reações de complexação entre Cu^{2+} e ligantes orgânicos (DOC) e inorgânicos ocorrem dentro de poucos micrometros da superfície da embarcação (modificado de Brooks et al., 2009)

As tintas anti-incrustantes possuem compostos tóxicos em sua composição e são aplicadas nos cascos de navios e diversas estruturas submersas com o intuito de prevenir a colonização por organismos. As quantidades e a natureza dos biocidas empregados em formulações anti-incrustantes evoluíram com o aprimoramento da tecnologia e conscientização dos impactos ambientais de determinados produtos químicos. Os compostos de tri-organoestanho (TBT) foram o tipo de biocida mais popular no início dos anos 1960 até os 1990 quando os efeitos desses compostos em organismos não-alvo foram demonstrados (Alzieu, 2000). A sua utilização foi banida mundialmente pela Organização Marítima Internacional (International Maritime Organization – IMO) no ano de 2008. Desde a eliminação progressiva das tintas à base de TBT em embarcações de todo tipo (lazer, comercial e militar) as tintas anti-incrustantes com o cobre como principal biocida são utilizadas e dominam a indústria (Srinivasan e Swain, 2007; Brooks et al., 2009).

Alguns trabalhos realizados no Brasil quantificaram metais nas tintas anti-incrustantes de última geração (Tabela 1) utilizadas em embarcações do país (Paradas e Amado Filho, 2007; Costa et al., 2016). Os resultados mostram altas concentrações de

Proponente: Bruno Cunha

Cu, Zn e Pb, evidenciando as tintas como fonte significativa de metais para o ecossistema costeiro e, particularmente, na proximidade dos portos, marinas e estaleiros.

Tabela 1 – Valores máximos e mínimos das concentrações de Pb, Cu e Zn analisados em tintas anti-incrustantes da indústria brasileira (Paradas e Amado Filho, 2007; Costa et al., 2016).

mg/kg ⁻¹	Pb	Zn	Cu
Máximo	3700	260000	612600
Mínimo	101	19100	70000

No mundo, alguns estudos identificaram contaminações dos sedimentos em áreas de intenso tráfego de embarcações e marinas (Schiff et al., 2007). No Brasil, Costa et al. (2016) analisaram a fração lábil de Cu nos sedimentos da Lagoa dos Patos, RS, e observaram as maiores concentrações (768 mg/kg⁻¹) nas proximidades de um estaleiro centenário. Quanto ao possível problema da transferência de metais oriundos das tintas anti-incrustantes para a biota, Paradas e Amado Filho (2007) evidenciaram concentrações elevadas de Cu nos organismos coletados sobre superfícies cobertas por tintas em relação à área controle. Por fim, os barcos abandonados e as atividades de manutenção (raspagem e repintura) com descarte inapropriado das partículas de tintas também atuam como fonte de metais para o sistema (Soroldoni et al., 2018).

A baía da Ilha Grande, apresenta evidências do impacto dos compostos de TBT (Imposex) advindo das tintas anti-incrustantes em sua biota (Pinheiro et al., 2004). Além disso, em estudo prévio, Carvalho et al. (1991 e 1993) apresentaram também evidências de contaminação por cobre na biota marinha da BIG, tendo como fonte principal o início do crescimento urbano e turismo na região. Nesse contexto, o presente trabalho vai em direção ao preenchimento desta lacuna representada pela falta de conhecimento da dimensão da contribuição das tintas anti-incrustantes para o ecossistema costeiro. Por fim, um estudo publicado por Briant et al. (2013) apresentou os primeiros resultados de análises isotópicas de Cu sobre tintas anti-incrustantes e sedimentos na região de uma grande marina na França. Esses autores evidenciaram no sedimento recente uma assinatura isotópica de Cu pesada, que sugere a contribuição das tintas. Além da liberação significativa de Cu, a partir das tintas anti-incrustantes, estes primeiros resultados sugerem a capacidade dos isótopos de Cu para rastrear o destino do Cu utilizado nas tintas.

3 Objetivo

3.1 Objetivo geral

O presente projeto tem como objetivo geral estudar o ciclo biogeoquímico do cobre em no ambiente marinho, através da avaliação das contribuições relativas de suas diferentes fontes e estudos dos diferentes compartimentos do sistema sedimento-água-biota de região de manguezal. Serão dimensionados os aportes naturais e antrópicos deste metal por meio das análises geoquímicas elementares e de assinaturas isotópicas de cobre ($\delta^{65}\text{Cu}$) que servirão como subsídio ao adequado gerenciamento ambiental deste sistema costeiro pressionado por múltiplas atividades humanas.

