

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gabriela Vilvert Vansuita

**Aplicação de testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial da biomassa da alga *Ulva*  
sp. para adsorção do metal zinco**

Florianópolis

2021



Gabriela Vilvert Vansuita

**Aplicação de testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial da biomassa da alga *Ulva* sp. para adsorção do metal zinco**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Rubi Rorig

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Vansuita, Gabriela Vilvert

Aplicação de testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial da biomassa da alga *Ulva* sp. para adsorção do metal zinco / Gabriela Vilvert Vansuita ; orientador, Leonardo Rubi Rorig, 2021.

41 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Biorremediação. 3. Metais pesados. 4. Microalgas. 5. *Desmodesmus subspicatus*. I. Rorig, Leonardo Rubi. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Gabriela Vilvert Vansuita

**Aplicação de testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial da biomassa da alga *Ulva* sp. para adsorção do metal zinco**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso Graduação em Ciências Biológicas.

Florianópolis, 19 de maio de 2021.

---

Prof. Carlos Zanetti, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Leonardo Rubi Rorig, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Eduardo de Oliveira Bastos, Dr.  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Thaís Fávero Massocato, Me.  
Avaliadora  
Universidade Federal de Santa Catarina



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Célia e Demétrio, que sempre incentivaram e possibilitaram o meu estudo.

Ao Prof. Leonardo Rorig, Thaís Massocato e Gabriela Freire, pelo tempo, ensinamentos e parceria. Sem vocês esse trabalho não seria possível.

Ao PET Biologia UFSC e à Micolhe pelo crescimento pessoal e profissional que me proporcionaram.

Ao Lucas, que durante todo esse tempo foi meu maior companheiro. À Bruna que mesmo longe sempre se manteve perto. Ao Luiz, Laura e Poliana, a vida é outra depois de encontrar vocês. A todos que fizeram parte dessa jornada e impactaram quem sou hoje.

## RESUMO

A poluição ambiental aquática é um problema mundial que afeta os ecossistemas e organismos que vivem nos mesmos. Metais pesados como o zinco não são degradáveis e acabam acumulando no ambiente e na cadeia trófica, podendo chegar aos seres humanos através do comércio de organismos aquáticos para o consumo. Os efeitos do zinco nos organismos são extensos dada sua importância em diversas vias metabólicas. A biossorção utilizando biomassa de algas é um método recente e ainda em desenvolvimento, onde o principal mecanismo de biorremediação é a troca iônica. Os efeitos do zinco no crescimento celular da microalga *Desmodesmus subspicatus* foi avaliada em teste ecotoxicológico. A inibição do crescimento foi determinada com a exposição da microalga em diferentes concentrações de zinco (2,0; 4,0; 8,0; 16,0 e 32,0 mg/ L de Zn) em soluções aquosas por 96 h. Para avaliação do potencial uso da biomassa de *Ulva* sp. para adsorção do metal zinco, as mesmas concentrações de zinco em soluções aquosas foram tratadas com a biomassa e então realizado o teste ecotoxicológico nas mesmas condições experimentais. O teste ecotoxicológico sem tratamento de biomassa mostrou baixíssima taxa de crescimento de todas as concentrações quando comparadas com o controle. Já o teste ecotoxicológico com tratamento de biomassa mostrou que o crescimento celular do controle e das três primeiras concentrações de zinco não diferiram de forma significativa. Assim, a biomassa de *Ulva* sp. mostrou-se efetiva na diminuição de toxicidade das soluções de zinco.

**Palavras-chave:** *Desmodesmus subspicatus*. Biorremediação. Metais pesados. Microalgas.



## ABSTRACT

Aquatic pollution is a worldwide problem that affects the ecosystems and living organisms in it. Heavy metals like zinc are not degradable and end up accumulating in the environment and trophic chain, being able to affect human beings through trade and consumption of aquatic organisms. The effects of zinc in the organisms are extensive due their importance in various metabolic pathway. Biosorption by algal biomass is still a recent and under development method. The main bioremediation mechanism in this case is ion. The Zinc effects upon cell growth of microalgae *Desmodesmus subspicatus* were evaluated through ecotoxicological test. Growth inhibition were determined by exposing *D. subspicatus* to different concentrations of aqueous solutions (2,0; 4,0; 8,0; 16,0 e 32,0 mg/ L of Zn) of zinc metal for 96 h. Potential use of dry *Ulva* sp. biomass for zinc ions removal were evaluated treating the same different concentrations of aqueous solutions of zinc metal and performing ecotoxicological test. Ecotoxicological test without biomass treatment showed a major reduction in cell density in all the concentrations when compared to control. On the other hand, ecotoxicological test were the biomass treatment was applied showed no significant difference between cell density of control and concentrations 2,0, 4,0 and 8,0. Therefore, dry *Ulva* sp. biomass was found to successfully reduce toxicity from zinc aqueous solution.

**Keywords:** *Desmodesmus subspicatus*. Biorremediation. Heavy metals. Microalgae.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Ulva</i> sp .....	15
Figura 2 – <i>Desmodesmus subspicatus</i> .....	16
Figura 3 – Infográfico do delineamento experimental.....	20
Figura 4 – Local de coleta da macroalga <i>Ulva</i> sp.....	21
Figura 5 – Compilado do processo de coleta e tratamento da <i>Ulva</i> sp.....	22
Figura 6 – Distribuição das espécies de zinco em função do pH da solução aquosa.....	23
Figura 7 – Frascos de Erlenmeyer com as concentrações limitantes durante o experimento.....	25
Figura 8 – Curvas de crescimento microalgal de <i>Desmodesmus subspicatus</i> em diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio.....	29
Figura 9 – Gráfico de barras com a Concentração Efetiva Mediana (CE50) em mg/ L de zinco para o teste ecotoxicológico com e sem tratamento nos tempos de 72 h e 96 h.....	30
Figura 10 – Variação de pH durante os experimentos nas diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio .....	33
Figura 11 – Variação de condutividade durante os experimentos nas diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio .....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Solução nutriente preparada a partir da solução estoque de meios.....	23
Tabela 2 – Soluções estoque do meio nutriente modificado.....	24
Tabela 3 – Taxas de crescimento no teste de toxicidade com tratamento para <i>Desmodesmus subspicatus</i> .....	27
Tabela 4 – Taxas de crescimento no teste de toxicidade sem tratamento para <i>Desmodesmus subspicatus</i> .....	27

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
1.1	POLUIÇÃO AMBIENTAL AQUÁTICA	11
1.2	ESPECIAÇÃO DE METAIS E BIODISPONIBILIDADE	12
1.3	MÉTODOS TRADICIONAIS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS: PONTOS POSITIVOS E NEGATIVOS	12
1.4	BIOSSORÇÃO	14
1.5	ZINCO	14
1.6	<i>Ulva</i> sp.	15
1.7	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	16
1.8	TESTES ECOTOXICOLÓGICOS	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>20</b>
3.1	COLETA E TRATAMENTO DA BIOMASSA DE <i>Ulva</i>	20
3.2	SOLUÇÃO ESTOQUE DE ZINCO	23
3.3	ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA UTILIZANDO <i>Desmodesmus subspicatus</i>	23
3.3.1	Cepa, manutenção de culturas e inóculo	23
3.3.2	Procedimentos para realização dos testes ecotoxicológicos	24
3.3.3	Concentração efetiva mediana (-CE <sub>50</sub> )	26
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>
	<b>ANEXO A</b>	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho é uma abordagem integrada das ciências ambientais unindo conceitos e metodologias da ecotoxicologia e da biorremediação. Como foi desenvolvido no Laboratório de Ficologia, as plataformas biológicas foram algas, sendo uma espécie de microalga (*Desmodesmus subspicatus*) e uma espécie de macroalga (*Ulva* sp.). A ideia foi verificar se a biomassa seca e pulverizada de *Ulva* sp. tem capacidade de reduzir a toxicidade do zinco através de processos de adsorção do metal nessa matriz algal. Para tanto, soluções com concentrações conhecidas de zinco foram testadas quanto a toxicidade em experimentos de inibição do crescimento microalgal (ICM) com *D. subspicatus*. Essas mesmas soluções foram depois submetidas a tratamento com biomassa seca de *Ulva* sp., sendo posteriormente utilizadas novamente em testes ICM. A redução da toxicidade após o tratamento foi utilizada como parâmetro indicativo da capacidade de adsorção de zinco pela biomassa de *Ulva* sp.

A seguir, os temas correlatos ao trabalho são revisados para fornecer uma fundamentação teórica.

### 1.1 POLUIÇÃO AMBIENTAL AQUÁTICA

A contaminação de corpos aquáticos devido às descargas de químicos tóxicos e metais pesados é um problema mundial que causa efeitos danosos aos organismos vivos e seus processos biológicos, ameaçando a funcionalidade de diversos ecossistemas. Diferente dos compostos orgânicos tóxicos, os metais não são degradáveis e assim são acumulados no ambiente e nos organismos onde estão presentes (BAIRD, 2002).

As fontes poluidoras podem ser classificadas como pontuais e não pontuais. Dentre as fontes poluidoras pontuais se encontram: redes de esgoto doméstico, efluentes industriais e mineração (COSTA *et al.*, 2008). Já a utilização de pesticidas no solo é um exemplo de fonte não pontual. Entre as principais indústrias que liberam efluentes de metais traço nos seus arredores estão: indústrias de papel e pesticidas, metalúrgicas, processamento de couro, chapeamento de metal e operações de mineração (CAROLIN *et al.*, 2017; CRISTIAN *et al.*, 2015).

