



ROSÂNGELA MORAES DE MELLO

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DO
ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EM ÁGUAS CONTENDO CROMO
HEXAVALENTE**

CANOAS, 2017.

ROSÂNGELA MORAES DE MELLO

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DO
ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EM ÁGUAS CONTENDO CROMO
HEXAVALENTE**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais da Universidade La Salle – UNILASALLE, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Avaliação de Impactos Ambientais.

Orientação: Prof^a. Dra. Alessandra Marqueze

Canoas, 2017.

ROSÂNGELA MORAES DE MELLO

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DO
ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EM ÁGUAS CONTENDO CROMO
HEXAVALENTE**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais da Universidade La Salle – UNILASALLE, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Avaliação de Impactos Ambientais.

Aprovado pela banca examinadora em
BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Alessandra Marqueze
UNILASALLE

Prof^a. Dra. Ana Cristina Borba da Cunha
UFCSPA

Prof^a. Dra. Carolina Kechinski
UFCSPA

Prof^a. Dra. Fernanda Rabaoli da Silva
UNILASALLE

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais (*in memoriam*) por tudo o que eu sou e por sempre valorizar e incentivar o aprendizado. Todas as palavras do mundo não são suficientes para expressar o quanto sou grata. Dedico todas as minhas conquistas a eles.

Aos meus irmãos Luís Fernando e Vinícius que me apoiaram nessa trajetória.

À minha amiga não só melhor amiga, mas irmã de alma, Bibiana, que além de me incentivar nesse momento, há mais de 16 anos está ao meu lado partilhando minhas tristezas e alegrias.

À minha orientadora, Alessandra Marqueze, pela confiança e orientação.

À Juliana Gomes e ao Darlan Gusso pela disponibilidade de sempre, em ajudar e responder minhas dúvidas.

À bolsista de Iniciação Científica, Vivian, que além de auxiliar no laboratório, foi minha companhia para conversas sobre livros, séries, filmes, quadrinhos e música.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

RESUMO

O aumento de poluentes é causado pela urbanização, crescimento das cidades e populações e intenso desenvolvimento tecnológico. Dentre essas fontes poluidoras estão as indústrias que utilizam o cromo hexavalente, Cr (VI), em seus processos. Esse metal provoca efeitos diversos, podendo causar câncer. O cromo pode também ocorrer na forma trivalente não tóxico, sendo usado como suplemento alimentar. Neste estudo foi investigado os efeitos do Cr (VI) sobre o bioindicador *Danio rerio*. Para isso, o peixe foi exposto a diferentes concentrações do metal, que no estudo esteve sob a forma do sal solúvel dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). As alterações no metabolismo de carboidrato foram monitoradas, através da determinação da glicose, do glicogênio e do lactato. A exposição ao contaminante foi de 48h (ABNT, 2011), caracterizando exposição aguda. Após as 48h, os peixes foram crioadestesiados e congelados para posterior análise bioquímica. Foi analisado o grupo controle (sem o contaminante), além das concentrações de Cr (VI): 20 mg L⁻¹, 30 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹, que se mantiveram estáveis durante o período de exposição. Observou-se uma redução ($p < 0,05$), tanto dos níveis de glicose quanto das reservas de glicogênio, desde o grupo controle até a o grupo com a concentração de 30 mg L⁻¹. No entanto, essa redução não foi significativa entre as concentrações que se seguiram, mesmo esses valores sendo menores ($p < 0,05$) que o controle. Diante desses resultados, observa-se que o cromo hexavalente, até a concentração de 30 mg L⁻¹, diminuiu ($p < 0,05$) os parâmetros metabólicos no *Danio rerio*, revelando gasto energético devido ao estresse químico causado pelo contaminante. Contudo, a depleção não foi significativa à medida em que as concentrações aumentaram, havendo baixo consumo energético, observando-se a diminuição da movimentação dos peixes nesses grupos. Já os níveis de lactato não sofreram alterações significativas, demonstrando que o gasto energético não foi suficiente para alterá-los.

Palavras-chave: cromo hexavalente, metabolismo intermediário, *Danio rerio*.

ABSTRACT

The increase in pollutants is caused by urbanization, urban and population growth, and intense technological development. Among these polluting sources are the industries that use hexavalent chromium, Cr (VI), in their processes. This metal causes diverse effects and can cause cancer. Chromium can also occur in the non-toxic trivalent form, being used as a food supplement. In this study the effects of Cr (VI) on the bioindicator *Danio rerio* were investigated. For this, the fish was exposed to different concentrations of the metal, which in the study was in the form of soluble salt potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$). Changes in carbohydrate metabolism were monitored by the determination of glucose, glycogen and lactate. The exposure to the contaminant was 48h (ABNT, 2011), characterizing acute exposure. After 48 hours, the fish were cryoanesthetized and frozen for later biochemical analysis. The control group (without the contaminant) were analyzed, beyond the concentrations of Cr (VI), 20 mg L⁻¹, 30 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹, and 50 mg L⁻¹, which remained stable during the period of exposure. There was a reduction ($p < 0.05$) in both levels of glucose and glycogen stores, from the control group to the 30 mg L⁻¹ concentration group. However, this reduction was not significant between the concentrations that followed, even those values being lower ($p < 0.05$) than the control. In view of these results, it was observed that the hexavalent chromium, up to the concentration of 30 mg L⁻¹, decreased ($p < 0.05$) the metabolic parameters in *Danio rerio*, revealing energy expenditure due to the chemical stress caused by the contaminant. However, the depletion was not significant as the concentrations increased, with low energy consumption, observing the decrease of fish movement in these groups. However, lactate levels did not change significantly, showing that the energy expenditure was not enough to change them.

Key words: hexavalent chromium, intermediate metabolism, *Danio rerio*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 Cromo	11
3.2 Cromo na indústria	11
3.2.1 <i>Indústria do couro</i>	12
3.2.2 <i>Refino do petróleo</i>	13
3.2.3 <i>Galvanoplastia</i>	15
3.2.4 <i>Indústria de tintas</i>	16
3.3 Legislação	17
3.4 Bioindicador	17
3.4.1 <i>Danio rerio</i>	18
3.5 Rota metabólica da glicose	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1 Local do experimento	21
4.2 Aspectos éticos	21
4.3 População experimental	21
4.4 Contaminante testado	21
4.5 Aspectos experimentais	22
4.6 Análises bioquímicas	23
4.7 Análise estatística dos dados	23
4.8 Aspectos ambientais	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Quantificação da glicose e do glicogênio	24
5.2 Quantificação do lactato	28
5.3 Monitoramento dos parâmetros da água dos aquários	29
5.3.1 <i>Determinação da concentração do cromo</i>	29
6 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de discussão sobre a contaminação de mananciais torna-se cada vez maior. Com o crescimento populacional e o crescimento do número de indústrias, cresce também a possível contaminação de ambientes aquáticos. A importância da água se dá pelo fato de ser um recurso natural indispensável e insubstituível, pois constitui elemento imprescindível para o desenvolvimento de todas as formas de vida do Planeta e, além disso, constitui um precioso insumo para diversas atividades econômicas e para a saúde da sociedade humana (LINS et al., 2010). A água é um recurso natural abundante no Planeta, com cerca de 1.265.000 trilhões de m³, porém, a água disponível para o uso humano representa uma pequena porcentagem. Aproximadamente 97% desse montante é de água salgada (mares e oceanos) e 2% está concentrado nas calotas polares. Somente 1% está presente nos continentes, distribuído em águas subterrâneas, lagos, rios e córregos, podendo ser utilizado para consumo humano (BOTKIN; KELLER, 2011).

Com isso, a biota aquática está constantemente exposta a um grande número de substâncias tóxicas lançadas no ambiente. A fonte dessa contaminação é muito diversa, indo desde efluentes industriais, processos de drenagem agrícola (fertilizantes, agrotóxicos), derrames acidentais e não acidentais de lixos químicos (metais pesados, compostos orgânicos e inorgânicos) a lixos domiciliares que acabam por chegar a rios e mares, gerando a contaminação dos ecossistemas aquáticos (RASHED, 2001). Os organismos vivos podem bioacumular metais pesados, incorporando-os na cadeia alimentar e atingindo grande parte dos diferentes extratos que constituem os ecossistemas aquáticos (VIARENGO, 1989).

Sendo assim, o peixe *Danio rerio*, neste projeto, teve o papel de bioindicador. Os bioindicadores são utilizados para avaliar os níveis de poluição devido às respostas obtidas quando estes são expostos a diversos tipos de poluentes, sendo que essas respostas podem ser bioquímicas, fisiológicas e histológicas, as quais são conhecidas como biomarcadores (BENITES ET al., 2014).

Em relação aos possíveis contaminantes aquáticos está o cromo, que é um elemento bioativo, que embora presente no organismo em pequenas quantidades, realiza importantes funções, particularmente no metabolismo da glicose (FREITAS, 2006). No entanto, quando em concentrações elevadas, e, sobretudo em estado de

oxidação diferente de III, é potencialmente perigoso à saúde e ao equilíbrio ambiental (NRIAGU e NIEBOER, 1988).

