

**UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE COURO  
*WET BLUE* NA ALIMENTAÇÃO DE  
RUMINANTES: POTENCIALIDADES  
NUTRICIONAIS E PATOLÓGICAS**

**RODRIGO CARVALHO SILVA**

**2007**

**RODRIGO CARVALHO SILVA**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE COURO *WET BLUE* NA  
ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES: POTENCIALIDADES  
NUTRICIONAIS E PATOLÓGICAS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção de Bovinos Leiteiros, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. João Chrysóstomo de Resende Júnior

LAVRAS

MINAS GERAIS-BRASIL

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Rodrigo Carvalho.

Utilização de rejeitos de couro *Wet Blue* na alimentação de ruminantes: potencialidades nutricionais e patológicas / Rodrigo Carvalho Silva. -- Lavras : UFLA, 2007.

69 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2007.

Orientador: João Chrysóstomo Resende Júnior.

Bibliografia.

1. Alimento de origem animal. 2. Degradabilidade. 3. Digestibilidade. 4. Intoxicação por cromo. 5. Meio ambiente. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.20852

**RODRIGO CARVALHO SILVA**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE COURO *WET BLUE* NA  
ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES: POTENCIALIDADES  
NUTRICIONAIS E PATOLÓGICAS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção de Bovinos Leiteiros, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 07 de agosto de 2007

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa UFLA

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Mary Suzan Varaschin UFLA

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Luiza Costa Cruz Borges UFMG

Prof. João Chrysóstomo de Resende Júnior  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS-BRASIL

A Deus,

Aos meus pais, José Orlando e Mary, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos de minha vida me dando força e incentivo perante todos os obstáculos.

A minha família, base sólida sobre a qual me estruturei e me apóio.

A minha noiva, Eliana, por me apoiar e ajudar em todas as tarefas com amor e dedicação.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, fonte inesgotável de todas as coisas que precisamos, por me proporcionar a vida e todas as conquistas que nela realizo;

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Medicina Veterinária que me proporcionaram a oportunidade de graduar e agora concluir meu trabalho de pós-graduação;

Ao meu orientador, João Chrysóstomo-DMV, pela dedicação à minha orientação e aos trabalhos realizados;

Ao Anselmo e João Luiz pela ajuda nos trabalhos e pela amizade;

Ao Seu Marcos e Willian pelo apoio, dedicação e inesgotáveis momentos de descontração. Obrigado pela amizade sincera, vocês foram essenciais para que esse trabalho fosse concluído;

Ao Departamento de Química, em especial o Prof. Luiz Carlos e seus orientados que foram parceiros nesse projeto;

Ao Prof. Raimundo-DMV pela amizade e pelo auxílio independente de qual for o problema;

À Prof<sup>a</sup>. Mary-DMV pela presteza e competência na leitura das lâminas histopatológicas;

À minha noiva e parceira de todas as horas, Eliana, pelo apoio, dedicação e por fazer parte da minha vida. Amo você.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram dessa etapa da minha vida e contribuíram para realização deste trabalho e para meu “crescimento”, o meu muito obrigado!!!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
2.1 Panorama da produção de couro.....	2
2.2 Geração de resíduos e suas conseqüências .....	3
2.3 Alternativas para aproveitamento dos resíduos .....	6
2.4 Proteína de origem animal na alimentação de bovinos leiteiros.....	9
2.5 Encefalopatia Espongiforme Bovina .....	12
2.6 Botulismo .....	15
2.7 Cromo nos alimentos e seu papel no metabolismo.....	17
2.8 Toxicidade do cromo .....	18
2.9 Toxicocinética e toxicodinâmica do cromo no organismo .....	20
2.10 Utilização de Cr-EDTA como marcador em experimentação .....	23
2.11 Provas de função hepática .....	24
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
CAPÍTULO 2.....	33
POTENCIALIDADES NUTRICIONAIS DE RESÍDUOS DE COURO <i>WET</i> <i>BLUE</i> PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES .....	33
RESUMO.....	33
INTRODUÇÃO .....	34
MATERIAL E MÉTODOS .....	35
Avaliação das características químicas do produto .....	35
Avaliação da degradabilidade ruminal efetiva .....	36
Avaliação da digestibilidade abomasal “in vitro” .....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38

CONCLUSÕES .....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
CAPÍTULO 3.....	46
POTENCIALIDADES PATOLÓGICAS DA UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DE CURTUME NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.....	46
RESUMO.....	46
INTRODUÇÃO .....	47
MATERIAIS E MÉTODOS .....	50
Pesquisa de esporos e toxina do <i>Clostridium botulinum</i> .....	50
Avaliação do risco potencial de intoxicação pelo cromo .....	50
Avaliação do perfil de enzimas hepáticas (ALT, AST e FA) no soro. ....	53
Avaliação de colesterol e glicose no soro.....	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
CONCLUSÕES .....	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

# UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE COURO *WET BLUE* NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES: POTENCIALIDADES NUTRICIONAIS E PATOLÓGICAS

## RESUMO

SILVA, Rodrigo Carvalho. **Utilização de Rejeitos de Couro *Wet Blue* na Alimentação de Ruminantes: Potencialidades Nutricionais e Patológicas.** 2007. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