As propriedades dos ecossistemas aquáticos afetam de forma significativa a atividade biológica e o impacto dos agentes químicos (COSTA *et al.*, 2008). Nota-se que, ao adentrar em

um corpo aquático, o contaminante e o ambiente afetam um ao outro. As propriedades físicas e químicas dos corpos aquáticos podem influenciar o impacto dos agentes poluidores no ambiente. Processos de transformação como a hidrólise, fotólise, complexação e biodegradação podem modificar a estrutura, biodisponibilidade e toxicidade de um contaminante (TONIETTO, 2006).

## 1.2 ESPECIAÇÃO DE METAIS E BIODISPONIBILIDADE

O termo “especiação”, quando utilizado em um contexto químico relacionado à metais, geralmente se refere à distribuição do metal em questão as suas diversas formas químicas possíveis ou “espécies” (TWISS *et al*, 2001). O conhecimento sobre a especiação de metais traz informações indispensáveis do ponto de vista ecotoxicológico, permitindo uma avaliação mais acurada sobre a biodisponibilidade e toxicidade do metal alvo (TWISS *et al*, 2001). Há muitos anos sabe-se que a concentração total de metal não é um parâmetro seguro para inferir a biodisponibilidade do mesmo, já que sua especiação afeta substancialmente a sua disponibilidade para os organismos (CAMPBELL, 1996; FLORENCE, 1983). Entre os principais parâmetros que influenciam a especiação de metais estão: pH, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, temperatura e nutrientes (MACEK; MACKOVA, 2011). De forma geral, a biodisponibilidade de metais aumenta com a diminuição de pH, isso porque os metais em alto pH estão predominantemente em forma de carbonatos e fosfatos minerais insolúveis, enquanto em baixo pH estão em sua espécie iônica livre (MACEK; MACKOVA, 2011).

## 1.3 MÉTODOS TRADICIONAIS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS: PONTOS POSITIVOS E NEGATIVOS

As tecnologias tradicionais de tratamento são sobretudo baseadas em processos físico-químicos, eletroquímicos e de oxidação (MACEK; MACKOVA, 2011). Processos biológicos são amplamente utilizados no tratamento de águas residuais municipais e industriais, sendo considerados mais baratos que os processos químicos e físicos. Entretanto, os processos biológicos são utilizados para remoção de demanda química de oxigênio biodegradável (COD) e substâncias relativamente hidrolisáveis, não sendo específicas para metais traço (AZIMI *et al.*, 2017). A seguir, os principais métodos serão brevemente descritos, assim como suas vantagens e limitações.

Os tratamentos eletroquímicos são considerados mais eficientes e compactos que outros métodos, porém possuem um alto custo e necessitam de alto fornecimento de energia elétrica

(AZIMI *et al.*, 2017). A eletrocoagulação, eletroflotação e eletrodeposição se encaixam nessa categoria. A eletrocoagulação é um processo em que se aplica uma baixa corrente elétrica na solução residual. O poluente é retido pelas cargas elétricas da superfície da solução ou por ligações de hidrogênio e depois há a neutralização das cargas eletrostáticas que estão retendo o poluente, fazendo com que este seja coagulado da fase líquida (AZIMI *et al.*, 2017). O processo de eletrocoagulação é considerado *environment-friendly*, pois não necessita a adição de reagentes químicos, os flocos produzidos podem ser facilmente removidos da solução através de filtração, e é facilmente operado. Eletrodeposição é um método de apenas um passo, onde condutores iônicos reduzem e oxidam os íons de metal dissolvidos na solução em partículas sólidas (CHEN; LIM, 2005). Entre as vantagens se destacam: não necessita adição de reagentes, é altamente seletivo e possui baixo custo (AZIMI *et al.*, 2017).

Processos físico-químicos incluem: precipitação química, troca iônica e adsorção. A precipitação química é um processo extremamente difundido no tratamento de águas residuais (KU; JUNG, 2001). Neste processo, reagentes químicos são utilizados para reagir com os íons de metal pesado e precipitá-los em partículas sólidas insolúveis. Os sólidos da solução são separados pelo processo de sedimentação ou filtração (FU; WANG, 2011). Um grande problema dessa técnica é o uso de grandes quantidades de agentes precipitantes químicos necessários para reduzir os íons metálicos às partículas sólidas insolúveis, que geram poluição posteriormente (AZIMI *et al.*, 2017).

Um outro processo físico-químico de remoção de metais é a Osmose Reversa (OR). De acordo com Bhattacharya *et al.* (2002) a remoção de metais por osmose reversa (OR) requer pressão externa para reverter o fluxo osmótico natural. Conforme a pressão é aplicada à solução salina, a água flui de uma solução salina mais concentrada através da membrana semipermeável. A membrana OR tem uma superfície microporosa fina que rejeita impurezas, mas permite a passagem de água. A membrana rejeita bactérias, pirogênios e 85-95% dos sólidos inorgânicos, especialmente os íons polivalentes, que são rejeitados com mais eficiência do que os íons monovalentes. A efetividade do processo de OR depende da química da água de entrada. A eficácia do OR foi observada para uma ampla faixa de pH (3–11), sendo bastante versátil, mas muito cara.

## 1.4 BIOSSORÇÃO

Um tratamento alternativo de águas residuais é o processo de bioissorção, que utiliza o mecanismo de sorção, processo de transferência de massa onde uma substância em fase líquida se adere à superfície de um sólido através de interações químicas e/ou físicas (MACEK; MACKOVA, 2011). Os principais fenômenos no processo de bioissorção são a adsorção, troca iônica, complexação e precipitação (CAROLIN et al., 2017). Diferente da bioacumulação, onde há um sequestro ativo e mediado por transporte metabólico, a bioissorção é um processo completamente passivo. Entre os materiais empregados como biosorventes estão microrganismos mortos como bactérias, algas, leveduras, plantas e resíduos industriais e agrícolas (MACEK; MACKOVA, 2011; CAROLIN et al., 2017). A troca iônica é o intercâmbio de íons pela perda ou ganho de elétrons, e é predominantemente envolvido na bioissorção de metais em biomassa algal (NAJA; VOLESKY, 2011). A capacidade e afinidade de um biomaterial em adsorver metais é influenciada pelas cargas positivas e negativas dos grupos funcionais da sua composição. Constituintes proteicos, compostos fenólicos e carboidratos contém grupos funcionais variados, fazendo com que a atração químico-física pela substância-alvo seja alterada (VOLESKY, 2001).

Como pode ser visto no trabalho de Carolin *et al.* (2017), ao contrário das técnicas convencionais de tratamento de águas residuais, a bioissorção continua sendo efetiva mesmo quando as concentrações de metal são baixas. Além disso, o biomaterial juntamente com a substância adsorvida podem ser facilmente removidos da solução através de separações sólido-líquido, como filtração, centrifugação e decantação. Posteriormente o biomaterial e metal podem ser separados também, possibilitando sua recuperação (NAJA; VOLESKY, 2011). Apesar de ser um processo amplamente estudado, a bioissorção não é utilizada de forma significativa em escala industrial. Isso é provavelmente devido à falta de conhecimento sobre os diversos fatores que influenciam os mecanismos no processo de bioissorção.

## 1.5 ZINCO

O zinco é um elemento-traço essencial para o funcionamento de diversos processos bioquímicos (XUE; KISTLER; SIGG, 1995; ENNIGROU; ALI; DHAHBI, 2014). Isso porque ele age como um importante cofator enzimático de proteínas como a anidrase carbônica, superóxido dismutase e RNA polimerase, além de ser um estabilizador estrutural para proteínas, membranas e proteínas ligantes de DNA (VALLEE; AULD, 1990). Apesar disso, também é um metal pesado,



podendo, em altas concentrações, tornar-se tóxico (BARROS, 2001; GAAD, 1993). As indústrias que mais emitem este metal são as indústrias petroquímicas, galvânicas, de fertilizantes e usinas siderúrgicas (CRISTIAN et al., 2015; ENNIGROU; ALI; DHAHBI, 2014).

Nota-se que metais-traço são geralmente, persistentes, tóxicos e bioacumulativos, causando impacto em toda a cadeia alimentar, e podendo afetar os seres humanos negativamente através do consumo de organismos aquáticos (AMIARD et al., 1987). Em seres humanos o excesso de zinco pode causar dor, vômito, inflamação cutânea, febre e anemia (CRISTIAN et al., 2015). Em algas, o excesso de zinco ocasiona redução na divisão e mobilidade celular, no teor total de clorofila, na atividade da ATPase e na razão clorofila/carotenóides em microalgas (OMAR, 2002).

#### 1.6 *Ulva* sp.



**Figura 1** - *Ulva* sp.

Fonte: M.D. Guiry.

O gênero *Ulva* (Figura 1) é cosmopolita, possuindo representantes em todos os oceanos e estuários do mundo. O talo maduro é uma lâmina lisa formada por duas camadas celulares independentes, porém aderidas muito proximamente. As lâminas podem variar entre espécies e fases da vida do organismo, desde lâminas lobadas irregularmente, lineares, lanceoladas a amplamente expandidas. Estão usualmente aderidas ao substrato através de células rizoidais na porção final da lâmina. A reprodução vegetativa é realizada através de fragmentação ou por crescimento de novos talos a partir de células basais. Com exceção das células rizoidais e algumas

células basais, todas as outras células da lâmina são capazes de se tornarem reprodutivas. A história da vida é tipicamente alternada entre isomórfica, gametófitos haploides unissexuais e esporófito diploide (GUIRY, 2021).

