

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA**

Douglas Gomes Gonçalves

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE INIBIDORES DE CORROSÃO MARINHA DE
BASE NANOTECNOLÓGICA SUSTENTÁVEL SOBRE *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella
salina* e *Isochrysis* sp.**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE INIBIDORES DE CORROSÃO MARINHA DE
BASE NANOTECNOLÓGICA SUSTENTÁVEL SOBRE *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella
salina* e *Isochrysis* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Câmpus do Litoral Paulista. Para obtenção do título de grau de Bacharel em Ciências Biológicas com habilitação em Gerenciamento Costeiro.

Orientadora: Dr.^a Cristiane Angélica Ottoni

Co-orientador: Dr. Caio Cesar Ribeiro

G635a

Gonçalves, Douglas

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE INIBIDORES DE CORROSÃO MARINHA
DE BASE NANOTECNOLÓGICA SUSTENTÁVEL SOBRE *Tetraselmis gracilis*,
Dunaliella salina e *Isochrysis* sp. / Douglas Gonçalves. -- São Vicente, 2024

28 p. : tabs.

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

Orientadora: Cristiane Ottoni

Coorientador: Caio Ribeiro

1. Bioquímica. 2. Nanocompósitos (Materiais). 3. Toxicologia ambiental. I. Título.

Resumo

A corrosão marinha (CO) representa um problema significativo, gerando prejuízos entre 1-5% do PIB de diversos países. Atualmente, são utilizados inibidores de corrosão (IC) para mitigar seus efeitos, no entanto, esses compostos possuem propriedades biocidas que impactam negativamente a vida marinha, incluindo microalgas, bactérias e organismos de níveis tróficos superiores. Para minimizar esses impactos, nanomateriais engenheirados (NME), como hidróxidos duplo lamelares (LDH), foram testados para liberar IC de forma controlada, reduzindo a toxicidade ambiental. Este estudo avaliou a toxicidade de 7 compostos: 2-mercaptobenzotiazol (MBT), gluconato de sódio (SG), e quatro versões de NMEs brutos e carregados, utilizando as microalgas *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp. Os resultados indicam que o MBT, na forma livre, é altamente tóxico para duas microalgas, *Isochrysis* sp. e *D. salina*. As versões nanoestruturadas carregadas com ICs (NEIC) mostraram-se efetivas para reduzir a toxicidade, sugerindo uma alternativa promissora e sustentável para aplicação em tintas protetoras. A microalga *T. gracilis* foi a mais resistente entre as testadas, enquanto as outras apresentaram maior sensibilidade aos compostos. Esses achados reforçam a necessidade de múltiplos organismos em estudos ecotoxicológicos e destacam o potencial dos NEIC para minimizar o impacto ambiental de ICs tradicionais.

Palavras-Chave: Ecotoxicologia, Nanomateriais, Hidróxido Duplo Lamelar, 2-Mercaptobenzotiazol, Gluconato de Sódio, Microalgas.

Abstract

Marine corrosion (CO) is a major issue, causing losses of 1-5% of countries' GDP. Corrosion inhibitors (CIs) are widely used to prevent this damage, but they often have biocidal properties that negatively affect marine life, including microalgae, bacteria, and higher trophic organisms. To mitigate these impacts, engineered nanomaterials (ENMs), such as layered double hydroxides (LDHs), were evaluated for their ability to release CIs in a controlled manner, reducing environmental toxicity. This study assessed the toxicity of 7 compounds: 2-mercaptobenzothiazole (MBT), sodium gluconate (SG), and four versions of raw and loaded ENMs, using the microalgae *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina*, and *Isochrysis* sp. Results showed that MBT in its free form is highly toxic to two microalgae species. However, the nanostructured loaded versions (NEIC) effectively reduced toxicity, suggesting a sustainable alternative for use in protective coatings. *T. gracilis* was the most resistant microalga, while the others exhibited greater sensitivity. These findings underscore the importance of using multiple organisms in ecotoxicological assessments and highlight the potential of NEICs to mitigate the environmental impact of traditional CIs.

Keywords: Ecotoxicology, Nanomaterials, Layered Double Hydroxides, 2-Mercaptobenzothiazole, Sodium Gluconate, Microalgae.

Sumário

Resumo.....	2
Abstract.....	4
Sumário.....	5
1. Introdução.....	6
2. Revisão Bibliográfica.....	6
2.1. Corrosão Marinha e Biocorrosão.....	6
2.2. Inibidores de Corrosão.....	8
2.3. Nanomateriais Engenheirados e Hidróxidos Duplo Lamelares.....	8
2.4. Microalgas marinhas em teste de ecotoxicologia.....	9
3. Objetivos.....	10
4. Materiais e Métodos.....	10
4.1. Inibidores de Corrosão, LDHs e LDHs Carregados com IC.....	10
4.2. Cultura de microalgas.....	10
4.3. Ensaio de ecotoxicidade de microalgas em placas de 96 poços.....	11
4.4. Análise de Dados.....	12
4.5. Curvas de Calibração.....	13
5. Resultados.....	13
5.1. Toxicidade dos compostos em relação <i>T. gracilis</i>	13
5.2. Toxicidade dos compostos em relação a <i>Isochrysis</i> sp.....	15
5.3. Toxicidade dos compostos em relação a <i>D. salina</i>	17
5.4. CI50 CENO e CEO.....	19
6. Discussão.....	21
7. Conclusão.....	23
8. Referências.....	24

1. Introdução

Para combater a corrosão marinha (CO), que gera um prejuízo de 1 - 5% do PIB dos países e um total de 2,5 trilhões de dólares mundialmente [1] são usados inibidores de corrosão (IC), estes agentes já são conhecidos por suas propriedades biocidas que afetam toda a vida marinha que entra em contato, tendo seu efeito abrangendo desde o nível mais baixo da cadeia trófica (como microalgas, bactérias e outros microrganismos) até os predadores do topo das teias tróficas [2-4].

Há uma necessidade de desenvolver soluções que equilibrem a proteção contra a corrosão influenciada por microrganismos (CIM) em estruturas antropogênicas no ambiente marinho, ao mesmo tempo que minimizem os impactos adversos sobre a vida marinha decorrentes do uso de substâncias tóxicas. Estudos ecotoxicológicos são fundamentais para avaliar os efeitos desses contaminantes, utilizando organismos-teste como bioindicadores de impacto. Microalgas, em particular, desempenham um papel crítico nesses estudos, pois são componentes essenciais da base da cadeia alimentar marinha. Tanto a ausência dessas microalgas quanto seu crescimento excessivo (floração) podem provocar desequilíbrios ecológicos significativos, afetando diretamente a saúde e a estabilidade dos ecossistemas aquáticos [5,6].

Neste contexto os nanomateriais engenheirados (NME), como os hidróxidos duplo lamelares podem ser carregados com ICs para que sua liberação no meio ambiente seja ao longo do tempo ao invés de imediato e assim aplicados em protetores, como tintas, de estruturas metálicas e os protegendo da CO [7].

1.1. Revisão Bibliográfica

1.1.1. Corrosão Marinha e Biocorrosão

A corrosão pode ser definida como o processo natural de decomposição química ou eletroquímica de metais, transformando-os em uma forma estável como óxidos, hidróxidos e sulfetos. A corrosão em si é um processo lento, mas pode ser acelerado por vários fatores ambientais como pH, temperatura, estresse e umidade [8]. Este processo consiste em duas reações: uma anódica, onde há a oxidação do metal, e uma reação catódica, havendo uma redução química dos compostos [9].

A formação de biofilmes é um fator crítico que pode acelerar significativamente o processo de corrosão, particularmente em ambientes marinhos. Esses biofilmes são comunidades complexas compostas por microrganismos como bactérias, archaea e fungos [10]. A corrosão influenciada por microrganismos (CIM), também chamada de biocorrosão, é responsável por mais de 30% dos custos associados à corrosão marinha. Os microrganismos presentes nestes biofilmes podem iniciar, intensificar ou exacerbar o processo corrosivo. Eles consomem hidrogênio disponível nas superfícies metálicas e secretam enzimas e metabólitos ácidos, como ácidos orgânicos e sulfetos, que aceleram a degradação dos metais, aumentando a taxa de corrosão e danificando ainda mais as estruturas submersas [11].

