

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Potencial utilização da macroalga *Ulva lactuca* na remoção de amônio oriundo de efluentes da indústria de elastômeros

Camille Rodrigues Chaves

2018



UFRJ

Potencial utilização da macroalga *Ulva lactuca* na remoção de amônio oriundo de efluentes da indústria de elastômeros

Camille Rodrigues Chaves

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal.

Orientadores:

Alex Enrich Prast

Andrew Macrae

Vinícius Peruzzi de Oliveira

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2018

Potencial utilização da macroalga *Ulva lactuca* na remoção de amônio oriundo de efluentes da indústria de elastômeros

Camille Rodrigues Chaves

Orientadores:

Alex Enrich Prast

Andrew Macrae

Vinícius Peruzzi de Oliveira

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada por:

Presidente, Prof. Fernanda Reinert Thomé Macrae

Prof. Lísia Mônica de Souza Gestinari

Prof. Humberto Marotta Ribeiro

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2018

Divisão de Serviços Técnicos
Ficha catalográfica

Agradecimentos

À Universidade Federal do Rio de Janeiro e ao Programa de Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos pelo apoio intelectual;

À minha família por todo apoio e incentivo que sempre me forneceram em especial a minha mãe que nunca deixou que eu desanimasse;

Ao Aloisio pelo amor, amizade e compreensão nos momentos de desânimo;

Ao meu bebê, Vicente, que mesmo com seus chorinhos, dentinhos e momentos difíceis deixou que a mamãe terminasse de escrever a dissertação;

À minha madrinha Paula pelas orações e incentivo;

Ao meu orientador Professor Alex Enrich Prast, pela atenção e paciência durante a realização deste trabalho;

Ao meu orientador Professor Andrew Macrae, pelo incentivo, pela revisão do artigo e apoio incondicional;

Ao Professor Vinicius Peruzzi de Oliveira, pela amizade, pelos conselhos, incentivo, apoio incondicional e dedicação durante a elaboração dos ensaios de laboratório, elaboração do artigo e dissertação;

Aos amigos Ricardo César Pollery e Andrea Novo pela ajuda indispensável nas análises de nutriente.

Aos alunos Tainá Maceió, Thuany Ribeiro e Vicktor Monteiro que me ajudaram durante as coletas e monitoramento.

Aos meus colegas da turma do mestrado pelos momentos de companheirismo durante as disciplinas;

À amiga Layla Freire pelos puxões de orelha;

Aos colegas do Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ;

Aos membros da banca examinadora, pela importante avaliação e valiosas sugestões;

À todos aqueles que não citei mas que de alguma maneira ou de outra me ajudaram nesta importante etapa.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
Lista de Tabelas	iii
Lista de Figuras	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	6
2.1 OBJETIVO GERAL	6
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS	7
3.1 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE	7
3.2 LOCAL DE COLETA	9
3.3 ACLIMATAÇÃO	11
3.4 EFLUENTE	12
3.5 EXPERIMENTO	13
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	16
4. RESULTADOS	17
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE	17
4.2 EXPERIMENTO	18
4.3 EFICIÊNCIA E CINÉTICA DE ABSORÇÃO DO AMÔNIO	20
5. DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÃO	27
7. REFERÊNCIAS	28
8. ANEXOS	35

RESUMO

Potencial utilização da macroalga *Ulva lactuca* na remoção de amônio oriundo de efluentes da indústria de elastômeros

Camille Rodrigues Chaves

Orientador(es):

Alex Enrich Prast

Andrew Macrae

Vinícius Peruzzi de Oliveira

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal.

Efluentes da indústria do elastômero são caracterizados pelas elevadas concentrações de amônio dissolvido. Esses efluentes, quando em contato com corpos hídricos, podem causar alterações físico-químicas e biológicas do ambiente contaminado. O objetivo desse trabalho foi determinar a eficiência de biorremediação para absorção do nitrogênio amoniacal ($N-NH_4^+$) utilizando a macroalga *Ulva lactuca* como tratamento adicional ou alternativo do efluente da produção da borracha nitrílica. Adicionalmente, foram avaliados o estado fisiológico da macroalga, bem como a taxa de crescimento e a capacidade fotossintética durante o processo de biorremediação. Foram desenvolvidos experimentos de laboratório durante cinco horas, nos quais os decaimentos nas concentrações de amônio foram utilizados para determinar os parâmetros cinéticos dos modelos de decaimento monofásico (K , span , Plateu e λ) e Michaelis-Menten ($V_{\text{máx}}$, K_s e $V_{\text{máx}}/K_s$). Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que a alga *U. lactuca* removeu significativamente o nitrogênio amoniacal do efluente. A eficiência de biorremediação da macroalga variou entre as concentrações utilizadas, enquadrando-se nos modelos propostos. Foram observados aumentos de biomassa após 5 horas de experimento e manutenção dos parâmetros fisiológicos. De acordo com os dados obtidos, pode-se sugerir que a macroalga *U. lactuca* apresenta potencial para ser utilizada como um eficiente agente biorremediador para efluentes da indústria da borracha.

Palavras Chaves: Biorremediação, Macroalgas, Modelo de decaimento monofásico, Modelo de Michaelis-Menten, Fluorescência, Taxa de crescimento.

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2018

ABSTRACT

Bioremediation potential of the macroalgae *Ulva lactuca* (Chlorophyta) for ammonium removal from nitrile rubber effluents

Camille Rodrigues Chaves

Orientador(es):

Alex Enrich Prast

Andrew Macrae

Vinícius Peruzzi de Oliveira

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal e Bioprocessos, Centro de ciências da saúde, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal.

Effluents from the elastomer industry are characterized by high concentrations of dissolved ammonium. These effluents, when in contact with water bodies can cause physico-chemical and biological alterations of the contaminated environment. The objective of this work was to determine the efficiency of bioremediation for the absorption of ammonium (N-NH_4^+) using the macroalgae *Ulva lactuca* as an additional or alternative treatment of effluent from the production of nitrile rubber. Additionally, the physiological state of the macroalgae as well as the growth rate and the photosynthetic capacity during the bioremediation process were evaluated. This work was carried out during five-hour of laboratory experiments in which the ammonium concentration decays were used to determine the kinetic parameters of the monophasic decay models (K , span , Plateu and λ) and Michaelis-Menten (V_{max} , K_s and V_{max} / K_s). The results obtained in this work showed that *U. lactuca* significantly removed the ammoniacal nitrogen from the effluent. The bioremediation efficiency of the macroalgae varied among the concentrations used, according to the proposed models. Biomass increases were observed after 5 hours of experimentation and maintenance of the physiological parameters. Thus, it can be suggested that the *U. lactuca* macroalgae can be used as an efficient bioremediation agent for effluents from the rubber industry.

Key words: Bioremediation, Macroalgae, One - phase decay model, Michaelis – Menten model, Fluorescence, Growth rate.

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2018

Lista de Tabelas

Tabela 1: Caracterização do Efluente Industrial.....	17
Tabela 2: Caracterização inicial dos tratamentos propostos para o experimento de biorremediação	18
Tabela 3: Taxa de crescimento específico médio dos tratamentos.....	19
Tabela 4: Eficiência de absorção (%) da <i>Ulva lactuca</i> para o Amônio nos tratamentos de 70, 80, 90 e 100% de EIE, obtidos no experimento de absorção cinética.....	20
Tabela 5: Parâmetros cinéticos ($V_{m\acute{a}x}$, K_s , $V_{m\acute{a}x}/K_s$) da equação de Michaelis-Menten obtidos a partir das velocidades de absorção da <i>Ulva lactuca</i> para o amônio.....	21

Lista de Figuras

Figura 1: Espécie utilizada neste estudo – <i>Ulva lactuca</i>	7
Figura 2: Local da coleta da espécie <i>U. lactuca</i> em Piratininga/RJ.....	9
Figura 3: Frascos Reserva – acondicionamento inicial das algas.....	10
Figura 4: Montagem do experimento na câmara de incubação.....	13
Figura 5: FIAstar™ 5000 Analyser da FOSS.....	14
Figura 6: Fluorômetro submersível diving-PAM ®.....	16
Figura 7: Rendimento quântico efetivo PSII de <i>U. lactuca</i> em diferentes concentrações de efluentes. Variação da biomassa e crescimento específico de <i>U. lactuca</i> durante os 360 minutos de experiência.....	19
Figura 8: Redução do amônio pela macroalga <i>U. lactuca</i> em água artificial (controle) e em diferentes concentrações de efluente durante 360 minutos.....	21
Figura 9: Taxas de absorção do amônio pela <i>Ulva lactuca</i> em diferentes intervalos de tempo em função da concentração do substrato (Função não linear do Modelo de Michaelis-Menten).....	21

1. INTRODUÇÃO

A borracha natural é uma importante matéria prima na fabricação de uma variedade de produtos. O látex extraído da espécie *Hevea brasiliensis* têm propriedades únicas tais como resiliência, elasticidade, resistência a impacto, abrasão e outros que são consideradas vantajosas nos processos industriais (Cornish, 2001; Nazri et al., 2015). O látex após a extração recebe adição de amônia para conservação e, posteriormente, recebe adição de ácido sulfúrico para coagulação e outros produtos para seu condicionamento (Puskas et al., 2014). Assim, o efluente gerado durante processamento da borracha consiste em uma mistura complexa com alta concentração de matéria orgânica, solventes orgânicos, sólidos em suspensão, sulfatos e nitrogênio (Chaiprapat et al., 2015; Mokhtar et al., 2015).

