

Abordagem Metodológica para o Desenvolvimento de Revestimento Anti-Incrustante de Extratos da Esponja *Hymeniacidon heliophila*

Methodological Approach to the Development of Anti-Fouling Coating from Extracts of Marine Sponge *Hymeniacidon heliophila*

Jony da Cruz Freitas¹, Paulo Victor Almeida Ribeiro¹, Cristiano Carvalho Coutinho^{2*} e Rodrigo Cunha Wanick^{1*}

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Paracambi, Brasil.

2. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Ciências Biomédicas, Centro de Ciências da Saúde, Rio de Janeiro, Brasil.

*Autores para correspondência: rodrigo.wanick@ifrj.edu.br, ccoutinho@histo.ufrj.br

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi apresentar uma abordagem metodológica do procedimento de extração para obtenção do extrato bruto da esponja marinha *Hymeniacidon heliophila*. Foram realizadas algumas adaptações na metodologia de extração, as quais se apresentaram suficientes para a obtenção de um extrato de esponja. Em etapas subsequentes do estudo, o extrato deverá ser aplicado em placas metálicas e submetidos a testes em campo para se avaliar a eficácia quanto a propriedades anti-incrustantes.

Palavras-chave: bioincrustação, esponja marinha, biotecnologia, contaminação ambiental, meio ambiente.

ABSTRACT

The aim of this study was to present a methodological approach for extraction procedures to obtain the crude extract from the marine sponge *Hymeniacidon heliophila*. Some adaptations were performed in the extraction methodology, which were sufficient to obtain a sponge extract. In further steps of this study, the sponge extract should be applied on steel plate surface and subjected to field trials to evaluate the efficacy of antifouling properties.

Keywords: biofouling, marine sponge, biotechnology, environmental contamination, environment.

INTRODUÇÃO

Bioincrustação geralmente é definida como a determinação e acumulação de organismos vivos em estruturas físicas artificiais colocadas em um ambiente aquático ou marinho (BRASIL, 2010). Apesar de ser um processo natural, a bioincrustação, quando desenvolvida sobre estruturas artificiais, pode conduzir a um encadeamento de transtornos e danos às atividades marítimas.

A incrustação de materiais submersos é de grande importância econômica para várias indústrias porque aumenta resistência friccional (arraste) de navios, causa deterioração estrutural (corrosão) de materiais, restringe o fluxo de água em gaiolas usadas em aquicultura, gera bloqueio mecânico de entrada e saída de condutores de água (BRASIL, 2010). Esta fauna pode ainda causar entupimento, alterações no hidrodinamismo e maximização do desgaste pela erosão em tubulações marítimas, e também deixar os cabos submarinos quebradiços, reduzindo sua durabilidade (AGOSTINI, 2011). No entanto, indústrias navais militares e comerciais são os segmentos da indústria marítima mais afetados pelo impacto causado pela bioincrustação. Como exemplo, os custos na indústria de navegação em manutenção de prevenção, eficiência e consumo de combustível está nas dezenas de bilhões de dólares (ACT, 2004).

O uso de tintas anti-incrustantes a base de estanho e metais pesados foram utilizadas por décadas para evitar a incrustação de organismos marinhos sésseis, principalmente em embarcações e plataformas marítimas. O TBT (tributil estanho), possui três radicais butilas ligados a um átomo de estanho, sendo que existem cerca de 20 diferentes tipos TBTs, muitos dos quais foram ou ainda são usados como anti-incrustantes (DA GAMA *et al.*, 2009). Esses compostos são potentes praguicidas, devido a sua característica lipossolúvel, apresentando uma elevada afinidade com membranas de células vivas (DA GAMA *et al.*, 2009).

Dependendo das condições físico-químicas do ambiente marinho, o TBT apresenta grande biodisponibilidade e bioacumulação. Uma vez presente nos organismos, essa substância pode interferir de maneira danosa no metabolismo desses invertebrados (Ex. inibição da síntese de ATP e do complexo citocromo P450), levando a desregulação hormonal (intersexualidade), má formação de conchas, o que afeta diretamente populações e todo o ecossistema marinho (AKAISHI, 2000; CASTRO *et al.*, 2007). A bioacumulação do TBT ao longo da cadeia trófica pode levar a danos também à saúde humana, já que o homem pode se contaminar pela ingestão de peixes e mariscos. No Brasil, um estudo pioneiro realizado por FERNANDEZ *et al.* (2005) evidenciou o potencial risco que o TBT pode oferecer ao homem. Este trabalho analisou traços deste composto em tecidos de mexilhão *Perna perna* na Baía de Guanabara (RJ). Devido ao seu elevado consumo, principalmente por comunidades caiçaras, o potencial risco de ingestão de compostos organoestânicos é um fato a ser considerado.