A relação entre biofilmes e a corrosão influenciada por microrganismos (CIM) é intrínseca e complexa. Os microrganismos presentes nos biofilmes coexistem de forma sinérgica, formando comunidades organizadas que promovem e intensificam o processo de corrosão em superfícies metálicas e outros substratos no ambiente marinho. Esses biofilmes funcionam como microambientes que facilitam o acúmulo e a atividade metabólica de espécies específicas de microrganismos, criando condições ideais para a corrosão [12, 13].

Alguns dos principais microrganismos envolvidos na CIM possuem características que potencializam o processo corrosivo. Bactérias redutoras de sulfato (SRB), por exemplo, utilizam sulfato como aceptor final de elétrons, produzindo sulfeto de hidrogênio (H_2S), que é extremamente corrosivo para metais. Bactérias oxidantes de ferro e manganês contribuem para a corrosão ao promover a oxidação desses metais, enquanto microrganismos produtores de ácidos orgânicos podem diminuir o pH local, acelerando a degradação das superfícies metálicas. Assim, o biofilme atua como um catalisador biológico, exacerbando a corrosão e aumentando os desafios na proteção de estruturas submersas [14].

Para prevenir a CO e CIM são utilizados hoje na indústria, inibidores de corrosão (IC), agentes químicos, geralmente incorporados a tintas, que podem proteger as estruturas metálicas que entram em contatos com ambientes ideais para a CO e CIM. Estes ICs precisam levar em consideração 2 efeitos base para ser efetivamente contra a CIM:

- I. Inibir o crescimento e/ou atividade metabólica de microrganismos
- II. Modificação do ambiente em que o processo de corrosão ocorre para evitar a adaptação de microrganismos às condições existentes [15]

1.1.2. Inibidores de Corrosão

Os ICs apresentam diversos mecanismos para evitar a biocorrosão e a bioincrustação em ligas metálicas, umas dessas formas é a partir da formação de uma fina camada que é adsorvida pelo metal, impedindo a corrosão por parte de microrganismos, além dos seus efeitos biocidas que podem reduzir as chances de incrustação e proliferação de microrganismos. [16]

Dois ICs já são conhecidos pela sua efetividade em proteger estruturas metálicas da CO são 2-mercaptobenzotiazol (MBT) e o Gluconato de Sódio (SG).

O MBT é um composto pertencente ao grupo dos benzotiazóis amplamente utilizado como IC na indústria, especialmente para revestimentos de aço e cobre. A eficácia do MBT como inibidor de corrosão deve-se à presença de heteroátomos (como enxofre e nitrogênio) em sua estrutura, que possuem alta afinidade por superfícies metálicas. Esses heteroátomos se adsorvem à superfície dos metais, formando uma camada protetora que impede a progressão da corrosão. Além disso, o MBT possui propriedades biocidas que inibem o crescimento de microrganismos, como bactérias, que poderiam acelerar o processo de corrosão ao formar biofilmes nas superfícies metálicas. [17,18]

Sua toxicidade já foi comprovada em diversos estudos, sendo prejudicial à saúde humana (com efeitos cancerígenos, alergênicos e de irritação dérmica) e a vida marinha, afetando invertebrados, vertebrados, bactérias e plantas [19-25]

Outro IC amplamente utilizado é o SG, sendo usado principalmente em alumínio, ligas de aço e ferro. Seu efeito ocorre ao suprimir a reação anódica e se aderir às superfícies a serem protegidas como um filme protetor. [26-31]

1.1.3. Nanomateriais Engenheirados e Hidróxidos Duplo Lamelares

Conhecido em inglês como *Layered Double Hydroxides* (LDH), são estruturas químicas combinando o ânion intercalado e quantidade de água formando um novo elemento. Estas estruturas podem ser utilizadas em diversas formas tanto em pó, grão e dispersos sólidos ou líquidos. Além disso, possuem uma incrível multifuncionalidade podendo variar de forma magnética, química, óptica, estrutural e iônica [32].

Atualmente há um grande interesse da indústria na aplicação dos LDHs em diferentes setores, podendo ter aplicabilidade na área da farmácia, como carreadores de fármacos, na

área química como suporte de catalisadores e aditivos em químicos e na indústria marítima podendo armazenar os ICs em suas camadas e tendo uma liberação espontânea reduzida e controlada, mais lenta. Esta liberação é determinada por mudanças físicas do ambiente, como alterações no pH e temperatura, assim reduzindo a toxicidade dos ICs, para espécies não alvo da biocorrosão [33-43].

1.1.4. Microalgas marinhas em teste de ecotoxicologia

As microalgas, por serem fortes biomarcadores e a base da teia trófica, são excelentes para testes ecotoxicológicos. A inibição do crescimento dessas microalgas pode ter impactos significativos no ecossistema, resultando em uma diminuição na disponibilidade de alimento para organismos herbívoros, o que pode afetar toda a rede trófica. Por outro lado, a exposição a certos agentes tóxicos pode estimular o crescimento descontrolado de microalgas, levando à formação de florações algais nocivas (HABs). Estas florações podem reduzir drasticamente os níveis de oxigênio dissolvido na água, criando zonas hipóxicas que resultam na morte de diversos organismos aquáticos, impactando negativamente a biodiversidade e o equilíbrio ecológico do ambiente marinho [44,45].

Tetraselmis gracilis, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp. são espécies importantes economicamente, amplamente estudadas e com aplicações na indústria e aquicultura. Encontradas em diversos ambientes são ideais para testes de ecotoxicidade servindo como espécies não alvo de ICs e não participarem da CO, sendo assim valiosos biomarcadores da sustentabilidade de nanocompósitos de nova geração. *Tetraselmis gracilis* é amplamente utilizada na aquicultura como alimento para organismos marinhos (Ex. moluscos e peixes), possuindo também aplicabilidade na produção de biodiesel. Servindo muito bem a estes propósitos por ser rica em proteínas, lipídios e pigmentos. *Isochrysis* sp. é rica em ácidos graxos e ômega-3, o que a faz ideal para a saúde de espécies cultivadas na aquicultura como larvas de bivalves e outros moluscos, podendo também ter aplicabilidade como suplemento humano. *Dunaliella salina*, por ser uma microalga halófila, é encontrada em ambiente com altas concentrações de sal, sua produção de betacaroteno fez com que fosse explorada para uso na indústria cosmética e de suplementos [46-50].

2. Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade de sete compostos, incluindo dois inibidores de corrosão (ICs): 2-mercaptobenzotiazol (MBT) e gluconato de sódio (SG). Além disso, foram testados dois nanomateriais estruturados (NMEs) brutos: hidróxidos duplo lamelares de magnésio-alumínio (Mg-Al LDH) e zinco-alumínio (Zn-Al LDH), bem como três nanomateriais inovadores carregados com ICs: Zn-Al LDH-MBT, Mg-Al LDH-MBT e Zn-Al LDH-SG. A toxicidade desses compostos foi avaliada utilizando como organismos-teste três espécies de microalgas marinhas: *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp.

3. Materiais e Métodos

3.1. Inibidores de Corrosão, LDHs e LDHs Carregados com IC

Os compostos utilizados no presente estudo foram os biocidas e inibidores de corrosão 2-mercaptobenzotiazol e Gluconato de Sódio, os nanomateriais estruturados (NE) brutos (Zn-Al nanoestruturado, Zn-Al LDH; Mg-Al nanoestruturado, Mg-Al LDH) e os NE inovadores carregados com IC (Zn-Al-mercaptobenzotiazol nanoestruturado, Zn-Al LDH-MBT; Mg-Al-mercaptobenzotiazol nanoestruturado, Mg-Al LDH-MBT; Zn-Al-gluconato de sódio nanoestruturado, Zn-Al LDH-SG). Os compostos foram fornecidos pela empresa SmallMatek Ltda, em parceria com o projeto NANOGREEN da Universidade de Aveiro (UA) em Portugal do Dr. Roberto Martins.

3.2. Cultura de microalgas

As cepas de microalgas marinhas *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp., foram cedidas pelo Banco de Microrganismos Aidar & Kutner - BMAK do Instituto Oceanográfico da USP e cultivadas em frascos Erlenmeyer de 250 mL, na proporção 1:3, sendo 50 mL do inóculo, e 150 mL de meio Guillard F/2 ajustado em salinidade 35, sob uma intensidade de iluminação de luzes fluorescentes "brancas frias" de $70 \mu\text{photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ na superfície do frasco com ciclo claro:escuro de 12:12 horas a $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Diariamente, os frascos foram levemente agitados e deslocados aleatoriamente. As microalgas foram cultivadas em meio de cultura até a fase exponencial. Após este período, a concentração celular foi ajustada com o auxílio de uma Câmara de Neubauer a uma concentração de $1,0 \times 10^5$ cel/mL.