**Domínio** Eucariota

**Reino** Plantae

**Sub-reino** Viridiplantae

**Infra-reino** Chlorophyta

**Filo** Chlorophyta

**Sub-filo** Chlorophytina

**Classe** Ulvophyceae

**Ordem** Ulvales

**Família** Ulvaceae

**Gênero** *Ulva*

### 1.7 *Desmodesmus subspicatus*



**Figura 2** - *Desmodesmus subspicatus*

Fonte: Howard Matcham.

O gênero de microalga verde *Desmodesmus* (Figura 2) é de comum ocorrência em águas continentais, especialmente em ambientes ricos em nutrientes. São importantes componentes da comunidade fitoplancctônica, pois são muito representativos em sua composição. Muitas espécies crescem facilmente em cultivo, sendo por esse motivo usadas em estudos químicos e fisiológicos

(HENTSCHKE; TORGAN, 2010). *Desmodemus subspicatus* é uma das principais espécies utilizadas e padronizadas para testes ecotoxicológicos, onde se avalia a inibição de seu crescimento por tóxicos.

**Domínio** Eucariota

**Reino** Plantae

**Sub-reino** Viridiplantae

**Infra-reino** Chlorophyta

**Filo** Chlorophyta

**Sub-filo** Chlorophytina

**Classe** Chlorophyceae

**Ordem** Sphaeropleales

**Família** Scenedesmaceae

**Subfamília** Desmodesmoideae

**Gênero** *Desmodemus*

## 1.8 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS

Levando em conta que análises químicas não permitem a avaliação dos efeitos das substâncias sobre os seres vivos, testes ecotoxicológicos se tornam indispensáveis. Isso porque muitas vezes os sistemas biológicos reagem a concentrações bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análise química (KNIE; LOPES, 2004). A ecotoxicologia revela, através de ensaios com organismos e matéria viva, efeitos agudos ou crônicos, produzidos por substâncias químicas. Testes de toxicidade são ensaios realizados em laboratório sob condições experimentais específicas e controladas, e possuem como objetivo estimar a toxicidade de substâncias. Os organismos-teste utilizados nesses ensaios são expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados (COSTA *et al.*, 2008). Apesar de os resultados de experimentos laboratoriais não poderem ser extrapolados de forma direta aos ecossistemas, esses testes fornecem informações e indicações sobre possíveis riscos e efeitos prejudiciais ao meio ambiente, servindo, assim, como sistemas preventivos de proteção e alerta (KNIE; LOPES, 2004).

Considerando que a sobrevivência humana depende do bem-estar de outras espécies e da disponibilidade de ar, água, solo e alimentos limpos, e que a poluição ambiental aquática afeta de forma danosa os organismos vivos e processos biológicos, torna-se essencial o estudo dos impactos causados por essas substâncias e maneiras de mitigá-los. Assim, a busca por novas tecnologias para o tratamento de águas contaminadas é cada vez mais importante.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

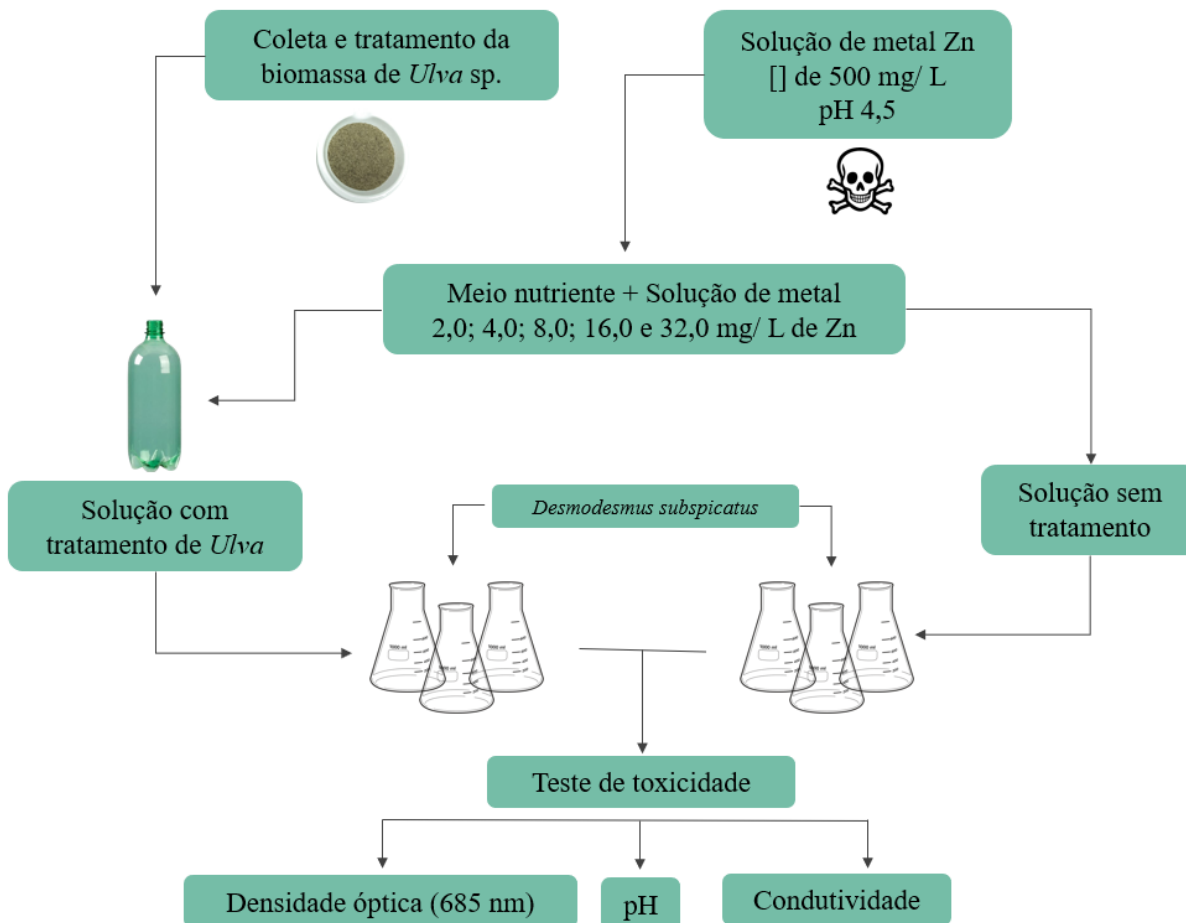
Avaliar o potencial da utilização da biomassa seca de algas do gênero *Ulva* para a remoção do zinco em solução aquosa, através da redução da toxicidade dessas soluções para a microalga *Desmodesmus subspicatus*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a toxicidade de solução aquosa com zinco para a cepa de *Desmodesmus subspicatus* do LAFIC;
- Avaliar a capacidade de remoção da toxicidade de Zn para *D. subspicatus* em soluções aquosas através da adsorção em biomassa de *Ulva* spp.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 3 ilustra a metodologia utilizada no presente trabalho.



**Figura 3** – Infográfico do delineamento experimental.

Fonte: Elaborado pela autora.

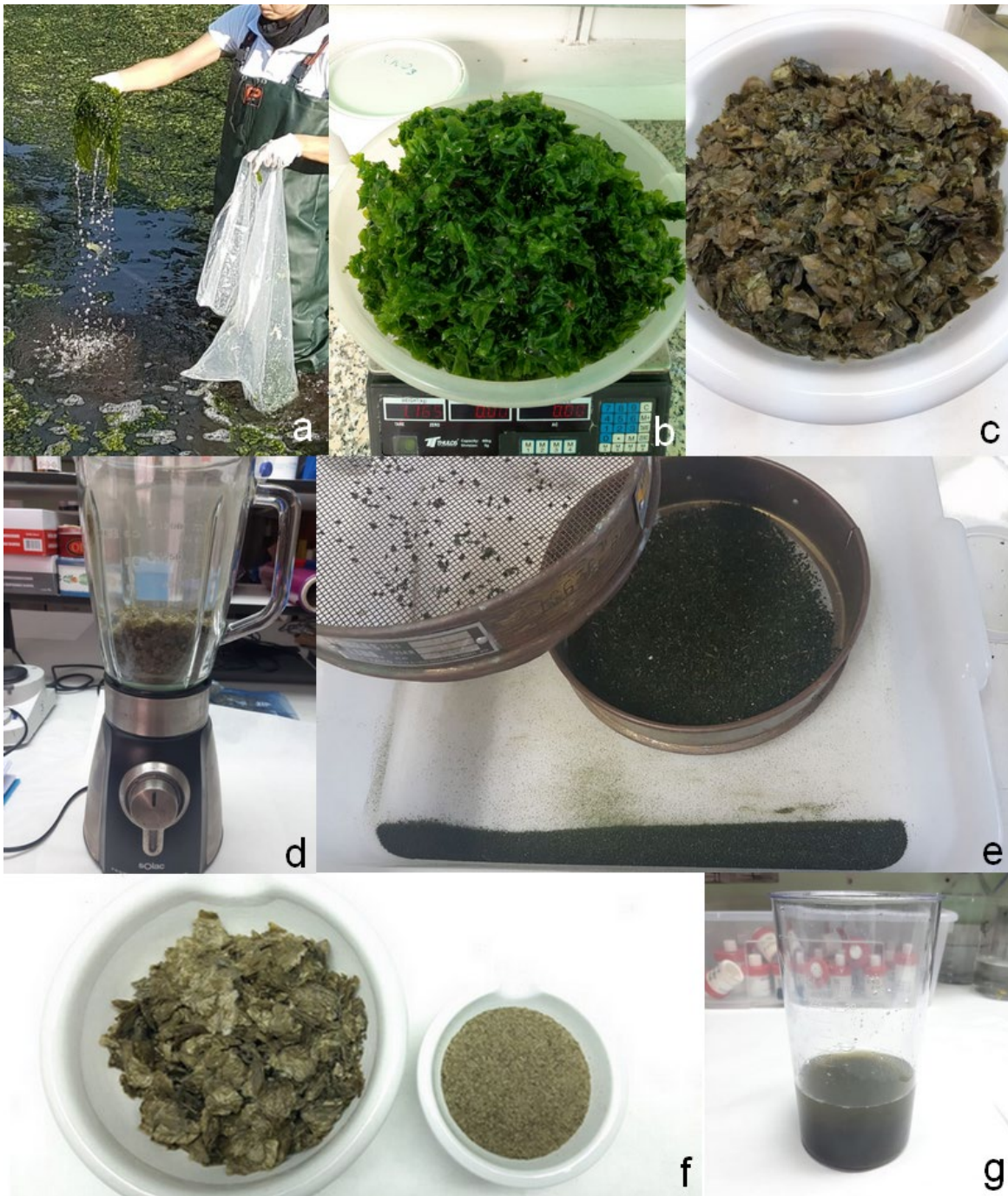
#### 3.1 COLETA E TRATAMENTO DA BIOMASSA DE *Ulva*