Mesmo havendo legislação e órgãos fiscalizadores para a emissão de cromo e outros metais pesados, como o CONAMA 430/2011 e o Ministério da Saúde com a portaria 2914, faz-se necessário o estudo do impacto desse elemento na natureza, seja no corpo hídrico ou seres que dali se alimentam e o usam para sobrevivência. Assim, este projeto tem por finalidade investigar a influência do Cr (VI) no metabolismo de carboidrato do zebrafish (*Danio rerio*).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver estudos de ecotoxicidade do cromo hexavalente [Cr (VI)] através da avaliação do seu efeito no metabolismo de carboidratos no bioindicador *Danio rerio*.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram:

- a) determinar no *Danio rerio* os valores de glicogênio frente às diferentes concentrações de cromo (VI);
- b) quantificar no zebrafish os valores de glicose frente às diferentes concentrações de cromo (VI);
- c) mensurar no peixe os valores de lactato frente às diferentes concentrações de cromo (VI);
- d) verificar a estabilidade do cromo (VI) na água com a presença do bioindicador.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Cromo

O cromo é amplamente usado na indústria e é um poluente aquático. Em águas naturais, o cromo está sob a forma trivalente [Cr (III)] ou hexavalente [Cr (VI)], dependendo das características físico-químicas da água (MOORE, 1991). Milacic e Stupar (1995), evidenciam que em água sob boas condições de aeração e baixos teores de matéria orgânica, o Cr (III) é estável e dominante, em comparação ao Cr (VI). De acordo com Borges (2009), quando o pH do corpo receptor é baixo, há maior concentração de Cr (III).

Acrescentando-se que, o cromo é um metal pesado e encontra-se na natureza no minério cromita (FeCr_2O_4). O cromo (III) é um nutriente necessário na dieta dos seres humanos (MANZOORI et al., 2006). O cromo (VI) pode ser encontrado sob a forma de CrO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ou K_2CrO_4 . Nas três formas, são sólidos, dissolvem-se facilmente em água, são oxidantes e tóxicos, podendo causar câncer e outras doenças (MAHAN, 2003). De acordo com Silva e Pedrozo (2001), além da forma de CrO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ou K_2CrO_4 , o cromo hexavalente pode ser encontrado também como ácido crômico (H_2CrO_4).

Sendo assim, é importante saber que a toxicidade para a maior parte da biota aquática ocorre na faixa de 0,05-5mg de Cr (VI)/kg de massa do indivíduo (WHO, 1988). Pimentel (2003) relata que os efeitos relacionados à exposição ao cromo hexavalente ocorrem no pulmão, fígado, rim, trato intestinal, sistema circulatório e trato respiratório, causando ulceração, perfuração do septo nasal, rinites, bronquite e pneumonia.

3.2 Cromo na indústria

Compostos de cromo são muito empregados em indústrias tais como curtimento de couro, refino de petróleo, galvanoplastia e pigmentos (OLIVEIRA, 2013). O destino final dos resíduos dessas indústrias preocupa, já que pode atingir o solo e mananciais, causando o acúmulo de elementos potencialmente tóxicos (CASTILHOS et al., 1999).

3.2.1 Indústria do couro

O couro é um produto com características que dependem da criação do animal e do processo de industrialização. A pele animal tem singularidades que até hoje outros materiais não conseguem substituir (AQUIM et al., 2004). No Rio Grande do Sul, o curtimento de couro tem um grande ganho econômico, de acordo com Castilhos et. al (1999). O setor coureiro destaca-se na economia tanto pela sua taxa de exportação como pela geração de empregos (BAYER, 2005). De acordo com dados de 2016 da *Food and Agriculture Organization* (FAO), o Brasil é o segundo país com maior número cabeças de gado, perdendo apenas para a Índia. E o terceiro maior produtor de peles, ficando atrás da Índia e da China.

Com isso, Maioli e Silva (2000), destacam que a poluição gerada pelos curtumes é equivalente à poluição gerada por 1000 a 4000 habitantes por tonelada de pele. Processos utilizando sais de cromo são os mais utilizados (MELLA, 2013), visto que essa substância é de fácil acesso, fácil processamento e confere um excelente produto final quando comparado a outros curtentes (FUCK et al., 2007). Abreu (2006) aponta que apenas uma fração do cromo usado no curtimento reage com a pele. O excedente se transforma em resíduo do processo, gerando o lodo de cromo. Segundo Mella (2013), cerca de 30 a 40 litros de água por litro de pele processada, em média, são consumidos.

Além disso, durante o processamento do couro, o cromo encontra-se na forma trivalente (FUCK, 2007). MANZOORI et al. (2006) lembra que o Cr (III) é essencial do ponto de vista nutritivo. No entanto, Milacic e Stupar (1995) explicam que o acúmulo constante do Cr (III), associado à presença de manganês, baixos teores de matéria orgânica e boa aeração, provoca a oxidação do cromo à sua forma hexavalente. Castilhos et. al (1999) ratifica que essa última forma do cromo é de alta solubilidade, mobilidade e caracteristicamente tóxica e mutagênica para os animais superiores, plantas e microorganismos.

De um modo geral, segundo Pacheco (2005), couro é uma pele animal que passou por processos de limpeza, de estabilização, dada pelo curtimento e pelo acabamento. O couro é usado em confecção de calçados, peças de vestuário, revestimentos de mobília e estofamento de automóveis. O processo de curtimento do couro requer diversos processos mecânicos e químicos de tratamento (GODECKE, 2012). De acordo com Pacheco (2005), o processo do couro está dividido em três

partes: ribeira, curtimento e acabamento. Aquim et al. (2004) explica que no processo de ribeira acontecem processos em meio aquoso, que são a limpeza, a hidratação e a depilação da pele, e processos mecânicos de descarnar e divisão da pele em superior (flor) e inferior (raspa). Após esse processo, a pele passa para o processo de curtimento.

Portanto Fuck et al. (2007), explica o processo de curtimento como sendo a etapa em que a pele é transformada em material imputrescível e estável, através da interação do agente curtente com as fibras de colágeno. Guterres (2008) complementa, relatando que a pele, pelo ataque químico do curtente, fica resistente à ação de microorganismos e enzimas, eleva sua resistência hidrotérmica e reduz a capacidade de inchamento. Pacheco (2012) lembra que o processo de curtimento pode ser classificado em três tipos: mineral, vegetal e sintético. Sendo que no curtimento mineral é usado o cromo hexavalente. Após essa etapa do processo, o couro passa para a etapa de acabamento.

Com isso, o acabamento é subdividido em: acabamento molhado, pré-acabamento e acabamento final (MELLA, 2013). Nessa fase, segundo Pacheco (2012), acontece o enxugamento do couro, operações físico-mecânicas que conferem ao produto, cor, resistência à tração, impermeabilidade, maciez, flexibilidade, toque e elasticidade.

3.2.2 Refino do petróleo

Na sociedade, organizada como está, o petróleo tem uma importância vital. O petróleo, além de sua importância como fonte de energia também é uma importante matéria-prima para diversos bens de consumo (MARIANO, 2001). Marmelo (2009) destaca que o petróleo, enquanto potencializador de crescimento e desenvolvimento econômico, é um produto social e economicamente estabelecido, o que acarreta na resistência a encontrar alternativas energéticas capacitadas para substituí-lo.

Em suma, o petróleo bruto é uma complexa mistura de hidrocarbonetos, que apresenta contaminações variadas de enxofre, nitrogênio, oxigênio e metais. A composição dessa mistura depende de onde está localizado o seu reservatório (MARIANO, 2001). Segundo Cechinel (2013), a única aplicação do petróleo bruto é ser usado como óleo combustível. Portanto, se faz necessário o seu refino.

Todavia, é necessário primeiramente, antes do refino, ser realizado o *upstream*, que nada mais é que a exploração, a prospecção, e a produção de petróleo. Onde são feitas análises geológicas para posterior perfuração de poços (CUNHA, 2009). Mariano (2001) acrescenta que no processo de *downstream* é feita a parte logística de escoamento de petróleo e de gás.

Paralelamente, o refino é todo o processo que envolve a transformação do mineral bruto em seus derivados (MARIANO, 2001). De acordo com Cunha (2009), as etapas de refino de petróleo resumem-se, basicamente, em quatro processos: a dessalinização, a separação, a conversão e o tratamento.

Sendo assim, a dessalinização é segundo Pombo (2011), a retirada de sais, de alguns metais e de sólidos em suspensão do petróleo bruto. Cunha (2009) explica que esse processo se baseia no aquecimento e mistura do petróleo cru com água (entre 3 e 10% do volume do óleo). A água dissolve os sais e é então separada do petróleo com a utilização de desemulsificadores, e/ou pela aplicação de potenciais elétricos.

Já a separação é o fracionamento de petróleo. O petróleo é uma mistura de muitos hidrocarbonetos, não sendo possível separar um a um. Como essa separação é feita pela destilação, os hidrocarbonetos são separados em grupos com pontos de ebulição próximos, as chamadas frações (CUNHA, 2009).

A conversão, para Mariano (2001), baseia-se na transformação de determinadas frações do petróleo em outras de maior interesse econômico, pelo reagrupamento ou reestruturação molecular. É o processo contrário da separação. As reações nessa etapa são obtidas pela ação conjunta de altas temperaturas e pressão, muitas vezes sendo usado um catalisador (POMBO, 2011).

Por fim, o tratamento é usado para eliminar ou modificar propriedades não desejadas devido à presença de contaminações. Essas contaminações envolvem compostos que contém enxofre, nitrogênio ou oxigênio (MARIANO, 2001). Essa etapa envolve o aquecimento do petróleo com outras substâncias, afim de que elas reajam com as impurezas, eliminando-as (POMBO, 2011).

Dessa forma, de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), através da NBR 10004:2004, os resíduos perigosos do petróleo, contendo cromo hexavalente, são: sólidos provenientes da emulsão residual oleosa e lodos provenientes da limpeza dos tubos dos trocadores de calor, que estão presentes ao longo do processo do refino.