Devido ao seu elevado potencial de causar impactos aos ecossistemas marinhos costeiros, o uso desses compostos foi proibido em diversos países do mundo, inclusive no Brasil. Em 2001, a Organização Marítima Internacional (IMO) aprovou em uma convenção, em que 170 países são signatários, que o uso de TBT em tintas anti-incrustantes seria proibido, passando em 2008 a vigorar seu banimento integral (KUGLER, 2014).

Após a proibição do uso do TBT em tintas anti-incrustantes, a indústria naval vem buscando um novo revestimento que possua elevada eficiência como biocida, mas não cause impactos ambientais. Nesse sentido, produtos naturais com atividade anti-incrustante vêm sendo isolados de uma grande variedade de organismos marinhos sésseis, incluindo gorgônias, esponjas, briozoários, ascídias e algas (DAVIS *et al.*, 1989; CLARE, 1996).

O desenvolvimento de revestimentos à base de produtos naturais é uma alternativa promissora para as atuais tecnologias de anti-incrustação, particularmente desde o banimento das tintas contendo compostos organoestânicos (DE NYS *et al.*, 1995; RITTSCHOF, 2000). De maneira específica, as esponjas marinhas vêm demonstrando produzir substâncias anti-incrustantes, as quais na natureza mantém livre de organismos indesejáveis (HENTSCHEL *et al.*, 2001).

As esponjas, com sua riqueza em metabólitos secundários, os quais são utilizados como mecanismo de defesa química, são os organismos mais estudados para o isolamento de compostos anti-incrustantes (THAKUR & ANIL, 2000). BAKUS *et al.* (1983) foram os primeiros a reconhecer possíveis propriedades anti-incrustantes de compostos químicos obtidos a partir de extratos de esponja. Desde então, diversos trabalhos vêm descrevendo metodologias para o isolamento e síntese de metabólitos secundários. Recentemente, RIBEIRO *et al.* (2013) demonstraram a atividade anti-incrustante de 12 espécies de esponjas no Brasil. O trabalho utilizou extrato bruto e descreveu a metodologia baseado na extração desses compostos com solventes orgânicos. Além deste, podem ser encontrados na literatura, outros trabalhos que descreveram o isolamento de substâncias com potencial anti-incrustante tanto em esponjas como em outros invertebrados marinhos (HERTIANI *et al.*, 2010; FENG *et al.*, 2011; GANAPIRIYA *et al.*, 2012; ACEVEDO *et al.*, 2013; FENG *et al.*, 2013).

Apesar da extração e do isolamento de algumas dessas substâncias terem sido reportados, muitas variáveis metodológicas são encontradas nos trabalhos. As variáveis encontradas para a obtenção de extrato bruto podem ser desde a diferença quanto ao tipo de tecido a ser utilizado (úmido ou seco), massa utilizada na extração, tipo e volume de solventes utilizados (HATTORI *et al.*, 2001; TSOUKATOU *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2013). Além disso, trabalhos que reportam ensaios de campo, com a finalidade de testar a eficácia do extrato sob placas metálicas, não são abundantes na literatura, principalmente quando se trata do preparo das placas como corpo de prova (Ex.: CHAMBERS *et al.*, 2014; SOLIMAN *et al.*, 2014). Nesse sentido, parece não haver uma padronização metodológica para a obtenção do extrato bruto potencialmente contendo compostos anti-incrustantes, assim como o preparo do corpo de prova para ensaios de campo. O objetivo deste trabalho é apresentar uma abordagem metodológica nos procedimentos de extração para obtenção do extrato bruto da esponja *Hymeniacidon heliophila*, assim como no preparo de placas metálicas para serem utilizadas em ensaios de campo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das esponjas

As esponjas marinhas foram coletadas em feiras de cultivo de mexilhões de uma colônia de pescadores em Jurujuba, Niterói- RJ (Figura 1A). Após a coleta, o material foi acondicionado em isopor com gelo, sendo imediatamente transportado ao laboratório, onde foram mantidos a -20°C.

Triagem do material

A triagem do material se fez necessária devido a elevada quantidade de organismos associados (Figura 1B). O material foi previamente pesado antes e depois da triagem em balança analítica (Marte - AY220). A seguir, as amostras foram acondicionadas em béqueres (500 mL) e devidamente identificadas (data, hora, local e a massa) para serem encaminhadas para o processo de liofilização.