Foi utilizado o meio de cultura Guillard F/2 [51,52], para crescimento das microalgas.

O pH da água foi ajustado para 8, e a salinidade foi padronizada para 35. Após o ajuste desses parâmetros, foram adicionados, para cada litro de água do mar, 1 mL das soluções estoque de nitrato, fosfato, vitaminas, metais-traço e silicato. As soluções foram cuidadosamente pipetadas utilizando micropipetas equipadas com ponteiras autoclavadas para garantir a esterilidade. Esse meio de cultura foi formulado para fornecer todas as condições essenciais para o crescimento saudável das microalgas *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp., suportando seu desenvolvimento durante os experimentos de ecotoxicidade.

3.3. Ensaio de ecotoxicidade de microalgas em placas de 96 poços

Os ensaios de toxicidade dos IC de base biológica em microalgas foram realizados conforme orientações da ABNT NBR 12648:2018 [53], Dupraz et al. [54], Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) Teste N° 201 [55]. Estes métodos consistem na exposição dos organismos-teste aos diferentes tratamentos. A toxicidade foi determinada pela inibição do crescimento da biomassa algácea em microplacas de 96 poços.

Utilizando microplacas de 96 poços, foi inserido um volume de 180 µL de inóculo na fase exponencial de crescimento na concentração inicial de $1,0 \times 10^5$ cel/mL a cada poço. Um volume de 20 µL das soluções de ICs nas concentrações de 0,05; 0,14; 0,41; 1,23; 3,7; 11,1; 33,3 e 100 mg/L foram incorporados individualmente. Nos ensaios de ecotoxicidade, as microalgas foram utilizadas como controle negativo, enquanto uma solução de AgNO_3 a 10 mg/L foi empregada como controle positivo, devido ao seu efeito tóxico bem estabelecido. Para minimizar o impacto da evaporação, água estéril foi adicionada aos poços da primeira coluna das placas de 96 poços. Cada composto testado foi disperso em meio de cultura Guillard com o auxílio de um sonificador, garantindo uma dispersão homogênea das partículas. A disposição da microplaca e cada poço está representado na figura 1. A inibição do crescimento das microalgas foi monitorada a cada 24 horas, ao longo de um período de 96 horas, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis ajustado para 650 nm, que permite a detecção da densidade óptica correlacionada à biomassa algal. Todos os testes foram realizados em triplicata para assegurar a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados.

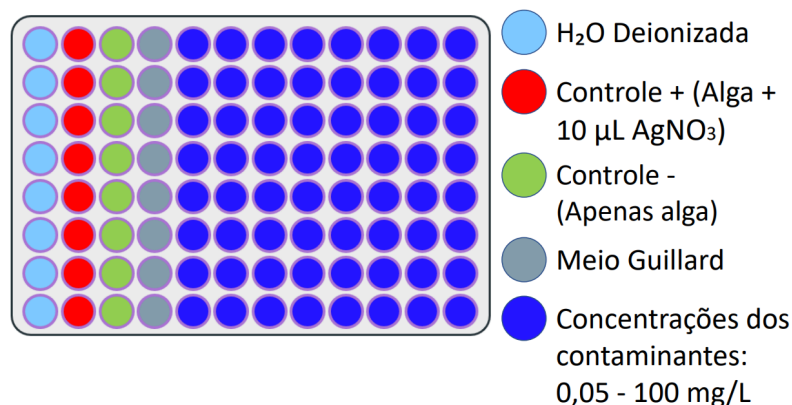


Figura 1. Disposição do conteúdo da microplaca de 96 poços utilizada no teste. (Fonte: O autor)

3.4. Análise de Dados

A análise estatística foi conduzida utilizando o software Paleontological Statistical (PAST) versão 4.03, enquanto a determinação da concentração de inibição de 50% das células (CI₅₀) foi realizada no GraphPad Prism 10. Inicialmente, foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) para identificar diferenças significativas nas concentrações celulares entre os tratamentos. Quando diferenças significativas foram detectadas ($p < 0,05$), o teste pós-hoc de Tukey foi utilizado para comparar as concentrações testadas com o controle e avaliar a interação entre os compostos e as microalgas.

Adicionalmente, a análise incluiu a determinação da Concentração de Efeito Não Observado (CENO) e da Concentração de Efeito Observado (CEO). A CENO representa a maior concentração do composto que não causa um efeito estatisticamente significativo sobre o organismo testado, enquanto a CEO corresponde à menor concentração que causa um efeito estatisticamente significativo. Estes parâmetros foram essenciais para a avaliação detalhada da toxicidade dos compostos em relação às três espécies de microalgas (*Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis* sp.), permitindo uma compreensão mais precisa dos impactos ecotoxicológicos de cada tratamento.

3.5. Curvas de Calibração

Foram montadas curvas de calibração para converter os valores de densidade óptica para densidade celular. A figura 2 representa as curvas de calibração de (A) *T. gracilis*, (B) *Isochrysis* sp. e (C) *D. salina*. Todas possuindo $R^2 > 0,99$.

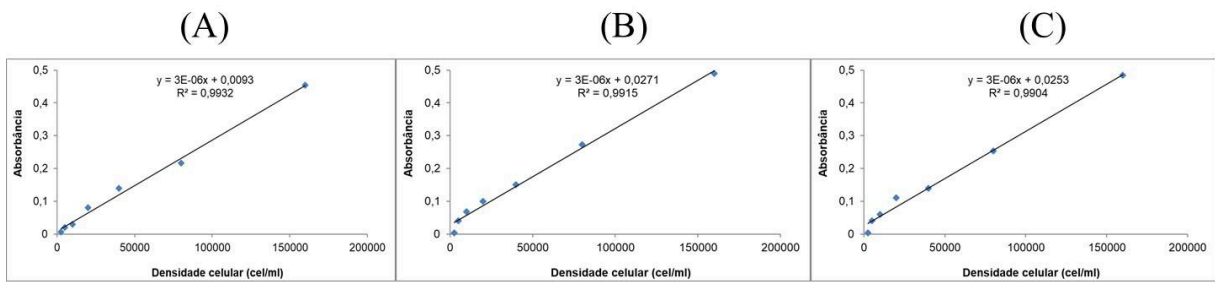


Figura 2. Relação entre a concentração celular e a absorbância a 650 nm para as três espécies de microalgas testadas: (A) *Tetraselmis gracilis*, (B) *Isochrysis* sp. e (C) *Dunaliella salina*.

4. Resultados

4.1. Toxicidade dos compostos em relação *T. gracilis*

A figura 3 apresenta os resultados da concentração celular (cel/mL) da microalga *T. gracilis* em função da concentração dos compostos testados após 96h de exposição. Sendo (*) usado para representar os valores de $p < 0,05$ pelo teste ANOVA ou seja diferenças estatisticamente relevantes.