O Brasil é um grande produtor de couro, sendo o método mais utilizado o curtimento ao cromo que gera uma enorme quantidade de resíduos contaminados, os quais constituem um grave problema ambiental. Têm sido desenvolvidas tecnologias para a retirada do cromo desses resíduos, entretanto, há necessidade de se ter destinação adequada para o material com baixo teor de cromo. O colágeno derivado de couro e pele é permitido pela legislação brasileira para a alimentação de ruminantes. O objetivo desse trabalho foi apontar uma alternativa para a minimização da contaminação ambiental por resíduos de couro, por meio de sua utilização na alimentação de ruminantes. Para isto os resíduos de couro *in natura* (WB) e os resíduos que tiveram o cromo extraído (CE) foram comparados quanto ao seu potencial nutricional e patológico. Ambos os materiais apresentaram 99,7% de MS, mas o teor de PB foi mais alto (90,4%) no CE do que no WB (74,3%). A degradabilidade ruminal efetiva, *in situ*, da MS foi 63% e da PB foi 65% no CE, sendo que o WB não sofreu degradação ruminal, provavelmente refletindo a estabilidade da molécula, conferida pelo cromo. A digestibilidade em suco gástrico simulado, *in vitro*, do CE foi 98% demonstrando que, se protegido da degradação ruminal, esse material pode ser utilizado como fonte de proteína animal visando induzir mudança no perfil de aminoácidos da dieta de ruminantes. Essa alta digestibilidade em suco gástrico também indica que o CE tem potencial para ser utilizado na alimentação de animais não ruminantes. Nenhum dos materiais apresentou a presença de esporos e da toxina do *Clostridium botulinum*. Outro experimento foi realizado alimentando-se ratos Wistar, por 60 dias, com dieta convencional na qual foi incluído 0%, 25%, 37,5% e 50% dos materiais WB e CE. O processamento industrial foi capaz de retirar 70 a 80% do cromo do resíduo, resultando em um produto ainda com alto teor de cromo o qual teve

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: João Chrysóstomo de Resende Júnior – UFLA (Orientador), Luiz Carlos Alves de Oliveira – UFLA (Co-orientador).

efeito negativo no ganho de peso dos animais e desencadeou lesões macro e microscópicas nos rins especialmente no material CE, sugerindo que o processamento aumenta a atividade biológica do cromo tornando-o altamente nefrotóxico. A gravidade desses efeitos foi diretamente proporcional ao nível de inclusão e as principais alterações foram degeneração e necrose dos túbulos contorcidos proximais associadas a áreas de fibrose intersticial e à presença de cristais na luz dos túbulos. Não foram detectadas anormalidades no fígado de qualquer animal do experimento. O material CE possui potencialidade para alimentação animal, porém o processo de retirada do cromo dos resíduos de couro, em escala industrial, deve ser aprimorado e a utilização desse subproduto na alimentação animal só pode ser considerada quando as concentrações de cromo no resíduo atingirem os níveis preconizados na literatura.

**Palavras-chave:** Alimento de Origem Animal; Degradabilidade; Digestibilidade; Intoxicação por cromo; Meio Ambiente.

## ABSTRACT

SILVA, Rodrigo Carvalho. Use of *Wet Blue* Leather Rejects in the Feeding of Ruminants: Nutritional and Pathological Potential. 2007. 66p. Dissertation (Masters in Veterinary Sciences) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Brazil is a great producer of leather, tanning with chromium being the method most used which generates an enormous amount of contaminated residues, which constitute a serious environmental problem. Technologies have been developed for the removal of chromium from these residues, however, it is necessary to have an adequate destination for the material with low chromium levels. The collagen derived from the leather and skin is allowed for the feeding of ruminants by Brazilian legislation. The objective of this work was to point to an alternative to minimize the environmental contamination by leather residues, by means of its use in the feeding of ruminants. For this the leather residues *in nature* (WB) and the residues that had chromium extracted (CE) were compared regarding their nutritional and pathological potential. Both the materials presented 99.7% of DM, but the CP level was higher (90.4%) in the CE than in the WB (74.3%). The effective ruminal degradability, *in situ*, of the DM was 63% and of the CP was 65% in the CE, being that the WB did not suffer ruminal degradation, probably reflecting the stability of the molecule, supplied by the chromium. The digestibility in simulated gastric juice, *in vitro*, of the CE was

98% demonstrating that, if protected from the ruminal degradation, this material can be used as an animal protein source aiming to induce changes in the amino acid profile of the ruminant diet. This high digestibilidade in gastric juice also indicates that the CE has potential to be used in the feeding of non-ruminant animals. None of the materials presented the presence of spores and the *Clostridium botulinum* toxin. Another experiment was carried out feeding Wistar rats, for 60 days, with a conventional diet in which 0%, 25%, 37.5% and 50% of WB and CE materials were included. The industrial processing was able to still remove 70-80% of chromium from the residue, resulting in a product with a high chromium level which had a negative effect on the weight gain of the animals and caused macro and microscopic injuries in the kidneys especially due to the CE material, suggesting that the processing increases the biological activity of chromium making it nephrotoxic. The gravity of these effects was directly proportional to the inclusion level and the main alterations had been degeneration and necrosis of the proximal twisted tubules associated with the areas of interstitial fibrosis and to the crystal presence in the lumina of the tubules. Abnormalities in the liver of any animal in the experiment were not detected. CE material possesses potentiality for animal feeding, however the chromium removal process from the leather residues, on an industrial scale, must be improved and the use of this by-product in animal feeding can only be considered when the chromium concentrations in the residue reach the levels established in literature.

**Key Words:** Animal Food Origin; Chromium Poisoning; Degradability; Digestibility; Environment.

# CAPÍTULO 1

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O descarte ambiental de resíduos industriais tem sido fator de preocupação em todo o mundo, pois pode causar danos muitas vezes irreversíveis para o meio ambiente e para a saúde humana. As indústrias curtidoras de couro emitem uma grande quantidade de resíduos durante o processo de curtimento, que precisam de cuidados especiais para serem eliminados. Mas devido ao alto custo e ao pequeno porte da maioria dos curtumes esses resíduos são descartados de maneira inadequada no meio ambiente. Esses resíduos na maioria das vezes são carregados de cromo (couro *wet blue*), pois o curtimento ao cromo é o mais utilizado no mundo, sendo utilizado por 80 a 90 % das fábricas curtidoras. Quando no meio ambiente o cromo pode atingir o estado de oxidação (VI) tornando-se instável, altamente tóxico e cancerígeno.