Extração de metabólitos secundários

Para realizar a extração foram utilizados 100 g de material liofilizado e 600 mL de metanol (99,9 %) no total. Antes de adicionar o solvente orgânico (200 mL) o material foi previamente picotado e acondicionado em almofariz. A maceração foi realizada com o auxílio de pistilo (Figura 1C). O solvente foi adicionado de forma gradual, sem interromper o processo de maceração. A amostra macerada, juntamente com o solvente, foi colocada em recipiente fechado e mantida a -20°C por 24 horas. Após esse período a amostra foi submetida a filtração simples em papel de filtro.

O material filtrado foi coletado e acondicionado em frasco fechado, sendo armazenado a -20°C . A biomassa liofilizada que ficou retida no filtro foi submetida novamente ao procedimento de maceração com solvente, descanso da amostra e filtração (Figura 1D). Este procedimento foi repetido por mais uma vez para maximizar o processo de extração de metabólitos secundários. No final do processo, os materiais filtrados, distribuído nos três frascos, foram reunidos para serem submetidos a concentração da amostra. Todo o processo foi realizado em capela de fluxo laminar, juntamente com a utilização de equipamentos de proteção individual (luvas, máscaras, jalecos e óculos de proteção).

Concentração da amostra e obtenção do extrato bruto

Após o processo de extração foi necessária a concentração da amostra para a obtenção do extrato bruto. Antes de iniciar o procedimento o volume da amostra filtrada foi determinado, sendo posteriormente transferido para um balão de fundo redondo. A amostra foi concentrada em evaporador rotativo à vácuo (Marconi - MA120) a uma temperatura máxima de 40°C por aproximadamente 40 minutos (Figura 1E). Ao término do processo de concentração a massa final da amostra foi determinada. Posteriormente, o extrato bruto foi acondicionado em frasco fechado e mantido a -20°C .

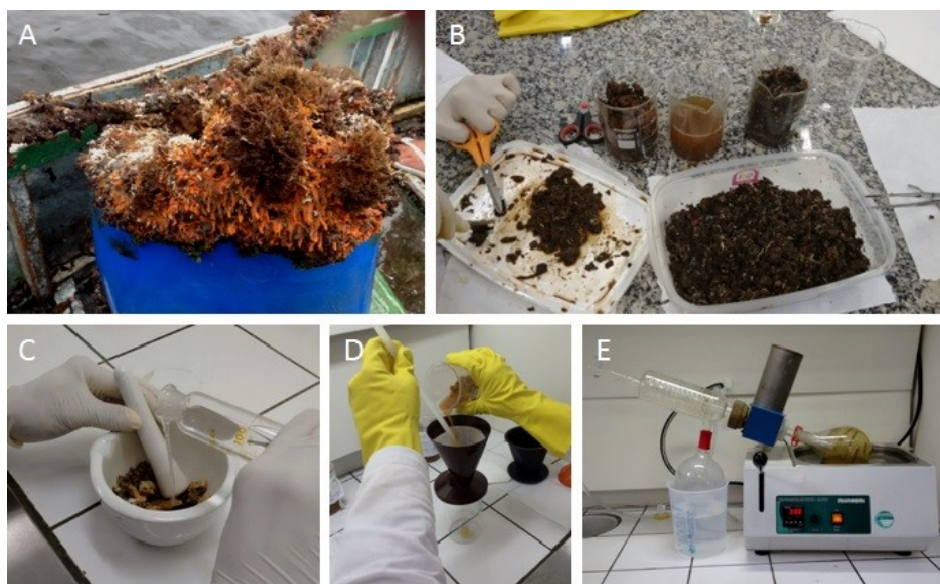


Figura 1. A= Material coletado das feiras de cultivo de mexilhão em Jurujuba, Niterói. B= Triagem do material bruto. C= Maceração do material liofilizado utilizando solvente orgânico. D= Filtração simples do material submetido à extração com solvente orgânico. E= Amostra filtrada sendo submetida à concentração no evaporador rotativo.

Preparo da plataforma de sustentação e do corpo de prova

Para a realização de testes em campo é necessário inicialmente que seja elaborado um desenho técnico referente à plataforma que será utilizada para fixação das placas metálicas. O material utilizado foi feito com tubos de policloreto de vinil (PVC) com 60 cm de largura e 40 cm de altura (Figura 2A). A plataforma foi projetada para alocar até oito placas metálicas, quatro na metade superior e quatro na metade inferior.

O corpo de prova proposto são placas de aço galvanizado. Inicialmente, o material precisou ser cortado nas dimensões de 15 cm X 10 cm (uma medida favorável para sua acoplagem na plataforma). Após o corte, o material foi submetido aos procedimentos de limpeza e lixamento manual para remoção de potenciais contaminantes (Ex.: óxidos e corrosão) e para a criação de rugosidade para melhorar a aderência do material (extrato bruto solubilizado em tinta marítima comercial).