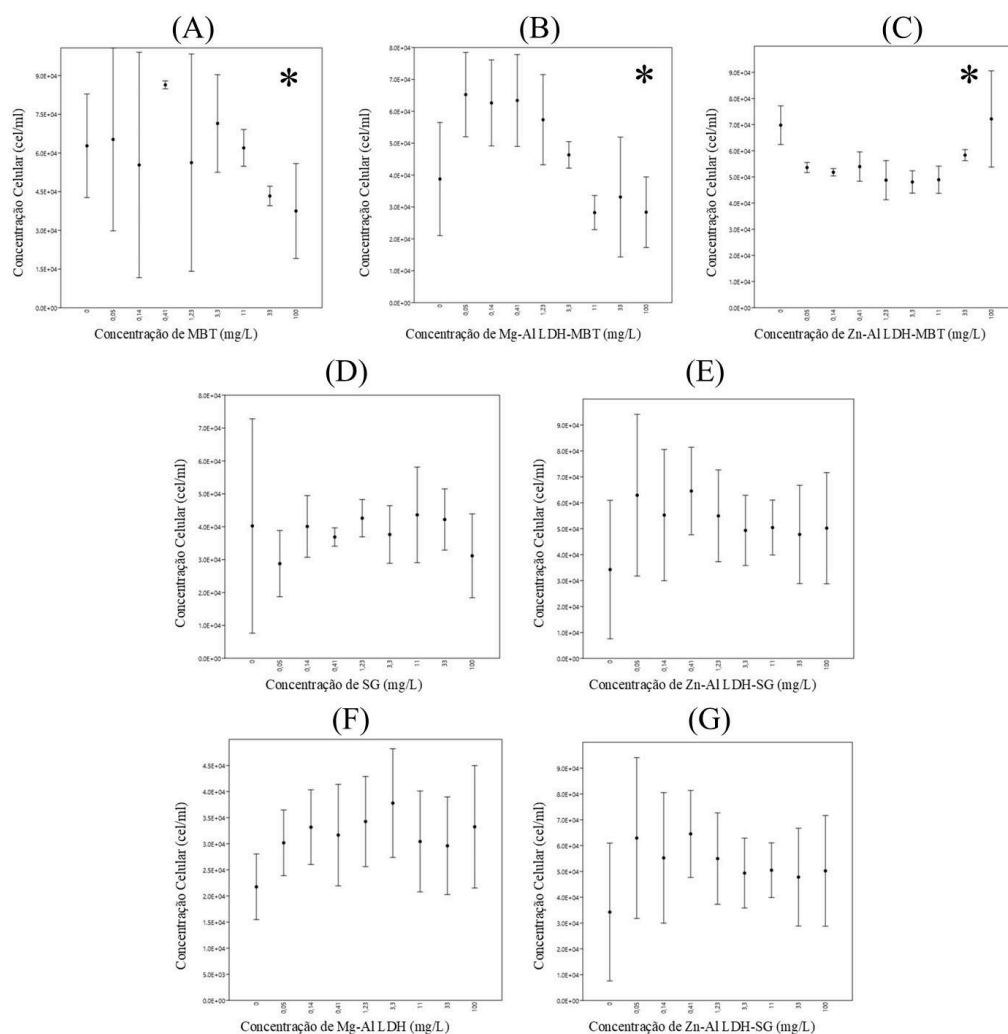


Figura 3. Concentração celular da microalga *Tetraselmis gracilis* (cel/mL) em função da concentração dos compostos (mg/L) sendo (A) MBT, (B) Mg-Al LDH-MBT, (C) Zn-Al LDH-MBT, (D) SG, (E) Zn-Al LDH-SG, (F) Mg-Al LDH e (G) Zn-Al LDH após 96h de exposição, onde (*) representa o valor de $p < 0,05$.

4.2. Toxicidade dos compostos em relação a *Isochrysis* sp.

A figura 4 apresenta os resultados da concentração celular (cel/mL) da microalga *Isochrysis* sp. em função da concentração dos compostos testados após 96h de exposição. Sendo (*) usado para representar os valores de $p < 0,05$ pelo teste ANOVA ou seja diferenças estatisticamente relevantes.

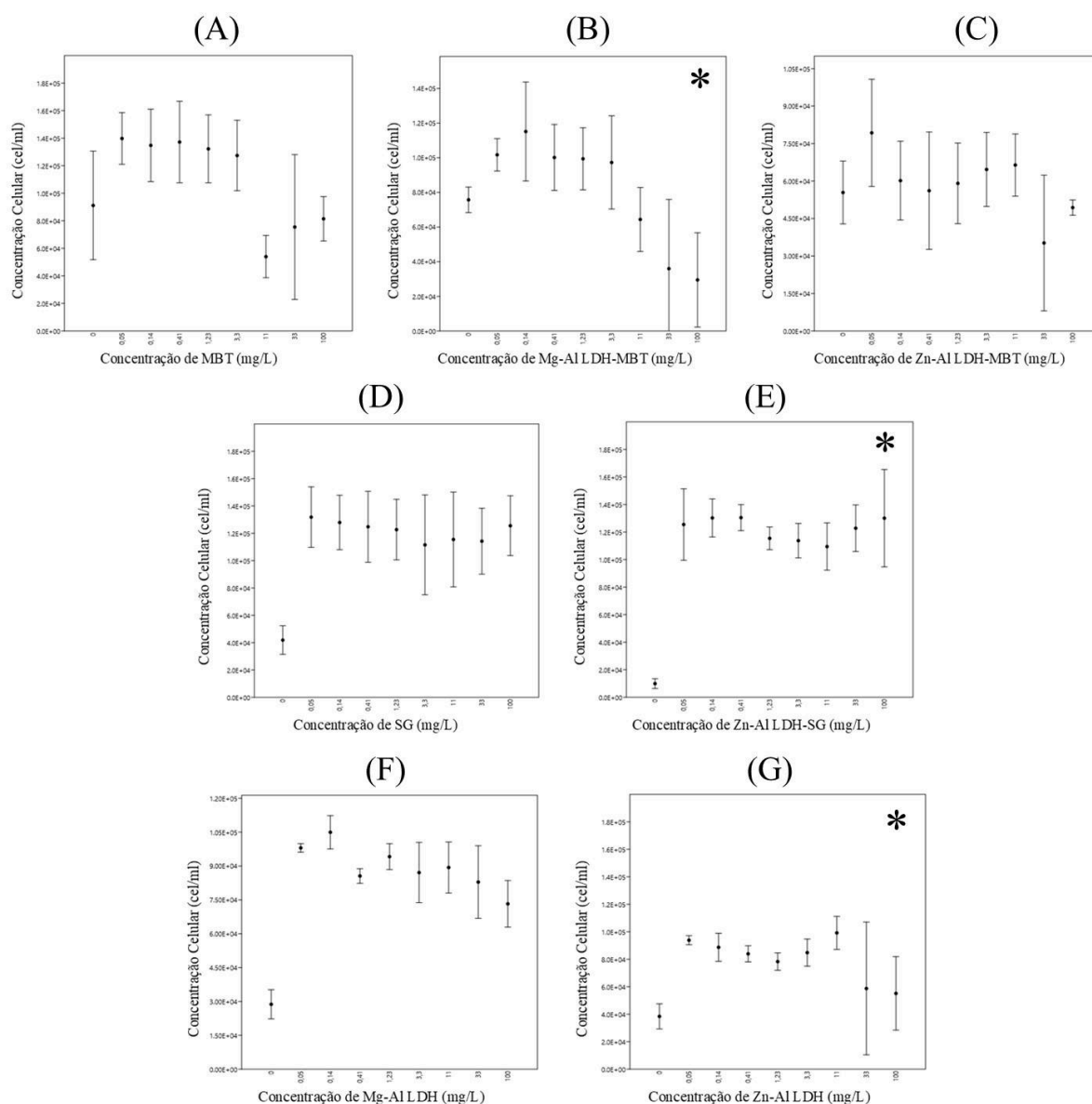


Figura 4. Concentração celular da microalga *Isochrysis* sp. (cel/mL) em função da concentração dos compostos (mg/L) sendo (A) MBT, (B) Mg-Al LDH-MBT, (C) Zn-Al LDH-MBT, (D) SG, (E) Zn-Al LDH-SG, (F) Mg-Al LDH e (G) Zn-Al LDH após 96h de exposição, onde (*) representa o valor de $p < 0,05$.

4.3. Toxicidade dos compostos em relação a *D. salina*.

A figura 5 apresenta os resultados da concentração celular (cel/mL) da microalga *D. salina* em função da concentração dos compostos testados após 96h de exposição. Sendo (*) usado para representar os valores de $p < 0,05$ pelo teste ANOVA ou seja diferenças estatisticamente relevantes.