3.2 Objetivos específicos

- 1) Determinar a composição química (por análise multielementar) dos sedimentos e do material particulado em suspensão de regiões influenciadas por portos, marinas e estaleiro;
- 2) Caracterizar as composições isotópicas de Cu nas fontes geogênicas (rochas e solo) e antrópicas da baía da Ilha Grande (tintas anti-incrustantes e rejeitos urbanos);
- 3) Determinar a composição isotópica de Cu em testemunhos sedimentares datados pelo método do ^{210}Pb , material particulado em suspensão e água marinha coletados em lugares específicos da baía da Ilha Grande visando avaliar o fluxo e contaminação ao longo do tempo;
- 4) Definir e quantificar a capacidade de armazenamento e reciclagem do cobre pelos sedimentos e investigar os processos naturais nos ecossistemas manguezais, como nas reações de diagênese precoce (adsorção, co-precipitação e complexação, degradação da matéria orgânica) e na absorção pelos organismos vivos.
- 5) Definir e quantificar os fluxos de Cu na interface sedimento-água-biota nos ecossistemas de manguezal;
- 6) Caracterizar as fontes da matéria orgânica sedimentar e seus padrões de distribuição nos testemunhos através da composição C, N, e P e isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) de modo a se verificar as relações da matéria orgânica com os metais e seus isótopos.

4 Metodologia a ser empregada

O projeto será desenvolvido na Baía da Ilha Grande (BIG), localizada a 130 km ao sul da cidade do Rio de Janeiro (Fig. 2). Nessa região o litoral é dominado pela Serra do Mar, que intercepta o oceano formando diversas pequenas baías e enseadas, manguezais, praias e ilhas, que caracterizam o litoral sul do estado do Rio de Janeiro. A população do entorno da BIG foi estimada em 2017 pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em 236 mil pessoas e o crescimento urbano desordenado, levando ao despejo de rejeitos e a eutrofização, foi considerado como uma das maiores ameaças à qualidade ambiental da região (Carvalho et al., 1991, 1993; Mayer-Pinto & Junqueira, 2003).

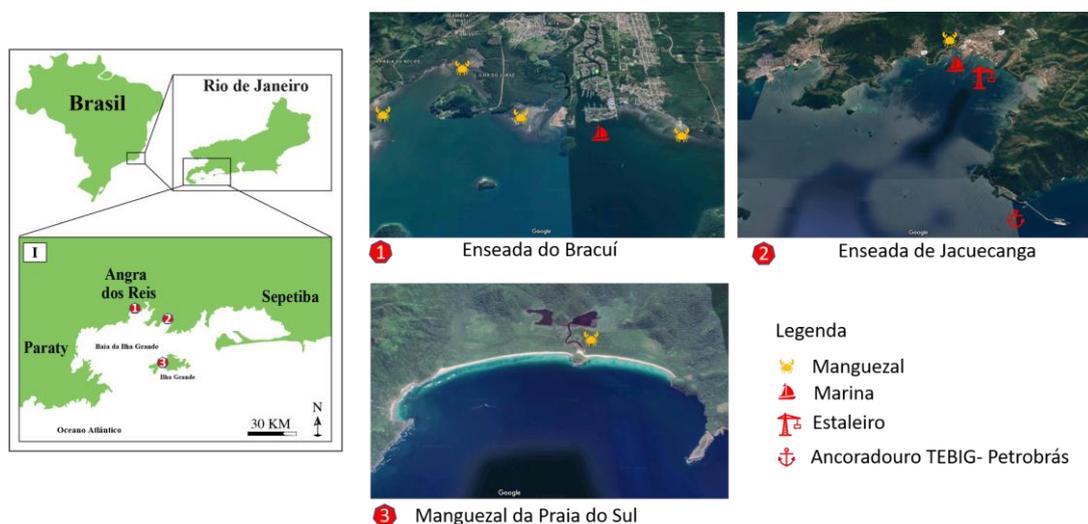


Figura 2 – Área de estudo

De acordo com os objetivos do projeto as enseadas de Bracuí, Jacuecanga, e o manguezal da praia do aventureiro na Ilha Grande (Fig. 2) foram escolhidas. Os dois primeiros locais (pontos 1 e 2 na Fig. 2) possuem sinais claros de intervenção humana, como assoreamento, desmatamento para urbanização (Costa, 1998; Alho et al., 2002) e possuem sinais da influência de tintas anti-incrustantes (biota altamente contaminada por compostos organoestanho) (Pinheiro et al., 2014). Além disso, as duas áreas possuem possíveis fontes de contaminação por metais, apresentam marinas em seu entorno e urbanização desordenada com lançamento de esgoto in natura (Costa, 1998). Em adição, a enseada de Jacuecanga (Fig. 2, ponto 2) possui empreendimentos de escala industrial, como um estaleiro (Brasfels, que já foi o maior da América Latina), a marina Verolme, considerada o maior pólo náutico da América Latina e um terminal de