A preparação do corpo de prova seguiu a norma ISO 8501-1 para limpeza manual e mecânica (St2). O processo metodológico de preparação dessas placas foi realizado com o emprego de um banho químico em ácido sulfúrico glacial (decapagem química), sendo posteriormente utilizados os respectivos tipos de lixa: P24, P36, P40 e P50. O banho químico foi realizado conforme proposto por GENTIL (2011). Resumidamente, as placas foram imersas em ácido por 10 minutos e, posteriormente, enxaguadas em água corrente para neutralização do pH. Após o banho foi dado início ao processo de lixamento no sentido horizontal e alternado (Figura 2B).

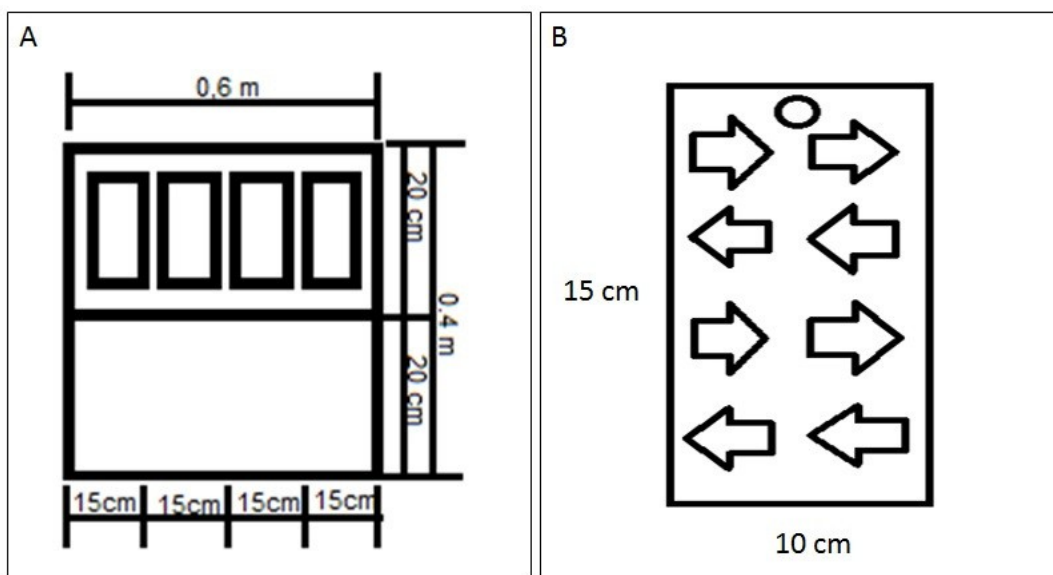


Figura 2. A= Representação esquemática da plataforma de sustentação das placas metálicas para ensaio em campo. B= Representação esquemática do processo de lixamento das placas, sendo mostrado os movimentos alternados para o processo de lixamento no sentido horizontal da placa metálica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 é possível observar as modificações realizadas durante o estabelecimento do processo de extração para obtenção do extrato bruto de *Hymeniacidon heliophila*, as quais foram fruto de adaptações visando promover a otimização do processo. Além disso, as adaptações também foram necessárias para o enquadramento da rotina e das limitações laboratoriais.

Tabela 1. Modificações realizadas durante o estabelecimento do processo de extração.

Etapa	Protocolo em Elaboração	Protocolo Estabelecido
Proporção da Amostra (m/v)	1:4	1:6
Quantidade de extração por massa liofilizada	1	3
Tempo e Temperatura do evaporador rotativo	90 min / 60 °C	40 min / 40°C

A seleção da espécie *Hymeniacidon heliophila* para o presente estudo se deu por esta espécie apresentar uma ampla distribuição na costa do Rio de Janeiro (MURICY & SILVA, 1999) e por se encontrar em zona batimétrica entre-marés (LERNER *et al.*, 2005), o que torna mais viável sua coleta para estudo. Além disso, a presente espécie foi obtida em feiras de cultivo de mexilhões, o que facilita o processo de coleta, devido sua biomassa crescer em maior abundância em local de fácil acesso.