A biomassa de *Ulva* sp. utilizada para este estudo foi coletada na lagoa de decantação do Laboratório de Moluscos Marinhos localizada na Universidade Federal de Santa Catarina nos meses de junho e julho de 2019 (Figura 4). Após a coleta, as algas foram lavadas várias vezes com água doce para remoção de impurezas e sal. A biomassa foi seca em estufa a 60° por 72 horas. Após secagem a biomassa foi triturada em liquidificador e peneirada para obtenção de partículas no tamanho entre 0.0425-2.0 cm (Figura 5). A biomassa obtida foi armazenada em freezer (-20°C).



**Figura 4** - Local de coleta da macroalga *Ulva* sp. Lagoa de decantação localizada na Estação de Maricultura da Barra da Lagoa (UFSC). A lagoa faz parte de um complexo de lagoas adjacentes à Lagoa da Conceição, Florianópolis.

Fonte: Eduardo de Oliveira Bastos.



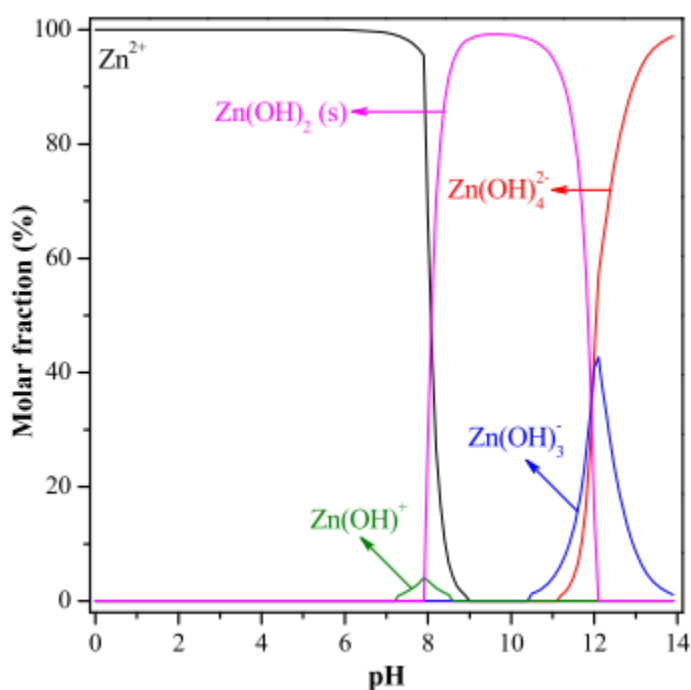
**Figura 5** – Compilado do processo de coleta e tratamento da *Ulva* sp. Coleta (a), lavagem e pesagem (b), secagem (c), trituração (d) e peneiramento (e) da alga. Comparação da alga seca e da biomassa peneirada (f). Biomassa em solução com metal (g).

Fonte: Elaborado pela autora.



### 3.2 SOLUÇÃO ESTOQUE DE ZINCO

Para realização dos testes foi feita solução estoque de Cloreto de Zinco ( $\text{ZnCl}_2$ ) (Vetec) em concentração de  $500 \text{ mg L}^{-1}$ . A solução estoque foi preparada diluindo o sal em água ultrapura (Mili-Q) a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Após a dissolução do sal o pH da solução estoque foi ajustado para 4.5 para garantir total solubilização do sal e obtenção de uma solução de metal com íons ( $\text{Zn}^{2+}$ ) (Figura 6) e força iônica de  $0,01224 \text{ mol L}^{-1}$ . A solução foi mantida em recipiente de plástico para evitar a aderência do metal nas paredes do mesmo.



**Figura 6** – Distribuição das espécies de zinco em função do pH da solução aquosa.

Fonte: Mazur *et al.* (2018)

### 3.3 ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA UTILIZANDO *Desmodesmus subspicatus*

#### 3.3.1 Cepa, manutenção de culturas e inóculo

Microalgas da espécie *Desmodesmus subspicatus*, considerada organismo modelo para testes ecotoxicológicos, foram obtidas do banco de cepas do Laboratório de Ficologia, Universidade Federal de Santa Catarina. Os cultivos foram mantidos em meio de cultivo BBM (composição em anexo A) sob condição de fotoperíodo 12:12, temperatura de  $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  e irradiância de  $65 \pm 5 \text{ } \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

### 3.3.2 Procedimentos para realização dos testes ecotoxicológicos

Os testes ecotoxicológicos foram realizados seguindo o protocolo de Knie e Lopes (2004) para avaliar os efeitos agudos do metal zinco em *Desmodesmus subspicatus* após 72 e 96 horas de exposição ao metal. Os frascos foram agitados em mesa orbital a 120 rpm e ficaram sob as mesmas condições descritas acima. Os Erlenmeyer foram distribuídos de forma aleatória no shaker para minimizar eventuais diferenças espaciais de luminosidade e temperatura.

Foram utilizados Erlenmeyer de boca larga de 250 mL. Previamente a realização dos testes de ecotoxicológicos, todas as vidrarias foram lavadas com ácido nítrico 10% para remoção de resquícios de metal. Durante os experimentos os recipientes foram vedados com filme plástico para evitar a evaporação durante os ensaios e foram preenchidos até 200 mL.

Seguindo o protocolo, para os testes de toxicidade a solução nutriente (Tabela 1) foi preparada a partir de soluções estoque (Tabela 2) e autoclavado a 121 °C por 15 minutos. Depois de esfriar a solução nutriente, eram adicionados 3 g L<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio. Essa solução era utilizada como controle e como branco nas amostras testadas.

**Tabela 1** - Solução nutriente preparada a partir da solução estoque de meios

Solução-estoque	Volume
I	10 mL
II	1 mL
II	1 mL
Bicarbonato de sódio	3 g

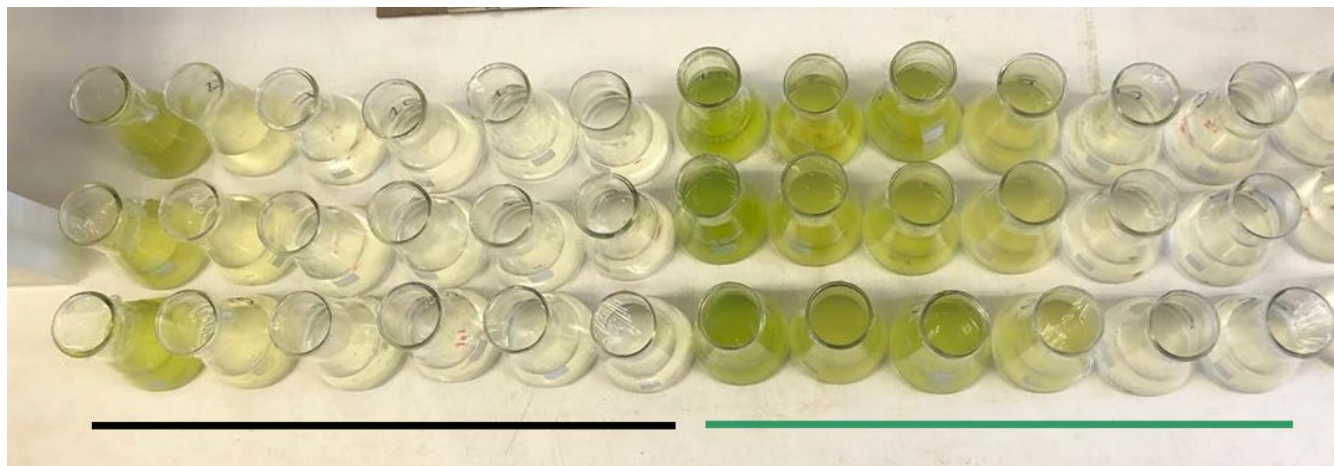
**Tabela 2** - Soluções estoque do meio nutriente modificado

Reagente	Fórmula	Concentração por litro
<b>Solução I (sais nutrientes)</b>		
Cloreto de amônia	NH <sub>4</sub> Cl	1,5 g
Cloreto de magnésio	MgCl <sub>2</sub>	0,562 g
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	1,8 g
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	1,5 g
Fosfato de potássio monobásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16 g
<b>Solução II (complexo de ferro)</b>		
Cloreto férrico hexa-hidratado	FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	80 mg

<b>Solução III (microelementos)</b>		
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	185 mg
Cloreto de manganês tetra-hidratado	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	415 mg
Cloreto de cobalto hexa-hidratado	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	1,5 mg
Cloreto de cobre di-hidratado	CuCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,01 mg
Molibdato de sódio di-hidratado	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	7 mg

Fonte: Knie e Lopes (2004).