Uma técnica desenvolvida por Oliveira et al. (2004), um pesquisador da Universidade Federal de Lavras-UFLA, retira grande parte do cromo dos rejeitos sólidos que podem ser reaproveitados pela indústria curtidora. Após a extração do cromo o material obtido, colágeno, com baixo teor de cromo, parece ter potencial de utilização em vários ramos industriais como na produção de fertilizantes e de ração animal.

Por outro lado, o aproveitamento de subprodutos na nutrição animal têm ocupado cada vez mais espaço no cenário mundial podendo representar uma diminuição do custo de produção e a viabilização da atividade, além de diminuir a demanda por produtos nobres como soja e milho que são cada vez mais requeridos para alimentação da população humana em crescimento no mundo.

Tendo em vista os efeitos negativos ambientais e o grande volume de rejeitos produzidos com potencial de reutilização, novas alternativas para aproveitamento dos mesmos devem ser desenvolvidas visando agregar valor a esses rejeitos e propiciar uma diminuição da contaminação ambiental por parte das indústrias curtidoras.

Pretendeu-se, com esse trabalho, apontar uma nova alternativa para a utilização dos resíduos de couro *wet blue* por meio do seu uso na alimentação de ruminantes, apontando suas potencialidades e restrições para a alimentação animal.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Panorama da produção de couro**

Detentor de um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, o Brasil também ocupa lugar de destaque na produção mundial de couros: 5º produtor de couros bovinos, atrás dos EUA, Rússia, Índia e Argentina, com cerca de 33 milhões de couros, representando 10 a 11% da produção mundial em 2001 (Santos et al., 2002).

O Brasil passou a ser importante exportador de couros na década de 1990 e em 2004 a produção total do país foi de cerca de 36,5 milhões de couros, sendo que aproximadamente 26,3 milhões de couros foram exportados, representando 72,1% da produção. Os principais destinos foram Itália, Hong Kong, China e Estados Unidos, nesta ordem (CICB<sup>1</sup>, 2004).

A produção brasileira de couro quase triplicou nos últimos 25 anos, passando de 13,8 milhões de unidades, em 1980, para 37 milhões em 2004. A indústria brasileira de couro é constituída por cerca de 787 estabelecimentos dos quais 80% podem ser classificados como pequenas empresas, com menos de 50

---

<sup>1</sup> Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil

empregados, conforme a classificação da FIERGS<sup>2</sup> e do Sebrae-RS<sup>3</sup> (Santos et al., 2002). Deste total de estabelecimentos 38% localizam-se na região sul, 33% no sudeste, 15% no centroeste, 11% no norte e 3% no nordeste (Pacheco, 2005). O Estado de Minas Gerais concentra mais de 22% das empresas brasileiras de curtimento e beneficiamento do couro que são localizadas principalmente nas regiões do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, produzindo anualmente cerca de 4,3 milhões de unidades. O setor emprega diretamente 9800 pessoas e fatura 132 milhões de dólares ao ano (IBGE<sup>4</sup>, 2004).

Uma parcela das peles curtidas é destinada ao mercado interno onde são utilizadas pelas indústrias que fabricam bolsas, cintos, estofados para carros, entre outros, e também pelas indústrias de calçados. Esta última tem grande importância para economia brasileira movimentando R\$ 50 bilhões anuais e empregando mais de 500 mil pessoas (Vio & Allegrini, 2005). Outra parcela significativa é destinada à exportação principalmente para países mais desenvolvidos, que fabricam produtos acabados de maior valor agregado. Esta etapa produtiva gera menos poluentes para o meio ambiente sendo que a etapa mais poluente ocorre nos países em desenvolvimento devido ao processo de curtimento (Brasil, 2005).

## **2.2 Geração de resíduos e suas conseqüências**

A destinação adequada dos resíduos gerados pelos curtumes tem sido fator de preocupação entre as autoridades ambientais. Alguns estados, como é o caso de Minas Gerais, têm uma regulação específica para a indústria de curtumes. O Rio Grande do Sul possui uma legislação ditada pelo CONSEMA<sup>5</sup> (Rio Grande do Sul, 2004) que abrange toda a geração de resíduos sólidos

---

<sup>2</sup> Federação das Indústrias do Estado do Rio Grande do Sul

<sup>3</sup> Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

<sup>4</sup> Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

<sup>5</sup> Conselho Estadual do Meio Ambiente

perigosos. No caso de Minas Gerais, as normas que dispõem sobre a destinação adequada dos resíduos da indústria são estabelecidas pelo COPAM<sup>6</sup> (Minas Gerais, 2003).

No curtimento mineral, no qual se usa sais de cromo, alumínio e titânio, o processo ao cromo ainda é o principal mecanismo de curtimento, utilizado mundialmente, pelo tempo relativamente curto de processamento e pela qualidade que confere aos couros em suas principais aplicações. A fonte de cromo normalmente utilizada é o sulfato básico de cromo, onde este se encontra no estado trivalente. No entanto, esforços crescentes para a sua substituição têm sido verificados, devido ao seu impacto ambiental, potencialmente negativo (Pacheco, 2005).

Dentre todas as fases da cadeia produtiva do couro, a etapa de curtimento é a que gera maior quantidade de efluentes e resíduos sólidos. A produção de couro, até o estágio *wet blue*, produz 85% do resíduo ambiental da cadeia produtiva. O cromo é o principal problema dos curtumes e é o insumo utilizado pela maioria das empresas no processo de curtimento. Os resíduos com a presença de metal cromo, segundo a norma brasileira NBR-10004 da ABNT<sup>7</sup>, (ABNT, 2005), são classificados como resíduos classe I – perigosos, necessitando de tratamento e disposição específica (Giordano, 2005).