As etapas do processo de extração de metabólitos secundários para posterior obtenção do extrato bruto se deu com base em amplo levantamento na literatura. A escolha entre a utilização de material seco ou úmido é fundamental, principalmente por se tratar de invertebrados marinhos como as esponjas. Esses organismos apresentam elevada quantidade de água em sua biomassa, a qual pode inviabilizar o processo de concentração da amostra. De fato, diversos autores utilizaram biomassa liofilizada para a obtenção de seus extratos brutos (HERTIANI *et al.*, 2010; FENG *et al.*, 2011; ACEVEDO *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2013). No evaporador rotativo à vácuo, a água, por apresentar diferente ponto de ebulição quando comparado ao solvente, interfere no processo de concentração em baixas temperaturas (comunicação pessoal). Como o objetivo da extração é a obtenção de metabólitos secundários, a concentração em baixas temperaturas (máximo de 40°C) é essencial para a preservação da integridade dessas biomoléculas.

A maximização do processo de extração dos metabólitos também é um fator relevante no processo. Isso pode ser possível realizando a combinação de diferentes solventes para otimizar a extração de moléculas com diferentes polaridades (CASTELLANOS, 2007) ou realizar a extração no material repetidas vezes. No presente estudo o material liofilizado foi extraído por três vezes com solvente orgânico a uma proporção de 1:6 (m/v). FENG *et al.* (2011) ressaltou que para maximizar a obtenção dos metabólitos foi necessário extrair também por três vezes a uma proporção de 1:8. As proporções entre massa e solvente podem variar bastante. Optamos por utilizar uma proporção que contemplasse um volume de solvente, o qual fosse suficiente para realizar as macerações por 3 vezes, e que se aproximasse do que é descrito na literatura.

A seleção do metanol como solvente orgânico a ser empregado também foi baseada em levantamento bibliográfico. Este solvente vem sendo utilizado de forma bastante usual, sendo considerado o mais adequado para obtenção do extrato bruto em materiais biológicos, devido a possibilidade de extrair um maior número de compostos (CECHINEL-FILHO & YUNES, 2008). A obtenção de compostos com atividade inibidora, obtidos a partir extratos metanólicos de tecidos de esponjas marinhas, são reportados na literatura desde a década de 60 (Sharma & Burkholder, 1967). TSUKAMOTO *et al.* (1996) utilizaram o extrato metanólico da esponja *Pseudoceratina purpurea* para o isolamento de dois compostos que são conhecidos por apresentarem atividades anti-incrustantes.

A massa obtida de extrato bruto final após a concentração foi de 25 g, correspondendo a 25% da biomassa liofilizada. O extrato foi caracterizado por apresentar uma consistência pastosa de cor marrom/castanho (Figura 3). Este tipo de aparência de extrato corrobora com o que é descrito na literatura. DJURA *et al.* (1980) e XU *et al.* (2012) reportaram que após a concentração do material extraído suas amostras aparentavam uma consistência oleosa de cor marrom escura ou castanha.



Figura 3. Extrato bruto de *Hymeniacidon heliophila* após a concentração em evaporador rotativo.

As placas de aço galvanizadas foram submetidas ao processo de limpeza e lixamento para que suas superfícies sejam preparadas para o recebimento da solução contendo o extrato bruto solubilizado em tinta marítima comercial. Após a decapagem química e lixamento das placas, foi possível verificar a remoção de óxidos do aço galvanizado (Figura 4A e 4B) e a criação de rugosidade (Figura 4C e 4D).

A preparação de superfícies metálicas é uma etapa importantíssima para a correta execução do revestimento dessas superfícies. CHAMBERS *et al.* (2014) ao realizar estudo similar, prepararam as placas de aço também de acordo com a ISO 8501-1. No entanto, os autores optaram pelo grau Sa 2½ (limpeza por jato abrasivo a fundo). No presente estudo foi utilizado o grau St 2 (limpeza manual e mecânica intensa) por considerar que a utilização da decapagem química juntamente com o lixamento seria suficiente para o preparo da superfície. Os autores obtiveram com o lixamento mecânico um perfil de rugosidade de 10 µm, enquanto que nosso processo manual foi capaz de produzir um perfil de 11 µm uniformemente distribuído.