A solução estoque de zinco foi diluída no meio nutriente, obtendo as seguintes concentrações: 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 e 32,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn (Figura 7). As concentrações foram determinadas baseadas em concentrações limitantes de crescimento de *D. subspicatus* em metal zinco segundo os trabalhos de Guclu e Ertan (2012), Monteiro *et al.* (2010) e Kumar, King e Prasad (2007). Para o experimento testando a biomassa de *Ulva* sp. como agente biorremediador, a solução estoque de zinco foi diluída no meio nutriente dentro de garrafas PET nas concentrações previamente descritas e adicionou-se 1 g L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *Ulva* sp às soluções. As garrafas foram então colocadas em mesa agitadora por 2 h. Após, as soluções foram filtradas com membrana de fibra de vidro GF/A com 1,6 µm de porosidade para retirada da biomassa e então distribuídas nos Erlenmeyer.



**Figura 7** - Frascos de Erlenmeyer com as concentrações limitantes durante o experimento. A linha preta delimita os frascos sem o tratamento com biomassa de *Ulva* sp. enquanto a linha verde delimita os frascos que receberam o tratamento.

Fonte: LAFIC.

### 3.3.3 Concentração efetiva mediana (-CE<sub>50</sub>)

A inibição do crescimento microalgal foi medido através do parâmetro biótico de densidade óptica (Espectrofotômetro UV- visível Global Analyzer) em comprimento de onda de 685 nm. Esse parâmetro biótico foi medido nos tempos de 0, 48, 72 e 96 horas, sendo 0 a medida no tempo inicial após a inoculação das algas nos diferentes tratamentos. Parâmetros abióticos de pH (Orion Star A211 - Thermo Scientific) e condutividade (NI CVP – Nova Instruments) foram medidos nos tempos de 0, 72 e 96 horas.

Utilizando-se os dados iniciais e finais de cada amostragem, calculou-se as taxas de crescimento algal através da equação de crescimento exponencial (Equação 1).

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n} \quad (1)$$

Onde:

$\mu$ : taxa de crescimento celular;

$N_n$ : densidade óptica final;

$N_0$ : densidade óptica inicial;

$t_n$ : tempo medido final (=72 ou 96h).

As taxas de crescimento das amostras foram comparadas com as taxas de crescimento do controle, gerando, para cada amostra, um valor de percentual de inibição em relação ao controle (Equação 2).

$$l_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$l_{\mu i}$ : percentagem de inibição para o teste na concentração i;

$\mu_i$ : taxa de crescimento médio para o teste na concentração i;

$\mu_c$ : taxa de crescimento para o controle.

### 3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise estatística foi utilizado o programa SigmaPlot, versão 14.0, aplicando-se o teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância, e a análise de variância (ANOVA) de acordo com os tratamentos analisados. Também foram realizadas múltiplas comparações dos tratamentos com o grupo controle utilizando o método de Holm-Sidak com significância de 5%.

Os dados de inibição foram analisados estatisticamente utilizando ANOVA para verificar a significância dos valores. A maior concentração do efluente que se apresentou significativamente igual ao controle foi considerada o CENO (concentração de efeito não observado). Concentrações maiores, ou seja, diluições menores, foram consideradas efetivas. A menor concentração do efluente que se apresentou efetiva foi considerada o CEO (concentração de efeito observável). Utilizando os dados de inibição foi calculada a Concentração Efetiva Mediana ( $CE_{50}$ ), que é a concentração percentual que inibe 50% da taxa de crescimento das algas, considerando-se os controles como referência. Esse cálculo foi realizado através do método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de crescimento dos testes de toxicidade com e sem a utilização do tratamento de biomassa seca de *Ulva* (Tabela 3 e 4) foram calculadas e as curvas de crescimento (Figura 8) delineadas. Elas demonstraram que no experimento em que foi utilizado o tratamento de biomassa de *Ulva*, o crescimento celular do controle e das três primeiras concentrações de zinco (C1, C2 e C3) não diferem de forma significativa, podendo indicar uma efetividade do tratamento em sequestrar íons de zinco livres na solução. Na curva de crescimento sem o tratamento, todas as concentrações possuem crescimento celular significativamente diferente do controle.

**Tabela 3** - Taxas de crescimento no teste de toxicidade com tratamento para *Desmodesmus subspicatus*.

Concentração original (mg L <sup>-1</sup> )	Taxa de crescimento 48 h	T estatístico	Taxa de crescimento 72 h	T estatístico	Taxa de crescimento 96 h	T estatístico
0 (controle)	0,770 ± 0,099		0,642 ± 0,060		0,561 ± 0,042	
2 (C1)	1,027 ± 0,141	1,827	0,790 ± 0,107	1,645	0,647 ± 0,086	1,541

4 (C2)	0,832 ± 0,098	0,443	0,692 ± 0,065	0,554	0,618 ± 0,041	1,026
8 (C3)	0,675 ± 0,058	0,674	0,556 ± 0,055	0,961	0,516 ± 0,040	0,799
16 (C4)	0,227 ± 0,154	3,861*	0,076 ± 0,116	6,320*	-0,027 ± 0,113	10,539*
32 (C5)	0,102 ± 0,333	4,745*	-0,122 ± 0,190	8,532*	-0,223 ± 0,050	14,048*

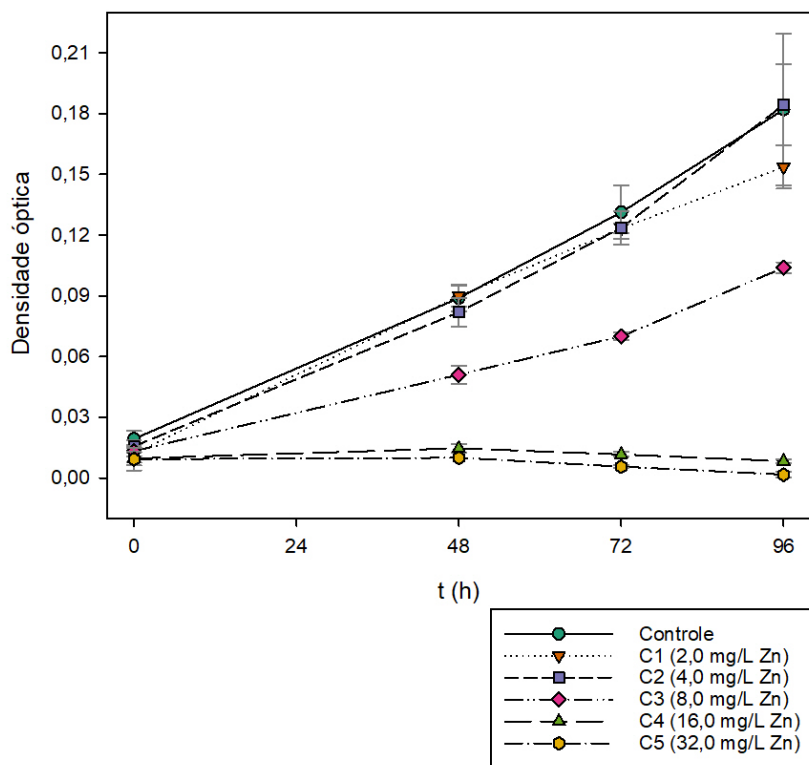
Os dados estão expressos em média ± DP (n=3). \* demonstram taxas de crescimento significativamente menores em relação ao controle.

**Tabela 4** - Taxas de crescimento no teste de toxicidade sem tratamento para *Desmodemus subspicatus*.

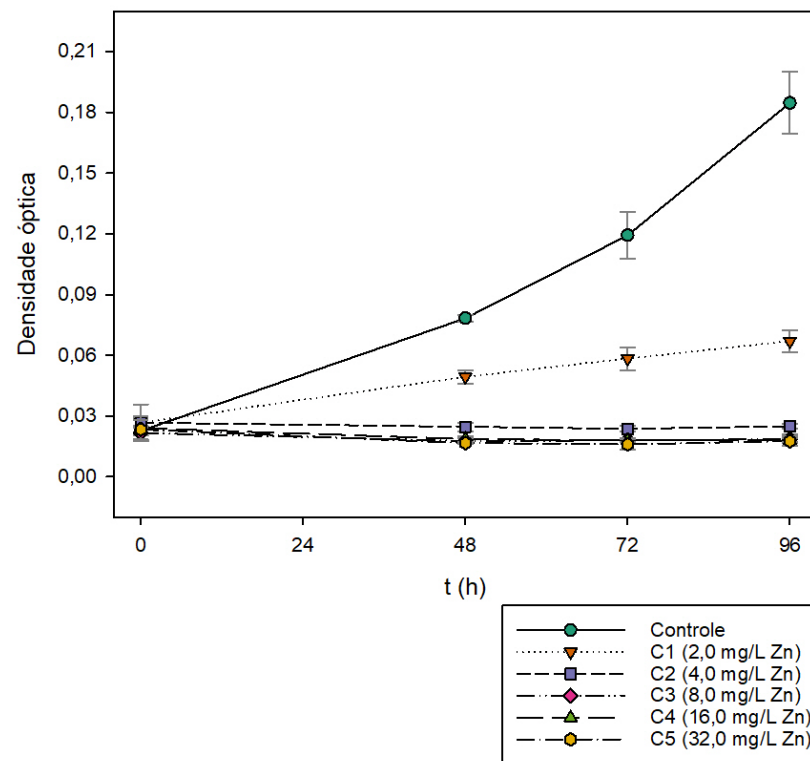
Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Taxa de	T estatístico	Taxa de	T estatístico	Taxa de	T estatístico
	crescimento 48 h		crescimento 72 h		crescimento 96 h	
0 (controle)	0,621 ± 0,061		0,553 ± 0,041		0,524 ± 0,036	
2 (C1)	0,308 ± 0,034	4,077*	0,260 ± 0,008	6,168*	0,230 ± 0,007	7,434*
4 (C2)	-0,022 ± 0,168	8,372*	-0,028 ± 0,100	12,245*	-0,007 ± 0,088	13,436*
8 (C3)	-0,099 ± 0,035	9,377*	-0,059 ± 0,038	12,904*	-0,036 ± 0,031	14,170*
16 (C4)	-0,116 ± 0,102	9,593*	-0,089 ± 0,079	13,525*	-0,066 ± 0,059	14,940*
32 (C5)	-0,161 ± 0,090	10,177*	-0,124 ± 0,026	14,261*	-0,067 ± 0,019	14,960*

Os dados estão expressos em média ± DP (n=3). \* demonstram taxas de crescimento significativamente menores em relação ao controle.