Ainda de acordo com Giordano (2005), definem-se como perigosos ou nocivos, os resíduos e/ou combinações de resíduos que apresentem substancial periculosidade real ou potencial à saúde humana ou aos organismos vivos, ou os que se caracterizam pela letalidade, ou não degradabilidade ou ainda por efeitos cumulativos adversos. Os resíduos sólidos classe/categoria I são resíduos que requerem cuidados especiais quanto à coleta, acondicionamento, transporte e disposição final. Os resíduos sólidos cromados dos curtumes incluem-se nessa

---

<sup>6</sup> Conselho de Política Ambiental

categoria. A serragem de couro curtido ao cromo, gerada na operação de rebaixamento, é um resíduo volumoso, altamente tóxico e geralmente distribuído em terrenos baldios ou nas margens dos rios. Por ser um produto lentamente biodegradável, permanece por muito tempo no meio ambiente. No Brasil, mais de 90% das peles curtidas são feitas ao cromo. O couro *wet blue* contém o cromo no estado de oxidação III. Se depositado no meio ambiente, esse cromo pode facilmente se transformar em cromo hexavalente, que é altamente cancerígeno (Szadkowska et al., 2003; Kirpnick-Sobol et al, 2006).

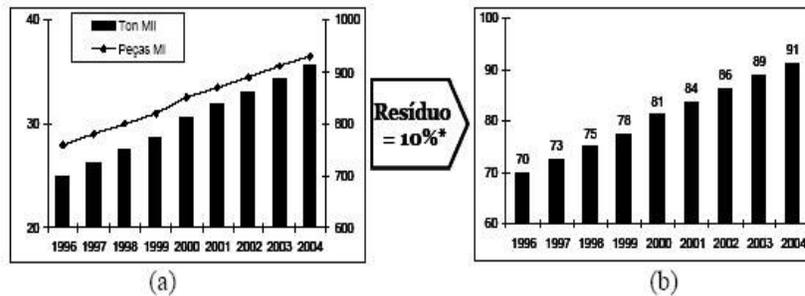
O resíduo é gerado ao final do processo de curtimento de pele. Assim, as raspas e aparas, que constituem esse resíduo, também estão contaminadas com cromo, o que o impede um descarte em aterros convencionais e outro tipo de utilização, como na alimentação animal. Atualmente, essas raspas e aparas são descartadas irregularmente no meio ambiente, já que a disposição correta acarreta elevados custos para os curtumes. Entre as alternativas viáveis para o aproveitamento do resíduo, a reconstituição do couro é a principal que, apesar dos méritos, não consegue absorver toda a geração nacional de resíduos.

O Brasil produz, aproximadamente, 910 mil toneladas de peles curtidas ao cromo por ano. Essa produção gera cerca de 91 mil toneladas de resíduos sólidos contaminados com cromo por ano, mostrando tendência ascendente de produção (FIGURA 1) (CETESB<sup>8</sup>, 2005). Devido a essa produção intensa e a dificuldade de destinação dos resíduos, seja pelo alto custo, seja pela falta de pesquisas de aplicabilidade, novas possibilidades de utilização devem ser pesquisadas.

---

<sup>7</sup> Associação Brasileira de Normas Técnicas

<sup>8</sup> Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental



**FIGURA 1- Produção brasileira de couro (a) e os resíduos sólidos gerados (b), no período de 1996 a 2004 (Cetesp, 2005 citado por Oliveira, 2007).**

### 2.3 Alternativas para aproveitamento dos resíduos

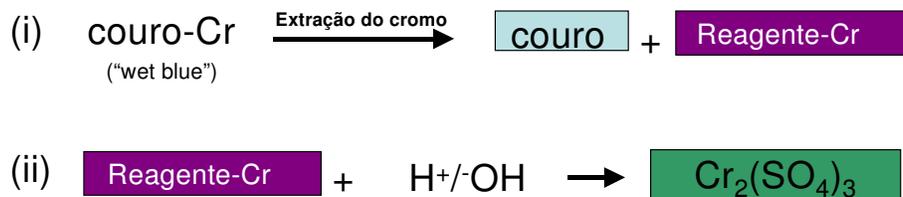
A literatura científica apresenta vários trabalhos visando a reutilização desses resíduos para minimizar a contaminação ambiental (Rivela et al., 2004; Saravanabhavan et al., 2004; Kamaludeen et al., 2003; Silveira et al., 2002). É conhecida, por exemplo, a patente PI9304442 (Compassi,1992), a qual descreve um dos métodos mais utilizados para o tratamento e posterior aproveitamento dos resíduos sólidos, que consiste na dissolução total do sólido para posterior precipitação do cromo na forma de hidróxido e utilização da proteína orgânica líquida restante como fertilizante. Também é conhecida a patente PI9202408 (Rosentreter et al., 1988), que se refere à utilização de resíduos sólidos contendo cromo na fabricação de placas divisórias de ambientes, tijolos para alvenaria, placas de forro, placas para construção de móveis, portas e outros. Porém, todos os métodos disponíveis para reutilização do resíduo de couro curtido exigem tratamentos drásticos, processos químicos ou termoquímicos, causando a hidrólise total do couro e agregando pouco valor ao material final (Mu et al., 2003).

Foi desenvolvida uma tecnologia, registrada no INPI 12/07/2004, protocolo 001538 (Oliveira et al., 2004) que visa recuperar o cromo contido nas

raspas e aparas, possibilitando a sua reutilização no próprio processo de curtimento e também o reaproveitamento do material resultante, com baixos níveis de cromo, em indústrias de fertilizantes (Oliveira, 2007) ou como adsorvente de contaminantes orgânicos (Dallago, 2005; Oliveira, 2007). O método é promissor e retira o cromo do resíduo, utilizando-o para reciclagem (FIGURA 2).