Por tanto, os trocadores de calor consistem em canos que contem água, vapor ou óleo, usados na refinaria para resfriar ou aquecer diversas unidades de processamento do petróleo (MARIANO, 2001). Cunha (2009) lembra que periodicamente os trocadores devem ser limpos, evitando depósitos de lama ou resíduos de óleo que causam a obstrução da tubulação. Segundo Mariano (2001), nessa limpeza é usado o cromo hexavalente para evitar a corrosão da tubulação. Midugno (2007) informa que tanto o lodo, quanto os sólidos provenientes da emulsão residual oleosa descritos pela NBR 10004, são oriundos da limpeza dos trocadores de calor.

3.2.3 Galvanoplastia

A galvanoplastia consiste na deposição metálica em peças por banhos químicos ou eletroquímicos, seguidos de lavagem (VALENZUELA, 1999). Perez et al. (2014) pormenorizam que em todo processo em que metais não nobres são revestidos por outros mais nobres, geralmente para proteger contra a corrosão ou para fins estético-decorativos, a galvanoplastia é chamada de galvanização.

A indústria da galvanoplastia se apresenta como uma fonte geradora de efluentes contendo metais pesados e um volume considerável de águas de lavagem que varia entre 250 e 10000 L/h (Espinosa e Tenório, 2001). Riani (2008) detalha os metais pesados nesse segmento da indústria: cromo, níquel, cobre, zinco, cádmio e prata.

A galvanoplastia é dividida em duas etapas, segundo Perez et al. (2014): limpeza da peça e aplicação da camada metálica. A limpeza da peça é subdividida em desengraxamento e decapagem. Oliveira (1990) detalha um pouco mais cada subdivisão: no desengraxamento são usados solventes orgânicos, detergentes e soluções alcalinas. Na decapagem são utilizados ácidos e álcalis para remover a camada oxidada da peça.

Dessa forma, a última etapa do processo é a aplicação da camada metálica. Nessa fase são aplicados os metais citados a cima. Cada um confere uma propriedade à peça. O Cr (VI) garante dureza e resistência ao desgaste (OLIVEIRA, 1990).

Portanto, os efluentes de galvanoplastia podem ser classificados em quatro categorias, segundo Rocha (1982):

- Efluentes ácidos (soluções de ácido sulfúrico, nítrico e fluorídrico contendo cromo hexavalente);
- Efluentes ácidos isentos de cromo, contendo outros metais (cobre, zinco, cádmio e níquel);
- Efluentes alcalinos (sais de sódio, zinco e potássio, emulsionantes orgânicos e detergentes sintéticos) contendo cianetos;
- Efluentes alcalinos isentos de cianeto, contendo outros ânions (hidróxidos e silicatos).

Embora quantitativamente sejam menos significativos, quando comparados aos resíduos urbanos sólidos, o lodo galvânico pode apresentar qualitativamente um forte risco de impacto ambiental (COUTO, 2000). A sua lixiviação, por parte das águas das chuvas, pode promover a contaminação da cadeia alimentar com metais pesados (BERNARDIN; KUNHEN, 2005).

3.2.4 Indústria de tintas

A indústria de tintas, está dividida em produtos de linha imobiliária, industrial e automotiva, sendo que a linha imobiliária constitui a maior parte no volume de tintas produzidas, com cerca de 84,7% do volume total de acordo com dados de 2016 da Associação Brasileira dos Fabricantes de Tintas (ABRAFATI).

A tinta é composta por resinas, aditivos, solventes e pigmentos (FAZENDA, 2009). Bentlin et al. (2009) descreve o pigmento como um material particulado que pode ser orgânico ou inorgânico e que confere as diferentes cores ou fluorescências à tinta. Além disso, o pigmento aumenta a durabilidade e proteção da pintura, assim como dá maior poder de cobertura. Saron e Felisberti (2006) salientam ainda que os pigmentos inorgânicos são geralmente constituídos por óxidos, cromatos e sulfatos de chumbo, cromo (VI), cobalto, antimônio, cádmio, entre outros.

Com isso, os efluentes dessa indústria tem a composição variada, pela sua grande quantidade de matéria-prima, dificultando a avaliação do impacto ambiental causado (BENTLIN, et al., 2009). Nestes efluentes podem-se encontrar sais, corantes, pigmentos, metais e outros compostos orgânicos de estruturas variadas, que são provenientes de etapas distintas do processo global (SILVA et al., 2004). Arslan et al. (2000) expuseram que anualmente 12% dos corantes sintéticos são perdidos nos

processos de produção e utilização, atingindo o ambiente sendo que sua coloração pode suprimir os processos fotossintéticos nos cursos d'águas.

3.3 Legislação

Visto que as emissões do cromo (VI) devem ser monitoradas, o órgão que fiscaliza as emissões desse e de outros metais, bem como outros poluentes, é o Ministério do Meio Ambiente através do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), com a resolução nº 430 de 13 de maio de 2011. Para cada poluente, a Resolução CONAMA 430/2011 estabelece os limites permissíveis nos corpos receptores. O valor máximo de cromo hexavalente permitido é de 0,1 mg L⁻¹.

Já a Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde regulamenta o nível de cromo (VI) presente na água destinada ao consumo humano. O nível máximo é de 0,05 mg de cromo por litro de água potável, a ser controlado semestralmente.

3.4 Bioindicador

As respostas dos organismos vivos expostos a diferentes tipos de estresse tem sido utilizadas para avaliar a qualidade de seu hábitat, desde a antiguidade. Aristóteles (384-322 a.C.), segundo relatos, teria submetido peixes de água doce à água do mar para estudar suas reações (BUIKEMA; VOSHELL, 1993)

Então, bioindicadores são espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas cuja presença, quantidade e distribuição indicam a magnitude de impactos ambientais em um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem (CALLISTO; GONÇALVES, 2002). Livingstone (1993) vai além e detalha que bioindicadores são usados para indicar um desvio do status normal, seja a nível celular, histológico, bioquímico ou fisiológico, quando a espécie ou indivíduo é exposto a um contaminante.

Além disso, Akaishi (2004), afirma que um bioindicador ideal deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência relativa ao contaminante. Olivi et al. (2008) complementa que o bioindicador deve ser escolhido se seu comportamento, fisiologia e genética são bem conhecidos, para facilitar a compreensão dos resultados. Lijteroff et al. (2009) lembram que muitos bioindicadores são estudados pela sua interação com o ambiente e pela facilidade de observação.

Acrescentando-se que Clements (2000) sustenta que em sua maioria, são feitos estudos com bioindicadores expostos a tóxicos em condições laboratoriais controladas. Estes estudos podem ajudar a estabelecer causa e efeito aplicáveis a situações de contaminação em populações no campo.

De acordo com Magalhães e Ferrão Filho (2008), diversas espécies são empregadas internacionalmente como bioindicadores. Os principais grupos de organismos são microalgas, microcrustáceos, quínoídeos, poliquetas, oligoquetas, peixes e bactérias, representando os mais diversos níveis tróficos.

Freitas e Siqueira-Souza (2009) expõem que para ecossistemas aquáticos o uso de espécies de peixes é bastante eficiente, pois são componentes comuns e de fácil amostragem. Neste contexto, Dai et al. (2014) apontam que o peixe *Danio rerio* (zebrafish), está sendo usado como modelo para monitorar metais tóxicos, disruptores endócrinos e poluentes orgânicos para estudos de toxicologia. Westerfield (2007) afirma ainda, que a biologia do zebrafish tem sido amplamente estudada e bem descrita, sendo esta espécie escolhida como bioindicador do presente estudo.

3.4.1 *Danio rerio*

O *Danio rerio* é reconhecido internacionalmente como adequado para testes ecotoxicológicos. É um peixe tropical de água doce, originário da Ásia e é utilizado para pesquisas científicas desde a década de 1930 (KNIE; LOPES, 2004). Barabaran et al. (2005) justifica o uso do zebrafish devido à similaridade genética entre o peixe e os humanos. De acordo com os autores, os sistemas de neurotransmissão foram identificados nessa espécie e seu genoma é muito similar ao de mamíferos, incluindo a espécie humana.

As fêmeas dessa espécie são maiores do que os machos (FISH BASE, 2005), medem no máximo 5cm e vivem em média três anos (KNIE; LOPES, 2004). A espécie pode ser encontrada em diversos habitats, tanto em rios e riachos com águas calmas quanto águas paradas, como campos de cultivo de arroz (FISH BASE, 2005). Esse é um peixe largamente usado como bioindicador por ser de fácil cultivo, reprodução e manutenção em laboratório além de ser muito resistente a grandes variações de temperatura, pH e dureza da água. Além disso, demonstra sensibilidade a um grande número de substâncias tóxicas (KNIE; LOPES, 2004).

Figura 1 – *Danio rerio*

Fonte: http://www.thatpetplace.com/260348_2.jpg, 2016.

3.5 Rota metabólica da glicose

Os glicídios ou carboidratos são uma importante fonte de energia para os animais, sendo biomoléculas orgânicas chamadas polissacarídeos. Esses polissacarídeos sofrem hidrólise originando monossacarídeos (CAMPBELL, 2005). Monossacarídeos são chamados de açúcares simples, que são a frutose, presente nas frutas e no mel, e a glicose, nos animais (GONZÁLEZ; SILVA, 2007).