Proponente: Bruno Cunha

petróleo da Petrobrás com atracador de navios de grande porte, além do constante tráfego marítimo de embarcações de pequeno, médio e grande porte circulando pela Baía da Ilha Grande e Porto de Sepetiba (Creed et al., 2007; Costa, 1998). O manguezal da Praia do sul, localizado na Ilha Grande (Fig. 2) foi escolhido para ponto controle sem sinal de poluição (de Paula e Mozeto, 2001).

Coleta e preparação de amostras

Serão coletados, em regiões de diferentes intensidades de contaminação (Fig. 2), amostras representativas de rochas e de solo da bacia de drenagem da região, 3 testemunhos sedimentares (mangue Bracuí, mangue Jacuecanga e mangue Praia do Sul), sedimentos superficiais e amostras de água adjacente às localidades. Para biota serão coletados caranguejos, moluscos bivalves e algas. Amostras de tintas utilizadas em embarcações no Brasil (latas de tintas fechadas) serão compradas e os fragmentos de tintas em barcos, e a partir da limpeza e manutenção das embarcações serão coletadas em portos, marinas e estaleiros da região estudada. Essas amostras serão dissolvidas usando mistura de ácidos concentrados destilados (HF, HNO₃, HCl, H₂O₂) em chapa de aquecimento ou por digestão assistida por micro-ondas (speedwave Berghof), em caso de amostras refratárias.

Em cada ponto serão realizadas medidas com uma sonda multiparâmetros e fluorômetro permitindo a aquisição de um perfil vertical de parâmetros físico-químicos como temperatura, pH, condutividade, turbidez e clorofila. No laboratório, todas as amostras de água serão filtradas utilizando um sistema Millipore (Polysulfone), equipado com membranas de acetato de celulose de 0,22 µm. Esta primeira fração poderá em seguida ser filtrada em membranas de 0,025 µm para obtenção da fração não-coloidal (Garnier et al., 2011). Para fração verdadeiramente dissolvida (< 3KD) empregar-se-á o método de ultracentrifugação.

Análises de especiação de Cu

Uma das ferramentas para analisar a especiação dos metais traço em sedimentos é o método de extrações sequenciais e específicas. Conceitualmente, os metais (ou elementos) contidos em um material sólido podem ser fracionados em formas geoquímicas específicas, e podem ser seletivamente extraídos pelo uso de reagentes apropriados. Assim, a extração sequencial possibilita a determinação do conteúdo de elementos presentes nas diferentes frações componentes dos sedimentos (fração

Proponente: Bruno Cunha

trocável, óxidos, sulfetos, matéria orgânica, silicatos, etc.) e a obtenção de informações sobre mobilidade no sistema aquático e a disponibilidade para a biota (Garnier et al., 2009).

Dentre os vários protocolos de extrações químicas existentes na literatura, aquele proposto pela Comunidade Europeia tem sido amplamente utilizado e validado por materiais de referência (Tabela 2):

Tabela 2. Protocolo de extração sequencial de metais propostos pela Comunidade Europeia (material de referência certificado BCR 701) modificado		
Etapa	Fração	Condições de extração do material sólido
1	Trocável + Carbonática	CH ₃ COOH 0,11 mol L ⁻¹ , agitação por 16 horas
2	Redutível/Associada a óxidos/hidróxidos de Fe e Mn	NH ₂ OH.HC 0,5 mol L ⁻¹ , pH = 1.5; agitação por 16 horas
3	Oxidável – Associada a matéria orgânica e sulfetos	H ₂ O ₂ 8,8 mol L ⁻¹ ; aquecimento a 85 °C; 1 h; Adição de CH ₃ COONH ₄ 1 mol L ⁻¹ , pH = 2
4	Residual (aluminossilicática)	Água régia (HCl/HNO ₃ , 3:1) +HF

Neste projeto, também objetiva-se realizar análises isotópicas de metais em algumas das frações, como foi realizado com sucesso para traçar a forma (bio)disponível de ferro (Garnier et al., 2017). A possibilidade de acoplar informações de especiação e composição isotópica representa um grande potencial para discussão de processos biogeoquímicos e de incorporação pela biota, aprimorando assim os estudos dos mecanismos de transferência do cobre.