As fábricas de processamento do látex utilizam-se de grandes quantidades de recursos hídricos e conseqüentemente proporcionam elevados volumes de águas residuais. O descarte dessas indústrias, sem tratamento prévio, pode prejudicar a saúde humana, destruir ecossistemas e causar eutrofização de corpos hídricos superficiais (Owamah et al., 2015). Essas conseqüências têm promovido a procura e o incentivo de métodos eficientes que possam melhorar a qualidade do efluente antes de sua liberação no ambiente natural e reutilização dessas águas estrategicamente para conservação dos recursos naturais (Kivaisi, 2001).

As crescentes exigências das agências nacionais e internacionais abrem espaço para a busca de alternativas de processos para o tratamento desses efluentes (Reis et al., 2007), assim como o atendimento às exigências das normas ambientais da série ISO 14000 têm levado as empresas a buscarem alternativas eficientes e que demonstrem sustentabilidade, responsabilidade social e infra-estrutura organizacional.

Os processos de tratamento biológicos, como os tratamentos em lagoas de estabilização, métodos aeróbios e os métodos anaeróbios são os mais utilizados para a remoção de nitrogênio na indústria da borracha, uma vez que utilizam o processo de precipitação por sulfato (Lonholdt & Andersen, 2005; Mohammadi et al., 2013). Os tratamentos com lagoas de estabilização demandam alto custo operacional com os aeradores de superfície, grande área para a construção e tempo para redução dos níveis da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e Nitrogênio (Chaiprapat et al., 2007; Mohammadi et al., 2013). Os tratamentos biológicos (aeróbios e anaeróbios) são os que apresentam maior redução da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e são adequados a fábricas com área reduzida (Kolmetz, et al. 2003; Mohammadi et al., 2013). Os processos biológicos em reatores também podem vir acompanhados de uma etapa de biofiltração; estudos demonstraram retenção de Carbono, Nitrogênio e Fósforo utilizando fibras vegetais (Gabriel et al., 2007). Todos esses processos, embora funcionais, demandam de elevado custo capital, onerando significativamente o processo de produção.

No estado do Rio de Janeiro a indústria Nitriflex em Duque de Caxias junto com a Petroflex Ind. e Com. SA são produtoras de borrachas sintéticas, nitrílicas, elastômeros e termoplásticos. A estação de tratamento de efluentes foi projetada para tratar seus efluentes em uma planta multipropósito. A estação de tratamento de resíduos industriais (ETRI) da empresa foi projetada para tratar uma vazão média de 365 m³ /h e consiste de um tratamento primário, visando principalmente a remoção de sólidos em suspensão e equalização do efluente para o tratamento secundário, utilizando o processo de lodos ativados.

Para se enquadrar aos limites de descarte do efluente a empresa emprega ainda um sistema de filtração por membranas para um tratamento terciário, cujo o valor representa o custo de 1,2 milhão de Reais a cada 6 meses de operação. Neste sentido, há a

necessidade eminente de se desenvolver métodos de tratamento que sejam viáveis economicamente e amigável ao meio ambiente. Conforme (Mokhtar et al., 2015), várias tecnologias em países asiáticos demonstraram que processos de biorremediação funcionam ao serem combinados com métodos avançados como as tecnologias de membranas e tratamentos físico químicos.

Atualmente as tecnologias de membranas avançaram em várias aplicações industriais e em particular no tratamento de águas residuais, de vários formatos, tipos e matéria podem se enquadrar ao fluxo de vazão do efluente para melhoramento da filtração dos resíduos (Noel Jacob et al., 2014; Zheng et al., 2012). O Fluoreto de Polivinilideno Comercial (PVDF), membrana tubular, muito utilizado no tratamento do concentrado de látex foi capaz de remover até 92% de sólidos totais, 67% da demanda química de oxigênio (DQO), 72% de demanda biológica de oxigênio (DBO), 60% de nitrogênio total e 75% de nitrogênio amoniacal. Mas, apesar desses resultados em termos de componentes orgânicos e inorgânicos, o permeado tem fluxo muito baixo, cerca de $9 - 11 \text{ L. m}^{-2}. \text{ h}^{-1}$ quando operado a pressão transmembranar $0,5 - 0,8 \text{ bar}$ (Nazri et al., 2015; Noel Jacob et al., 2014) .

A aplicação das membranas de ultrafiltração (UF) pode ser dificultada devido a problemas de contaminação e encrustações, assim métodos de pré tratamento (coagulação, microfiltração) ou pós tratamento (plantas, algas) estão sendo estudados e utilizados para contribuir com a remoção de excesso de contaminantes (Mohammadi et al., 2013; Nazri et al., 2015; Owamah et al., 2015)

A biorremediação de diferentes tipos de águas residuais ricas em nutrientes por macroalgas é sugerida como parte da solução para a reciclagem biológica do nitrogênio como forma mais sustentável e menos exigente de recursos (Neori et al., 2004; Sode et al., 2013). Nesse contexto, destaques são dados à alguns grupos de algas que apresentam

potencial para biorremediação de corpos d'água poluídos por nitrogênio, como por exemplo as cianobactérias, e diversos gêneros de macroalgas como *Gracilaria* e *Ulva* (Kaur & Bhatnagar, 2002).

No Brasil, na região do Rio Grande do Norte, estudos realizados com macroalgas do gênero *Gracilaria* e *Hypnea*, constataram que esses organismos, quando cultivados em viveiros de camarão, possuíam a capacidade de minimizar os impactos causados pelo excesso de nutrientes (Marinho-Soriano et al., 2009). Outro trabalho utilizando a macroalga vermelha *Gracilaria cervicornis* como biofiltro em ambientes eutrofizados demonstrou eficiência na absorção de N-NO_3^- (Nitrato) e P-PO_4^{3-} (Fosfato) e crescimento de biomassa (M. A. do A. Carneiro, Pereira, Azevedo, & Marinho-Soriano, 2007). Cheney et al., (2014) observaram que a macroalga *Ulva rigida* demonstra capacidade de absorver compostos bifenilos clorados conhecidos como PCBs de sedimentos marinhos.

Recentemente no estado do Rio de Janeiro, estudos com a macroalga *Ulva lactuca* no tratamento de efluente da indústria de petróleo (OFW) constataram uma redução considerável de compostos nitrogenados como amônio, nitrato e nitrito (Oliveira et al., 2016). Em Santa Catarina, pesquisadores avaliaram o crescimento de *Ulva lactuca* na presença de várias concentrações de gasolina e sugerem que a macroalga pode ser capaz de utilizar os hidrocarbonetos como fonte de carbono em seu metabolismo (Pilatti et al., 2016).

Lobban et al., (1985) sugerem que a absorção dos nutrientes pelas macroalgas pode ocorrer por três mecanismos distintos: (i) difusão passiva, (ii) difusão facilitada ou (iii) transporte ativo. Phillips & Hurd, (2004) mencionam que quando o mecanismo utilizado é a difusão passiva, a taxa de absorção é proporcional a concentração externa do nutriente. A difusão facilitada e o transporte ativo podem exibir uma saturação nos transportadores de membrana à medida que a concentração externa aumenta e nesse caso a relação entre

a taxa de absorção e a concentração externa do nutriente pode ser descrita por uma hipérbole retangular semelhante à equação de *Michaelis-Menten* para cinética enzimática. Esse comportamento de absorção torna-se fundamental para a efetiva compreensão do processo de biorremediação.

A assimilação dos nutrientes também depende da sua concentração e as formas químicas disponíveis no ambiente (Lobban et al., 1985). Estudos têm revelado que o íon amônio (N-NH_4^+) é absorvido pelas macroalgas mais rapidamente do que o íon nitrato (N-NO_3^-), uréia ou aminoácidos e em geral a sua presença inibi a assimilação desses outros nutrientes pela alga (D'Elia & Deboer, 1978).