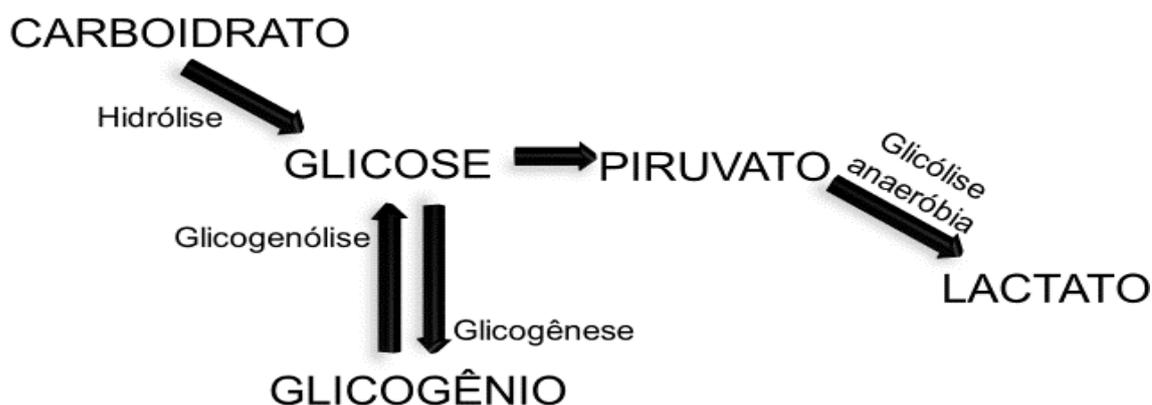
Além disso, a glicose é absorvida de forma rápida, sendo utilizada como fonte de energia imediata. Quando há excesso de sua ingestão, a glicose é armazenada no organismo dos animais sob a forma de glicogênio (CAMPBELL, 2005). Moléculas de glicose se unem formando polímero de glicogênio (polissacarídeo). Esse processo é chamado de glicogênese (PRATT, 2014). Silva et al. (1999) registra que os órgãos nos quais são depositados o glicogênio são o fígado, em até 6% do seu peso e músculo, em até 0,7% de seu peso.

Além disso, de acordo com Silva (1999), a função do glicogênio hepático é a manutenção dos níveis de glicose no sangue entre as refeições. É essencial um suprimento constante de glicose (PRATT, 2014), sendo que quando os níveis de energia estão baixos, ocorre a glicogenólise, que é a quebra de glicogênio (GUYTON; HALL, 2017). Isso mostra que o glicogênio hepático é uma reserva de glicose que pode ser exportada para outros órgãos quando necessário (SILVA, 1999). No entanto,

Campbell (2005) lembra que o glicogênio muscular não pode ser exportado. Ele é usado pelo próprio músculo como fonte de energia quando a necessidade desse órgão é muito intensa, no caso de exercícios físicos, ou estresse.

Já em outro processo, a glicólise, ocorre a produção de duas moléculas de ATP (trifosfato de adenosina) no processo anaeróbico e 32 moléculas de ATP no processo aeróbio (GUYTON; HALL, 2017). Silva et al. (1999) expõe que durante essa reação, uma parte da energia livre, vai ser conservada em ATP (trifosfato de adenosina). Durante a glicólise é gerado o piruvato, podendo este ser convertido a lactato em anaeróbiose (CAMPBELL, 2005).

Figura 2 – Esquema representativo simplificado do metabolismo de carboidrato.



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

Os experimentos e análises foram realizados no laboratório de Ecogenotoxicologia, sala 712-B do prédio 1 do Centro Universitário La Salle, em Canoas.

4.2 Aspectos éticos

Esse estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), número 001/2017. As análises e a contaminação dos peixes foram realizadas no Laboratório de Ecogenotoxicologia.

Foram seguidas as normas da ABNT NBR 15088 (ABNT, 2011) para estudo de ecotoxicologia aquática pelo método de ensaio com peixes.

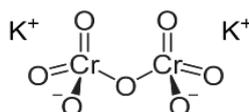
4.3 População experimental

O zebrafish foi adquirido de um fornecedor comercial (Delphis), localizado no município de Porto Alegre, RS. Foram utilizados n=10 espécimes machos por tratamento.

4.4 Contaminante testado

O cromo (VI) foi usado sob a forma de dicromato de potássio, do laboratório Dinâmica e grau de pureza informado, mínimo 99%. Foi escolhido trabalhar com o cromo (VI) sob esta forma, pois este é um sal solúvel em água.

Figura 3 – Estrutura química do dicromato de potássio, onde o cromo encontra-se no estado de oxidação 6.



Fonte: <http://www.chimica-online.it/composti/immagini/bicromato-di-potassio-struttura.png>, 2016.

Foram avaliadas as seguintes concentrações: 20 mg L⁻¹, 30 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹. Estas concentrações foram escolhidas com base em Nonno (2016), que cita a CL50 para o zebrafish de 20 mg L⁻¹ de cromo (VI).

A estabilidade do cromo na água com a presença do bioindicador, foi verificada pelo método colorimétrico da difenilcarbazida, seguindo a NBR 13738 (ABNT, 1996). Essa verificação foi feita logo após a contaminação, 24 horas e 48 horas após a contaminação.

4.5 Aspectos experimentais

Os peixes foram acondicionados em aquários de modo que a relação massa/volume de água fosse de 1g L⁻¹. Os peixes foram submetidos a um período de 12 horas de luz por dia e alimentados uma vez ao dia.

Uma semana antes da contaminação, os peixes ficaram em 1 aquário com apenas a água de abastecimento, sem o contaminante, para aclimação. A aclimação teve o objetivo de identificar possíveis espécimes que por algum motivo, não estivessem em condições de participar do teste. Peixes que por ventura estivessem doentes na compra, poderiam interferir nos resultados.

Depois da aclimação, os indivíduos foram separados em cinco aquários de 20 L cada e deixados em repouso por 48 horas antes da contaminação, para evitar o estresse. Em cada aquário foram colocados 10 peixes. Tanto os peixes dos aquários contaminados, quanto do controle, seguiram sendo alimentados diariamente (ELISEU, 2015).

O peixe *Danio rerio* foi exposto ao cromo (VI) durante um período de 48h (contaminação aguda) ABNT 2011. Foram avaliadas diferentes concentrações de cromo (VI). O primeiro aquário foi o grupo controle, sem contaminante. Os outros quatro aquários receberam o contaminante, distribuídos da seguinte forma: 20 mg L⁻¹, 30 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹.

Os parâmetros citados a seguir verificados seguiram a NBR 15088 (ABNT, 2011). Os valores de pH ficaram entre 6,5 e 7,5. A dureza total permaneceu entre 10 e 60 mg CaCO₃ L⁻¹. A temperatura foi mantida entre 23 e 27°C. O oxigênio dissolvido esteve sempre acima de 5 mg L⁻¹. A água usada no experimento não continha cloro total nem amônia. O pH foi mensurado com pHmetro (Kasvi, K39-0014P). A temperatura foi medida com termômetro a álcool. O oxigênio dissolvido foi medido

com oxímetro (AZ 8403). A dureza total, o cloro total e a amônia foram monitoradas por meio de kits comerciais para aquários afim de não interferir no resultado do estudo.

Foram usadas nos aquários, bombas de oxigenação para manter o nível de oxigênio necessário aos peixes. Foi retirado das bombas o carvão ativado, para prevenir uma possível adsorção do contaminante. Os parâmetros foram verificados antes da transferência dos peixes para os aquários experimentais e monitorados diariamente enquanto o teste estava sendo realizado.

Após a exposição aguda, os peixes foram capturados com o puçá e crioanestesiados (WILSON e CARTY, 2009). O tecido ficou sob refrigeração de -18°C para posterior análise bioquímica.

4.6 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram usados, balança analítica (Bel Engineering, Mark 210A.), banho-maria (Biopar, BMD01), termômetros a álcool, agitador vortex (Biomixer, QL-901), centrífuga (Fanem, 206-BL), espectrofotômetro de absorção molecular na região do visível (Femto, 700 plus) e máquina de gelo (Hexicrio).

Os peixes foram pesados (0,250g), o tecido foi processado segundo o método de Van Handel (1965), mediante hidrólise ácida e neutralização. A quantificação do glicogênio no tecido foi feita como glicose, determinada por meio do kit de glicose (Labtest) e a leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção molecular com comprimento de onda 505nm. Da mesma forma, o lactato foi determinado por kit (Labtest) e a leitura feita no espectrofotômetro de absorção molecular, com comprimento de onda 340nm. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

4.7 Análise estatística dos dados

Os resultados dos parâmetros metabólicos foram expressos como médias \pm erro padrão. Posteriormente, foi aplicado o teste estatístico ANOVA, seguido do teste de comparações múltiplas Tukey. As análises tiveram nível de significância de $p < 0,05$ e foram realizadas por meio do programa Graph Pad InStat 3.

4.8 Aspectos ambientais

Após a realização dos ensaios, a água dos aquários foi coletada, armazenada em bombonas de plástico com capacidade para 50 L e o descarte foi realizado por empresa especializada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação da glicose e do glicogênio

Os níveis tanto de glicose quanto de glicogênio, nas diferentes concentrações de cromo, comparados ao controle tiveram uma redução ($p < 0,05$). A Tabela 1 demonstra a redução em $\text{mmol g tecido}^{-1}$ nos níveis de glicose. Já o Gráfico 1 demonstra o percentual da redução.