Análises de caracterização geoquímica

As soluções coletadas (águas superficiais e intersticiais) ou obtidas em laboratório após dissolução (USP) e extrações sequenciais (UnB) serão analisadas para a determinação da concentração de elementos maiores e traços (ICP-OES e ICP-MS na UnB). Sobre uma seleção de amostra, uma alíquota do extrato será separada para a determinação isotópica em MC-ICP-MS (Neptune - CPGeo). Essa alíquota será purificada por cromatografia de troca iônica previamente à análise isotópica (metodologia específica para Cobre - CPGeo). Essas análises poderão ser complementadas pela caracterização da matéria orgânica (Carbono Orgânico Total - TOC, da razão C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) para se obter informações sobre a sua origem e alteração. As análises elementares e isotópicas da matéria orgânica serão realizadas utilizando-se um Flash Elemental Analyser acoplado a um IRMS Delta V da Thermo

Proponente: Bruno Cunha

Fisher. A Datação dos sedimentos, de modo a se obter as taxas de sedimentação e relação com a contaminação de metais, será realizada por ^{210}Pb e $^{239+240}\text{Pu}$ conforme descrito por Sanders et al. (2016). As análises de isótopos de C e N e de datação por ^{210}Pb serão realizadas na Southern Cross University (Austrália), em colaboração com o Dr. Christian Sanders, que dispõe de projeto com financiamento intitulado “Mangroves as nutrient filters: Resolving the balance between groundwater exports versus soil burial”, na sua instituição.

MC-ICP-MS: Instrumentação e implicações metodológicas

A partir dos resultados das análises geoquímicas dos materiais coletados, amostras abióticas e biológicas serão selecionadas para a determinação das razões isotópicas dos metais. Para usar os isótopos de Cu como traçador o primeiro passo é purificar as amostras após a digestão ácida em laboratório limpo. O tratamento químico das amostras é baseado na separação cromatográfica (Souto-Oliveira et al., 2019). Esse protocolo foi previamente testado, validado e implementado como parte de nossos estudos anteriores em diferentes laboratórios como parte de colaboração interinstitucional (USP e UnB). Todos os procedimentos, incluindo dissolução, separação química por cromatografia de troca iônica e determinação das assinaturas isotópicas de metais por MC-ICP-MS serão determinados no Centro de Pesquisas Geocronológicas do Instituto de Geociências da USP (CPGeo).

Ensaio químicos e biológicos

Serão feitos ensaios com a tinta e sua transferência para sedimento e água. Também serão realizados bioensaios com a biota (ostras e algas) da região para determinação da transferência de cobre oriundo de tintas anti-incrustantes. Esses ensaios serão feitos utilizando superfícies de prova previamente revestidas com tintas antiincrustantes e sedimentos e organismos coletados na área de estudos. Serão ensaiadas as tintas efetivamente vendidas no mercado (levantamento já iniciado: International Interclene, Intermarine e Tritão, disponibilizadas para venda em distribuidoras locais) e organismos da própria região (em princípio as ostras *Crassostrea rhizophorae* e algas do gênero *Ulva*, dependendo a distribuição das espécies locais). Esses ensaios serão feitos no Laboratório de Ecotoxicologia Marinha da Faculdade de Oceanografia da UERJ, sob a supervisão do Prof. Marcos Antonio Fernandez.

5 Atividades previstas

O projeto está estruturado em 5 etapas, com diferentes objetivos específicos e abordagens complementares:

Etapa 1 - Esta inclui especificamente o desenvolvimento analítico de técnicas de pré-concentração de metais traço a partir de amostras de água do mar e de água doce para análise de concentrações total e isotópica e determinação da assinatura isotópica de metais por MC-ICP-MS em diferentes matrizes (sedimentos, soluções naturais e de extração, organismos). Por fim, serão feitos exercícios de intercalibração (análise de padrões internacionais e amostras conjuntamente com parceiros nacionais e internacionais).

Etapa 2- Esta etapa diz respeito ao estudo do papel dos minerais e da matéria orgânica dos sedimentos e solos na mobilidade de metais e na determinação da especiação desses elementos. Para este fim serão aplicadas técnicas de extração química para determinar a partição de metais nas diferentes fases (troçáveis, oxidáveis, redutíveis e residuais); extrações com reagentes específicos (H₂O, DTPA, ...) para avaliar a mobilidade dos elementos e sua cinética de troca; Caracterização mineralógica de difração de raios-X (XRD) e estudos mais precisos das fases de suporte por microscopia (MEV, microsonda e Qemscan). Análise da concentração de matéria orgânica C, N, e P e isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$).