Curvas de crescimento microalgal com tratamento



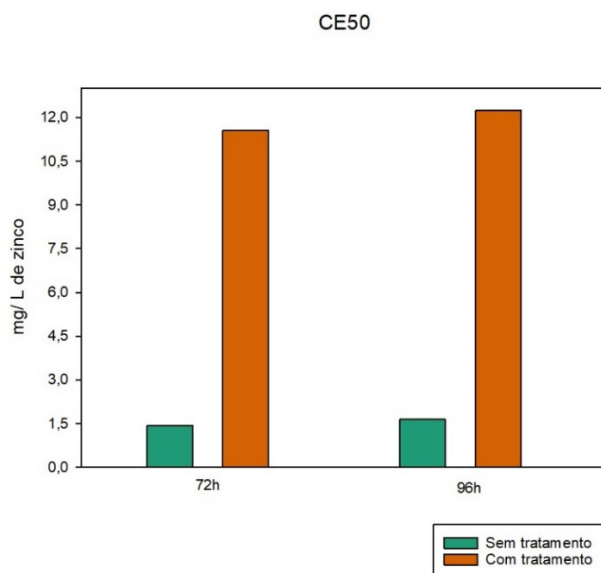
Curvas de crescimento microalgal sem tratamento



**Figura 8** - Curvas de crescimento microalgal de *Desmodesmus subspicatus* em diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio utilizando biomassa de *Ulva* através do método de leitura da turbidez em espectrofotômetro (685 nm). As barras de erro indicam o desvio padrão das médias (n=3).

Assim, pode-se notar que o crescimento algal foi inibido com o aumento das concentrações de zinco nas soluções. Isto já foi reportado em trabalhos como dos autores Monteiro *et al.* (2010) e Dinesh *et al.* (2014). Esse efeito inibitório ocorre, pois, como pode ser visto em Nalimova *et al.* (2005), o zinco afeta praticamente todos os processos fisiológicos, como a divisão celular, funcionamento da membrana, fotossíntese e respiração. Além disso, esse micronutriente quando em excesso causa a competição para captação de outros íons metálicos, gerando uma deficiência de metais essenciais como cobre, ferro e magnésio. Isso gera o distúrbio na fotossíntese e conseqüentemente reduz a fixação de carbono e produção de energia. Como efeito final dessa cascata temos a redução do crescimento e multiplicação celular. O distúrbio na fotossíntese gera indiretamente espécies reativas de oxigênio, e com o aumento dessas espécies dentro das células, ocorre a peroxidação de lipídeos, novamente levando a redução de fixação de carbono e produção de energia, ou seja, reduzindo o crescimento celular (KÜPPER; ANDRESEN, 2016).

Foi observado um aumento aparente no valor de CE<sub>50</sub> no teste em que o tratamento foi aplicado (Figura 9). Não houve um processo de redução efetiva de toxicidade da solução aquosa com zinco, esse resultado apenas demonstrou que a concentração tóxica no teste sem tratamento deixou de ser tóxica após o tratamento, ou seja o toxicante Zn teve sua concentração reduzida pelo tratamento. Assim, esse aumento aparente pode ser utilizada como indicativo da remoção de zinco da solução.



**Figura 9** - Gráfico de barras com a Concentração Efetiva Mediana (CE<sub>50</sub>) em mg L<sup>-1</sup> de zinco para o teste ecotoxicológico com e sem tratamento da biomassa de *Ulva* nos tempos de 72 h e 96 h.



O teste de toxicidade onde não se utilizou a biomassa de *Ulva* como tratamento resultou numa CEO de 2 mg L<sup>-1</sup> (C1) para o tempo de 72 h e 96 h, e não foi encontrado CENO pois este seria menor que a menor concentração de zinco testada. O valor de CE<sub>50</sub> calculado pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977) foi de 1,43 mg L<sup>-1</sup> no tempo de 72 h e de 1,64 mg L<sup>-1</sup> no tempo 96 h. Assim, em ambos casos a toxicidade ou efeito tóxico diminuem com o tempo.

O teste utilizando biomassa de *Ulva* resultou numa CEO de 16 mg L<sup>-1</sup> (C4) e CENO de 8 mg L<sup>-1</sup> (C3) para o tempo de 72 h e 96 h; o valor de CE<sub>50</sub> calculado foi de 11,56 mg L<sup>-1</sup> no tempo de 72h e 12,23 mg L<sup>-1</sup> no tempo 96h. Esses aumentos de CE<sub>50</sub> indicam que o tratamento reduziu em cerca de 7 a 8 vezes a toxicidade das soluções, o que é um resultado altamente relevante.

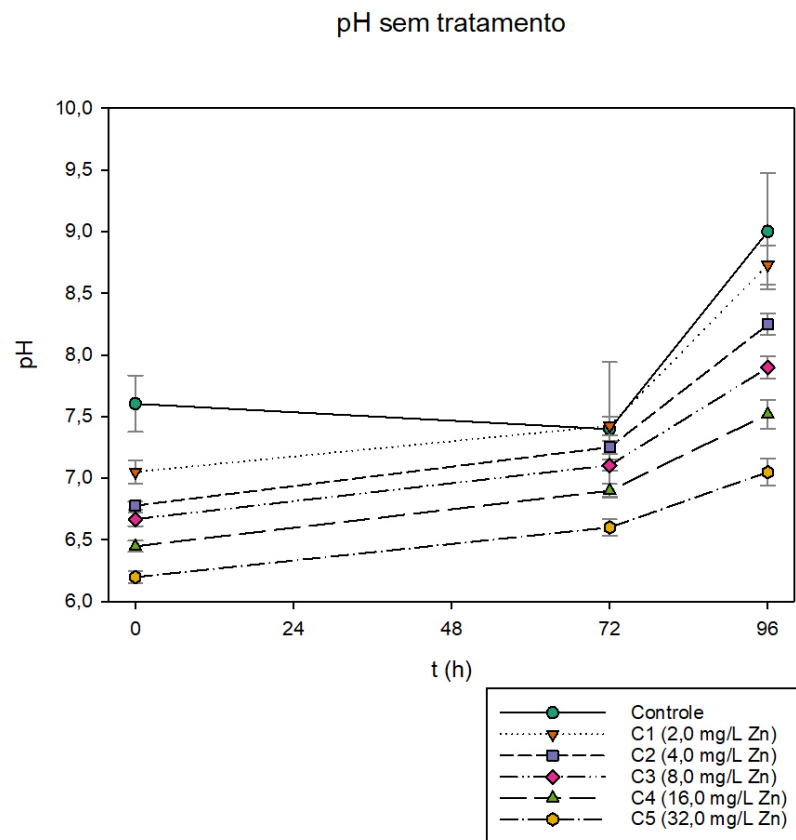
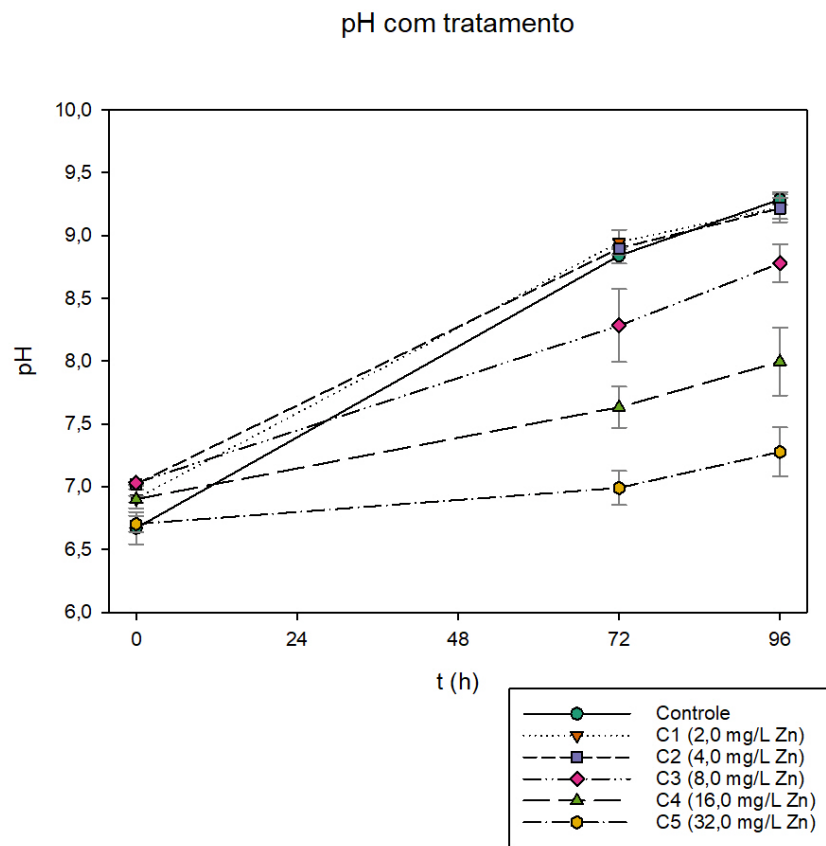
Monteiro *et al.* (2010) encontrou valores de EC<sub>50</sub> de 16,99 e 4,87 mg/ L<sup>-1</sup> para Zn em 96h para as espécies *Scenedesmus obliquus* e *Desmodesmus pleiomorphus*, respectivamente, e considerou as linhagens utilizadas mais tolerantes que outras descritas na literatura. Em seu trabalho, Tripathi e Gaur (2006) obtiveram 50% de redução no número de células depois de expor *Scenedesmus* sp. a 1,64 mg L<sup>-1</sup> de Zn por 48 h. No trabalho de Rojíčková e Maršálek (1999), *D. subspicatus* apresentou EC<sub>50</sub> de 0,767 mg L<sup>-1</sup>. Entretanto, Guclu e Ertan (2012) encontraram o valor de EC<sub>50</sub> 2,257 mg L<sup>-1</sup> para a mesma alga. Assim, a linhagem de *D. subspicatus* utilizada neste trabalho aparenta ser mais sensível que as microalgas utilizadas por Monteiro *et al.* (2010) e que a *D. subspicatus* do trabalho de Guclu e Ertan (2012), porém, mais tolerantes que a *Scenedesmus* sp. utilizada por Tripathi e Gaur (2006) e *D. subspicatus* de de Rojíčková e Maršálek (1999).