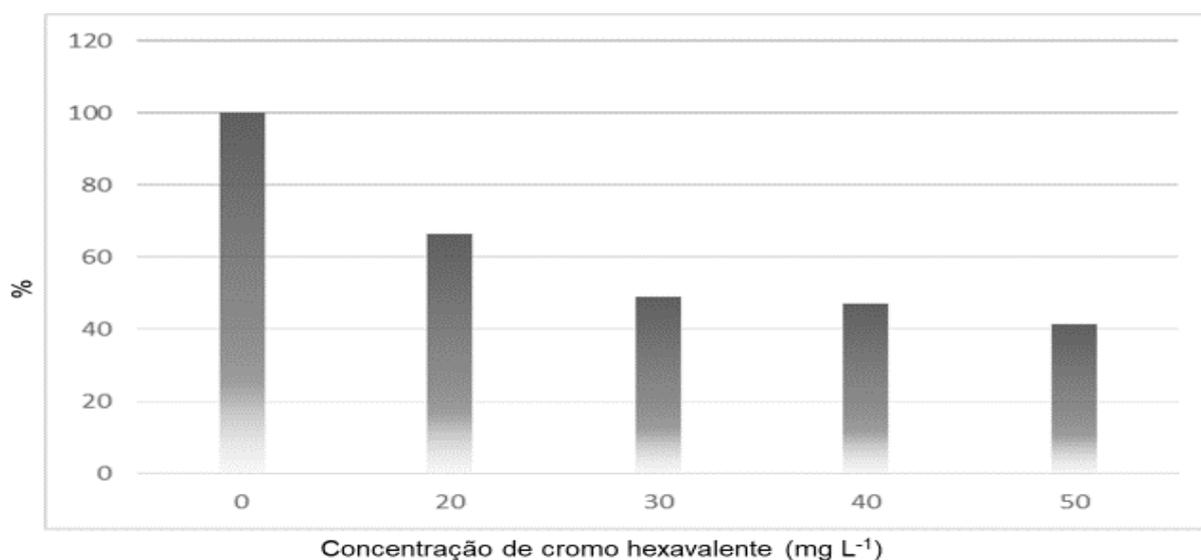
Tabela 1 – Níveis de glicose no *Danio rerio* frente ao cromo hexavalente em diferentes concentrações

Concentração (mg L^{-1})	Média ($\text{mmol g tecido}^{-1}$)
Controle	137,01±11,21
20	90,82±6,47 a
30	67,01±13,17 a
40	64,65±5,19 a
50	56,66±7,13 a

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os resultados são expressos como média \pm erro padrão ($n = 10$), (*) $p < 0,05$ (ANOVA seguido de testes múltiplos de Tukey). Letra (a) indica diferença significativa dos grupos experimentais em relação ao controle.

Gráfico 1 – Redução dos níveis de glicose (expressos em %) no *Danio rerio* frente ao cromo hexavalente em diferentes concentrações



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Assim, a Tabela 2 demonstra a redução nas reservas de glicogênio em $\text{mmol g tecido}^{-1}$ e o Gráfico 2 demonstra o percentual da redução.

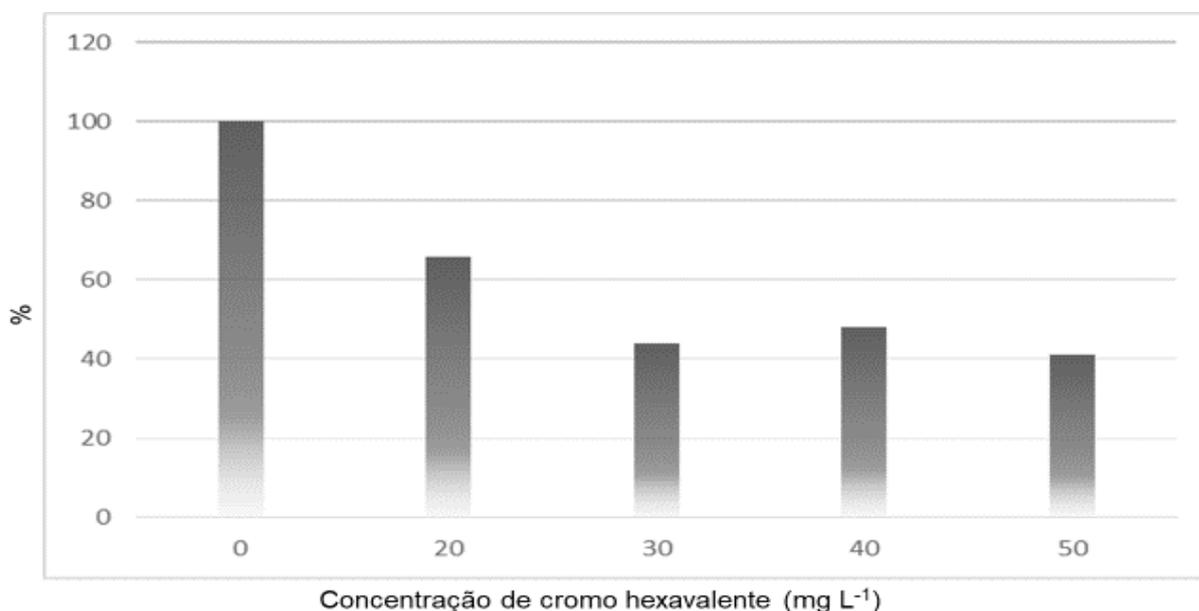
Tabela 2 – Reservas de glicogênio no *Danio rerio* frente ao cromo hexavalente em diferentes concentrações

Concentração (mg L^{-1})	Média ($\text{mmol g tecido}^{-1}$)
Controle	$54,39 \pm 2,12$
20	$35,82 \pm 2,39$ a
30	$23,92 \pm 2,26$ a
40	$26,16 \pm 1,45$ a
50	$22,39 \pm 2,59$ a

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os resultados são expressos como média \pm erro padrão ($n= 10$), (*) $p<0,05$ (ANOVA seguido de testes múltiplos de Tukey). Letra (a) indica diferença significativa dos grupos experimentais em relação ao controle.

Gráfico 2 – Redução das reservas de glicogênio (expressos em %) no *Danio rerio* frente ao cromo hexavalente em diferentes concentrações



Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Analisando os gráficos, pode se observar um decréscimo nos níveis de glicose (Gráfico 1) e nas reservas de glicogênio (Gráfico 2) desde o grupo controle, sem contaminante, até o grupo com concentração de 30 mg L^{-1} . Sendo que após este grupo, os parâmetros metabólicos se mantiveram estáveis apesar de ainda serem menores ($p<0,05$) que o grupo sem contaminante. O decréscimo ($p<0,05$) dos

parâmetros metabólicos está associado diretamente a baixa no consumo energético dos peixes, pois foi observado uma diminuição na movimentação destes animais a medida que aumentava a concentração do cromo hexavalente.

Essa alteração no metabolismo é relatada por Heath (1995), que descreve que água contaminada por metais é um fator de estresse químico para o peixe e o seu metabolismo pode ser alterado pela exposição ao metal. De acordo com Silveira et al. (2009), a glicose é fonte de energia para os peixes, mas é armazenada como glicogênio, quando a ingestão de carboidratos excede as necessidades do indivíduo. O glicogênio é usado quando é requisitada uma fonte de energia imediata, sendo este convertido novamente à glicose. Canli (1996) aponta que essa fonte de energia é acionada quando o peixe está sob estresse, diminuindo as reservas de glicogênio, assim como os níveis de glicose. Esse fato pode ser observado nesse estudo, diante da diminuição significativa dos níveis de glicose e reserva de glicogênio nas diferentes concentrações de cromo hexavalente, comparadas ao grupo controle, sendo o cromo hexavalente o agente estressor.

Em outros estudos realizados com Cromo (VI), porém em diferentes espécies de peixes também foi constatado alterações nas reservas de glicogênio e nos níveis de glicose. Nath e Kumar (1988) estudaram o peixe colisa (*Colisa Fasciatus*) frente a uma exposição de 48h, sob concentração de 48 mg L⁻¹ de Cr (VI) e observaram uma diminuição ($p < 0,05$) no glicogênio muscular e um aumento significativo na glicose plasmática. Al-Akel (1996) estudou a influência do cromo hexavalente sobre os níveis de glicose plasmática e sobre as reservas de glicogênio no fígado e no músculo da carpa (*Cyprinus carpio*) no período de 48h, nas concentrações de 15 mg L⁻¹ e 25 mg L⁻¹. Os níveis de glicose aumentaram ($p < 0,05$). No entanto, as reservas de glicogênio diminuíram ($p < 0,05$). Em seu estudo, Vutukuru (2005), analisou as reservas de glicogênio e constatou que houve diminuição ($p < 0,05$), no período de 24h. O peixe exposto foi a carpa indiana (*Labeo rohita*), submetida à concentração de 39,40 mg L⁻¹ de cromo hexavalente. Nos estudos acima pode ser constatado o aumento dos níveis de glicose, contrariando o presente estudo, em que esse parâmetro diminuiu significativamente. Já as reservas de glicogênio diminuíram ($p < 0,05$) tanto nos trabalhos acima, quanto no presente.

Os autores citados a seguir realizaram pesquisas envolvendo a influência de metais frente a diferentes espécies de peixes. Mesmo que esses autores tenham estudado a influência de diferentes metais, que não o cromo, e diferentes espécies de

peixes, que não o zebrafish, constatam-se alterações no metabolismo de carboidrato nesses estudos.