Etapa 3: - Esta etapa tem como principal objetivo caracterizar e quantificar a disponibilidade dos metais e definir os parâmetros de controle dessa mobilidade.

A distribuição de metais em águas marinhas, doces e intersticiais deverá ser medida por ICP-MS após pré-concentração (resina ou extração líquido-líquido) de metais no caso de amostras diluídas; A biodisponibilidade será avaliada pelo peepers e/ou DGT e pela utilização dos isótopos de metais da fração dos peepers e/ou DGT em comparação aos resultados obtidos por outras abordagens (extrações químicas). Para esta última parte já existe um desenvolvimento analítico necessário em andamento.

Etapa 4: - Essa atividade tem como principal objetivo de caracterizar e quantificar a biodisponibilidade dos metais e a sua acumulação nos organismos ao longo da cadeia trófica. As análises da composição em metais e isotópicas dos organismos ao longo do tempo sob condições edáficas e de exposição a contaminações diversas permitirão estudar as condições físico-químicas que controlam a distribuição e a especiação dos elementos nos sedimentos na interface sedimento-água-biota.

Proponente: Bruno Cunha

Etapa 5: - Interpretação, divulgação e capacitação: Os diferentes resultados (mineralogia, geoquímica, isotopia ...) irão permitir a participação em artigos científicos e congressos para discussão dos resultados. Além desses produtos acadêmicos, este projeto vai permitir a elaboração de produtos, tais como mapas de indicadores, que poderão ajudar os tomadores de decisão locais e nacionais.

6 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto

Este trabalho será realizado no Centro de Pesquisas Geocronológicas do Instituto de Geociências da USP (Dissolução da matriz das amostras, separação química por cromatografia de troca iônica e análise isotópica dos metais - CPGeo). As diferentes atividades serão realizadas em estreita colaboração com Universidade de Brasília IG-UnB, Dr. Jérémie Garnier (geoquímica total e de metais, mineralogia e extração sequencial BCR) e devido à forte multidisciplinaridade dos tópicos abordados serão feitas inter-calibrações laboratoriais (principalmente por MC-ICP-MS). Os ensaios biológicos e químicos serão realizados no Departamento de Geoquímica do Instituto de Geoquímica da UFF (Dr. Wilson Machado) e na Faculdade de Oceanografia da UERJ (Dr. Marcos Fernandez), respectivamente.

7 Cronograma das atividades

Atividades	Etapas	2019	2020	2021	2022
Estudos e revisão bibliográfica sobre análise isotópica usando MC-ICP-MS e acoplamento à especiação sólida.		X	X	X	X
Etapa 1 – Coletas, desenvolvimento analítico, formação e implementação de novas técnicas	Coleta de amostras de sedimento, solo, rochas, água, MPS, biota, tintas anti-incrustantes e subprodutos industriais.	X	X		
	Separação e preparação de amostras para análises mineralógicas, de geoquímica clássica e isotópica.	X	X		
Etapa 2- Caracterização mineralógica e especiação de metais em fase sólida	Caracterização mineralógica das amostras de sedimento, MPS, solo e rocha por DRX (UnB)	X	X	X	
	Determinação da composição isotópica e da concentração de matéria orgânica das amostras		X	X	
	Determinação da partição dos metais por extrações sequenciais (BCR) UnB		X	X	
Etapa 3 - Estudo da interface entre solução e organismos	Determinação da distribuição de Cu na fração dissolvida da água do mar e água intersticial.		X	X	
	Determinação da especiação do Cu nas soluções a partir de filtrações sequenciais.		X	X	
Etapa 4 – Análise de isótopos de metais	Purificação do Cu por cromatografia de troca iônica de soluções naturais e geradas no laboratório		X	X	

	(digestão por extrações totais, específicas) (USP)				
	Determinação das assinaturas isotópicas de Cu em amostras (sólida, líquida e biológica).		X	X	
Etapa 5: - Interpretação, divulgação e capacitação	Avaliação e interpretação de resultados		X	X	
	Divulgação (artigos e participação em congresso)		X	X	X
	Redação e defesa da Tese				X