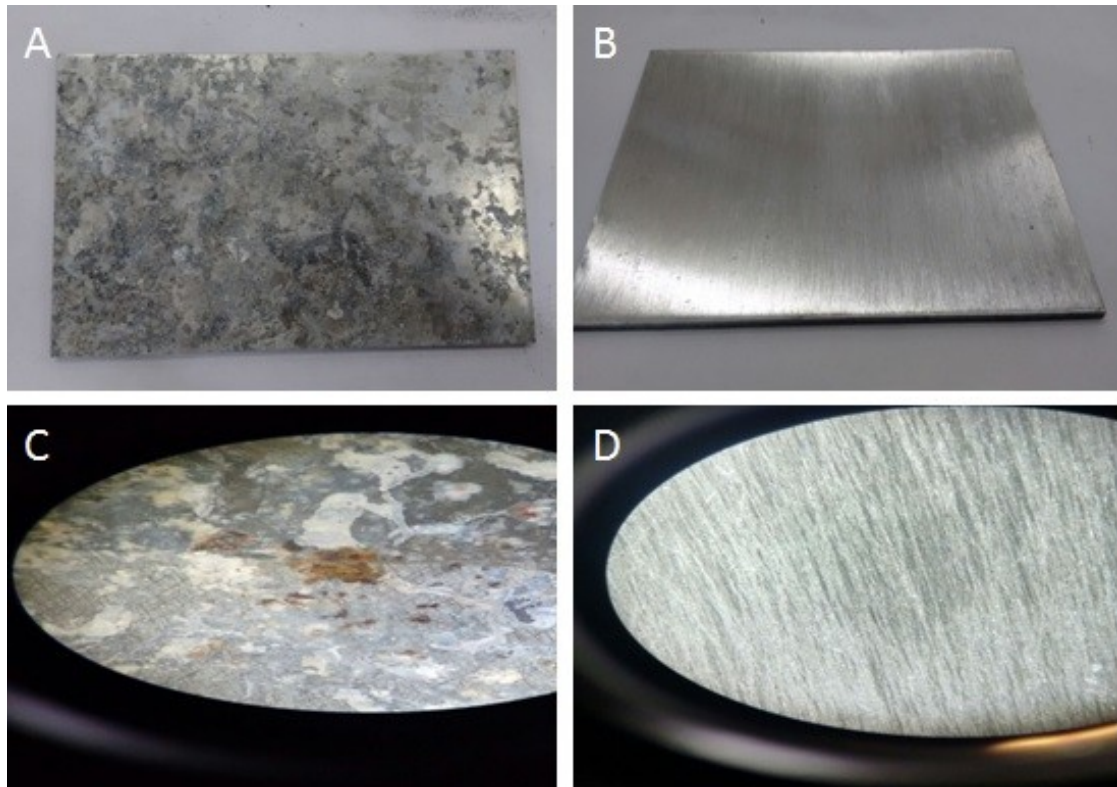


Figura 4. A = Placa de aço galvanizada sem tratamento; B = Placa de aço galvanizada após o tratamento; C = Placa de aço galvanizada sem tratamento observada em lupa; D = Placa de aço galvanizada após o tratamento observada em lupa.