O pH é um dos parâmetros mais importantes pois influencia na disponibilidade dos metais traço, tanto no contexto de seu sequestro quanto na sua biodisponibilidade e também o crescimento algal. Sua variação durante os experimentos pode ser visualizada na Figura 10. O aumento de pH em ambos gráficos pode ter sido causado, entre outros fatores, pelo crescimento celular das microalgas, que reduz o teor de CO<sub>2</sub> e por consequência aumenta o pH. O dióxido de carbono dissolvido em solução pode existir em três espécies, e sua especiação é dependente do pH. A espécie dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é encontrada em abundância quando o pH é menor que 5. Do pH 6 a 9, a espécie mais comum dissolvida é o bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Já em alto pH, a partir de 9, a espécie mais encontrada é o carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), o qual não é utilizado pelas algas. Assim, o alto

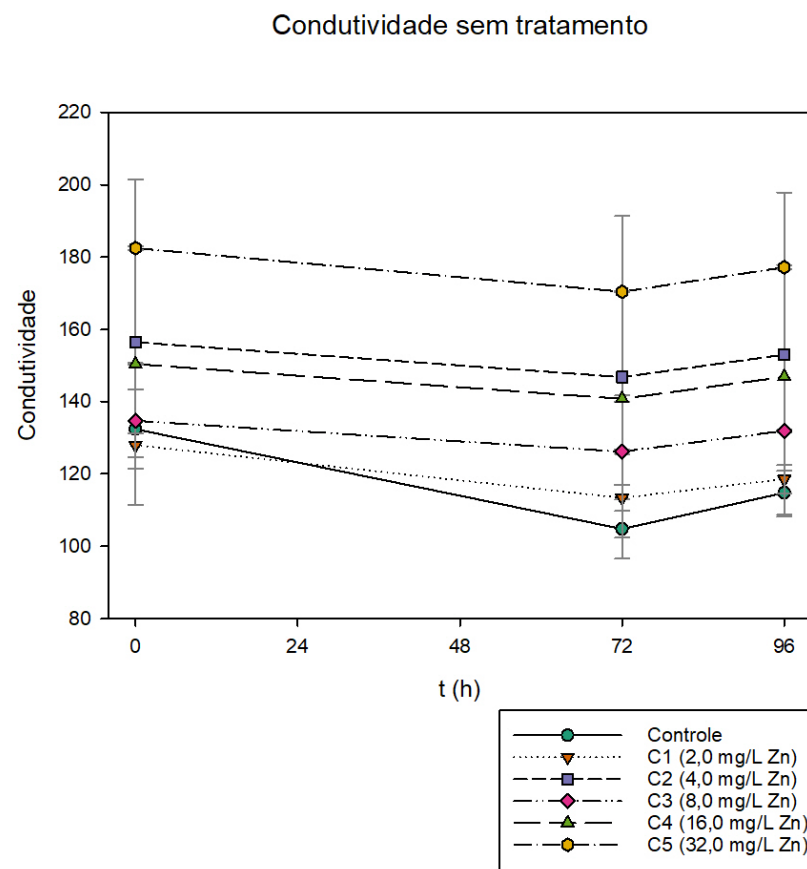
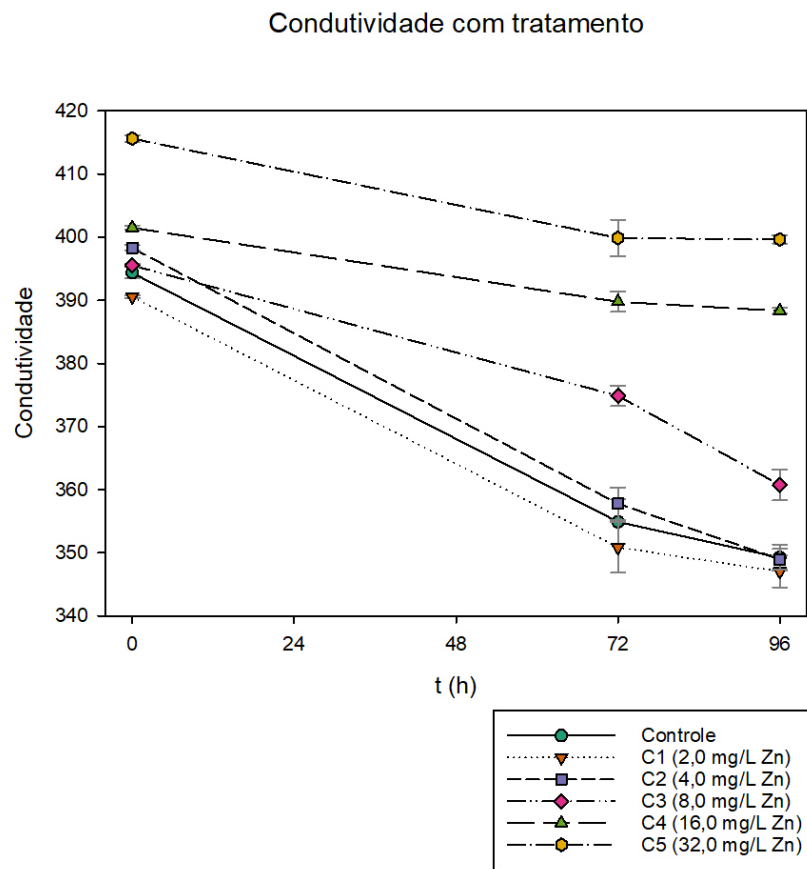
pH registrado nas últimas horas no teste pode ter também contribuído para uma menor taxa de crescimento algal.

Nos frascos sem o tratamento com biomassa de *Ulva* a elevação de pH só foi verificada em 96h. Para o controle e a C1 essa elevação pode estar relacionada a um pulso de crescimento, após uma fase lag mais longa induzida pela maior presença de zinco no meio. Entretanto, o aumento se deu também nas concentrações onde, pelos dados de densidade óptica, houve baixo crescimento.

A partir das medições de condutividade (Figura 11), notam-se, desde o tempo zero, maiores valores nos frascos em que houve utilização da biomassa de *Ulva* como tratamento. Tal discrepância pode estar vinculada a liberação de sais residuais, inclusive cloreto de sódio, presentes na biomassa. Isso chama a atenção para um possível problema osmótico sobre as microalgas como resultado dessa liberação de sais da biomassa, sendo importante aprimorar o processo de lavagem da biomassa com água doce antes do processamento. A redução da condutividade ao longo do tempo está relacionada tanto ao processo gradual de bioadsorção como à absorção de íons nutrientes pelas microalgas (NAJA; VOLESKY, 2006). Assim, pode-se inferir que, houve adsorção não só de zinco da solução, mas também de outros íons. Nos frascos sem o tratamento com biomassa de *Ulva* o incremento de condutividade no tempo final (96h) pode estar relacionado a liberação de sais pela mortalidade celular.



**Figura 10** - Variação de pH durante os experimentos nas diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio utilizando biomassa de *Ulva*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias (n=3).



**Figura 11** - Variação de condutividade durante os experimentos nas diferentes concentrações de zinco com e sem o tratamento prévio utilizando biomassa de *Ulva*. As barras de erro indicam o desvio padrão das médias (n=3).

## 5 CONCLUSÃO

A cepa de *Desmodesmus subspicatus* estudada demonstrou uma tolerância intermediária ao zinco quando comparada a outras cepas e outras microalgas testadas.

O tratamento das soluções de zinco com biomassa seca de *Ulva* resultou em diminuição da toxicidade dessas soluções, indicando processo de adsorção desse metal com o tratamento.

O tratamento de soluções de zinco com biomassa seca de *Ulva* mostrou-se um processo efetivo para adsorção do metal e diminuição da toxicidade do meio aquoso, podendo ser aplicado testes para outros metais.