8 Orçamento

	ITENS DE DESPESA	Qtde	valor médio unitário em reais	valores total em reais
Amostragem e preparação das amostras	Amostragem (frascos, sacos, tubos), filtração das soluções (membranas, filtros seringas), etc	200	10	2,000
	Reagentes - matérias de referência	10	250	2,500
	Vidrarias de laboratório tais como Savillex®, colunas, etc	90	50	4.500
	Reposição de equipamentos permanentes de laboratório ou de campo (Peepers, sonda multi-parâmetro, balança, destilador de ácidos, titrador, notebook, etc)	1	7,000	7,000
Análises	Material de consumo (gases e outros reagentes) para funcionamento de equipamentos (sonda YSI, fluoroprobe, ICP, AA-chama, cromatografia iônica, ICP-MS, MC-ICP-MS, etc)	7	1,500	10,500
	Diárias campo (hospedagem/embarcação/alimentação)	14	320	4,480
	Passagens (ida/volta) para trabalho de campo	4	500	2,000
			Total (RS)	32,980

9 Resultados esperados e impacto previsto do projeto

Este projeto aborda de forma holística o ciclo biogeoquímico dos metais tais como cobre em ambiente continental e costeiro, usando técnicas de vanguarda na espectrometria de massa atômica e de especiação sólida. O acoplamento proposto de métodos de amostragem e análises oferece a perspectiva de avançar em grandes questões como a ciclagem de metais em ambientes complexos e seus riscos associados à incorporação pela biota e saúde humana. As técnicas serão implantadas nos laboratórios do Instituto de Geociências da USP e UnB e fortalecerão vínculos institucionais, com a participação de universidades nacionais e internacionais. As ferramentas e a experiência

Proponente: Bruno Cunha

destes especialistas podem se estender para diversos campos científicos conexos como geologia, biologia, medicina e química pura e assim promover atividades de pesquisa multidisciplinar.

Este projeto vem contribuir dentro uma linha de pesquisa chave no Brasil com a necessidade de estudos de geoquímica ambiental, de forma a contribuir para proteger os recursos continentais e costeiros do país. Neste contexto, a obtenção de informação sobre um elemento de grande interesse pela sua toxicidade elevada e por sua ampla distribuição como contaminante global (como o Cu) merece particular atenção. Os resultados a serem gerados contribuirão para subsidiar uma melhor avaliação da qualidade de ambientes costeiros e uma melhor capacidade de predição do comportamento do Cu, possibilitando um melhor suporte para a gestão ambiental, o que envolve a própria conservação das áreas de manguezal e das funções desempenhadas por estes ambientes altamente impactados e sensíveis a mudanças climáticas

Mais especificamente podemos destacar as seguintes metas:

- Desenvolvimento de novas metodologias para amostragem e análises químicas de água, solo, sedimentos e organismos no Brasil;
- Desenvolvimento de novos traçadores geoquímicos com aplicação de isótopos tradicionais e não tradicionais em estudos ambientais;
- Analisar amostras geoquímicas para o estudo do ciclo dos elementos químicos e isótopos de interesse;
- Aplicar os traçadores e indicadores desenvolvidos ao caso da Baía da ilha Grande e aprimorar o conhecimento sobre o destino dos metais a partir das tintas anti-incrustantes e a sua dispersão na baía e nos diferentes compartimentos (sedimento, água, biota);
- Gerar dados e modelos sobre a dinâmica de contaminantes que poderão orientar e auxiliar na gestão dos recursos da zona crítica. Os estudos irão contribuir para avaliação de risco e manejo de longo prazo de ecossistemas sensíveis e de ameaças;
- Publicações de artigos científicos em periódicos internacionais e divulgação dos resultados em eventos científicos;
- Produção de mapas de indicadores de contaminação que poderão ser utilizados pela gestão pública.

10 Estimativa dos recursos financeiros de outras fontes que serão aportados pelos eventuais agentes públicos parceiros

A presente proposta constitui uma continuidade à projetos já em andamento na USP, UnB e UFF, com inserção de novas abordagens. O presente projeto terá suporte também de recursos disponibilizados em outros projetos recentemente concluídos e em andamento (Edital CNPq-Universal-Sepetiba 420697/2018/7). Em particular, o projeto coordenado pelo Dr. Christian Sanders na SCU terá grande importância, pois terá os encargos das análises para datação dos testemunhos e para a caracterização elementar e isotópica da matéria orgânica. A equipe dispõe dos equipamentos necessários a realização das análises propostas. Os recursos solicitados são necessários para a viabilização da execução deste projeto, como os referentes à aquisição de materiais certificados de referência e materiais de consumo empregados nas análises químicas.