Estudos comparativos das taxas de assimilação de nutrientes entre diferentes espécies de macroalgas foram realizados, os quais testaram o melhor potencial de absorção entre Chlorophytas e Rhodophytas (da Costa, 2006). Com base nesses estudos, sabe-se que a as Chlorophytas, especialmente espécies *Ulva*, são nitrófilas eficientes, ou seja, possuem alta capacidade de remoção de compostos nitrogenados inorgânicos, além disso são bastante eficientes na remoção de formas fosfatadas (Neori et al., 2004).

Tendo em vista os dados acima revisados a respeito da utilização e importância das macroalgas como biofiltros no tratamento de efluentes, o presente estudo fez uma avaliação da potencial utilização da macroalga Chlorophyta *Ulva lactuca* no processo de biorremediação de efluentes nitrogenados da indústria da borracha.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar a macroalga *Ulva lactuca*, como filtro biológico no tratamento de compostos nitrogenados no efluente da indústria de borracha e elastômeros.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade de remoção de nitrogênio amoniacal em diferentes concentrações de efluente da indústria da borracha.
- Aplicar modelos de cinética química para a remoção do nitrogênio amoniacal nas diferentes concentrações de efluentes testados.
- Avaliar o estado fisiológico das macroalgas através da variação de biomassa e do rendimento fotossintético ao longo do processo de biorremediação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE

A macroalga *Ulva lactuca*, pertence à divisão Chlorophyta, classe Ulvophyceae, Ordem Ulvales, Família Ulvaceae, gênero *Ulva* e espécie *Ulva lactuca*. Essa espécie tem um talo achatado com superfície lisa e seu tamanho pode variar de poucos centímetros até mais que um metro de comprimento. O talo é fixo ao substrato e apresenta uma alternância de gerações isomórficas (da Costa, 2006) (Figura 1).



Figura 1 – Espécie utilizada neste estudo – *Ulva lactuca*.

(autor: Camille Chaves em Praia de Piratininga, Niterói – Rio de Janeiro setembro de 2016)

A macroalga pode aparecer em abundância em ambientes em processo de eutrofização sendo indicadora de qualidade ambiental. São capazes de reprodução e colonização rápidas em ambientes com condições favoráveis devido à sua grande capacidade reprodutiva e tolerância a condições ambientais adversas (Littler, 1980).

Vários estudos utilizando a macroalga *Ulva* relatam importância em programas de avaliação de impactos, isto ocorre, pois, a macroalga tem sensibilidades diferenciadas à vários tipos de contaminantes e dentre as substâncias tóxicas que chegam ao meio com mais frequência o amônio e os metais pesados (Claver et al., 2003) podem ser rapidamente incorporados pela ação biossorvente da *Ulva lactuca* para a produção de polissacarídeos, daí sua importância como biofiltro em especial das formas nitrogenadas.

A parede celular da *Ulva* contém uma categoria de polissacarídeos denominados Ulvans e tem sido estudada no desencadeamento de defesas das plantas contra doenças (Castelar et al., 2014), as unidades sulfatadas da Ulvans demonstram efeitos antivirais e anticoagulantes (Chiellini & Morelli, 2011).

3.2 LOCAL DE COLETA

A coleta da macroalga *Ulva lactuca* foi realizada na Praia de Piratininga (22° 57' 16" S; 43° 05' 46" O), localizada no município de Niterói no litoral do Estado do Rio de Janeiro.



Figura 2 – *Ulva lactuca* encontrada na região de coleta Praia de Piratininga – Niterói/RJ.

(autor: Camille Chaves em Praia de Piratininga, Niterói – Rio de Janeiro setembro de 2016)

A espécie em estudo foi coletada manualmente durante a maré baixa em substrato rochoso onde, visivelmente, se encontrava com relativa abundância já que é bastante resistente a perturbações ambientais, como ação dos ventos e marés. Após a coleta o

material foi acondicionado em um recipiente isotérmico contendo água salgada e, em seguida, levado ao Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ.

No laboratório as algas sofreram uma etapa de limpeza manual para a remoção de epífitas e animais incrustantes. Posteriormente, as mesmas foram lavadas de forma intercalada com água do mar filtrada (0,72 μ m GF/F - Whatman®) e água destilada, para remoção de diatomáceas e cianofíceas. Ao final desse processo, as algas foram acondicionadas em dois erlenmeyers de vidro de 5 L, contendo água salgada local e constante aeração (Figura 3). As algas permaneceram nesses erlenmeyers durante o período de aclimação.



Figura 3 - Frascos Reserva – acondicionamento inicial das algas.

(autor: Camille Chaves em Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ – Rio de Janeiro).

3.3 ACLIMATAÇÃO

O processo de aclimatação ocorreu por 96 horas. A água do mar do local da coleta foi substituída por água do mar artificial livre de compostos nitrogenados e fosfatados (Instant Ocean Sea Salt) preparadas no laboratório, contendo 33 g do sal em cada 1000 mL de água pura. Foram adicionados 4,5 μM de dióxido de germânio a cada 5 L de água artificial, para suprimir o crescimento de diatomácias.

A aclimatação foi feita em uma câmara de incubação a 22 °C, com fotoperíodo 12:12 h (claro/escuro), salinidade 33, volume de água do mar artificial 1000 mL, irradiância de 200 μM fótons. $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ (radiação fotossinteticamente ativa - PAR), 0,2 μNH_4 , 1,5 μMNO_3 , 1,4 μMPO_4 , e o movimento da água foi acionado por compressores de ar (Boyu modelo 7500), que impulsionam a água por meio de bolhas de ar, fazendo com que as algas circulem no erlenmeyer. Os frascos foram parcialmente fechados para minimizar a evaporação da água. Durante o processo de aclimatação o estado fisiológico das algas foi avaliado através das medidas de rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y), utilizando-se fluorômetro subaquático DIVING – PAM (Walz).

3.4 EFLUENTE

O efluente (EIE – efluente industrial de elastômeros) utilizado nos experimentos foi cedido pela empresa Nitriflex “*Presença brasileira em elastômeros*”, localizada no município de Duque de Caxias, cerca de 40 km ao norte do Rio de Janeiro e tem seu escritório comercial e administrativo em Cotia na região de São Paulo. O efluente (EIE) recebido sofreu um pré-tratamento na estação de tratamento de resíduos industriais (ETRI) da própria empresa. O pré – tratamento consiste em uma etapa primária visando principalmente a remoção de sólidos em suspensão e equalização do efluente para em seguida ser encaminhado a etapa secundária que utiliza o processo de lodos ativados. Após as etapas de tratamento biológico e físico-químico, o efluente (EIE) foi encaminhado em tambores plásticos lacrados em transporte próprio da empresa para o Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ no Centro de Ciências da Saúde.

No laboratório, o efluente (EIE) passou por ensaios físico-químicos para caracterização. Para a medição da temperatura ($T\text{ }^{\circ}\text{C}$) foi utilizado um termômetro comum (mercúrio centígrado); para a salinidade (PSU), um refratômetro portátil BRIX; para o pH, um medidor de pHmetro 912 Metrohm e para o oxigênio dissolvido (mg/L) um oxímetro digital. A análise dos nutrientes (Amônio (N-NH_4), Nitrato (N-NO_3), Nitrito (N-NO_2) e Fosfato (P-PO_4)) foi realizada em triplicata, segundo os métodos, respectivamente: **5220** Determinação de Amônio em água por FIAstar 5000, **5201** Determinação de Nitrato em água por FIAstar 5000, **5200** Determinação de Nitrito em água por FIAstar 5000 e **5240** Determinação de Ortofosfato em água por FIAstar 5000.

3.5 EXPERIMENTO

O experimento no laboratório foi realizado no período de 09/10/2016 a 15/10/2016. Para o experimento foram utilizados 24 erlenmeyers com volume individual de 1000 mL. Para cada frasco foram adicionados 2,0 g de alga. L⁻¹ (peso úmido) de efluente oriundas dos frascos da aclimação de 96 h. Em seguida cada frasco recebeu 1000 mL do efluente para os quatro tratamentos de concentrações diferentes, controle e branco. Quatro réplicas de cada tratamento foram denominadas: 4 erlenmeyers (A) representam o controle, no qual foi acrescido somente com 1000 mL de água local e 4 erlenmeyers branco (B) com alga e água do mar artificial. Os 4 erlenmeyers (1) representam a proporção de 70% de EIE salinizado, os 4 erlenmeyers (2) representam a proporção de 80% de EIE salinizado, os 4 erlenmeyers (3) a proporção de 90% de EIE salinizado, e os 4 erlenmeyers (4) contendo 100% de EIE salinizado (Figura 4).



Figura 4 - Montagem do experimento na câmara de incubação.

(autor: Camille Chaves em Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ – Rio de Janeiro).