CONCLUSÕES

O preparo de amostra visando a obtenção de extrato bruto de esponja para fins de atividade anti-incrustante é uma etapa fundamental para um bom desenvolvimento do estudo. Como observado em muitos processos de preparo de amostras, não há uma padronização de protocolo, o que leva a uma necessidade de investigação e experimentação das etapas. O aumento da proporção entre massa e solvente, assim como no número de extrações apresentaram-se suficientes para a obtenção de extrato bruto na esponja *Hymeniacidon heliophila*. O produto obtido apresentou coloração e consistência semelhante aos extratos de esponja descritos na literatura. Além disso, a utilização de amostra liofilizada foi fundamental para a realização da concentração da amostra a uma temperatura adequada para a preservação da integridade das biomoléculas. A utilização da decapagem química seguida de lixamento sequencial da superfície das placas metálicas mostraram-se adequados para a remoção de óxidos do aço galvanizado e obtenção de um perfil de rugosidade compatível com valor encontrado na literatura. Após a execução desta etapa é necessária a realização de ensaios de campo a fim de testar tanto a eficácia dos procedimentos metodológicos adotados aqui, quanto a propriedade anti-incrustante do extrato bruto obtido. Essas ações são necessárias para a continuidade do estudo para desenvolvimento de revestimento anti-incrustante a partir de produtos naturais, os quais não são prejudiciais aos ecossistemas aquáticos.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial a Professora Rycharda Clayde Medeiros Salles do Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ) por sua prestativa ajuda, nos fornecendo suporte técnico e teórico, durante toda a execução deste trabalho. Nossos sinceros agradecimentos a Dr^a Eline Simões Gonçalves da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz/ENSP), por possibilitar a liofilização das amostras. Gostaríamos de agradecer também a Pró-Reitoria de Pesquisa, Inovação e Pós-graduação (PROPI-IFRJ) por apoiar e fomentar nossa pesquisa. Este trabalho foi desenvolvido com recursos do projeto Prociência/IFRJ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, M.S.; PUENTES, C.; CARREÑO, K.; LEÓN, J. G.; STUPAK, M.; GARCIA, M.; PEREZ, M.; BLUSTEIN, G. Antifouling paints based on marine natural products from Colombian Caribbean. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 83, 97-104, 2013.
- ACT. Biofouling prevention technologies for coastal sensors/sensor platforms. In: Act Workshop in Biofouling, 2003, Solomous. *Workshop Proceedings...*Salomous, Alliance for Coastal Technologies, Solomons, Maryland November 19-21, 2003.
- AGOSTINI, V.O. Levantamento dos macroinvertebrados de substratos consolidados naturais e artificiais do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil e caracterização do processo de bioincrustação em substrato metálico sob condições marinhas costeiras subtropicais. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual do Rio Grande do Sul– Imbé, 2011. 106 f.
- AKAISHI, F.M. Estudo do Efeito tóxico do TBT e do BaP em rim de *Salvelinus alpinus*. 2000. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.
- BAKUS, G.J.; EVANS T.; MADING, B.; KOUROUS, P. The use of natural and synthetic toxins as shark repellents and antifouling agents. **Toxicon**. 3(3), 25-27, 1983.
- BRASIL. Ministério da Saúde; Organização Pan-americana da Saúde; Ministério da Ciência e tecnologia. Caracterização do Estado da Arte em Biotecnologia Marinha no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicações/caracterização_estado_arte_biotecnologia_marinha.pdf. Acesso em: 02. maio. 2015.
- CASTELLANOS, L. Metabólitos mayoritarios de las esponjas excavadoras *Cliona delitrix* y *Cliona tenuis*, y su papel como aleloquímicos en la competencia por espacio con corales hermatípicos. **Tesis de doctorado en Ciencias Químicas**. Univ.Nacional de Colombia, Bogotá, 211, 2007.
- CASTRO, I.B.; QUEIROZ, L.R.; BARREIRA, C.A.R. Compostos orgânicos de estanho: efeitos sobre a fauna marinha – uma revisão. **Arquivos de Ciência do Mar**. 40 (1), 96-112, 2007.
- CECHINEL FILHO, VALDIR, YUNES, R. A. Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Plantas Medicinais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. **Química nova**, 21(1) (1998).
- CHAMBERS, L.D.; WHARTON, J.A.; WOOD, R.J.K.; WALSH, F.C.; STOKES, K.R. Techniques for the measurement of natural product incorporation. **Progress in Organic Coatings**. 77(2), 473–484, 2014.
- CLARE A.S. Marine natural product antifoulants: Status and potential. **Biofouling**. 9, 211-229, 1996.
- DAVIS A.R.; TARGETT, N.M.; MCCONNELL, O.J.; YOUNG, C.M. Epibiosis of marine algae and benthic invertebrates: natural products chemistry and other mechanisms inhibiting settlement and overgrowth. **Bioorganic Marine Chemistry**. 3, 85-114, 1989.
- DE NYS, R.; STEINBERG, P.D.; WILLEMSEN, P.; DWORJANYN, S.A.; GABELISH, C.L.; KING, R.J. Spectrum effects of secondary metabolites from the red alga *Delisea pulchra* in antifouling assays. **Biofouling**. 8(4), 259-271, 1995.
- DJURA, P.; STIERLE, D.B.; SULLIVAN, B. FAULKNER, D.J.; ARNOLD, E.; CLARDY, J. Some Metabolites of the Marine Sponge *Smenospongia aurea* and *Smenospongia* (Polyfibrospongia) *echina*. **The Journal of Organic Chemistry**. 45, 1435-1441, 1980.