11 Referências bibliográficas

- Adriano, D.C., 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd Edition, Springer, New York, 867 p.
- Alho, C. and Vasconcellos, L., 2002. Degree of threat to the biological diversity in the Ilha Grande state park (RJ) and guidelines for conservation. *Brazilian Journal of Biology* 62, 375-385
- Alzieu, C.L, Sanjuan, J., Deltreil, J.P., Borel, M., 1986. Tin contamination in Arcachon Bay: effects on oyster shell anomalies. *Marine Pollution Bulletin* 17, 494–498.
- Araújo, D., Boaventura, G.R., Machado, W., Viers, J., Weiss, D., Patchineelam, S., Ruiz, I., Rodrigues, A., Babinski, M., Dantas, E., 2017a. Tracing of anthropogenic zinc sources in coastal environments using stable isotope composition. *Chemical Geology* 449, 226-235.
- Araújo, D., Ponzevera, E., Briant, N., Knoery, J., Sirea, T., Mojtahid, M., Metzger, E., Branch-Papa, C., 2019. Assessment of metal contamination evolution in the Loire estuary using Cu and Zn stable isotopes and geochemical data in sediments. *Marine Pollution Bulletin* 143, 12-23.
- Asael, D., Matthews, A., Bar-Matthews, M., Halicz, L., 2007. Copper isotope fractionation in sedimentary copper mineralization (Timna Valley, Israel). *Chemical Geology* 243, 238–254.

Proponente: Bruno Cunha

Babcsányi, I., Chabaux, F., Granet, M., Meite, F., Payraudeau, S., Duplay, J., Imfeld, G., 2016. Copper in soil fractions and runoff in a vineyard catchment: Insights from copper stable isotopes. *Science of the Total Environment* 557, 154-162.

Bigalke, M., Weyer, S., Kobza, J., Wilcke, W., 2010. Stable Cu and Zn isotope ratios as tracers of sources and transport of Cu and Zn in contaminated soil. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 74, 6801-6813.

Briant, N., Freydier, R., Elbaz-Poulichet, F., Bancon-Montigny, C., Delpoux, S., 2013. Modifications of Cu isotopic ratios in coastal sediments in relation to the increased use of copper-based antifouling paints. *Goldschmidt abstract 2013*.

Brooks, S. and Waldock, M., 2009. The use of copper as a biocide in marine antifouling paints. *Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies*, 492-521.

Brown, R., Galloway, T., Lowe, D., Bowne, M., Dissanayake, A., Jones, M., Depledge, M., 2004. Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquatic toxicology* 66, 267-278.

Carvalho, C., Lacerda, L., Gomes, M., 1991. Heavy metal contamination of the marine biota along the Rio de Janeiro coast, SE-Brazil. *Water, Air and Soil Pollution* 57, 645-653

Carvalho, C., Lacerda, L., Gomes, M., 1993. Metais pesados na biota bêntica da Baía de Sepetiba e Angra dos Reis. *Acta Limnologica Brasiliensis* 6, 222-229.

Chen, J.B., Gaillardet, J., Louvat. P., 2008. Zinc isotopes in the Seine River waters, France: a probe of anthropogenic contamination. *Environmental Science & Technology* 42, 6494–6501

Costa, H. 1998. Uma avaliação da qualidade das águas costeiras do estado do Rio de Janeiro. Fundação de Estudos do Mar – Femar. Projeto Planagua-SEMA/GTZ, 261 p

Costa, L., Mirlean, N., Wasserman, J., Wallner-Kersanach, M., 2016. Variability of labile metals in estuarine sediments in areas under the influence of antifouling paints, southern Brazil. *Environmental Earth Sciences* 75, 580.

Creed, J.C.; Pires, D.O., Figueiredo, M.A.O. (Orgs). Biodiversidade marinha da Baía da Ilha Grande. Brasília, Ministério do Meio Ambiente (Série Biodiversidade 23).

Damiens, G., Mouneyrac, C., Quiniou, F., His, E., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., 2006. Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larva of *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution* 140, 492-499.

Proponente: Bruno Cunha

De Paula, F., e Mozeto, A., 2001. Biogeochemical evolution of trace elements in a pristine watershed in the Brazilian southeastern coastal region. *Applied Geochemistry* 16, 1139-1151.

El Azzi, D., Viers, J., Guiresse, M., Pobst, A., Aubert, D., Caparros, J., Charles, F., Guizien, K., Probst, J., 2013. Origin and fate of copper in a small Mediterranean vineyard catchment: New insights from combined chemical extraction and $\delta^{65}\text{Cu}$ isotopic composition. *Science of the Total Environment* 463, 91-101.