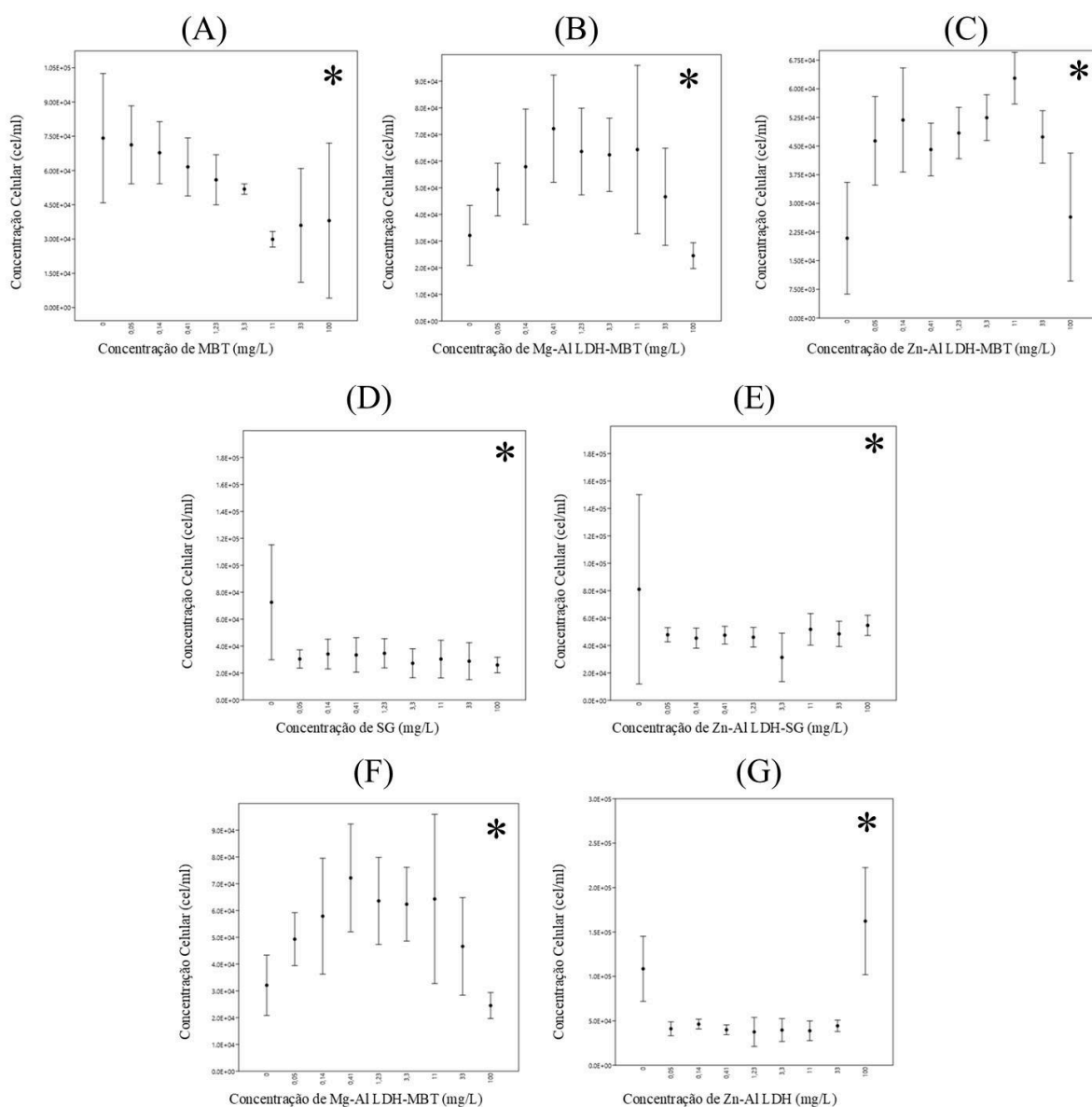


Figura 5. Concentração celular da microalga *Dunaliella salina* (cel/mL) em função da concentração dos compostos (mg/L) sendo (A) MBT, (B) Mg-Al LDH-MBT, (C) Zn-Al LDH-MBT, (D) SG, (E) Zn-Al LDH-SG, (F) Mg-Al LDH e (G) Zn-Al LDH após 96h de exposição, onde (*) representa o valor de $p < 0,05$.

4.4. CI_{50} , CENO e CEO

Usando a diretiva EC (93/67/EEC), adaptada por Blaise e colaboradores [56,57] e descrita na tabela 1, foi determinado o grau de toxicidade onde quanto menor o valor de CI_{50} maior sua toxicidade em relação ao organismo testado. Com auxílio dos gráficos de concentração celular por concentração do composto e do valor de CI_{50} , foi possível determinar o grau de toxicidade de cada composto.

Tabela 1. Grau de toxicidade de substâncias de acordo com a Diretiva EC (93/67/EEC) Adaptado por Blaise e colaboradores. Onde roxo representa Extremamente Tóxico, vermelho representa Muito Tóxico, laranja representa Tóxico, amarelo representa Nocivo e Verde representa Não Tóxico.

CI ₅₀ (mg/L)	Grau de Toxicidade
CI ₅₀ < 0,1	Extremamente Tóxico
CI ₅₀ 0,1 - 1	Muito Tóxico
CI ₅₀ 1 - 10	Tóxico
CI ₅₀ 10 - 100	Nocivo
CI ₅₀ > 100	Não Tóxico

As tabelas 2, 3 e 4 resumizam os valores de CI₅₀, CENO e CEO de *T. gracilis*, *Isochrysis* sp. e *D. salina*, respectivamente, após 96h de exposição, as cores utilizadas estão de acordo com as informações contidas na Tabela 1.

Tabela 2. Determinação do CI₅₀, CENO e CEO para *T. gracilis* após 96h de exposição. Os graus de toxicidades foram classificados de acordo com a tabela 1. Onde os valores não calculáveis são representados por N/C e onde há um crescimento da concentração celular são sinalizados por *Growing*, a marcação por cor está de acordo com a Diretiva EC (93/67/EEC) e a Tabela 1.

Composto	CI ₅₀ (mg/L)	CENO	CEO
MBT	>100	N/C	N/C
SG	>100	N/C	N/C
Zn-Al LDH	<i>Growing</i>	3,3	11
Mg-Al LDH	>100	N/C	N/C
Zn-Al LDH-MBT	>100	N/C	N/C
Zn-Al LDH-SG	>100	N/C	N/C
Mg-Al LDH-MBT	>100	N/C	N/C

Tabela 3. Determinação do CI_{50} , CENO e CEO para *Isochrysis* sp. Os graus de toxicidades foram classificados de acordo com a tabela 1. Onde os valores não calculáveis são representados por N/C e onde há um crescimento da concentração celular são sinalizados por *Growing*, a marcação por cor está de acordo com a Diretiva EC EC (93/67/EEC) e a Tabela 1.

Composto	CI_{50} (mg/L)	CENO	CEO
MBT	6,31	<0,05	0,05
SG	<i>Growing</i>	<0,05	0,05
Zn-Al LDH	<i>Growing</i>	N/C	N/C
Mg-Al LDH	<i>Growing</i>	<0,05	0,05
Zn-Al LDH-MBT	>100	<0,05	0,05
Zn-Al LDH-SG	<i>Growing</i>	<0,05	0,05
Mg-Al LDH-MBT	>100	<0,05	0,05

Tabela 4. Determinação do CI_{50} , CENO e CEO para *D. salina*. Os graus de toxicidades foram classificados de acordo com a tabela 1. Onde os valores não calculáveis são representados por N/C e onde há um crescimento da concentração celular são sinalizados por *Growing*, a marcação por cor está de acordo com a Diretiva EC (93/67/EEC) e a Tabela 1.

Composto	CI_{50} (mg/L)	CENO	CEO
MBT	3,36	3,3	11
SG	N/C	<0,05	0,05
Zn-Al LDH	N/C	<0,05	0,05
Mg-Al LDH	>100	N/C	N/C
Zn-Al LDH-MBT	>100	N/C	N/C
Zn-Al LDH-SG	>100	N/C	N/C
Mg-Al LDH-MBT	>100	N/C	N/C

5. Discussão

Entre os compostos avaliados, o inibidor de corrosão (IC) 2-mercaptobenzotiazol (MBT) foi identificado como o mais tóxico para duas espécies de microalgas: *Isochrysis* sp. e

Dunaliella salina, apresentando os menores valores de CI_{50} . O MBT é um inibidor amplamente utilizado, eficaz na proteção de metais como cobre, ligas de alumínio e aços inoxidáveis contra processos corrosivos [58]. Contudo, sua toxicidade extrema para organismos aquáticos é bem documentada [59], e esses resultados foram corroborados no presente estudo. Os estudos de ecotoxicidade com ICs e nanomateriais em microalgas marinhas são escassos, porém podemos fazer uma relação com outros organismos do ambiente marinho, Santos e colaboradores [60] encontraram resultados parecidos em estudos com ouriço-do-mar (*E. lucunter*), onde o MBT apresentou o dobro de toxicidade que suas versões NEIC, MBT Concentrações de Efeito para 50% dos organismos (CE_{50}) = 0,020 mg/L Mg-Al LDH-MBT CE_{50} = 0,055 mg/L e Zn-Al LDH-MBT CE_{50} = 0,054 mg/L, no mesmo estudo o NEIC Zn-Al LDH-MBT apresentou menor toxicidade que o IC MBT para copépodos (*Nitokra sp.*) Zn-Al LDH-MBT CE_{50} = 0,520 mg/L e MBT CE_{50} = 0,223 mg/L.