Tanto o fotoperíodo quanto a intensidade luminosa permaneceram iguais ao período de aclimação: 12:12 (claro/escuro) e $200 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^2 \text{ s}^{-1}$. Para se avaliar a cinética de absorção do nitrogênio amoniacal livre, 20 mL de amostra de cada frasco, incluindo controle e branco, foram coletados durante os primeiros 360 minutos do experimento e encaminhados para análise do nitrogênio amoniacal livre por injeção em fluxo no equipamento FIAstar™ 5000 de acordo com o protocolo de análise 5220 ISO 11732:2005. No equipamento a amostra aquosa contendo íons de amônio livre é injetada em uma corrente transportadora unida a uma corrente de solução alcalina. No encontro de soluções o amônio livre é liberado na forma gasosa e difunde por uma membrana permeável até uma mistura de indicadores ácido-base que reagirá com o amônio gasoso e uma variação na cor é medida fotométricamente (Figura 5).



Figura 5 - FIAstar™ 5000 Analyser da FOSS.

(autor: Camille Chaves em Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ – Rio de Janeiro).

Para se avaliar o desempenho fisiológico das macroalgas durante o período experimental, foram feitas as medições de biomassa. As macroalgas foram retiradas dos

frascos de Erlenmeyer, secas com um papel toalha e pesadas em uma balança de alta precisão para ser obtido a biomassa úmida, posteriormente a pesagem as macroalgas foram colocadas em seus devidos frascos para cada tratamento. As estimativas do crescimento foram obtidas através das taxas de crescimento específico (SGR) usando a seguinte fórmula (equação A):

$$\text{SGR} = (100 \ln (W_{t+1} / W_t)) \cdot t^{-1} \quad (\text{A})$$

W_t = peso úmido inicial; W_{t+1} = peso úmido no tempo t (horas) com base em Lobban & Harrinson (1985).

O estado fisiológico das algas foi avaliado através das medidas do rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y), utilizando-se fluorômetro submersível diving-PAM[®] (Walz, Effeltrich, Alemanha) (Figura 6), que fornece medidas de fluorescência da clorofila a das algas e são calculadas pela fórmula (equação B):

$$Y = (F'_m - F_t) / F'_m \quad (\text{B})$$

F'_m valor máximo da fluorescência em uma amostra aclimatadas à luz e F_t é o valor de fluorescência no estado estacionário numa amostra aclimatadas à luz (Kromkamp e Forster 2003).



Figura 6 - Fluorômetro submersível diving-PAM ® (Walz, Effeltrich, Alemanha).

(autor: Camille Chaves em Laboratório de Biogeoquímica da UFRJ – Rio de Janeiro).

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas utilizadas neste estudo foram análises de variância ANOVA para verificar a redução do amônio pela macroalga *Ulva lactuca* entre os tratamentos e comparações utilizando o teste de Tukey para verificar diferenças significativas ($p < 0,05$ nível de significância). Todas as análises foram realizadas através do programa GraphPad Prism™ 7.0.4.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

Os dados obtidos da caracterização inicial do efluente são mostrados na Tabela 1. O efluente apresenta um valor de concentração de amônio de aproximadamente 1700 μM , que equivale a aproximadamente 30 mg/L de N – NH_4^+ livre. De acordo com a resolução CONAMA n° 430/maio de 2011 que dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes o nitrogênio amoniacal total deve atingir o limite de somente 20 mg/L N.

Tabela 1 - Caracterização do Efluente Industrial.

<i>Parâmetros</i>	<i>Resultados</i>
<i>Íon Amônio</i>	1700 μM
<i>Nitrito</i>	240 μM
<i>Nitrato</i>	< 0,10 μM
<i>Fosfato</i>	< 0,05 μM
<i>pH</i>	7,1
<i>OD</i>	5,24 mg/L
<i>Temperatura</i>	22°C
<i>Salinidade</i>	0,9 PSU

4.2 EXPERIMENTO

Os parâmetros físico-químicos de cada tratamento foram determinados, bem como a variação da biomassa e o rendimento fotossintético (média \pm desvio padrão) correspondentes aos cinco dias de experimento (Tabela 2). Durante os cinco dias de monitoramento não foram observadas variações significativas para o pH e temperatura, no entanto variações altamente significativas foram verificadas para a salinidade do meio e o rendimento fotossintético das algas.

Tabela 2 - Caracterização dos tratamentos propostos para o experimento de biorremediação.

<i>Amostras</i>	<i>Salinidade**</i> (‰)	<i>pH</i> [#]	<i>Temp.</i> [#] (°C)	<i>Peso</i> [*] (g)	<i>PAM**</i> (Yield)
<i>Branco</i>	28,8 \pm 0,7	7,99 \pm 0,03	20,1 \pm 0,2	-	-
<i>Controle</i>	28,7 \pm 0,7	7,99 \pm 0,03	20,2 \pm 0,2	2,23 \pm 0,02	0,810 \pm 0,021
<i>70% EIE</i>	28,3 \pm 1,1	7,94 \pm 0,04	20,4 \pm 0,1	2,22 \pm 0,04	0,797 \pm 0,024
<i>80% EIE</i>	28,7 \pm 1,2	7,90 \pm 0,02	20,2 \pm 0,1	2,24 \pm 0,03	0,796 \pm 0,021
<i>90% EIE</i>	28,4 \pm 1,4	7,96 \pm 0,05	20,4 \pm 0,1	2,24 \pm 0,03	0,795 \pm 0,027
<i>100% EIE</i>	29,0 \pm 1,2	8,06 \pm 0,01	20,5 \pm 0,2	2,23 \pm 0,04	0,785 \pm 0,033

* variações significativas ($p < 0,05$); **variações altamente significativas ($p < 0,001$); #variações não significativas ($p > 0,05$)

Durante o período experimental o peso da biomassa foi monitorado para se avaliar a taxa de crescimento específico da macroalga entre os tratamentos conforme apresentado na Tabela 3. Não houve variação significativa do peso da biomassa entre os tratamentos, porém teve variação entre os dias de tratamento (Anexo 4).

Tabela 3 – Taxa de crescimento específico médio dos tratamentos.

<i>Tratamento</i>	<i>TCE médio</i>
Controle	5,91 % dia ⁻¹ ± 1,11
70%	2,48 % dia ⁻¹ ± 1,80
80%	4,76 % dia ⁻¹ ± 1,99
90%	2,35 % dia ⁻¹ ± 0,33
100%	2,50 % dia ⁻¹ ± 0,53

O desempenho fisiológico das algas foi monitorado para se avaliar possíveis danos a capacidade fotossintética durante o período de exposição das algas ao efluente conforme apresentado na Figura 7.

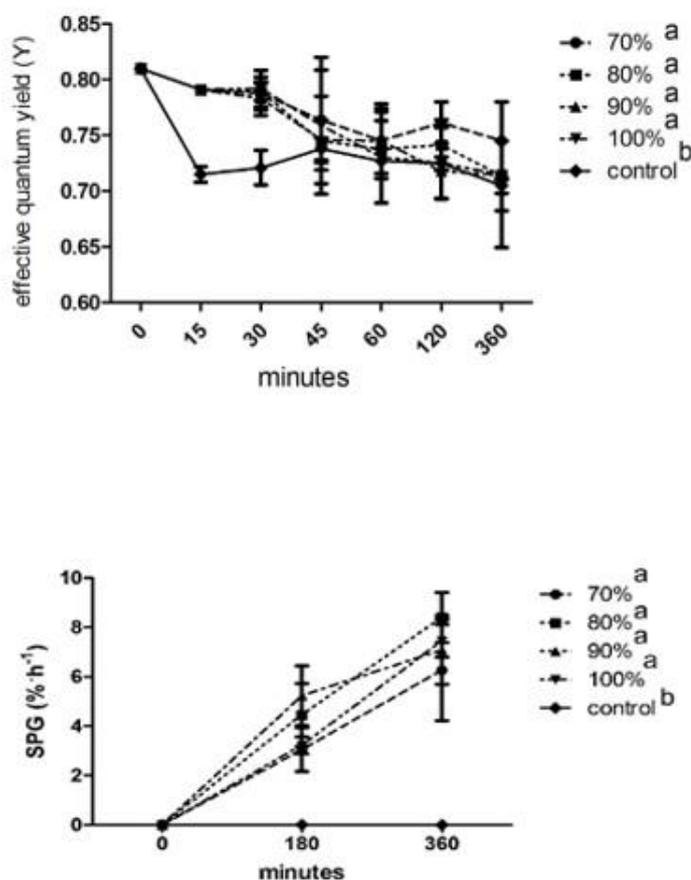


Figura 7 - Rendimento quântico efetivo PSII de *U. lactuca* em diferentes concentrações de efluentes. Variação da biomassa e crescimento específico de *U. lactuca* durante os 360 minutos de experiência. As barras verticais representam \pm SD para os meios (n = 4). As letras sobrescritas referem-se aos resultados de Tukey (ANOVA).