Uma vez retirado o cromo, obtêm-se um resíduo sólido composto basicamente de aparas e raspas de couro, com uma concentração baixa de cromo. No melhor processo de extração em laboratório foram recuperados 99,6% do cromo inicial (27150 mg/Kg) ficando apenas 84,7 mg/Kg na matriz sólida ao final do processo (Oliveira, 2007). O objetivo é conseguir esse grau de extração em escala industrial.

Na composição da pele são encontradas fontes de nitrogênio, como colágeno, elastina, queratina, ácido hialurônico, ácidos nucleicos, uréia e outros. Além disso, estão presentes lipídios, como fosfolipídios, esqualeno, colesterol e ácidos graxos e glicídios, como glicose, glicogênio, etc. (Viscardi, 2002). As peles de animais podem ser fontes de matéria-prima para as áreas biomédica, alimentar e cosmética e não apenas para as finalidades tradicionais, hoje contempladas.

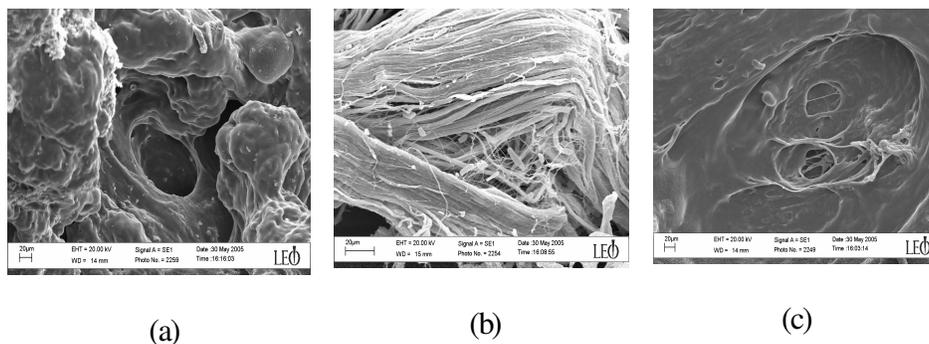


**FIGURA 2.** Esquema do processo de extração e recuperação do cromo de rejeitos de couro *wet blue* desenvolvido por Oliveira (2004).

Por meio de processos biotecnológicos, já é possível obter lâminas de queratina, queratina em pó, colágeno (gel e pó), dentre outros (Cardoso, 2004).

Oliveira (2007) através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) observou a morfologia desses materiais (FIGURA 3). O couro curtido ao cromo apresenta-se como um material fibroso (FIGURA 3b), mostrando que o processo de curtimento altera fortemente a morfologia da proteína, o que proporciona maior estabilidade ao material após o curtimento. O material que teve o cromo retirado (FIGURA 3c) apresentou uma micrografia semelhante ao couro natural (FIGURA 3a), indicando a quebra da estrutura fibrosa do resíduo industrial (couro *wet blue*) pelo processo de extração de cromo nesse material.

Devido às particularidades de seu sistema digestório, com câmaras de fermentação microbiana localizadas antes do sítio de digestão química, enzimática e de absorção de nutrientes, os ruminantes são animais capazes de aproveitar, com eficiência, alimentos pobres nutricionalmente para suportar suas necessidades de manutenção e produção, uma vez que a maioria da matéria orgânica que adentra as primeiras câmaras do estômago sofre um intenso processo de fermentação microbiana, cujos principais produtos finais são ácidos



**FIGURA 3.** Micrografias dos resíduos de couro: (a) couro natural, (b) couro *wet blue*, e (c) resíduo tratado (colágeno). Fonte: Oliveira (2007).

graxos voláteis, metano, CO<sub>2</sub> e massa microbiana. Sendo assim, esses animais conseguem energia e proteína a partir de compostos pouco digestíveis para outras espécies animais (Van Soest, 1994). Esse aproveitamento de subprodutos já ocorre rotineiramente com produtos de origem vegetal (polpa de citrus, caroço de algodão, farelo de trigo, casquinha de soja, etc.) e animal (sebo, farinha de penas, farinha de peixe, farinha de carne e ossos, etc.) muitas vezes viabilizando economicamente as atividades de exploração comercial dessas espécies animais.

## **2.4 Proteína de origem animal na alimentação de bovinos leiteiros**

As farinhas de origem animal (FOA) são ingredientes importantes quanto aos aspectos econômicos, sanitários e nutricionais. Seu uso na formulação de dietas é facilitado por conterem aminoácidos, energia, cálcio e fósforo em quantidades apreciáveis. Porém, o efeito sobre o desempenho pode ser modificado por vários fatores, tais como: tipo e qualidade do material processado; processamento (temperatura, pressão e tempo de retenção nas máquinas); uso de antioxidantes durante e após o processamento visando manter a qualidade; contaminação por microrganismos patogênicos; presença de poliaminas em grandes proporções; porcentagem e digestibilidade de nutrientes e metodologias usadas nas estimativas (Bellaver, 2001).

Devido ao fato de haver poucas alternativas à combinação milho e farelo de soja, as FOA são alternativas frequentemente usadas, pois asseguram vantagens nutricionais e econômicas na formulação. Por isso, toda consideração que se faça aos subprodutos de origem animal, deve-se avaliar o que representam para o país. Evidentemente que, defende-se a melhoria da qualidade dos subprodutos de modo a tratá-los como ingredientes e não *commodities*,

sempre levando em consideração a qualidade nutricional e sanitária dos ingredientes (Bellaver et al., 2005).

Estudos visando conseguir melhor aproveitamento do nitrogênio pelo ruminante são direcionados principalmente na busca do equilíbrio entre a utilização do nitrogênio não protéico, da proteína degradável e da não degradável. Para tal fim, deve-se considerar separadamente a demanda de fontes nitrogenadas dos microrganismos do rúmen e a do animal. O conhecimento da degradação ruminal da proteína desempenha papel fundamental nesse contexto, já que determina não apenas sua contribuição para atender às necessidades dos microrganismos como também à quantidade potencial de proteína que escapa da fermentação ruminal e, conseqüentemente, capaz de fornecer aminoácidos disponíveis para digestão a partir do abomaso (Satter, 1986).