O MBT foi classificado como "tóxico" de acordo com as diretrizes regulatórias. Em contraste, as versões nanoestruturadas carregadas com MBT (NEIC) não demonstraram toxicidade significativa, indicando um potencial promissor para armazenar e liberar o IC de forma controlada, reduzindo seu impacto ambiental. Outros estudos contendo espécies marinhas também encontraram resultados parecidos, onde as versões NEIC apresentaram menor toxicidade que a versão livre de MBT, utilizando organismos-teste como trutas, microcrustáceos, bivalves e bactérias. [61-65]

A microalga *Tetraselmis gracilis* mostrou-se resistente a todos os compostos testados, não exibindo inibição de crescimento. Pelo contrário, um aumento no crescimento foi observado quando exposta ao composto Zn-Al LDH, efeito que também foi verificado para *Isochrysis sp.* e *D. salina* na última concentração. No entanto, esses crescimentos anômalos não são necessariamente benéficos, uma vez que podem provocar episódios de eutrofização, comprometendo a saúde do ecossistema [66]. Kumar e colaboradores [67] também descreveram um aumento na taxa de crescimento das microalgas *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.* e *Dunaliella salina* nos primeiros 5 dias porém com o aumento da concentração de Zn e dias de exposição a taxa de crescimento teve uma queda brusca. A maioria dos metais traço são conhecidos por promover o aumento da taxa de crescimento em baixas concentrações e promover a inibição em altas concentrações [68]

O composto gluconato de sódio (SG), também amplamente utilizado como IC, exibiu uma toxicidade variável dependendo da espécie de microalga testada, mesmo sem apresentar um valor de CI_{50} . O SG não foi tóxico para *T. gracilis*, mas promoveu aumento da densidade

celular para *Isochrysis* sp. e reduziu significativamente a densidade celular de *D. salina* a partir da primeira concentração. Embora o SG seja frequentemente descrito como uma alternativa sustentável de IC [69], a variação dos efeitos observados nas diferentes microalgas destaca a necessidade de estudos adicionais. Por outro lado, sua versão nanoestruturada (Zn-Al LDH-SG) não demonstrou toxicidade relevante, confirmando seu potencial para minimizar os impactos adversos do SG.

Os hidróxidos duplo lamelares (LDHs) carregados com IC são compostos relativamente novos na indústria, com resultados promissores para reduzir a toxicidade de ICs tradicionais. Além disso, esses materiais apresentam grande versatilidade e podem ser usados para carregar e liberar de forma controlada diversos tipos de agentes químicos, destacando-se como alternativas promissoras para aplicações industriais e ambientais mais sustentáveis.[70] Mesmo reduzindo a toxicidade dos ICs, os LDHs e NEICs ainda continuam com sua efetividade em reduzir e proteger estruturas metálicas da corrosão marinha, efeito encontrado em ensaios com LDHs carregados com óxidos de nitrogênio e benzotriazol, dois IC utilizados na indústria. [71]

6. Conclusão

O presente estudo avaliou a toxicidade de sete compostos, incluindo dois inibidores de corrosão (ICs), dois nanomateriais estruturados (NMEs) brutos e três versões de NMEs inovadores carregados com ICs (NEICs). Entre todos os compostos testados, o IC 2-mercaptobenzotiazol (MBT) na forma livre apresentou-se como o mais tóxico, afetando negativamente as microalgas *Isochrysis* sp. e *Dunaliella salina*. Em contrapartida, as versões carregadas (NEICs) não demonstraram toxicidade significativa para as três microalgas avaliadas, destacando-se como alternativas promissoras e sustentáveis para mitigar os impactos ambientais dos ICs tradicionais.

A microalga *Tetraselmis gracilis* mostrou-se a mais resistente dentre as espécies estudadas, sem exibir efeitos tóxicos para nenhum dos compostos testados. Esses resultados ressaltam a importância de avaliar a toxicidade dos ICs, especialmente quando incorporados em tintas e revestimentos, para determinar se os seus efeitos são direcionados a microrganismos-alvo da corrosão marinha e da biocorrosão, ou se afetam organismos não-alvo.

Dada a ampla utilização de ICs cuja toxicidade para organismos aquáticos já foi comprovada, é essencial buscar alternativas que sejam ambientalmente mais seguras, reduzindo tanto os custos da corrosão quanto o impacto ecológico. A variabilidade observada na toxicidade entre as diferentes espécies de microalgas reforça a necessidade de utilizar múltiplos organismos em avaliações ecotoxicológicas para obter uma visão abrangente dos potenciais efeitos adversos. Estudos futuros devem investigar diferentes concentrações e incluir outras espécies de microalgas para validar a eficácia e segurança dos NEICs, aprimorando estratégias para minimizar a toxicidade e maximizar a sustentabilidade desses novos materiais.

7. Referências

- [1] Hou, B., Li, X., Ma, X., Du, C., Zhang, D., Zheng, M., Xu, W., Lu, D., Ma, F. The cost of corrosion in China. *npj Mater Degrad* 1, 4 (2017).
- Guillard, R. R. L. (1975) Culture of Phytoplankton for feeding Marine Invertebrates. In: Smith, W.; Chanley, M. H. (Ed.). Culture of Marine Invertebrates. London, UK: Plenum Press. 29-60.
- [2] Touir, R., Cenoui, M., El Bakri, M., & Touhami, M. E. (2008). Sodium gluconate as corrosion and scale inhibitor of ordinary steel in simulated cooling water. *Corrosion Science*, 50(6), 1530-1537.
- [3] Majidi, R., Danaee, I., Vrsalović, L., & Zarei, D. (2023). Development of a smart anticorrosion epoxy coating containing a pH-sensitive GO/MOF nanocarrier loaded with 2-mercaptobenzothiazole corrosion inhibitor. *Materials Chemistry and Physics*, 308, 128291.
- [4] Garg, V., Zanna, S., Seyeux, A., Wiame, F., Maurice, V., & Marcus, P. (2023). Inhibition of the initial stages of corrosion by 2-mercaptobenzothiazole adsorption and the effects of interfacial oxides on copper in neutral chloride conditions. *Corrosion Science*, 225, 111596.
- [5] Fleming, L. E., Kirkpatrick, B., Backer, L. C., Walsh, C. J., Nierenberg, K., Clark, J., ... & Baden, D. G. (2011). Review of Florida red tide and human health effects. *Harmful algae*, 10(2), 224-233.
- [6] Hallegraeff, G. M. (2003). Harmful algal blooms: a global overview. *Manual on harmful marine microalgae*, 33, 1-22.