4.3 EFICIÊNCIA E CINÉTICA DE ABSORÇÃO DO AMÔNIO

Os valores de eficiência de absorção (%) da macroalga *Ulva lactuca* foram registrados durante o período de 360 min de experimento (Tabela 4).

Tabela 4 – Eficiência de absorção (%) da *Ulva lactuca* para o Amônio nos tratamentos de 70, 80, 90 e 100% de EIE, obtidos no experimento de absorção cinética.

<i>Tratamentos</i>	<i>N - NH₄⁺</i>	
	Mínimo	Máximo
70 %	16,30±0,50 ^a	68,38±2,46 ^b
80 %	9,82±3,21 ^a	66,69±5,52 ^b
90 %	19,95±0,24 ^a	67,24±0,25 ^b
100 %	15,83±0,97 ^a	48,33±6,64 ^b

^a, ^b, referem-se aos valores de eficiência obtidos após 15 min e 360 min de incubação respectivamente.

A absorção da *Ulva lactuca* obtida após 360 min de incubação foi significativa em todos os tratamentos (Tabela 4). A macroalga estudada apresentou os valores mais baixos de absorção nos primeiros 15 minutos de incubação, enquanto os valores máximos foram registrados no final do experimento (5h) (Tabela 4). A eficiência de absorção da *Ulva lactuca* foi superior nos tratamentos que possuíam as menores concentrações do efluente, sendo registrada uma maior redução do $N-NH_4^+$ para o tratamento com 70% do efluente (68,38%) conforme observado na Figura 8.

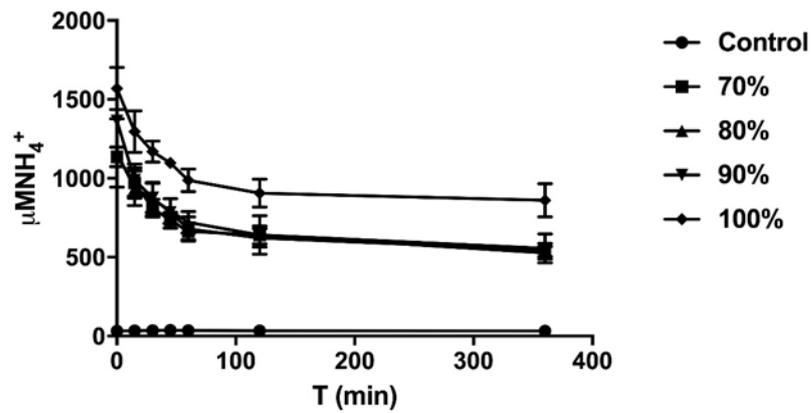


Figura 8 – Redução do amônio pela macroalga *U. lactuca* em água artificial (controle) e em diferentes concentrações de efluente durante 360 minutos.

As reduções das concentrações de amônio ao longo do experimento influenciaram sobre as velocidades de absorção (V) que apresentou uma diminuição significativa (Figura 9).

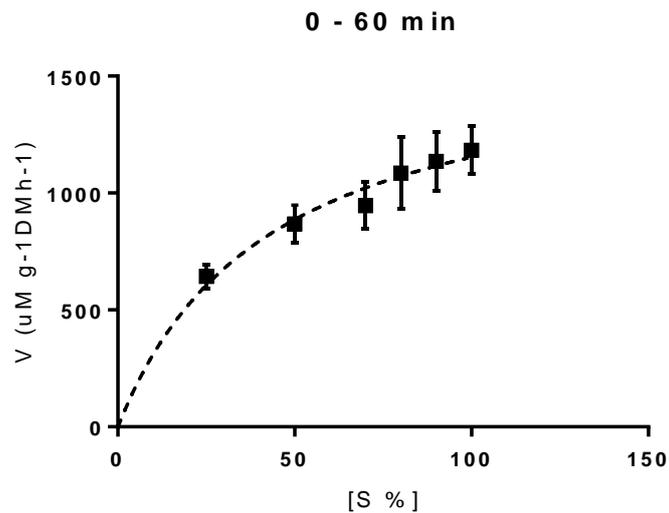


Figura 9 - Taxas de absorção do amônio pela *Ulva lactuca* em diferentes intervalos de tempo em função da concentração do substrato (Função não linear do Modelo de Michaelis-Menten).

A velocidade máxima de absorção foi obtida nos períodos iniciais de incubação até 60 min de experimento. A medida que o tempo aumentava a velocidade de absorção foi reduzida e o experimento apresentou características de cinética de Michaelis-Menten, os parâmetros cinéticos foram então calculados (Tabela 5).

Tabela 5 – Parâmetros cinéticos ($V_{m\acute{a}x}$, K_s , $V_{m\acute{a}x}/K_s$) da equação de Michaelis-Menten obtidos a partir das velocidades de absorção da *Ulva lactuca* para o amônio.

Parâmetro	$N-NH_4^+$
$V_{m\acute{a}x}$ ($\mu Mg^{-1} DM h^{-1}$)	1342
K_s (μML^{-1})	84,4
$V_{m\acute{a}x}/K_s$	15,8

*DM – Peso seco; R_{square} 0,77

5. DISCUSSÃO

Os estudos de biorremediação são importantes para ampliação das tecnologias a respeito da redução dos impactos gerados pelas grandes atividades industriais. As indústrias vem investindo em meios de minimizar os impactos de suas atividades e proteger seus próprios interesses depois que passaram a compreender a importância do equilíbrio ecológico, o potencial das algas marinhas como componentes de alimentos, cultura e biorremediação controlada levando em consideração os aspectos ambientais, sociais e de imagem (Neori et al., 2007).

Os compostos nitrogenados são grandes causadores de impactos no ambiente marinho (Liu et al., 2010). Estudos envolvendo a biorremediação de compostos nitrogenados, em

laboratórios, permitem um maior controle dos parâmetros abióticos que permanecem individualmente controlados. O crescimento das macroalgas pode ser influenciado por esses fatores, como disponibilidade de nutrientes, luminosidade, salinidade, temperatura e movimento da água (Kim et al., 2008).

Durante este estudo o desenvolvimento da *Ulva lactuca* foi pouco afetado pelos parâmetros monitorados. As análises de regressão indicaram que não houve variação significativa (ANOVA $p > 0,05$) para o pH e para a Temperatura, no entanto foi observada variação altamente significativa para salinidade e rendimento fotossintético (ANOVA $p < 0,001$). Em geral, variações nesses parâmetros podem interferir em diversos aspectos no processo de biorremediação, uma vez que existem relatos que variações de salinidade podem limitar o crescimento das macroalgas em períodos de extrema seca ou chuva excessiva as macroalgas costumam apresentar mecanismos que contrabalançam a disponibilidade de recursos e fatores limitantes (Ramus & Venable, 1987; Flexuosa et al., 2008).

Estudos desenvolvidos tanto em laboratório quanto em campo apresentaram faixas de variação de salinidade durante o monitoramento do crescimento de macroalgas do gênero *Ulva* (18 – 30 ‰) (Chen & Zou, 2015; Li et al., 2017). Neste trabalho o desenvolvimento da *Ulva lactuca* foi influenciado pela salinidade que variou entre 27 – 30 ‰, uma variação mais baixa se comparada a faixa ótima de crescimento. Os baixos valores de biomassa e TCE coincidiram com a diminuição da salinidade no segundo dia do experimento e com o aumento da salinidade no final do (5 dias) experimento conforme os gráficos anexos (1 e 4)

Em relação ao desempenho fisiológico, os desempenhos fotossintéticos das algas diminuíram após entrarem em contato com o efluente em suas diferentes concentrações (70, 80, 90 e 100%) (figura 2 do Artigo anexo). Não houve variações significativas

(ANOVA $p > 0,05$) relacionadas à concentração do efluente e todos os tratamentos apresentaram maior desempenho fotossintético comparado ao controle. Esses resultados demonstram que o efluente afetou as funções fotossintéticas das algas mas não negativamente se comparado ao valor mínimo (0,67) necessário para a manutenção fotossintética proposto por Falkowski e Raven (2007).

A presença do $N-NH_4^+$ (nitrogênio amoniacal) foi outro fator que influenciou o crescimento da macroalga de forma significativa. Durante esse experimento, foi observado um aumento de biomassa média entre os tratamentos de $0,036 \text{ dia}^{-1} \pm 0,009$. Pedersen & Borum (1997), relatam um crescimento médio da *Ulva lactuca* de $0,07 \text{ d}^{-1}$, Ben-Ari et al. (2014) utilizando *Ulva* em sistemas de marinocultura registraram uma taxa de $0,1 \text{ dia}^{-1} \pm 0,09$ e Kim et al. (2008), relatam um crescimento de $0,05 - 0,16 \text{ d}^{-1}$ para a *Porphyra linearis*.