O metabolismo da proteína no rúmen é particularmente interessante em virtude de resultar de dois processos interativos: da degradação da proteína da dieta e da síntese de proteína microbiana, esta última realizada tanto à custa da proteína degradada como de fontes de nitrogênio não protéico. Para estar disponível para os microrganismos, a proteína deve passar pelo processo de proteólise e ser hidrolisada a peptídeos e aminoácidos, muitos dos quais são subseqüentemente desaminados. A extensão da degradação de fontes protéicas no rúmen é variável, e as diferenças estão relacionadas principalmente a fatores intrínsecos do alimento, espécie animal e influências da natureza da dieta sobre o ambiente ruminal (Siddons e Paradine, 1983; Min et al., 2002; Volden et al., 2002). Outro fator interessante é que uma dieta contendo somente nitrogênio não protéico não maximiza a síntese de bactérias no rúmen, ou seja, quando se fornece aminoácidos e peptídeos em substituição à amônia e uréia tem-se um aumento na síntese de proteína bacteriana no rúmen (Argyle & Baldwin, 1989).

Para animais em crescimento e vacas em lactação, o suprimento de proteína microbiana pode ser insuficiente para atender à demanda de produção.

Nestes, as necessidades elevadas de aminoácidos devem ser supridas pelo incremento da proteína de origem dietética que escapa da degradação no rúmen e passa para o trato digestivo distal, onde será submetida aos processos de digestão e absorção (Orskov et al., 1981; Rodriguez, 1986; Volden et al., 2002).

O objetivo da nutrição protéica de vacas leiteiras é proporcionar quantidades adequadas de proteína degradável no rúmen (PDR) para otimizar a síntese de proteína microbiana no órgão e, ao mesmo tempo, obter a produtividade desejada com a menor quantidade possível de PB na dieta. Para otimizar a eficiência de utilização de PB é necessário utilizar diferentes fontes de proteína que proporcionem a PDR necessária para atender as necessidades dos microorganismos no rúmen, para que estes possam produzir proteína bacteriana na maior quantidade possível, pois esta é de baixo custo e alta qualidade nutricional. A dieta também deve fornecer proteína não degradável no rúmen (PND) em quantidade e qualidade suficientes para completar a demanda nutricional do animal em relação à deficiência de aminoácidos da proteína microbiana. Vacas de alta produção não terão suas necessidades atendidas apenas por proteína microbiana, exigindo suplementação com fontes de PND (Robinson et al., 1995). Os aminoácidos essenciais para vacas leiteiras são arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Metionina e lisina são os aminoácidos (aa) que se apresentam em menor quantidade na digesta duodenal, proporcionalmente à necessidade para síntese protéica pelo organismo sendo, portanto, os aa mais limitantes. Um suplemento dietético com fontes desses aminoácidos é capaz de aumentar a performance leiteira, a gordura e a proteína do leite (Robinson et al., 1995; Bertrand et al., 1998; Socha et al., 2005).

A quantidade de lisina e metionina em alguns produtos de origem animal podem ser maior que a maioria dos produtos de origem vegetal e a relação lisina/metionina pode estar mais próxima do ideal para bovinos leiteiros

(3:1). Por exemplo, produtos de origem vegetal como caroço de algodão, milho, sorgo e cevada possuem respectivamente relação de lisina/metionina de 2,6; 1,33; 1,3; 2,1. Por outro lado produtos como farinha de peixe, farinha de carne e ossos e soro de leite possuem, respectivamente, relação de lisina/metionina de 2,8; 3,7; 5,33 (National Research Council, NRC, 2001). Pela quantidade de lisina e metionina e também pela relação lisina/metionina estar mais próxima do ideal a introdução de produtos de origem animal se mostra interessante quando o objetivo é atender as necessidades de aa de vacas leiteiras, principalmente aquelas de alta produção.

O colágeno é composto de glicina, que é o aa mais abundante, representando 35% do total, prolina e hidroxiprolina que juntas representam 22 % de todos os aminoácidos do colágeno. Finalmente, existem outros dois aminoácidos que se encontram no colágeno, que são lisina e hidroxilisina. Do ponto de vista químico, o colágeno, a gelatina ou a cola, são compostos de grandes cadeias de aminoácidos unidos. A composição em aminoácidos do colágeno e seus derivados, gelatina e cola, em relação aos aminoácidos essenciais é muito baixa, portanto, não é uma proteína completa do ponto de vista nutricional. Entretanto, se a gelatina for incluída numa dieta normal em conjunto com outras proteínas, pode em alguns casos aumentar o valor biológico do alimento em questão (Viscardi, 2002).

Portanto, a utilização de rejeitos de couro na alimentação de ruminantes poderia ser uma alternativa viável, tecnicamente e legalmente, que supriria aminoácidos para degradação ruminal ou os disponibilizaria para absorção no duodeno.

## **2.5 Encefalopatia Espongiforme Bovina**

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), vulgarmente conhecida como Doença das Vacas Loucas ou BSE (do acrônimo inglês *Bovine*

*Spongiform Encephalopathy*) é uma doença neurodegenerativa que afeta o gado doméstico bovino. A doença surgiu em meados dos anos 80 na Inglaterra e tem como característica o fato de ter como agente patogênico uma forma especial de proteína, chamada príon. É transmissível ao homem, causando uma doença semelhante, a nova variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob, abreviadamente vCJD (Almeida, 2004).

