

## APROVEITAMENTO DE CLORETO DE AMÔNIO ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) COMO FONTE DE CRESCIMENTO PARA A MICROALGA *TETRASELMIS CHUII*

NATALIE REALI<sup>1</sup>; ISABELLA FRANCESCHI<sup>2</sup>; EGÍDIA ANDRADE<sup>3</sup>; RODRIGO GOMES<sup>4</sup>; JOSE MARIA MONSERRAT<sup>5</sup>; DARIANO KRUMMENAUER<sup>6</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Laboratório de Ecologia de Microorganismos Aplicada à Aquicultura - Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – [natalie.reali@hotmail.com](mailto:natalie.reali@hotmail.com)

<sup>5</sup>Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos - Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – [josemonserrat@gmail.com](mailto:josemonserrat@gmail.com)

<sup>6</sup>Laboratório de Ecologia de Microorganismos Aplicada à Aquicultura - Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – [darianok@gmail.com](mailto:darianok@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A presença de compostos nitrogenados, especialmente a amônia, é um desafio frequente em sistemas de aquicultura e no manejo de efluentes aquáticos. A amônia total (TAN) compreende tanto o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) quanto a amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), sendo esta última a forma potencialmente tóxica para organismos aquáticos (HERATH & SATOH, 2015).

O cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), quando dissolvido em água, se dissocia formando  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Dessa forma, o  $\text{NH}_4\text{Cl}$  funciona como uma fonte direta de  $\text{NH}_4^+$ , que pode ser assimilado por produtores primários, como microalgas, ou convertido em  $\text{NH}_3$  dependendo do pH e da temperatura. Entretanto, sob determinadas condições ambientais, o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) pode ser assimilado de forma eficiente por produtores primários, servindo como uma fonte direta de nitrogênio para o metabolismo celular (KHATOON et al., 2016).

*Tetraselmis chuii* é uma microalga marinha amplamente utilizada em cultivos aquícolas, capaz de assimilar compostos nitrogenados inorgânicos, incluindo a amônia, para sustentar o crescimento celular, a divisão e a síntese de pigmentos. Nesse contexto, o cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), em vez de atuar apenas como composto potencialmente tóxico, pode servir como fonte de nitrogênio essencial, promovendo incrementos significativos na biomassa microalgal (FARAHIN et al., 2021).

O presente estudo teve como objetivo investigar a capacidade de *Tetraselmis chuii* de utilizar o cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) como fonte de nitrogênio, avaliando seus efeitos sobre o crescimento e parâmetros fisiológicos da microalga, seguindo o protocolo estabelecido pela diretriz ABNT NBR 16181 (ABNT, 2021).

### 2. METODOLOGIA

O cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) P.A da marca , altamente solúvel em água, foi utilizado como fonte de amônio em diferentes concentrações. Preparou-se uma solução estoque e, a partir dela, as diluições necessárias para obtenção das soluções de teste. As concentrações finais de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  testadas foram: 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 e 7,81 mg L<sup>-1</sup>, além de um controle sem adição da substância.

A cepa de *Tetraselmis chuii* utilizada neste estudo foi obtida do Banco de Microalgas do Laboratório de Microrganismos Aquáticos (LEMAQUI) e cultivada em meio f/2 (GUILLARD, 1975) sob condições controladas: temperatura de 20 °C a 24 °C, pH entre 7,2 e 8,5, salinidade entre 30 e 37, fotoperíodo de 12 h claro/escuro e intensidade luminosa de 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e velocidade de agitação entre 100 r/min e 175 r/min.

Os ensaios tiveram duração de  $96\text{h} \pm 2\text{h}$  em frascos Erlenmeyer de 250 mL com volume útil de 100 mL. Cada frasco recebeu meio ISO, inóculo algal e a concentração específica de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , conforme a ABNT NBR 16181 (ABNT, 2021). Os tratamentos foram realizados em triplicata, mantidos sob agitação orbital e submetidos às mesmas condições controladas de cultivo (temperatura, luz e agitação).

Durante o ensaio, o crescimento de *Tetraselmis chuii* foi acompanhado por meio da densidade celular, sendo monitorada pela medição da absorbância em espectrofotômetro da marca FEMTO 600S no comprimento de onda de 680 nm, associado à absorção dos pigmentos fotossintéticos, permitindo uma estimativa indireta da biomassa. Paralelamente, realizou-se a contagem celular direta em câmara de Neubauer, assegurando a quantificação precisa do número de células presentes em cada tratamento ao longo do período experimental.

As análises estatísticas foram realizadas adotando nível de significância de 0,05.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicaram que *Tetraselmis chuii* foi capaz de aproveitar o cloreto de amônio como fonte de nitrogênio, apresentando incremento em densidade celular em todos os tratamentos testados. No controle, a população passou de  $283.333 \pm 20.755$  para  $488.333 \pm 35.492$  células/mL<sup>-1</sup>, evidenciando o crescimento basal da microalga em meio ISO.