## REFERÊNCIAS

AMIARD, J.C. et al. Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology*, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 73-89, mar. 1987. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981\(87\)90148-1](http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981(87)90148-1).

AZIMI, Arezoo et al. Removal of Heavy Metals from Industrial Wastewaters: a review. *Chembioeng Reviews*, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 37-59, fev. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cben.201600010>.

BAIRD, Colin. *Química Ambiental*. Porto Alegre. Bookman, 2ed., 2002

BARROS, Almíria da Rosa Beckhauser de. **Remoção de íons metálicos em água utilizando diversos adsorventes**. 2001. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

BHATTACHARYA, P. *et al.* Arsenic in Groundwater of the Bengal Delta Plain Aquifers in Bangladesh. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.L.], v. 69, n. 4, p. 538-545, 1 out. 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-002-0095-5>.

CAMPBELL, Peter G. C.. Interactions between Trace Metals and Aquatic Organisms: A Critique of the Free-Ion Activity Model. In: TESSIER, André; TURNER, David R. (ed.). *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. New York: Wiley-Blackwell, 1996. p. 45-102.

CAROLIN, C. Femina et al. Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: a review. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 2782-2799, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2017.05.029>.

CHEN, J. Paul; LIM, L.I.. Recovery of precious metals by an electrochemical deposition method. **Chemosphere**, [s.l.], v. 60, n. 10, p. 1384-1392, set. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.001>.

COSTA, Carla Regina; OLIVI, Paulo; BOTTA, Clarice M. R.; ESPINDOLA, Evaldo L. G.. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, [s.l.], v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000700038>.

CRISTIAN, Petcu et al. Removal of zinc ions from model wastewater system using bicopolymer membranes with fumed silica. *Journal Of Water Process Engineering*, [S.L.], v. 8, p. 1-10, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.08.001>.

DAVIS, Thomas A.; VOLESKY, Bohumil; MUCCI, Alfonso. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*, [S.L.], v. 37, n. 18, p. 4311-4330, nov. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354\(03\)00293-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354(03)00293-8).

DINESH, Kumar S. et al. Effect of different dosages of zinc on the growth and biomass in five marine microalgae. *International Journal Of Fisheries And Aquaculture*, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-8, 7 jan. 2014. Academic Journals. <http://dx.doi.org/10.5897/ijfa2013.0393>.

FLORENCE, T.M.. Trace element speciation and aquatic toxicology. *Trac Trends In Analytical Chemistry*, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 162-166, jul. 1983. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-9936\(83\)87023-x](http://dx.doi.org/10.1016/0165-9936(83)87023-x).

FU, Fenglian; WANG, Qi. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 92, n. 3, p. 407-418, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>.

GADD, G.M.. Microbial formation and transformation of organometallic and organometalloid compounds. *Fems Microbiology Reviews*, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 297-316, ago. 1993. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00003.x>.

GUCLU, Zekiye; ERTAN, Omer Osman. Toxicity and Removal of Zinc in the Three Species (*Acutodesmus obliquus*, *Desmodesmus subspicatus* and *Desmodesmus armatus*) Belonging to the Family, *Scenedesmaceae* (Chlorophyta). **Turkish Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 309-314, jun. 2012. Central Fisheries Research Institute. [http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v12\\_2\\_16](http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v12_2_16).

GUIRY, M.D.. *Ulva* Linnaeus, 1753, nom. et typ. cons. Disponível em: [https://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus\\_id=33&sk=0](https://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=33&sk=0). Acesso em: 03 maio 2021.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, Easton, v.11, n.7, p.714-719. 1977.

HENTSCHKE, Guilherme Scotta; TORGAN, Lezilda Carvalho. Desmodesmus e Scenedesmus (Scenedesmaceae, Sphaeropleales, Chlorophyceae) em ambientes aquáticos na Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 585-601, dez. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201061403>.

KNIE, Joachim L. W.; LOPES, Ester W. B.. Teste com algas: inibição do crescimento e da fluorescência de scenedesmus subspicatus. In: KNIE, Joachim L. W.; LOPES, Ester W. B.. Testes Ecotoxicológicos: métodos técnicas e aplicações. Florianópolis: Fatma, 2004. p. 144-178.

KU, Young; JUNG, In-liang. Photocatalytic reduction of Cr(VI) in aqueous solutions by UV irradiation with the presence of titanium dioxide. **Water Research**, [s.l.], v. 35, n. 1, p. 135-142, jan. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354\(00\)00098-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0043-1354(00)00098-1).

KUMAR, Y. Prasanna; KING, P.; PRASAD, V.s.R.K.. Adsorption of zinc from aqueous solution using marine green algae—*Ulva fasciata* sp. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 129, n. 1-3, p. 161-166, maio 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2006.10.023>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894706004554>. Acesso em: 29 abr. 2021.

KÜPPER, Hendrik; ANDRESEN, Elisa. Mechanisms of metal toxicity in plants. *Metallomics*, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 269-285, 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1039/c5mt00244c>.

MACEK, Tomas; MACKOVA, Martina. Potential of Biosorption Technology. In: KOTRBA, Pavel; MACKOVA, Martina; MACEK, Tomas (ed.). **Microbial Biosorption of Metals**. [S. L.]: Springer, 2011. p. 7-18.

MAZUR, Luciana P. et al. Brown marine macroalgae as natural cation exchangers for toxic metal removal from industrial wastewaters: a review. *Journal Of Environmental Management*, [S.L.], v. 223, p. 215-253, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.086>.



MONTEIRO, Cristina M. *et al.* Toxicity of cadmium and zinc on two microalgae, *Scenedesmus obliquus* and *Desmodesmus pleiomorphus*, from Northern Portugal. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 97-103, 26 jun. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-010-9542-6>.

NAJA, Ghinwa; VOLESKY, Bohumil. Multi-metal biosorption in a fixed-bed flow-through column. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, [S.L.], v. 281, n. 1-3, p. 194-201, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.040>.

NAJA, Ghinwa; VOLESKY, Bohumil. The Mechanism of Metal Cation and Anion Biosorption. In: KOTRBA, Pavel; MACKOVA, Martina; MACEK, Tomas (ed.). *Potential of Biosorption Technology*. [S. L.]: Springer, 2011. p. 19-58.

NALIMOVA, A. A. *et al.* The effects of copper and zinc on *Spirulina platensis* growth and heavy metal accumulation in its cells. *Russian Journal Of Plant Physiology*, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 229-234, mar. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11183-005-0035-4>.

OMAR, H.H. Bioremoval of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and its effect on growth and metabolism. *International Biodeterioration & Biodegradation*, [S.L.], v. 50, n. 2, p. 95-100, set. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0964-8305\(02\)00048-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0964-8305(02)00048-3).

ROJÍČKOVÁ, Renata; MARLÁLEK, Blahoslav. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. *Chemosphere*, [S.L.], v. 38, n. 14, p. 3329-3338, jun. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535\(98\)00566-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0045-6535(98)00566-9).

TONIETTO, Alessandra Emanuele. *Especiação química de cobre e zinco nas águas do reservatório de Iraí: efeitos da matéria orgânica e interação com microalgas*. 2006. 164 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

TRIPATHI, B. N.; GAUR, J. P.. Physiological behavior of *Scenedesmus* sp. during exposure to elevated levels of Cu and Zn and after withdrawal of metal stress. *Protoplasma*, [S.L.], v. 229, n. 1, p. 1-9, nov. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00709-006-0196-9>.

TWISS, Michael R. *et al.* Coupling the use of computer chemical speciation models and culture techniques in laboratory investigations of trace metal toxicity. *Chemical Speciation &*

Bioavailability, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 9-24, jan. 2001. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3184/095422901782775462>.

VALLEE, Bert L.; AULD, David S.. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry*, [S.L.], v. 29, n. 24, p. 5647-5659, 19 jun. 1990. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi00476a001>.

VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, [S.L.], v. 59, n. 2-3, p. 203-216, fev. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0304-386x\(00\)00160-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0304-386x(00)00160-2).

XUE, Hanbin; KISTLER, David; SIGG, Laura. Competition of copper and zinc for strong ligands in a eutrophic lake. *Limnology And Oceanography*, [S.L.], v. 40, n. 6, p. 1142-1152, set. 1995. Wiley. <http://dx.doi.org/10.4319/lo.1995.40.6.1142>.

## ANEXO A

### MEIO DE CULTIVO BBM

**Tabela A1 - Meio de cultivo (Meio BBM) para *Desmodemus subspicatus*.**

Solução estoque	Reagente	Fórmula	Concentração por 200 mL de solução	Volume transferido (mL L <sup>-1</sup> )
1	Nitrato de sódio	NaNO <sub>3</sub>	9,0 g	10
2	Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,5 g	10
3	Cloreto de sódio	NaCl	0,5 g	10
4	Fosfato de potássio dibásico	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5 g	10
5	Fosfato de potássio monobásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,5 g	10
6	Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,5 g	10
7	Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	1,764 g	1
	Cloreto de manganês tetra-hidratado	MnCl <sub>2</sub> .4 H <sub>2</sub> O	0,288 g	1
	Molibdato de sódio hidratado	Na <sub>2</sub> MoO <sub>3</sub> . H <sub>2</sub> O	0,078 g	1
	Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O	0,314 g	1
	Nitrato de Cobalto hexa-hidratado	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6 H <sub>2</sub> O	0,098 g	1
8	Ácido Bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,284 g	1
9	Ácido etilenodiamino tetra-acético	EDTA	10 g	1
	Hidróxido de potássio	KOH	6,2 g	1
10	Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	0,996 g	1
	Ácido sulfúrico	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,2 mL	1