Desde abril de 1985 alguns veterinários clínicos de campo dos países pertencentes ao Reino Unido começaram a relatar aos seus serviços de vigilância de saúde animal que alguns bovinos, na maior parte vacas com mais de 4 a 5 anos de idade, estavam adoecendo de uma doença fatal que se apresentava com sinais associados a disfunções do Sistema Nervoso Central (SNC) (Almeida, 2004). O animal afetado deixava de se alimentar e rapidamente perdia condição corporal. Em duas a três semanas era necessário que o animal fosse sacrificado, pois não respondia a nenhum tratamento.

Um estudo epidemiológico foi realizado para conhecer os fatores comuns a todos rebanhos afetados que pudessem ser imputados como causas da doença para monitorar sua incidência dentro de cada rebanho e entre os rebanhos das diferentes regiões do Reino Unido, visando coletar dados clínicos dos animais e levantar hipóteses sobre sua cadeia de causas. Os pesquisadores concluíram que a EEB estava associada ao uso de apenas um produto: a farinha de carne e ossos. Essa farinha é constituída por resíduos de animais resultantes do processamento da carne em abatedouros e que, por qualquer motivo, não podem ser destinados ao consumo humano. Os corpos inteiros de animais doentes que chegam ao abatedouro, também são constituintes desse resíduo. O uso desse material permitiu o crescimento da epidemia porque os animais afetados pela doença eram reciclados para fazer mais farinha de carne e ossos. Deste modo, os agentes da EEB, que hoje se reconhece ser a molécula de príon patogênico denominada PrP<sup>sc</sup>, dos primeiros animais doentes estavam sendo

levados de volta para o rebanho sadio por meio da farinha de carne e ossos em que eram transformados. Em conseqüência, com a farinha de carne e ossos cada vez mais contaminada em príon PrPsc, um maior número de animais estava adquirindo e morrendo de EEB. Sendo assim, a epidemia de EEB se alastrava, trazendo naquela época, e ainda hoje, muitas preocupações em relação à saúde pública e grandes perdas econômicas para a cadeia da carne mundial. O príon pode contaminar a ração dos bovinos também por meio de produtos provenientes de outros mamíferos que alimentaram-se com material bovino contaminado. Essas espécies, mesmo não desenvolvendo a doença, permanecem com o príon no sistema nervoso ou em seu trato digestório podendo transmiti-la, quando usados na alimentação de ruminantes. Foi demonstrado que apenas um grama de cérebro (em matéria úmida) de um animal com EEB, administrado por via oral a outros bovinos, era capaz de causar a doença dentro de períodos semelhantes ao da doença natural (após 5 anos de idade) (Anderson et al., 1996). Pesquisas atuais (ACDP<sup>9</sup>, 1998) mostram que apenas 0,1 grama de cérebro (peso úmido) de um animal doente, inoculado por via oral, transmite a EEB para bovinos. Para evitar este risco, hoje é proibido o uso de farinha de carne e ossos de qualquer animal de fazenda, inclusive aves, na alimentação de ruminantes (Austin et al., 1993).

Os materiais considerados pelo ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA), como de risco potencial para EEB são cérebros, olhos, amídalas, medula espinhal e intestino, desde o duodeno até o reto, de bovinos de qualquer idade; e cérebros, olhos, amídalas, baço, medula espinhal e intestino, desde o duodeno até o reto, de ovinos e caprinos de qualquer idade. O Brasil encontra-se na categoria I da lista do MAPA, instrução normativa N° 25 de 06 de abril de 2004, como um dos países onde é altamente improvável ou improvável a presença de um ou mais casos clínicos ou sub-clínicos da

---

<sup>9</sup> Advisory Committee on Dangerous Pathogens

encefalopatia espongiforme bovina, sendo que nunca houve relato de caso no país. A instrução normativa Nº 8, de 25 de março de 2004, do Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento, (Brasil, 2004a), em seu artigo 1º, proíbe em todo o território nacional a produção, comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. No entanto, o artigo 3º da mesma resolução cita: “Excluem-se da proibição de que tratam os artigos anteriores, o leite e os produtos lácteos, a farinha de ossos calcinados (sem proteína e gorduras), a gelatina e o colágeno preparados exclusivamente a partir de couro e peles”. Sendo assim, as únicas proteínas de origem animal ainda permitidas como alimento para ruminantes são derivadas do leite e da pele. Portanto, apesar do risco potencial de EEB, com a utilização de alimentos de origem animal, considerando-se o aspecto técnico e legal, parece haver espaço para a utilização dos rejeitos de couro na alimentação de ruminantes, como proposto por esse trabalho.

## **2.6 Botulismo**

O botulismo é uma intoxicação de bovinos e outras espécies animais, resultante principalmente da ingestão de toxina previamente formada pela bactéria anaeróbia *Clostridium botulinum*. Assume importância econômico-sanitária no Brasil o botulismo epidêmico, relacionado com a osteofagia observada em bovinos mantidos em áreas deficientes em fósforo, sem a adequada suplementação mineral, e com a presença na pastagem de restos de cadáveres contaminados (Tokarnia et al., 1970). Surto têm sido registrados nos últimos anos em extensas regiões do país, com a estimativa de centenas de milhares de mortes (Döbereiner et al., 1992, Dutra & Döbereiner, 1995) atribuídas às toxinas botulínicas C e D (Dutra et al., 1993). Um importante fator que contribuiu para o agravamento do problema foi a intensificação da

contaminação ambiental pelos esporos de *C. botulinum*, principalmente a partir de cadáveres que entram em decomposição no pasto (Souza & Langenegger, 1987, Ribas et al., 1994 citado por Dutra et al., 2001).

A doença afeta diferentes espécies domésticas e aves silvestres. No Brasil, o botulismo tem causado grandes prejuízos econômicos na pecuária, devido ao grande número de animais que morrem por essa doença. A doença acomete principalmente vacas em gestação ou lactação. Estas categorias são as de maior exigência nutricional no rebanho, portanto as primeiras a manifestarem sinais de desequilíbrio frente a uma dieta deficiente em fósforo, apresentando osteofagia (consumo voluntário de ossos). Com isso, esses animais são predispostos à ingestão de toxinas botulínicas (Corrêa & Corrêa, 1992).