Levesque et al. (2002) avaliaram em seu estudo, os efeitos de água superficial contendo cádmio, zinco e cobre no metabolismo do perca amarela (*Perca flavescens*). Sastry e Sunita (1983), estudou a influência do cromo hexavalente no cabeça-de-cobra (*Channa punctatus*). Ambos estudos relatam que metais podem causar um decréscimo nas reservas de glicogênio, assim como foi observado no presente estudo (Gráfico 2). Isso acontece, segundo Sastry e Subhadra (1982), porque os metais estimulam enzimas da via glicolítica, acelerando a degradação do glicogênio bem como a quebra da glicose. Estudos bioquímicos em diversas espécies de peixes como: carpa (*Cyprinus carpio*), cabeça-de-cobra (*Channa punctatus*), colisa (*Colisa Fasciatus*), salmão-rei (*Oncorhynchus tshawytscha*), truta marrom (*Salmo trutta L.*), entre outros, revelaram que Cr (VI) induz efeitos cumulativos deletérios em níveis bioquímicos e enzimáticos (VENKATRAMREDDY et al., 2009).

Paralelamente Canli (1996) em seu estudo observou a depleção das reservas de glicogênio na carpa (*Cyprinus carpio*) quando expostos ao cromo hexavalente. Essa exposição foi de 7 dias nas concentrações 2 e 20 mg L⁻¹ de Cr (VI). A depleção (p<0,05) no fígado foi de 68% e 72%, nas respectivas concentrações quando comparadas ao controle. No músculo, essa depleção foi de 16% e 56% respectivamente, sendo que apenas o grupo exposto à concentração de 20 mg L⁻¹ Cr (VI) teve uma redução significativa. No presente estudo, a depleção das reservas de glicogênio (Gráfico 2), em 20 mg L⁻¹ foi de 34,14%. A diferença entre os valores encontrados nos estudos, pode estar associada à diferença de espécies de peixe.

Ainda Canli (1996) estudou também os efeitos do mercúrio e do níquel no fígado e no músculo do mesmo peixe em uma exposição de 7 dias. Para ambos os metais, foi observada uma depleção (p<0,05) no glicogênio, quando comparados ao grupo controle. O peixe foi exposto ao mercúrio nas concentrações 0,01 e 0,1 mg L⁻¹. No músculo exposto a esse metal, a diminuição dos níveis de glicogênio são os que seguem, nas respectivas concentrações: 85% e 87%. O fígado exposto ao mercúrio teve diminuição de 94% (0,01mg L⁻¹) e 96% (0,1mg L⁻¹), nos níveis de glicogênio quando comparados ao controle. Já os efeitos do níquel foram observados nas concentrações 2 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹. A diminuição do glicogênio no músculo, frente ao níquel foi de 74% e 86%, nas respectivas concentrações. No fígado houve a

diminuição de 65% e 75%, obedecendo a ordem das concentrações, quando comparadas ao controle.

Já Pretto et al. (2013) expuseram o peixe jundiá (*Rhamdia quelen*) ao cádmio e verificaram os efeitos do metal sobre as reservas de glicogênio e níveis de glicose no fígado e no músculo. O estudo realizado pelas autoras ocorreu em concentrações de 0,236 mg L⁻¹ e 0,414 mg L⁻¹, no período de 7 dias e foi observado um aumento das reservas de glicogênio e níveis de glicose no músculo. Já no fígado, o glicogênio não foi alterado e a glicose reduziu significativamente.

5.2 Quantificação do lactato

Na Tabela 3 está demonstrado que as diferentes concentrações de Cr (VI) não promoveram ($p < 0,05$) alteração nos níveis de lactato em relação ao grupo sem o contaminante, no *Danio rerio*.

Tabela 3 – Níveis de lactato no *Danio rerio* frente ao cromo hexavalente em diferentes concentrações

Concentração (mg L ⁻¹)	Média (mmol g tecido ⁻¹)
Controle	0,73±0,09
20	0,59±0,08
30	0,57±0,02
40	0,6±0,05
50	0,65±0,03

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Os resultados são expressos como média ± erro padrão (n= 10), (*) $p < 0,05$ (ANOVA seguido de testes múltiplos de Tukey).

Campbell (2005) expõe que a produção de lactato é baixa quando não há alto gasto energético ou quando as reservas de glicogênio são suficientes para suprir esse gasto, sendo essa uma possível causa pela qual não houve diferença significativa nos níveis de lactato no presente estudo (Tabela 3).

No entanto, Hernández (2009), relata que o manganês induz a inibição do metabolismo do lactato. O manganês, assim como o cromo hexavalente, é considerado tóxico em níveis acima de 0,5 mg L⁻¹ (CONAMA, 2011). Venkatramreddy (2009) constatou que o teor de ácido láctico do sangue e do músculo foi maior do que no controle, contrariando os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 3). Esse

estudo aconteceu com concentrações de $2,6 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr (VI)}$ nos períodos de 60 e 120 dias. No entanto, a mesma autora, obteve resultados em que o teor de ácido láctico do fígado diminuiu e o glicogênio do fígado foi esgotado. Nath e Kumar (1988) também tiveram resultados que contrariaram esse estudo, sendo que o nível de lactato sanguíneo aumentou em 24h, 48h, 72h e 96h, comparados ao controle, frente a 2584 mg L^{-1} de manganês.

Pretto et al. (2013) em seu estudo com jundiá (*Rhamdia quelen*) observou o aumento do lactato depois de 7 dias de exposição do peixe ao cádmio nas concentrações estudadas ($0,236 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,414 \text{ mg L}^{-1}$). Esse aumento foi de 38% e 31% respectivamente, no fígado, frente ao controle. O lactato no músculo não foi alterado, comparando-se ao controle.

Frente a estes relatos pode-se dizer que a alteração nos níveis de lactato pode ou não ocorrer diante de um estresse químico dependendo da via glicolítica ativada em cada situação, pois a produção do lactato é o produto final da glicólise anaeróbia, uma vez que a via ativa seja a glicose aeróbia, não ocorre a produção do lactato (CAMPBELL, 2005).

5.3 Monitoramento dos parâmetros da água dos aquários

A temperatura dos aquários permaneceu entre 23°C e 26°C , de acordo com o recomendado pela ABNT NBR 15088 (ABNT,2011), assim como o OD manteve-se acima de 5 mg L^{-1} e os valores de pH entre 6,5 e 7,5, como estabelece a mesma norma. Quando os valores de pH se encontravam abaixo do ideal, os mesmos eram corrigidos com solução comercial de NaOH e quando estavam acima, eram corrigidos com uma solução comercial de HCl afim de manter o pH dentro dos parâmetros recomendados. A dureza total permaneceu em $17,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, de acordo com a ABNT (2011), esse valor pode variar de 10 mg L^{-1} a 60 mg L^{-1}

5.3.1 Determinação da concentração do cromo

É possível verificar na tabela 4, que os valores de cromo hexavalente se mantiveram estáveis durante a realização dos ensaios, não sofrendo degradação.

Tabela 4 – Concentração, em mg L⁻¹, de Cr (VI) em diferentes períodos de monitoramento.

Concentração nominal	Após contaminação	24 horas	48 horas
0	-	-	-
20	20	20	20
30	30	30	30
40	40	40	40
50	50	50	50

Fonte: Elaborada pela autora, 2017.

Determinação da concentração do cromo realizada pelo método colorimétrico quantitativo da difenilcarbazida (ABNT, 1996).

A avaliação da estabilidade de Cr (VI) é de fundamental importância, já que esse pode ser reduzido à Cr (III), resultando em teores de Cr (VI) inferiores ao conteúdo original (MATOS et al., 2008). O Cr (VI) é um oxidante (MAHAN, 2003), agindo sobre a matéria orgânica (MATOS, 2008). Segundo Dias e Lima (2004), matéria orgânica são excretas de animais e restos de alimentos, entre outros como folhas e animais em decomposição.

Então, a matéria orgânica é oxidada e o Cr (VI) é reduzido a Cr (III) (MATOS, 2008), ocorrendo uma reação de oxi-redução (MORTIMER; MIRANDA, 1995). No entanto, a redução de Cr (VI) a Cr (III) não ocorreu no presente trabalho, pois segundo Guimarães et al. (1970), para essa redução acontecer, é necessário que a reação ocorra em meio ácido, segundo a equação:



6 CONCLUSÕES

O cromo hexavalente interferiu no metabolismo de carboidratos do *Danio rerio* (zebrafish), pois observou-se diminuição tanto dos níveis de glicose quanto nas reservas de glicogênio.

O cromo hexavalente em diferentes concentrações não alterou os níveis de lactato.

O cromo (VI) em diferentes concentrações permaneceu estável durante todo o estudo.

REFERÊNCIAS

ABREU, Míriam Antonio. **Reciclagem do resíduo de cromo da indústria do curtume como pigmentos cerâmicos**. 2006. 169 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia dos Materiais, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

AKAISHI, F.M, ASSIS, H.C., JAKOBI S.C, EIRAS-STOFELLA D.R., ST-JEAN, S.D., COURTENAY, S.C., LIMA E.F., WAGENER, A.L., SCOFIELD A.L., RIBEIRO C.A. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 46, n. 2, p. 244-253, fev. 2004.

AL-AKEL, A.S., SHAMSI, M.J.K. Hexavalent chromium: toxicity and impact on carbohydrate metabolism and haematological parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) from Saudi Arabia. **Aquatic Sciences**, New York, v. 58, n. 1, p. 24-30, 1996.

AQUIM, P.M., GUTERRES, M., TESSARO, I. Indústria do couro – análises químicas da pele e do banho nos processos de ribeira e curtimento. In: Congresso Brasileiro de Termodinâmica Aplicada, 2., 2004, Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <[http://www.ppgeq.ufrgs.br/projetos/curtumes/Arqs/WPM\\$0259.pdf](http://www.ppgeq.ufrgs.br/projetos/curtumes/Arqs/WPM$0259.pdf)>. Acesso em: 22 nov. 2017.