Estudos apontam que a disponibilidade de nitrogênio pode ser considerada fator limitante no crescimento e desenvolvimento de algas marinhas. Geralmente adição de nitrogênio aumenta a atividade fotossintética e o crescimento de biomassa (Corey et al., 2013; Hurd et al., 2014; Malta et al., 2005). O nitrogênio é incorporado em muitas macromoléculas orgânicas (proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos); síntese de clorofila a (Chl a) e de ficoeritrina (Pe) também requerem nitrogênio (Lobban & Harrison 1997).

A eficiência de biorremediação da macroalga foi elevada para todos os tratamentos. Neste experimento foi constatada uma remoção significativa do $N-NH_4^+$ (nitrogênio amoniacal) do efluente pela *Ulva lactuca*, não sendo observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as taxas de remoção para os tratamentos 70, 80, 90 e 100% ($\approx 0,020 \mu\text{M g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) do efluente, demonstrando que a alta concentração de nitrogênio ($\sim 1700 \mu\text{M}$) não afetou a atividade e a incorporação do nitrogênio pela alga. Os valores máximos (tabela 3) de eficiência de absorção do nitrogênio obtidos no experimento (70%EIE –

68,38%; 80%EIE – 66,69%; 90%EIE – 67,24% e 100%EIE – 48,33%) foram inferiores aos dados encontrados na literatura, no entanto o tempo de experimento (5 h) e a biomassa utilizada foram menores que os apresentados na literatura. Sode et al. (2013) utilizaram a *Ulva lactuca* durante 18 dias para biorremediar água residual de lodo de esgoto digerido anaerobicamente e obtiveram uma faixa de 83 – 143% de remoção do Nitrogênio em diferentes concentrações (6, 12 e 25 100 $\mu\text{M N}$). Liu et al. (2010), utilizando a *Ulva pertusa* em tanques de sistemas de recirculação no cultivo de “pepinos do mar” removeram 68% do N – NH_4^+ a uma taxa de $0,459 \text{ gNm}^{-2}\text{d}^{-1}$ durante 90 dias de experimento. Rabiei et al. (2014), removeu 100% do N – NH_4^+ do efluente da cultura de camarão em 12 h com a *Ulva reticulata* em um experimento que durou 12 dias. Os diferentes valores de remoção observados nesses trabalhos podem ser atribuídos às diferenças fisiológicas interespecíficas das algas utilizadas, ao tempo de incubação de cada experimento e, principalmente, aos valores das concentrações iniciais dos nutrientes.

Para se avaliar melhor a eficiência de absorção do amônio pela macroalga os parâmetros cinéticos também foram medidos e calculados. Segundo Pedersen & Borum, 1997, nos primeiros instantes em que a macroalga é exposta ao nutriente, ela o absorve e geralmente excede os requerimentos para o seu crescimento, e em seguida a absorção se torna controlada havendo uma diminuição da velocidade com taxas relativamente constantes, esta é a fase em que ocorre a diminuição do N amoniacal do meio, e conseqüentemente, a diminuição da capacidade de absorção da macroalga. Essa diminuição da capacidade de absorção constitui uma importante estratégia para a sobrevivência das macroalgas localizadas em áreas eutrofizadas (Carneiro et al., 2007).

Utilizando o modelo de Michaelis-Menten os valores obtidos para Velocidade máxima de absorção (V_m) e constante de meia saturação (K_m) foram, respectivamente, $1342 \mu\text{Mg}^{-1}\text{DMh}^{-1}$ e $84,4 \mu\text{M}$, até 60 minutos. Estes valores elevados

podem ser relacionados à capacidade específica da macroalga de assimilar o N amoniacal mais rapidamente que outras formas de nitrogênio como N-NO₃ e N-NO₂ pois não gastam energia na utilização de enzimas de transformação (D'Elia & Deboer, 1978; Abreu et al., 2011). Um alto valor de V_{máx} indica que a macroalga possui uma maior afinidade ao nutriente quando encontrado em concentrações elevadas, enquanto que as espécies que possuem baixos valores da K_m demonstram uma maior afinidade ao nutriente em baixas concentrações (Lobban et al. 1985; Carneiro et al., 2011). Em geral a absorção do N – NH₄⁺ em baixas concentrações se torna mais lenta por ela ser realizada contra o gradiente de concentração enquanto que em ambientes com altas concentrações o gradiente químico permite a entrada livre do nitrogênio amoniacal por difusão passiva, disponibilizando uma forma mais rápida de absorção para a alga (Carneiro et al., 2007; Hurd et al., 2014; Phillips & Hurd, 2004).

Luo et al. (2012), avaliaram a capacidade de absorção do Nitrogênio amoniacal das macroalgas *Ulva prolifera* e a *Ulva linza* e obtiveram respectivamente, V máx 284,60 μMg⁻¹DMh⁻¹ e 250 μMg⁻¹DMh⁻¹, para concentrações iniciais de até 200 μM de N- NH₄⁺, sugerindo assim que esses valores altos demonstram vantagem competitiva das algas na absorção do N-NH₄⁺ com relação a outros nutrientes. Sun et al. (2015), relatam uma taxa de absorção de 160 μMg⁻¹DMh⁻¹ para a *Ulva prolifera* com concentrações iniciais de até 300 μM de nitrogênio sugerindo que a macroalga foi significativamente afetada pela alta concentração de nitrogênio e pela exposição à luz, além disso demonstra que os valores de nitrogênio encontrados no tecido das algas não correspondem aos valores calculados de absorção de nutrientes indicando que a macroalga regula as taxas de absorção dos nutrientes rapidamente mas a atividade enzimática a curto prazo não está diretamente ligada a concentração do nutriente.

Fujita (1985), já relatava taxas altas de absorção ($216 \mu\text{Mg}^{-1}\text{DMh}^{-1}$) em meio de altas concentrações de nitrogênio ($200 \mu\text{M}$) pela *Ulva lactuca* deixadas em período de jejum com características de cinética de Michaelis-Menten. A elevação da taxa de absorção de nitrogênio após um período de baixa disponibilidade e posterior armazenamento foi proposto como mecanismos que permitem que as macroalgas mantenham crescimento quando o suprimento de N é baixo (D'Elia & DeBoer; 1978).

Os valores para *Ulva lactuca* relatados neste trabalho corroboram dados previamente descritos na literatura, visto que a macroalga foi exposta a concentrações iniciais de nitrogênio de aproximadamente $1700 \mu\text{M}$ após um período de 96 h de jejum, e atestam a viabilidade de usar esta espécie para o tratamento de efluentes de elastômeros.

6. CONCLUSÃO

Em síntese, com base nos resultados obtidos, pôde-se verificar a capacidade de remoção do nitrogênio pela macroalga estudada nas diferentes concentrações do efluente utilizado. Além disso, a taxa de crescimento positiva observada nos experimentos e o monitoramento das funções fotossintéticas da macroalga demonstram que a macroalga cresce em ambientes eutróficos. O modelo cinético de Michaelis-Menten descreveu a absorção do amônio conforme o esperado, demonstrando a capacidade específica que a macroalga *Ulva lactuca* tem de absorver rapidamente o amônio. Dessa forma podemos considerar que essa espécie pode ser utilizada como biofiltro no tratamento de efluentes oriundo da indústria de elastômeros.

7. REFERÊNCIAS

- Abreu, M. H., Pereira, R., Buschmann, A. H., Sousa-Pinto, I., & Yarish, C. (2011). Nitrogen uptake responses of *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss under combined and single addition of nitrate and ammonium. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 407(2), 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.06.034>
- Ben-Ari, T., Neori, A., Ben-Ezra, D., Shauli, L., Odintsov, V., & Shpigel, M. (2014). Management of *Ulva lactuca* as a biofilter of mariculture effluents in IMTA system. *Aquaculture*, 434, 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.08.034>
- Carneiro, M. A. do A., Pereira, D. C., Azevedo, C. A. de A., & Marinho-Soriano, E. (2007). Eficiência de absorção da macroalga *Gracilaria cervicornis* Turner (J. Agardh). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2 (suplemento)), 807–809.
- Carneiro, M. A. A., de Freire, F. A. M., & Marinho-Soriano, E. (2011). Study on biofiltration capacity and kinetics of nutrient uptake by *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh (Rhodophyta, gracilariaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(2), 329–333. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000074>
- Castelar, B., Reis, R. P., & dos Santos Calheiros, A. C. (2014). *Ulva lactuca* and *U. flexuosa* (Chlorophyta, Ulvophyceae) cultivation in Brazilian tropical waters: Recruitment, growth, and ulvan yield. *Journal of Applied Phycology*, 26(5), 1989–1999. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0329-z>
- Chaiprapat, S., Wongchana, S., Loykulnant, S., Kongkaew, C., & Charnnok, B. (2015). Evaluating sulfuric acid reduction, substitution, and recovery to improve environmental performance and biogas productivity in rubber latex industry. *Process Safety and Environmental Protection*, 94(C), 420–429. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.10.002>
- Chaiprapat, S., & Sdoodee, S. (2007). Effects of wastewater recycling from natural rubber smoked sheet production on economic crops in southern Thailand. *Resources, Conservation and Recycling*, 51(3), 577–590. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2006.11.003>

Chen, B., & Zou, D. (2015). Altered seawater salinity levels affected growth and photosynthesis of *Ulva fasciata* (Ulvales, Chlorophyta) germlings. *Acta Oceanologica Sinica*, 34(8), 108–113. <https://doi.org/10.1007/s13131-015-0654-3>

Chiellini, F., & Morelli, A. (2011). Ulvan: A Versatile Platform of Biomaterials from Renewable Resources. *Biomaterials*, (January 2017), 75–98. <https://doi.org/10.5772/24901>

Claver, D. A., Carvalho, M. F., Santelli, R. E., Utilização de *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Ulvales) na Identificação de Toxicidade por Amônia e Metais pesados em Efluentes Líquidos da Reduc - Refinaria Duque de Caxias e Águas Fluviais, Complexo Iguaçu-Sarapuí, RJ, 2003.