- [7] Maia, F.; Yasakau, K. A.; Carneiro, J.; Kallip, S.; Tedim, J.; Henriques, T.; Ferreira, M. G. S. (2016). Corrosion protection of AA2024 by sol-gel coatings modified with MBT-loaded polyurea microcapsules. *Chem. Engin. J.* 283:1108-1117.
- [8] Muhammad, F.S.; Khurram, K.; Faheem, R.; Salman, S.; Hassan, Z.; Kashif, K. (2021) Corrosion detection and severity level prediction using acoustic emission and machine learning based approach. *Ain Shams Eng. J.*, 12, 3891–3903.
- [9] Płaza, G., & Achal, V. (2020). Biosurfactants: eco-friendly and innovative biocides against biocorrosion. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2152.
- [10] Arroussi, M., Bai, C., Zhao, J., Zhang, S., Xia, Z., Jia, Q., Yang, K. (2022). Preliminary study on biocorrosion inhibition effect of Ti-5Cu alloy against marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *App. Surf. Sci.* 578:151981.
- [11] Kip, N., & Van Veen, J. A. (2015). The dual role of microbes in corrosion. *The ISME journal*, 9(3), 542-551.
- [12] Xiang, T., Wang, J., Liang, Y., Daoudi, W., Dong, W., Li, R., Chen, X., Liu, S., Zheng, S., Zhang, K. (2024). Carbon Dots for Anti-Corrosion. *Advanced Functional Materials*, 2411456.
- [13] Chatterjee, A., Sen, S., Singh, S., Bhardwaj, S., & Maji, P. K. (2024). Corrosion protection of mild steel via cerium nitrate loaded acrylic-vinyl polysilazane based hybrid coatings. *Progress in Organic Coatings*, 197, 108831.
- [14] Karačić, S., Suarez, C., Hagelia, P., Persson, F., Modin, O., Martins, P. D., & Wilén, B. M. (2024). Microbial acidification by N, S, Fe and Mn oxidation as a key mechanism for deterioration of subsea tunnel sprayed concrete. *Scientific Reports*, 14(1), 22742.
- [15] Maji, K., & Lavanya, M. (2024). Microbiologically influenced corrosion in stainless steel by *pseudomonas aeruginosa*: an overview. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*, 10(1), 16.
- [16] Tapanes, N.D.L.C.O., dos Santos, A.A., de Carvalho Santana, A.I. da Silva, N.C., Gaidzinski, R., Perez, R.S. (2020). Anticorrosivo para uso de aço microligado em contacto com diesel de alto enxofre utilizado em embarcações marítimas. *Braz. J. of Develop.* 6: 36929-36949.
- [17] Wang, P.; He, B.; Du, Y.; Wang, B.; Gao, J.; Liu, S.; Ye, Q.; Zhou, F. (2022). Functionalized Ti₃C₂Tx-based nanocomposite coatings for anticorrosion and antifouling applications. *Chem. Engin. J.* 448:137668.

- [18] Zarebidaki, A.; Mofidi, S. H. H.; Bahri, F. I. (2022). Effect of 2-mercaptobenzothiazole on the corrosion inhibition of Cu–10Ni alloy in 3 wt% NaCl solution. *J. Appl. Electrochem.* 52:1773-1788.
- [19] Sorahan, T. (2009). Cancer risks in chemical production workers exposed to 2-mercaptobenzothiazole. *Occup. Environ. Med.* 66:69–273.
- [20] Wang, X.; Suskind, R.R. (1988). Comparative studies of the sensitization potential of morpholine, 2-mercaptobenzothiazole and 2 of their derivatives in guinea pigs. *Cont. Dermat.* 19:11–15.
- [21] U.S. Consumer Product Safety Commission (CPSC). (2006) Sensory and Pulmonary Irritation Studies of Carpet System Materials and Their Constituent Chemicals. Disponível em: <http://www.cpsc.gov/LIBRARY/FOIA/FOIA98/os/3519926D.pdf>.
- [22] Wan, Y.; Xue, J.; Kannan, K. (2016). Benzothiazoles in indoor air from Albany, New York, USA, and its implications for inhalation exposure. *J. Hazard. Mater.* 311:37–42.
- [23] Wang, L.; Asimakopoulos, A.G.; Moon, H.B.; Nakata, H.; Kannan, K. (2013). Benzotriazole, benzothiazole, and benzophenone compounds in indoor dust from the United States and East Asian countries. *Environ. Sci. Technol.* 47:4752–4759.
- [24] Seeland, A.; Oetken, M.; Kiss, A.; Fries, E.; Oehlmann, J. (2012). Acute and chronic toxicity of benzotriazoles to aquatic organisms. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19:1781–1790.
- [25] Durjava, M.K.; Kolar, B.; Arnus, L.; Papa, E.; Kovarich, S.; Sahlin, U.; Peijnenburg, W. (2013). Experimental assessment of the environmental fate and effects of triazoles and benzotriazole. *Altern. Lab. Anim.* 41:65–75.
- [26] Chafki, L.; Rifi, E. H.; Tourir, R.; Touhami, M. E.; Hatim, Z. (2018). Corrosion inhibition of mild steel in 1.0 M HCl solution by anhydrous tricalcium phosphate. *The Open Mat. Sci. J.*, 12(1):68-81.
- [27] Serdaroğlu, G.; Kaya, S.; Tourir, R. (2020). Eco-friendly sodium gluconate and trisodium citrate inhibitors for low carbon steel in simulated cooling water system: Theoretical study and molecular dynamic simulations. *J. Mol. Liq.* 319, 114108.
- [28] Wang, Y.; Chen, Y.; Zhao, Y.; Zhao, D.; Zhong, Y.; Qi, F.; Liu, X. (2017). A reinforced organic-inorganic layer generated on surface of aluminium alloy by hybrid inhibitors. *J. Mol. Liqui.* 225:510-516.
- [29] Jennane, J.; Touhami, M. E.; Zehra, S.; Baymou, Y.; Kim, S. H.; Chung, I. M.; Lgaz, H. (2019). Influence of sodium gluconate and cetyltrimethylammonium bromide on the corrosion behavior of duplex (α - β) brass in sulfuric acid solution. *Mat. Chem. and Phys.*, 227:200-210.

- [30] Low, E. J.; Yusoff, H. M.; Batar, N.; Nor Azmi, I. N. Z.; Chia, P. W.; Lam, S. S.; Ridwan Zulkifli, M.F. (2023). The use of food additives as green and environmental-friendly anti-corrosion inhibitors for protection of metals and alloys: a review. *Environ. Sci. and Poll. Res.*, 30:1-11.
- [31] Li, J. H.; Zhao, B.; Hu, J.; Zhang, H.; Dong, S. G.; Du, R. G.; Lin, C. J. (2015). Corrosion inhibition effect of D-sodium gluconate on reinforcing steel in chloride-contaminated simulated concrete pore solution. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 10(1): 956-968.
- [32] Silva Neto, L. D. D. (2020). Síntese de hidróxido duplo lamelar: efeitos do processo de secagem. Tese de Mestrado. UFSCar.
- [33] Coronado, E.; Marti-Gastaldo, C.; Navarro-Moratalla, E.; Ribera, A. (2010). Confined growth of cyanide-based magnets in two dimensions. *Inorg. Chem.* 49:1313-1315.
- [34] Kameda, T.; Takeuchi, H.; Yoshioka, T. (2009) Hybrid inorganic/organic composites of Mg-Al layered double hydroxides intercalated with citrate, malate, and tartrate prepared by co-precipitation. *Mat. Res. Bull.*44:840–845.
- [35] Kameda, T.; Uchiyama, T.; Yoshioka, T. (2016) Equilibrium and kinetics studies on the adsorption of substituted phenols by a Cu-Al layered double hydroxide intercalated with 1-naphthol-3,8-disulfonate. *J. of All. and Comp.*, 670:322–328.
- [36] Khan, A. I.; Lei, L.; Norquist, A. J.; O'Hare, D. (2001) Intercalation and controlled release of pharmaceutically active compounds from a layered double hydroxide. *Chem. Com.* 21:2342– 2343.
- [37] Kooli, F.; Jones, W.; Rives, V.; Ulibarri, M.A. (1997) An alternative route to polyoxometalate-exchanged layered double hydroxides: the use of ultrasound. *J. of Mat. Sci. Let.* 16:27-29.
- [38] Labajos, F. M.; Rives, V.; Ulibarri, M. A.(1992) Effect of hydrothermal and thermal treatments on the physicochemical properties of Mg-Al hydrotalcite-like materials. *J. of Mat. Sci.* 27:1546–1552.
- [39] Leroux, F.; Taviot-Guého, C. (2005) Fine tuning between organic and inorganic host structure: New trends in layered double hydroxide hybrid assemblies. *J. of Mat. Chem.* 15:3628–3642.
- [40] Rives, V.; Del Arco, M.; Martín, C. (2014) Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. *App. Clay Sci.* 88–89:239–269.