- FENG, D.; CAIHUAN, K.; LU, C.; LI, S. Antifouling activity of marine sessile organisms from China against barnacle settlement. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. 91(5), 1073–1079, 2011.
- FENG, D.Q.; QIU, Y.; WANG, W.; WANG, X.; OUYANG, P.G.; KE, C.H. Antifouling activities of hymenialdisine and debromohymenialdisine from the sponge *Axinella* sp. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 85, 359-364, 2013.
- FERNANDEZ, M. A.; WAGENER, A. de L. R.; LIMAVERDE, A.M.; SCOFIERD, A.L.; PINHEIRO, F.M.; RODRIGUES, E. Imposex and surface sediment speciation: A combined approach to evaluate organotin contamination in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Environmental Research**. 59, 435-452, 2005.
- GAMA, B. P. A. da; PEREIRA, R.C.; COUTINHO, R. Bioincrustação Marinha. **Biologia Marinha**.12(2), 299-318, 2009.
- GANAPIRIYA, V.; MAHARAJAN, A.; KUMARASAMY, P. Antifouling Effect of Bioactive Compounds from Marine Sponge *Acanthella elongata* and Different Species of Bacterial Film on Larval Attachment of *Balanus amphitrite* (Cirripedia, Crustacea). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 55(3), 395-402, 2012.
- GENTIL, V. Corrosão. 6ª edição. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos S.A., 2011.
- HATTORI T.; MATSUO, S.; ADACHI, K.; SHIZURI, Y. Isolation of antifouling substances from the Palauan sponge *Protophlitaspongia aga*. **Fisheries Science**. 67: 690–693, 2001.
- HENTSCHEL, U.; SCHMID, M.; WAGNER, M.; FIESELER, L.; GERNERT, C. HACKER, J. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. **FEMS Microbiology Ecology**. 35(3), 305-312, 2001.
- HERTIANI, T.; EDRADA-EBEL, R.; ORTLEPP, S.; VAN SOEST, R.; VOOGD, N. J. De.; WRAY, V.; HENTSCHEL, U.; KOZYTSKA, S.; MULLER, W.E.G.; CHAIDIR, C. From anti-fouling to biofilm inhibition: New cytotoxic secondary metabolites from two Indonesian Agelas sponges. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 18(3), 1297-1311, 2010.
- KUGLER, H. No Silêncio dos Mares: Substância altamente tóxica é usada de forma ilegal na costa brasileira. **Ciência Hoje**. 32-37, 2014.
- LERNER, C.B.; MOTHE, B.; CARRARO, J.I. Novos registros e ampliação de limites meridionais de distribuição de poríferos (Porifera, *Demospongiae*) no Atlântico Sudoeste. **Revista Brasileira de Zoologia**. 22(3), 596-612, 2005.
- HERTIANI, T.; EDRADA-EBEL, R.; ORTLEPP, S.; VAN SOEST, R.W.M.; VOOGD, N.J. De.; WRAY, V.; HENTSCHEL, U.; KOZYTSKA, S.; MULLER, W.E.G.; PROKSCH, P. From anti-fouling to biofilm inhibition: New cytotoxic secondary metabolites from two Indonesian Agelas sponges. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 18(3), 1297–1311, 2010.
- MURICY, G.; SILVA, O.C. Esponjas marinhas do Estado do Rio de Janeiro: Um recurso renovável inexplorado. **Ecologia dos Ambientes Costeiros do Estado do Rio de Janeiro**. 2, 155-178, 1999.
- RIBEIRO, S. M.; ROGERS, R.; RUBEM, AC.; Da GAMA, B.A.P.; MURICY, G.; PEREIRA, R.C. Antifouling activity of twelve demosponges from Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. 73(3), 501, 2013.
- RITTSCHOF, D. Natural product antifoulants: one perspective on the challenges related to coatings development. **Biofouling**. 15, 119-127, 2000.
- SHARMA, G.M.; BURKHOLDER, P.R. Estudos sobre substâncias antimicrobianas de esponjas. I. Isolamento, purificação e propriedades de uma nova substância antibacteriana contendo bromo. **The Journal of Antibiotics**. 20(4), 200-300, 1967.
- SOLIMAN, Y.A.; MOHAMED, A.S.; NASERGOMAA, M. Antifouling activity of crude extracts isolated from two Red Sea puffer fishes. **Egyptian Journal of Aquatic Research**. 40(1), 1-7, 2014.
- THAKUR, N.L.; ANIL, A.C. Antibacterial activity of sponge, *Ircinia ramosa*: Importance of its surface associated bacteria. **Journal of Chemical Ecology**. 26(1), 57-71, 2000.
- TSOUKATOU, M.; MARECHAL, J.P.; NOVAKOVIC, I.; TUFEQDZIC, S.; SLADIC, D.; GASIC, M.J.; CLARE, A.S.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Evaluation of the Activity of the Sponge Metabolites Avarol and Avarone and their Synthetic Derivatives Against Fouling Micro- and Macroorganisms. **Molecules**. 12(5), 1022-1034, 2007.
- TSUKAMOTO, S.; KATO, H.; HIROTA, H.; FUSEYANI, N. Ceratinamides A and B: New Antifouling Dibromotyrosine Derivatives from the Marine Sponge *Pseudoceratina purpúrea*. **Tetrahedron**. 52(24), 8181-8186, 1996.
- XU, Y.; LI, N.; JIAO, W.H.; WANG, R.P.; PENG, Y.; QI, S.H.; SONG, S.J.; CHEN, W.S.; LIN, H.W. Antifouling and cytotoxic constituents from the South China Sea sponge *Acanthella cavernosa*. **Tetrahedron**. 68, 2876-2883, 2012.