Garnier, J., Quantin, C., Echevarria, G., Becquer, T., 2009. Assessing chromate availability in tropical ultramafic soils using isotopic exchange kinetics. *Journal of Soils and Sediments* 9, 468-475.

Garnier, J., Garnier, J-M., Vieira, C., Akerman, A., Chmeleff, J., Ruiz, I., Poitrasson, F., 2017. Iron isotope fingerprints of redox and biogeochemical cycling in the soil-water-rice plant system of a paddy field. *Science of the Total Environment* 574, 1622–1632.

Kiaune, I., Singhasemanon, N., 2011. Pesticidal copper (I) oxide: environmental fate and aquatic toxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213, 1-26.

Kulkarni, R., Deobagkar, D., Zinjarde, S., 2018. Metals in mangrove ecosystem and associated biota: A global perspective. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 153, 215-228.

Maréchal, C.N., Télouk, P., Albarède, F., 1999. Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry. *Chemical Geology* 156, 251–273.

Mayer-Pinto, M. and Junqueira, A., 2003. Effects of organic pollution on the initial development of fouling communities in a tropical bay, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1495-1503.

Paradas, W. e Amado Filho, G., 2007. Are metals of antifouling paints transferred to marine biota? *Brazilian Journal of Oceanography* 55, 51-56.

Petit, J., Schafer, J., Coynel, A., Blanc, G., Deycard, V., Derriennic, H., Lanceleur, L., Dutruch, L., Bossy, C., Mattielli, N., 2013. Anthropogenic sources and biogeochemical reactivity of particulate and dissolved Cu isotopes in the turbidity gradient of the Garonne River (France). *Chemical Geology* 359, 125-135.

Pinheiro, F., Fernandez, M., Fragoso, M., Quadros, J., Camillo, E., Santos, F., 2004. Assessing the Impacts of Organotin Compounds in Ilha Grande Bay (Rio de Janeiro,

Proponente: Bruno Cunha

Brazil): Imposex and a Multiple-Source Dispersion Model. *Journal of Coastal Research* 39, 1383-1388.

Sanders, C.J., Santos, I.R., Maher, D.T., Breithaupt, J.L., Smoak, J.M., Ketterer, M., Call, M., Sanders, L., Eyre, B.D., 2016. Examining $^{239+240}\text{Pu}$, ^{210}Pb and historical events to determine carbon, nitrogen and phosphorus burial in mangrove sediments of Moreton Bay, Australia. *Journal of Environmental Radioactivity*. 151, 623–629.

Schiff, K., Brown, J., Diehl, D., Greenstein, D., 2007. Extent and magnitude of copper contamination in marinas of the San Diego region, California, USA. *Marine Pollution Bulletin* 54, 322-328.

Sparks, D., 2005. Toxic metals in the environment: The role of surfaces. *Elements* 1, 193-197.

Schiff, K., Diehl, D., Valkiris, A., 2004. Copper emissions from antifouling paint on recreational vessels. *Marine Pollution Bulletin* 48, 371-377.

Srinivasan, M., Swain, G., 2007. Managing the Use of Copper-Based Antifouling Paints. *Environmental Management* 39, 423-441.

Soroldoni, S., Castro, I., Abreu, F., Duarte, F., Choueri, R., Moller Jr, O., Fillmann, G., Pinho, G., 2018. Antifouling paint particles: Sources, occurrence, composition and dynamics. *Water Research* 137, 47-56.

Souto-Oliveira, C. E., Babinsky, M., Araújo, D., Weiss, D., Ruiz, I., 2019. Multi-isotope approach of Pb, Cu and Zn in urban aerosols and anthropogenic sources improves tracing of the atmospheric pollutant sources in megacities. *Atmospheric Environment* 198, 427-437.

Sussarellu, R., Lebreton, M., Rouxel, J., Farida, A., Rivière, G., 2018. Aquatic Toxicology 196, 70-78

Turner, A., 2010. Marine pollution from antifouling paint particles. *Marine Pollution Bulletin* 60, 159-171

Watson, G., Pini, J., Richir, J., 2018. Chronic exposure to copper and zinc induces DNA damage in the polychaete *Alitta virens* and the implications for future toxicity of coastal sites. *Environmental Pollution* 243, 1498-1508.

Wiederhold, J., 2015. Metal Stable Isotope Signatures as Tracers in Environmental Geochemistry. *Environmental Science & Technology* 49, 2606-2624.