Corey, P., Jang, K.K., Duston, J., Garbary, D.J., Prithiviraj, B. 2013. Bioremediation potential of *Palmaria palmata* and *Chondrus crispus* (Basin Head): Effect of nitrate and ammonium ratio as nitrogen source on nutrient removal. *Journal of Applied Phycology*, 25(5), 1349-1358.

Cornish, K. (2001). Similarities and differences in rubber biochemistry among plant species. *Phytochemistry*, 57(7), 1123–1134. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00097-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00097-8)

da Costa, V. M. F. *Utilização da Macroalga Ulva lactuca Linnaeus na Redução de Nutrientes (NH₄⁺, NO₃⁻ e PO₄⁻²) Provenientes da Carcinocultura*. 2006. 69 f. Tese (Mestrado) - Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rio Grande do Norte. 2006.

D'Elia, C.F. & DeBoer, J.A., 1978. Nutritional studies of two red algae. II. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. *Journal Phycology*, 14: 266-272. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1978.tb00297.x

Carneiro, M. *Estudo do Crescimento, Eficiência de Biofiltração e Cinética de Absorção de Nutrientes da Macroalga Gracilaria cervicornis*. 2007. 75 f. Tese (Mestrado em Bioecologia Aquática) – Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte. 2007.

Falkowski, P.G., Raven, J.A. 2007. *Aquatic Photosynthesis*. Princeton University Press, Princeton.

Flexuosa, S., Agoa, N. A. L., Reitas, R. O. D. E. F., Aneiro, R. I. O. D. E. J., Rasil, B., Loureiro, R. R., & Reis, R. P. (2008). E p , c u . l r f , r j , b. DOI: 10.1590/2175-7860200859202

Fujita, R. M. (1985). The role of nitrogen status in regulating ammonium transient uptake and nitrogen storage by macroalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 92(2–3), 283–301. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(85\)90100-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(85)90100-5)

Gabriel, D., Maestre, J. P., Martín, L., Gamisans, X., & Lafuente, J. (2007). Characterisation and performance of coconut fibre as packing material in the removal of ammonia in gas-phase biofilters. *Biosystems Engineering*, 97(4), 481–490. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.03.038>

Hurd, C. L., Harrison, P. J., Bischof, K., & Lobban, C. S. (2014). *Seaweed Ecology and Physiology Second Edition Preface (PARTB)*. *Seaweed Ecology and Physiology*, 2Nd Edition, (DeBoer), XIII+.

Kaur, I., & Bhatnagar, A. K. (2002). Biotransformations - Bioremediation Technology for Health and Environmental Protection. *Progress in Industrial Microbiology*, 36, 457–516. [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(02\)80024-8](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(02)80024-8)

Kim, J. K., Kraemer, G. P., & Yarish, C. (2008). Physiological activity of *Porphyra* in relation to eulittoral zonation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 365(2), 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.07.040>

Kivaisi, A. K. (2001). The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: A review. *Ecological Engineering*, 16(4), 545–560. [https://doi.org/10.1016/S0925-8574\(00\)00113-0](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(00)00113-0)

Kolmetz K, Dunn SA, Som AM, Sim CP, Mustaffa Z (2003). Benchmarking Waste Water Treatment Systems. In: International Conference on Chemical and Bio-process Engineering, School of Engineering and Information Technology, Universiti Malaysia Sabah.

Kromkamp, J.C., Forster, R.M. 2003. The use of variable fluorescence measurements in aquatic ecosystems: Differences between multiple and single turnover measuring protocols and suggested terminology. *European Journal of Phycology*, 38(2), 103-112.

Li, Y. H., Wang, D., Xu, X. T., Gao, X. X., Sun, X., & Xu, N. J. (2017). Physiological responses of a green algae (*Ulva prolifera*) exposed to simulated acid rain and decreased salinity. *Photosynthetica*, 55(4), 623–629. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0689-0>

Littler, M. M. (1980). Morphological Form and Photosynthetic Performances of Marine Macroalgae: Tests of a Functional/Form Hypothesis. *Botanica Marina*. <https://doi.org/10.1515/botm.1980.23.3.161>

Liu, J., Wang, Z., & Lin, W. (2010). De-eutrophication of effluent wastewater from fish aquaculture by using marine green alga *Ulva pertusa*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(2), 201–208. <https://doi.org/10.1007/s00343-010-9245-5>

Lobban, C.S.; Harrison, P. S. & Duncan, M.J., 1985. The physiological ecology of seaweeds. Cambridge University Press, 236 pp.

Lobban, C.S., Harrison, P.J. 1997. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge.

Lonholdt J, Andersen LS (2005). Water and Wastewater Management in the Tropics. IWA Publishing, pp. 333-345. (2005 IWA Publishing Jens Lonholdt ISBN: 1843390132 googlebook)

Luo, M. B., Liu, F., & Xu, Z. L. (2012). Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. *Aquatic Botany*, 100, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2012.03.006>

Malta, E. J., Ferreira, D. G., Vergara, J. J., & Pérez-Lloréns, J. L. (2005). Nitrogen load and irradiance affect morphology, photosynthesis and growth of *Caulerpa prolifera* (Bryopsidales: Chlorophyta). *Marine Ecology Progress Series*, 298, 101–114. <https://doi.org/10.3354/meps298101>

Mohammadi, M., Man, H., Hassan, M., & Yee, P. (2013). Treatment of wastewater from rubber industry in Malaysia. *African Journal of Biotechnology*, 9(38), 6233–6243. <https://doi.org/10.4314/ajb.v9i38>.

Marinho-Soriano, E., Nunes, S. O., Carneiro, M. A. A., & Pereira, D. C. (2009). Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. *Biomass and Bioenergy*, 33(2), 327–331. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.07.002>

Mokhtar, N. M., Lau, W. J., Ismail, A. F., & Veerasamy, D. (2015). Membrane distillation technology for treatment of wastewater from rubber industry in Malaysia. *Procedia CIRP*, 26, 792–796. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2014.07.161>

Nazri, N. A. M., Lau, W. J., Ismail, A. F., Matsuura, T., Veerasamy, D., & Hilal, N. (2015). Performance of PAN-based membranes with graft copolymers bearing hydrophilic PVA and PAN segments in direct ultrafiltration of natural rubber effluent. *Desalination*, 358, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2014.12.012>

Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A. H., Kraemer, G. P., Halling, C., ... Yarish, C. (2004). Integrated aquaculture: Rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231(1–4), 361–391. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.015>

Neori, A., Troell, M., Chopin, T., Yarish, C., Critchley, A., & Buschmann, A. H. (2007). The need for a balanced ecosystem approach to blue aquaculture. *Environment*, 49(3), 36–43. <https://doi.org/10.3200/ENVT.49.3.36-43>

Noel Jacob, K., Senthil Kumar, S., Thanigaivelan, A., Tarun, M., & Mohan, D. (2014). Sulfonated polyethersulfone-based membranes for metal ion removal via a hybrid process. *Journal of Materials Science*, 49(1), 114–122. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7682-1>

Oliveira, V.P., Martins, N.T., Guedes, P.S., Pollery, R.C.G., Prast, A.E. 2016. Bioremediation of nitrogenous compounds from oilfield wastewater by *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *Bioremediation Journal*, 20(1), 1-9.

Owamah, H. I., Enaboifo, M. A., & Izinyon, O. C. (2015). Treatment of wastewater from raw rubber processing industry using water lettuce macrophyte pond and the reuse of its effluent as biofertilizer. *Agricultural Water Management*, 146, 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2014.08.015>

Pedersen, M., & Borum, J. (1997). Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Marine Ecology Progress Series*, 142, 261–272.