- [41] Roland-Swason, C.; Besse, J. P.; Leroux, F. (2004) Polymerization of sulfopropyl methacrylate, a surface active monomer, within layered double hydroxide. *Chem. of Mat.* 16:5512–5517.
- [42] Vaysse, C.; Guerlou-Demourgues, L.; Duguet, E.; Delmas, C. (2003) Acrylate intercalation and in situ polymerization in iron-, cobalt-, or manganese-substituted nickel hydroxides. *Inorg. Chem.* 42:4559-4567.
- [43] Maia, F.; Yasakau, K. A.; Carneiro, J.; Kallip, S.; Tedim, J.; Henriques, T.; Ferreira, M. G. S. (2016). Corrosion protection of AA2024 by sol–gel coatings modified with MBT-loaded polyurea microcapsules. *Chem. Engin. J.* 283:1108-1117.
- [44] Anderson, D. M., Cembella, A. D. & Hallegraeff, G. M. Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 4, 143–176 (2012).
- [45] Hallegraeff, G. M. et al. Perceived global increase in algal blooms is attributable to intensified monitoring and emerging bloom impacts. *Commun. Earth Environ.* 2, 117 (2021).
- [46] Le, V. G., Nguyen, M. K., Nguyen, H. L., Thai, V. A., Le, V. R., Vu, Q. M. Asaithambi, P., Woong Chang, S. Nguyen, D. D. (2024). Ecotoxicological response of algae to contaminants in aquatic environments: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 22(2), 919-939.
- [47] Conlon, T., Parkes, R., Fierli, D., & Touzet, N. (2024). Comparative pigment and fatty acid profiling of marine species within the chlorophyte genus *Tetraselmis*. *Food Bioscience*, 58, 103660.
- [48] Victor, M. M., Moutinho, F. L. B., & Riatto, V. B. (2024). Microalgas: Uma Estratégia Sustentável Na Transformação E Obtenção De Compostos Orgânicos. *Química Nova*, 47(2), e-20230107.
- [49] Kim, M., Kim, J., Lee, S., Khanh, N., Li, Z., Polle, J. E., & Jin, E. (2024). Deciphering the β -carotene hyperaccumulation in *Dunaliella* by the comprehensive analysis of *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta* under high light conditions. *Plant, Cell & Environment*, 47(1), 213-229.
- [50] Wang, Q., Fan, S., Liu, S., Xu, J., & Li, X. (2024). A mutated algal species of *Isochrysis* sp. obtained via atmospheric room temperature plasma mutagenesis promoted lipid accumulation through the abscisic acid pathway. *Algal Research*, 82, 103675.

- [51] Guillard, R. R. L.; Ryther, John H. (1962) Studies of Marine Planktonic Diatoms: *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. *Canad. J. of Microbiology*. 8:229-239.
- [52] Guillard, R. R. L. (1975) Culture of Phytoplankton for feeding Marine Invertebrates. In: Smith, W.; Chanley, M. H. (Ed.). *Culture of Marine Invertebrates*. London, UK: Plenum Press. 29-60.
- [53] Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR 12648:2018. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)*.
- [54] Dupraz V.; Stachowski-Haberkorn S.; Wicquart J.; Tapie N.; Budzinski H.; Akcha F. (2019) Demonstrating the need for chemical exposure characterisation in a microplate test system: toxicity screening of sixteen pesticides on two marine microalgae. *Chemosphere*. 221:278-291.
- [55] Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2011), Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.
- [56] EEC Commission Directive (93/67/EEC) (1993) Laying Down the Principles for Assessment of Risks to Man and the Environment of Substances Notified in Accordance with Council Directive 67/548/EEC.
- [57] Blaise, C., Gagné, F., Ferard, J. F., & Eullaffroy, P. (2008). Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 23(5), 591-598.
- [58] Garg, V., Zanna, S., Seyeux, A., Wiame, F., Maurice, V., & Marcus, P. (2023). Adsorption of 2-Mercaptobenzothiazole Organic Inhibitor and its Effects on Copper Anodic Oxidation in Alkaline Environment. *Journal of The Electrochemical Society*, 170(7), 071502.
- [59] Yan, X., Zhang, T., Meng, S., Zhou, P., Xu, Y., Wang, Y., & Xie, M. (2023). BaFe₁₂O₁₉/BiOBr S-scheme heterojunction magnetic nanosheets for high-efficiency photocatalytic degradation of 2-mercaptobenzothiazole. *Separation and Purification Technology*, 326, 124746.
- [60] Santos, J.V.N.D.; (2023). Avaliação da ecotoxicidade crônica de 2-mercaptobenzotiazol livre e nanoestruturado em hidróxidos duplos lamelares. Tese de Mestrado. UNESP.
- [61] Zeng, F., Sherry, J.P. & Bols, N.C. (2016) Evaluating the toxic potential of benzothiazoles with the rainbow trout cell lines, RTgill-W1 and RTL-W1. *Chemosphere*, 155, 308-318.

- [62] Chibwe, L., Parrott, J. L., Shires, K., Khan, H., Clarence, S., Lavalle, C., Sullivan, C., O'Brien, A. M., De Silva, A. O., Muir, D. C. G., & Rochman, C. M. (2022). A Deep Dive into the Complex Chemical Mixture and Toxicity of Tire Wear Particle Leachate in Fathead Minnow. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(5), 1144–1153. <https://doi.org/10.1002/etc.5140>
- [63] Nawrocki, S. T., Drake, K. D., Watson, C. F., Foster, G. D. & Maier, K. J. (2005) Comparative aquatic toxicity evaluation of 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole and selected degradation products using *Ceriodaphnia dubia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 48(3), 344-350.
- [64] Martins, R., Oliveira, T., Santos, C., Kuznetsova, A., Ferreira, V., Avelas, F., Caetano, A. P. F., Tedim, J., Ferreira, M., Freitas, R., Soares, A. M. V. M. & Loureiro, S. (2017). Effects of a novel anticorrosion engineered nanomaterial on the bivalve: *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Science: Nano*, 4(5), 1064–1076. <https://doi.org/10.1039/c6en00630b>
- [65] Kuznetsova, A., Domingues, P. M., Silva, T., Almeida, A., Zheludkevich, M. L., Tedim, J., Ferreira, M. G. S. & Cunha, A. (2017). Antimicrobial activity of 2-mercaptobenzothiazole released from environmentally friendly nanostructured layered double hydroxides. *Journal of Applied Microbiology*, 122(5), 1207–1218;
- [66] de Souza, R. V., de Novaes Vianna, L. F., Schramm, M. A., & Alves, T. P. (2023). O que sabemos sobre florações de microalgas produtoras de toxinas em áreas de cultivo de moluscos em Santa Catarina. *Agropecuária Catarinense*, 36(3), 12-14.
- [67] Kumar, D., Santhanam, P., Ananth, S., Devi, A. S., Nandakumar, R., Prasath, B. B., ... & Ananthi, P. (2014). Effect of different dosages of zinc on the growth and biomass in five marine microalgae. *Int J Fish Aquac*, 6(1), 1-8.
- [68] Gao KS, Yan JI, Tanaka J (2004). Quantitative evaluation of wind effect during emersion on *Porphyra haitanensis*(Rhodophyta), a farmed species in southern China. *Fish. Sci.* 70:710-712
- [69] Serdaroglu, G., Kaya, S., & Touri, R. (2020). Eco-friendly sodium gluconate and trisodium citrate inhibitors for low carbon steel in simulated cooling water system: Theoretical study and molecular dynamic simulations. *Journal of Molecular Liquids*, 319, 114108.

[70] Cunha, V. R., Ferreira, A. M. D. C., Constantino, V. R., Tronto, J., & Valim, J. B. (2010). Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. *Química Nova*, 33, 159-171.

[71] Pellanda, A. C. (2019). Avaliação do desempenho de hidróxidos duplos lamelares contendo benzotriazol e óxidos de nitrogênio como aditivos em primer automotivo para proteção contra corrosão. Tese de Mestrado. UTFPR.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: DOUGLAS GOMES GONÇALVES

Título: "AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE INIBIDORES DE CORROSÃO MARINHA DE BASE NANOTECNOLÓGICA SUSTENTÁVEL SOBRE *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella salina* e *Isocrysis sp.*"

Orientador: Profa. Dra. Cristiane Angélica Ottoni

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Gerenciamento Costeiro

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Cristiane Angélica Ottoni	Aprovado
Prof. Dr. Yoannis Dominguez Rodriguez	Aprovado

PARECER:

Sugestão de seguintes correções para o depósito da versão final

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Douglas Gomes Gonçalves** obteve o seguinte conceito:

APROVADO

REPROVADO

São Vicente, 06 de dezembro de 2024.

Cristiane Angélica Ottoni
Profa. Dra. Cristiane Angélica Ottoni

Yoannis Dominguez Rodriguez
Prof. Dr. Yoannis Dominguez Rodriguez