ARAÚJO-CASTRO Cristiane M.V., SOUZA-SANTOS, Lília P., Torreiro, Anny Gabrielle A.G., Garcia, Karina S. Sensitivity of the marine benthic copepod *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) to potassium dicromate and sediment particle size. **Brazilian Journal of Oceanography**, v.57, n. 1, 2009.

ARIAS, Ana Rosa Linde, BUSS Daniel Forsin, ALBUQUERQUE, Carla de, INÁCIO, Alan Ferreira, FREIRE, Marina Moreira, EGLER, Mariana, MUGNAI, Riccardo, BAPTISTA, Darcilio Fernandes. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência e saúde coletiva**. Rio de Janeiro, v.12, n.1, p.61-72, 2007.

ARSLAN I., BALCIOGLU A. I., BAHNEMAN D. W. Advanced chemical oxidation of reactive dyes in simulated dyehouse effluents by ferrioxalate-Fenton/UV-A and TiO₂/UV-A processes. **Dyes and Pigments**. v. 47, n. 3, p. 207-218, dez. 2000.

ASSOCIAÇÃO BRAISLEIRA DOS FABRICANTES DE TINTAS (ABRAFATI). Indicadores do mercado – Setor de tintas, 2016. Disponível em < <https://www.abrafati.com.br/indicadores-do-mercado/numeros-do-setor/>> Acesso em: 20 out. 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13738**: informação e documentação: publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: informação e documentação: publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14725-2**: informação e documentação: publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15088**: informação e documentação: publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

BARABARAN, S.C., TAYLOR, M.R., CASTRO, P.A., BAIER, H. Pentylenetetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity e c-fos expression. **Neuroscience**, New York. V. 131, n. 2 ,p. 759-768, 2005.

BARCELO, J. ,POSCHENRIEDER C.; GUNSE, B. Effect of chromium (VI) on mineral element composition of bush beans. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 8, n.17, p. 211-217, 1985.

BARTSCH, Peter C., KIMMEL, Reiner & SCHMAHL, Friedrich W., 1998, Nephrotoxic and hepatotoxic effect of a chromium (VI) compound in comparison to a basic chromium (III) tanning agent, **Word Leather**. Liverpool, 3: 66-70, 1998.

BAYER, Vinícius. **Estudo da extração de cromo hexavalente, pela técnica de membranas líquidas surfactantes, visando o tratamento de efluentes líquidos de curtumes**. 2005. 143p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

BENITES, Leonardo Munhoz, DONCATO, Kennia Brum, MINHO, Thais dos Santos, PERAZZO, Giselle Xavier. Avaliação do potencial mutagênico de cobre da água do rio Uruguai.

BENTLIN, Fabrina Regina Stumm, POZEBON, Dirce, DEPOI, Fernanda dos Santos. Estudo comparativo de métodos de preparo de amostras de tinta para a determinação de metais e metalóides por técnicas de espectrometria atômica. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 884-890, abr. 2009.

BERNARDIN, Adriano Michael, KUNHEN, Nivaldo Cabral. Caracterização de pigmentos inorgânicos de Fe, Zn e Cr utilizando resíduo de galvanoplastia como matéria-prima. **Cerâmica**, n. 51, p. 107-110, 2005.

BORGES, Aline Rocha. **Análise da especiação química do cromo em águas naturais e de abastecimento em Rio Grande/RS**. 2009. 104 p. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

BOTKIN, Daniel B.; KELLER, Edward A. Environmental science: earth as a living planet. 8th ed. New York: John Wiley & Sons, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011.

BUIKEMA, A.L., VOSHELL, J.R. Toxicity studies using freshwater benthic macroinvertebrates. In: **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, J.F.Jr. A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 182, p. 68-71, mai. 2002.

CAMPBELL, Mary K. **Bioquímica**.3. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005.

CANLI, Mustafa. Effects of mercury, chromium and nickel on glycogen reserves and protein levels in tissues of *Cyprinus carpio*. **Turkish Journal of Zoology**, Ancara, v. 20, n. 2, p. 161-168, 1996.

CASTILHOS, Danilo D., VIDOR, Caio, TESESCO, Marino J. Redução do cromo em solo suprido com lodo de curtume e cromo hexavalente. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v.5, n.3, p. 228-232, set-dez,1999

CASTILHOS, Danilo D., VIDOR, Caio, TESESCO, Marino J. Redução química e biológica do cromo hexavalente aplicado ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v25n2/26.pdf>>. Acesso em 01 jun 2016.

CICIK, Bedii, ENGIN, Kenan. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). **Turk J Vet Animal Science**, Turquia, v. 29, n. 1, p.113-117, 2005.

CLEMENTS W.H. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: An overview. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, Berlim, v. 7, n. 2, p. 113–116, 2000.

COUTO, D. M. S. Incorporação de Resíduos Metalúrgicos em Pastas de Barro Vermelho, Aveiro, Portugal, 2000.

CUNHA, Carlos Eduardo Soares Canejo Pinheiro. **Gestão de resíduos perigosos em refinarias de petróleo**. 2009. 148 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2009.

DAI, Y.J., JIA, Y.F., CHEN, N., BIAN, W.P., LI, Q.K., MA, Y.B. Zebrafish as a model system to study toxicology. **Environmental Toxicology Chemistry**, Beijing, V. 33, n. 1, p. 11–17, 2014.

ELISEU, Francine Balbinot, **Estudo de alterações no metabolismo de carboidratos do bioindicador *Danio rerio* (zebrafish) em água contendo íons xantato**. 2015. 62 p. Dissertação (Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Centro Universitário La Salle, Canoas, 2015.

ESPINOSA, Denise Croce Romano, TENÓRIO, Jorge Alberto Soares. Thermal behavior of chromium electroplating sludge. **Waste management**, New York, v. 21, n. 4, p. 405-410, jul., 2001.

FAZENDA, Jorge M.R., **Tintas: ciência e tecnologia**. 1. ed. São Paulo, SP: ABRAFATI, 2009.

FISH BASE. *Danio rerio*. California Academy of Sciences. 2005. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/summary/4653>> . Acesso em: 24 out 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **World statistical compendium for raw hides and skins, leather and leather footwear**. Relatório a: Intergovernmental Group on Meat and Dairy Products Sub-group on Hides and Skins. 1999-2015 ed. Roma, 2016.

FREITAS, Carlos Edwar C. e SIQUEIRA-SOUZA, Flávia K. O uso de peixes como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia amazônica. **Agroambiental**, Pouso Alegre, v. 1, n. 2, p. 39-45, ago. 2009.

FREITAS, Tânia Christina Marchesi de. O cromo na indústria na indústria de curtumes do Mato Grosso do Sul, Brasil: Aspectos ecológicos.

FUCK, Wagner Fernando, SOARES, Mariliz Gutterres, MARCÍLIO, Nilson Romeu. Influência do acabamento molhado e do envelhecimento do couro na oxidação de cromo. In: VI-OKTOBER FÓRUM – PPGEQ, 2007. Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2007.

GODECKE, Marcos Vinícius, RODRIGUES, Marco Antonio Siqueira, NAIME, Roberto Harb. Resíduos de curtumes: Estudo das tendências de pesquisa. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, RS, v 7, nº 7, p. 1357-1378, mar-ago, 2012. Disponível em <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/viewFile/5779/3600>> Acesso em: 29 out. 2017.

GOMES, Sâmara da Silva, SILVA, Marília Cordeiro Galvão da, SANTANA, Victor Matheus Barbosa de, BEZERRA, Francisco José, MELO, Daniella Kelly de, MONTENEGRO, Heitor Spinelli, ARAÚJO-CASTRO, Cristiane Maria Varela. Efeitos da contaminação aguda de Cromo no copépode bentônico *Tisbe biminiensis*. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2013, 2013, Recife. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0502-1.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2016.

GUTTERRES, M. **A Ciência rumo à Tecnologia do Couro**. 11. Ed. Porto Alegre: Editora Tríplice Assessoria e Soluções Ambientais, 2008.

GUYTON, Arthur C., HALL, John E. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. 2. ed. New York, NY: Lewis Publishers, 1995.

HERNÁNDEZ, Raúl Bonne. **Manganês**: o papel do fracionamento químico e da especiação como determinantes de seu comportamento geoquímico e neurotóxico

nos organismos em desenvolvimento. 2009. 162 p. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

JÚNIOR, H. Mitteregger; DIAS, J. Ferraz; YONEMA, M. Lúcia; ARENZON, A.; SILVA, J.; HENRIQUES, J. A. PEGAS. Avaliação das Atividades Tóxicas e Mutagênicas da Água e do Sedimento do Arroio Estância Velha, Região Coureira-calçadista, Utilizando *Allium cepa*. [Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology](#), Itajaí, v. 1, n. 2, 147-151, 2006.

JÚNIOR, Ruben Bresaola, CARRARA, Silvia Marta Castelo de Moura. **Reuso de águas residuárias geradas em processos de galvanoplastia**. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000, Porto Alegre-RS. Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro: ABES, 2000.

KNIE; J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes Ecotoxicológicos. Florianópolis: FATMA, p.289, 2004.

KOEPPEN, Bruce M. STANTON, Bruce A. Physiology. 6 ed., Filadélfia, Mosby Elsevier, 2008.

KUNERT, Hanns Jürgen, WIESMÜLLER, Gerhard Andreas, RÖBBECKE, Roland Schulze, EBEL, Hermann, KÜPPERS, Markus Müller, PODOLL, Klaus. [Working memory deficiencies in adults associated with low-level lead exposure: implications of neuropsychological test results](#). **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, New York, v. 207, n. 6, p. 521-530, 2004.