Phillips, J. C., & Hurd, C. L. (2004). Kinetics of nitrate, ammonium, and urea uptake by four intertidal seaweeds from New Zealand. *Journal of Phycology*, 40(3), 534–545. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03157.x>

Pilatti, F. K., Ramlov, F., Schmidt, E. C., Kreusch, M., Pereira, D. T., Costa, C., Maraschin, M. (2016). In vitro exposure of *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) to gasoline - Biochemical and morphological alterations. *Chemosphere*, 156, 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.126>

Puskas, J.E., Chiang, K., Barkakaty, B. (2014). 2 – Natural rubber (NR) biosynthesis: perspectives from polymer chemistry. *Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber*, 483, 30-67. <https://doi.org/10.1533/9780857096913.1.30>

Rabiei, R., Phang, S. M., Yeong, H. Y., Lim, P. E., Ajdari, D., Zarshenas, G., & Sohrabipour, J. (2014). Bioremediation efficiency and biochemical composition of *Ulva reticulata* (Chlorophyta) cultivated in shrimp (*Penaeus monodon*) hatchery effluent. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(3), 621–639.

Reis, J. L. R., Sant'Anna Jr, G. L., DEZOTTI, M. (2007) Toxicity Evaluation of the Process Effluent Streams of a Petrochemical Industry. *Environmental Technology*, 28 (2), 147-155. <https://doi.org/10.1080/09593332808618773>

Reis, J. L. R., Martins, A., Pedroso, A., Sant'Anna Jr, G. L., & Dezotti, M. (n.d.). Estudo do Tratamento de um Efluente da Indústria de Borracha Sintética, (March 2015), 8. Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/peru/bratar258.pdf>

Ramus, J. & Venable, M. 1987. Temporal ammonium patchiness and growth rate in *Codium* and *Ulva* (Ulvophyceae). *Journal Phycology* 23: 518-523. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1987.tb04200.x

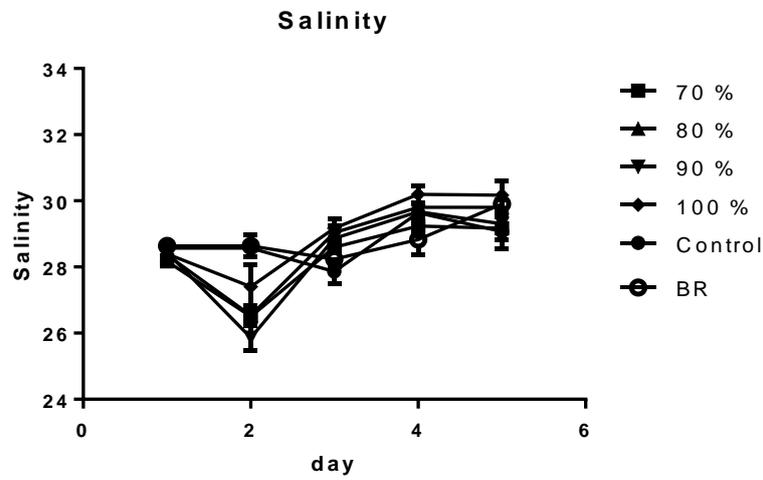
Sode, S., Bruhn, A., Balsby, T. J. S., Larsen, M. M., Gotfredsen, A., & Rasmussen, M. B. (2013). Bioremediation of reject water from anaerobically digested waste water sludge with macroalgae (*Ulva lactuca*, Chlorophyta). *Bioresource Technology*, 146, 426–435. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.062>

Sun, K. M., Li, R., Li, Y., Xin, M., Xiao, J., Wang, Z.,... Pang, M. (2015). Responses of *Ulva prolifera* to short-term nutrient enrichment under light and dark conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 163, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.03.018>

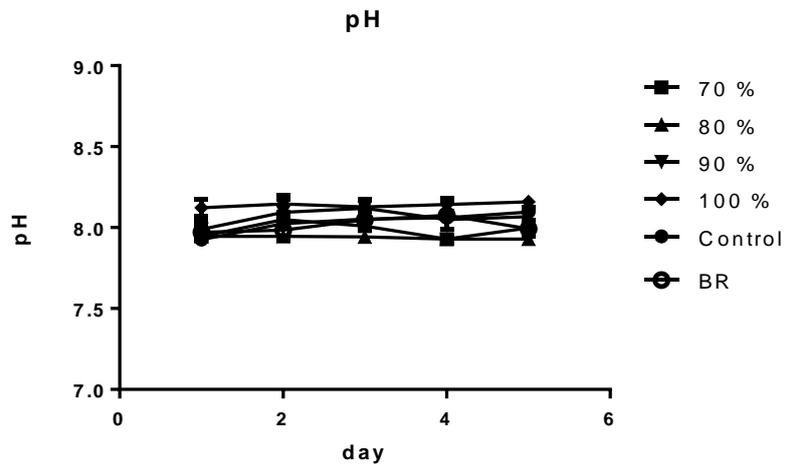
Zheng, X., Plume, S., Ernst, M., Croué, J. P., & Jekel, M. (2012). In-line coagulation prior to UF of treated domestic wastewater - foulants removal, fouling control and phosphorus removal. *Journal of Membrane Science*, 403–404, 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.02.051>

8. ANEXOS

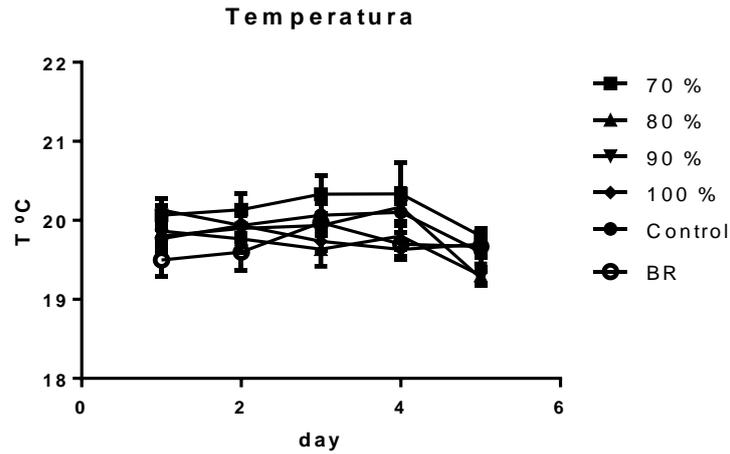
Anexo 1 - Variação da salinidade durante o período do experimento (2way ANOVA; $P < 0,0001$; $F = 5,38$)



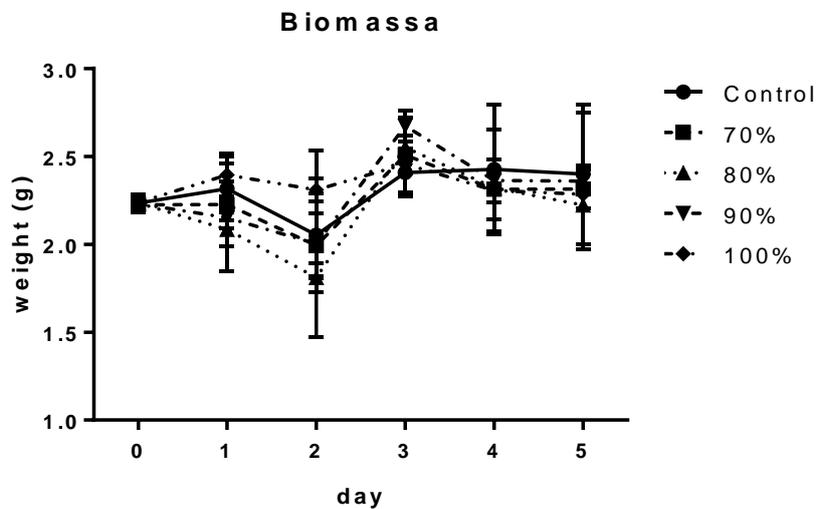
Anexo 2 – Variação do pH durante o período do experimento (2way ANOVA; $P = 0,7098$; $F = 2,28$)



Anexo 3 – Variação da Temperatura durante o período do experimento (2way ANOVA; $P = 0,3470$; $F = 5,4$)



Anexo 4 - Variação da biomassa de algas durante o período do experimento (2way ANOVA; $P=0,5187$; $F=0,95$)



Anexo 5 - Artigo: Bioremediation potential of the macroalgae *Ulva lactuca* (Chlorophyta) for ammonium removal from nitrile rubber effluents

Camille R. Chaves^{a,b*}; Vinicius P. de Oliveira^c; Andrew Macrae^{a,d}; Alex Enrich-Prast^{e,f}

*Corresponding author: camillerchaves@yahoo.com.br

Phone number: +55 21 3938-6316