Nas concentrações mais elevadas, 250 e 125 mg L<sup>-1</sup>, foram observadas densidades finais de  $507.500 \pm 9.428$  e  $513.333 \pm 8.898$  células/mL, respectivamente, ambas superiores ao controle. A concentração intermediária de 62,5 mg L<sup>-1</sup> resultou em densidade final de  $452.500 \pm 16.330$  células/mL, enquanto os tratamentos de 31,25 e 15,63 mg L<sup>-1</sup> atingiram  $479.167 \pm 30.229$  e  $460.000 \pm 67.175$  células/mL, próximos ao valor do controle. Já a menor concentração, 7,81 mg L<sup>-1</sup>, apresentou crescimento expressivo, alcançando  $509.167 \pm 11.783$  células/mL, comparável aos maiores tratamentos.

As análises de absorbância em 680 nm corroboraram os resultados de contagem celular. O controle apresentou incremento de 0,208 para 0,258, refletindo o crescimento basal da cultura. Nas concentrações mais altas, observou-se manutenção da absorbância, com valores iniciais e finais semelhantes em 250 mg L<sup>-1</sup> (0,314 → 0,277) e 125 mg L<sup>-1</sup> (0,255 → 0,258), sugerindo que, apesar da alta densidade celular final, pode ter ocorrido leve redução na eficiência óptica por célula, possivelmente associada a alterações na proporção pigmento/biomassa. Já nas concentrações intermediárias e baixas, houve incremento evidente da absorbância, especialmente em 31,25 mg L<sup>-1</sup> (0,259 → 0,310), 15,63 mg L<sup>-1</sup> (0,284 → 0,316) e 7,81 mg L<sup>-1</sup> (0,270 → 0,328), indicando aumento na biomassa fotossinteticamente ativa.

De maneira geral, a contagem celular e a absorbância apresentaram comportamentos complementares, indicando que *Tetraselmis chuii* foi capaz de assimilar  $\text{NH}_4^+$  de forma eficiente, sustentando tanto o crescimento celular quanto o acúmulo de pigmentos fotossintéticos sem sinais de toxicidade. Concentrações intermediárias e baixas de cloreto de amônio favoreceram o equilíbrio entre a densidade celular e a biomassa fotossinteticamente ativa, demonstrando a capacidade da microalga de utilizar uma fonte de nitrogênio frequentemente considerada tóxica como recurso nutricional. A análise estatística por ANOVA de uma via ( $F = 0,626$ ;  $p = 0,748$ ) indicou que não houve diferença significativa no crescimento final entre as diferentes concentrações de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  nem em relação ao controle, corroborando os achados das contagens celulares e da absorbância.

Esses resultados reforçam a plasticidade metabólica de *Tetraselmis chuii* e seu potencial para otimização de cultivos microalgais em sistemas de aquicultura. O uso direto de amônio como fonte de nitrogênio mostrou-se vantajoso, promovendo divisão celular e produção de pigmentos, o que pode contribuir para maior produtividade e melhor qualidade nutricional do alimento vivo. Assim, *Tetraselmis chuii* se destaca como uma ferramenta promissora para estratégias de manejo alimentar sustentável, permitindo aproveitamento eficiente de nutrientes, redução de custos e aumento da eficiência em sistemas de cultivo controlados.

Além de otimizar a produtividade e a qualidade dos organismos cultivados, a microalga pode contribuir significativamente para a biorremediação de amônia, removendo ou assimilando compostos nitrogenados tóxicos presentes em efluentes ou tanques de cultivo. Dessa forma, *Tetraselmis chuii* se apresenta como uma ferramenta promissora para práticas sustentáveis em aquicultura, permitindo o aproveitamento eficiente de nutrientes, a redução de custos e o controle ambiental em sistemas de cultivo intensivo.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que *Tetraselmis chuii* é capaz de assimilar cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) como fonte de nitrogênio, utilizando-o de maneira eficiente para sustentar crescimento celular e acúmulo de pigmentos fotossintéticos. Tanto concentrações baixas quanto intermediárias favoreceram o equilíbrio entre aumento da densidade celular e da biomassa fotossinteticamente ativa, sem sinais de toxicidade.

A microalga apresentou plasticidade metabólica ao converter um composto comumente considerado tóxico em recurso nutricional, evidenciando sua capacidade de adaptação a diferentes níveis de disponibilidade de amônio. Esse comportamento ressalta o potencial de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  como nutriente promotor em cultivos controlados, otimizando o crescimento e a produtividade da microalga.

Dessa forma, os achados reforçam o valor de *Tetraselmis chuii* em sistemas de cultivo na aquicultura, oferecendo uma alternativa viável para o aproveitamento eficiente de fontes de nitrogênio, contribuindo para a melhoria da qualidade nutricional do alimento vivo, redução de custos e estratégias de manejo alimentar mais sustentáveis.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 16181: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com microalgas marinhas**. Rio De Janeiro. 2021.

FARAHIN, Abd Wahab et al. Tolerance of *Tetraselmis tetraele* to high ammonium nitrogen and its effect on growth rate, carotenoid, and fatty acids productivity. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 568776, 2021.

GUILLARD, Robert RL. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: **Culture of marine invertebrate animals: proceedings—1st conference on culture of marine invertebrate animals greenport**. Boston, MA: Springer US, 1975. p. 29-60.

HERATH, S. S.; SATOH, S. Environmental impact of phosphorus and nitrogen from aquaculture. In: **Feed and feeding practices in aquaculture**. Woodhead Publishing, 2015. p. 369-386.

KHATOON, Helena et al. Re-use of aquaculture wastewater in cultivating microalgae as live feed for aquaculture organisms. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 60, p. 29295-29302, 2016.