LEVESQUE, H. M., MOON, T.W., CAMPBELL, P.G., HONTELA, A. Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. **Aquatic Toxicology**, New York, v. 60, n. 3-4, p. 257-267, out. 2002.

LIJTEROFF, Rubén, LIMA, Luís, PRIERI, Betzabé. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica em la ciudad de San Luis, Argentina. **Revista internacional de contaminación ambiental**, San Luis, v. 25, n. 2, p. 111-120, 2009.

LINS, José Augusto Pereira Navarro, KIRSCHNIK, Peter Gaberz, QUEIROZ, Valter da Silva, CIRIO, Silvana Maris. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático.

LIVINGSTONE, D.R. Biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarkers in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Hoboken, v. 57, n. 3, p. 195-211, 1993.

MAGALHÃES, D.P., FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**. v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MAHAN, Bruce M. **Química: um curso universitário**. 4a ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

MAIOLI, P., SILVA, A. Reaproveitamento dos banhos residuais do recurtimento em sistema de circuito fechado. **Revista do Couro**, Estância Velha, v. 148, n. 1, p. 46-60, jan.-fev., 2000.

MANZOORI, J.L; SOROURADDIN, M.H; SHEMIRAN, F. Preconcentration and Spectrophotometric Determination of Chromium (VI) and Total Chromium in Drinking Water by the Sorption of Chromium Diphenylcarbazone with Surfactant Coated Alumina. **Analytical Letters**, Irã, v.29, p. 2007-2014, 2006.

MARCELLI M., SEAWARD M. **Lichenologists in Latin America: history, current knowledge and applications**. 1. ed. São Paulo, SP: CETESB, 1998.

MARIANO, Jacqueline Barboza. **Impactos ambientais do refino de petróleo**. 2001. 289 p. Tese (Mestrado em Ciências em Planejamento Energético) –Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

MARMELO, Sandro Miguel Pereira. **O mercado petrolífero mundial**: a necessidade de um multilateralismo de gestão energética. 2009. 151 p. Dissertação (Mestrado em Relações Internacionais: Estudos de Economia Política Internacional) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2009.

MARTINEZ, Cláudia Bueno dos Reis. **Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água**. Londrina, p. 1-19, 2006.

MATOS, Wladiana Oliveira. NÓBREGA, Joaquim de Araújo, SOUZA Gilberto Batista de, NOGUEIRA, Ana Rita Araujo. Especificação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1450-1454, ago. 2008.

MELLA, Bianca. **Remoção de cromo de banhos residuais de curtimento através de precipitação química e eletrocoagulação**. 2013. 106 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

MIDUGNO, Rafael, ROISENBERG, Ari, VIERO, Antonio Pedro, SANBERG, Eduardo. Utilização de solos locais para tratamento de efluentes do refino de petróleo contendo metais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1215-1217, jul. 2007.

MILAČIČ, R.; ŠTUPAR, J. Fractionation and oxidation of chromium in tannery waste- and sewage sludge-amended soils. **Environmental Science and Technology**, Washington, DC, v.29, n.2, p.506-514, 1995.

MOORE, James W. **Inorganic Contaminants of Surface Water**: Research and Monitoring Priorities. 1. ed. New York, Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 1991.

MULLER, A.C. Introdução à Ciência Ambiental. Curitiba – PUC – PR, uso didático. 2008.

NATH, Kedar, KUMAR, Nishith. Hexavalent chromium: toxicity and its impact on certain aspects of carbohydrate metabolism of the freshwater teleost, *Colisa fasciatus*. **The Science of the Total Environment**, v. 72, n. 2, p. 175-181, 1988.

NONNO, Carolline Araujo de, MAGALHÃES, Danielly de Paiva. Comparação da toxicidade de espécies metálicas do cromo (III e VI), através de testes ecogenotoxicológicos com organismos aquáticos. **BioUSU**, Rio de Janeiro, v. 1, n.1, p. 13-26, jun. 2016.

NRIAGU, Jerome O.; NIEBOER, Evert. **Chromium in the natural and human environments**. 2 ed. Ontario: Wiley Inter-Science, 1988.

OLIVEIRA, Maria J.N. Nota Técnica sobre Tecnologia de Controle – Galvanoplastias. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, São Paulo, 1990.

OLIVEIRA, Renata Farias. **Estudo da Adsorção de Cromo Hexavalente em Altas Concentrações**. 2013. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

OLIVI, P.; COSTA, C. R.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e método de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

PACHECO, José Wagner Faria. **Curtumes**. 21. ed. São Paulo, SP: CETESB, 2005.

PARTRIDGE, Gavin John, LYMBERY, Alan J. Effects of manganese on juvenile mulloway (*Argyrosomus japonicus*) cultured in water with varying salinity-Implications for inland mariculture. **Aquaculture**, New York, v. 290, n. 3-4, p. 31-316, mai. 2009.

PEREZ, Ilma Conde, CORRÊA, Rogério Giusto, PIRES, José Luiz (Org.). **Galvanoplastia: Orientações para o controle ambiental**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: WalPrint, 2014.

PIMENTEL, Marcio Antonio da Silva. **Controle da dosagem de metabissulfito de sódio em efluentes contendo cromo hexavalente**. 2003. 117p. Dissertação (Mestrado em Atenção Primária em Saúde) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003.

POMBO, Felipe Ramalho. **Gestão da demanda de água na indústria de refino de petróleo: desafios e oportunidades de racionalização**. 2011. 169 p. Tese (Doutorado em Planejamento Energético) – Programa de Pós-Graduação em Planejamento Energético, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

PRATT, Charlotte W., VOET, Judith G., VOET, Donald. **Fundamentos de bioquímica: A Vida em Nível Molecular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

PRETTO, Alexandra, LORO, Vania Lucia, MORSCH, Vera Maria, MORAES, Bibiana Silveira, MENEZES, Charlene, SANTI, Adriana, TONI, Cândida. Alterations in carbohydrate and protein metabolism in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to cadmium. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 100, n. 1, p. 188-192, fev. 2014.

RASHED, M. N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*, v. 27, n. 1, 2001.

RIANI, Josiane Costa. **Utilização de resinas de troca-iônica em efluentes de galvanoplastia**. 2008. 117 p. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Programa de Pós-Graduação Engenharia, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

ROCHA, Aristides Almeida. Efeitos dos poluentes encontrados nos efluentes de uma galvanoplastia. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, **Revista DAE**, vol. 42, p. 89-93, 1982.

SARON, Clodoaldo, FELISBERTI, Maria Isabel. Ação de colorantes na degradação e estabilização de polímeros. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 124, jan/fev, 2006.

SASTRY, K.V., SUBHADRA, K. Effect of cadmium on some aspects of carbohydrate metabolism in a freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. **Toxicology Letters**, New York, v. 14 , n. 1-2 , p. 45-55, nov. 1982.

SASTRY K.V., SUNITA K.M. Enzymological and biochemical changes produced by chronic chromium exposure in a teleost fish, *Channa punctatus*. **Toxicology Letters**, New York, v. 16, n. 1-2 p. 9-15, abr. 1983.

SILVA, Carlos A., GUIRRO Rinaldo Roberto de J., POLACOW, Maria, L.O., SILVA, H. C., TANNO, A.P., RODRIGUES, D. Efeito da metformina e eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal e desnervado. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v.3, n.2, p.55-60, 1999.

SILVEIRA, Ulisses Simon, LOGATO, Priscila Vieira Rosa, PONTES, Edvânia da Conceição. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Nutritime**, Belo Horizonte, v.6, n. 1, p.817-836, jan./fev. 2009.

SILVA, Carlos Sérgio da, PEDROZO, Maria de Fátima M. Ecotoxicologia do cromo e seus compostos. **Cadernos de Referência Ambiental**, Salvador, Bahia, p. 13-50, 2001.

SILVA, M.R.A., OLIVEIRA, M.C., NOGUEIRA, R.F.P. Estudo da aplicação do processo foto-Fenton solar na degradação de efluentes de indústria de tintas. **Eclética química**, v. 29, n. 2, p. 19-25, 2004.

SUNDAR, V.J., RAGHAVA RAO,J, MURALIDHARAN, C. Cleaner chrome tanning – emerging options. **Journal of Cleaner Production**, Central Leather Research Institute, Índia, v. 10, p. 69-74, 2002.

VALENZUELA, Julio. **Tratamento de Efluentes Em Indústrias Galvanotécnicas**. 2. ed. São Paulo, SP: Páginas e Letras, 1999.

VENKATRAMREDDY, Velma, VUTUKURU, S.S., TCHOUNWOU, Paul B. Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: a critical review. **Reviews on Environmental Health**, Berlin, v. 24, n. 2, p. 129-145, 2009.

VEIT, Márcia Teresinha, SILVA, Edson Antonio, FAGUNDES-KLEN, Márcia Regina, TAVARES, Célia Regina Granhen, GONÇALVES, Gilberto da Cunha. Biossorção de níquel e cromo de um efluente de galvanoplastia utilizando alga marinha pré-tratada em coluna. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, PR, v. 31, n. 2, p. 175-183, 2009.

VIARENGO, A. Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. **Reviews in Aquatic Sciences**, v. 1, n. 5, 1989.

VUTUKURU, S.S. Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the indian major carp, *Labeo rohita*. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 2, n. 3, p. 456-462, 2005.

[WHO] World Health Organization. **Chromium**. Genebra, 1988 (Environmental Health Criteria, 61).

WILSON, Jolaine M., BUNTE, Ralph M.; CARTY, Anthony J. Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 48, n. 6, p. 785-789, nov. 2009.