O *Clostridium botulinum* faz parte da flora intestinal normal do animal, e quando ele morre por um motivo qualquer, o processo de putrefação cria condições favoráveis para o desenvolvimento da bactéria e a produção de toxina botulínica. Outros meios de transmissão do Botulismo, além da ingestão de ossos ou restos de cadáveres, são água paradas, geralmente rasas e esverdeadas, com restos de cadáveres ou não; grãos de milho armazenados em condições de umidade elevada e alta temperatura entram em putrefação e podem desenvolver a toxina; feno úmido e em putrefação; ração armazenada inadequadamente; cama de frango que, sob determinadas condições de armazenagem, são excelentes meios de cultura para o clostrídio e para a produção da toxina; silagem, principalmente nas partes laterais do silo, onde pode ocorrer putrefação (Fernandes, 1998). Diante desses fatores e causas diversas, uma patologia a ser considerada quando se pensa no uso dos resíduos de couro para alimentação animal, certamente é o botulismo, caso as condições de armazenamento do material possa propiciar o desenvolvimento do clostrídio.

## 2.7 Cromo nos alimentos e seu papel no metabolismo

Na maioria dos alimentos o cromo existe em baixas concentrações. Dentre os alimentos mais ricos em cromo estão o peixe, a lagosta, o frango e o levedo da cerveja. O teor máximo permitido pela legislação brasileira é de 1 µg/ml para Cr (III) e 0,05 µg/ml para Cr (VI) (Silva e Pedrozo, 2001). O *National Research Council* (NRC) recomenda uma ingestão diária de Cr (III) segura e adequada de 50-200 µg/ dia para humanos (ATSDR, 2000).

No homem e em animais, o cromo trivalente é um nutriente essencial que desempenha um papel importante no metabolismo de glicose, gorduras e proteínas. Acredita-se que a forma biologicamente ativa do complexo de Cr (III) orgânico facilite a interação da insulina com seus receptores celulares. Compostos inorgânicos de cromo não apresentam esta atividade. Entretanto, o homem e os animais são capazes de converter os compostos de cromo inativos a formas biologicamente ativas, mas a exposição a elevadas concentrações desta forma de metal pode levar ao aparecimento de efeitos adversos (ATSDR, 2000).

Silva Filho (1999) mensurou níveis de minerais, entre eles o cromo, em vários subprodutos utilizados na alimentação animal tais como farelos de algodão, arroz, canola, soja e trigo; farinhas de peixe, pena, carne e penas + vísceras; cascas de algodão, arroz, laranja e bagaços de tomate. Os níveis de Cr dos bagaços de tomate (3,35ppm) e de laranja (6,27ppm) foram altos comparados às demais amostras, as quais tiveram concentrações que variaram de 0,03 a 0,61 ppm. McDowell (1985) cita valores de 0,11, 0,24, 0,424 e 1,17 ppm, respectivamente em milho, germe de trigo, farelo de trigo e levedura de cerveja. Fávaro et al. (1994), analisando folhas de citrus, detectaram nível médio de Cr de 1,0 ppm. Os mesmos autores analisaram a dieta total consumida por várias populações humanas em diferentes regiões do Brasil e reportaram um valor médio de 0,5 ppm. A literatura, de modo geral, não registra casos de deficiência de Cr em ruminantes.

A presença de cromo (Cr) nas plantas, mesmo em baixos níveis, é suficiente para suprir as exigências nutricionais dos animais. De acordo com Underwood (1977), a maioria dos alimentos traz em sua composição níveis de 0,2 a 0,8 ppm, porém com o advento de novas técnicas de análise é possível a detecção de níveis mais baixos com precisão. Esse elemento é importante do ponto de vista nutricional por funcionar como um cofator na ativação da insulina em mamíferos, sendo também o agente responsável pelo fator de tolerância à glicose, requerido na manutenção do metabolismo (McDowell, 1985).

## **2.8 Toxicidade do cromo**

É consenso na literatura que o Cr (VI) é mais tóxico que o Cr (III), como demonstrado em um ensaio *in vitro* por Dartsch et al. (1998) ao observar que 5 $\mu$ mol/l de Cr (VI) inviabilizou 50% de uma cultura de células renais, enquanto que a dose de 1000 $\mu$ mol/l de Cr (III), inviabilizou somente 10% das células. No entanto deve-se salientar que a baixa toxicidade do Cr (III) em relação ao Cr (VI) é devido à sua menor absorção celular, pois Kirpnick-Sobol et al. (2006) ao dosar o cromo intracelular observou que o Cr (III) provoca uma maior indução de deleção de DNA que o Cr (VI).

O teor máximo de cromo presente em alimento permitido pela legislação brasileira para alimentação humana é de 1 $\mu$ g/ml para Cr (III) e 0,05 $\mu$ g/ml para Cr (VI). Segundo Dartsch et al. (1998), as células renais são dez vezes mais sensíveis ao cromo que as células hepáticas. O cromo absorvido é excretado quase que exclusivamente pela urina, logo a concentração urinária de cromo pode ser utilizada como parâmetro para avaliar o cromo absorvido. Ao contrário de produtos à base de cromo trivalente, aqueles à base de cromo hexavalente são agentes oxidantes capazes de induzir danos teciduais como dermatites (Hansen, et al., 2003), apoptose de linfócitos (Vasant et al., 2003), nefrotoxicidade (Dartsch et al., 1998; Wedeen And Qian, 1991) e hepatotoxicidade (Dartsch et al., 1998),

além de possuírem um risco em potencial no desenvolvimento de processos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos (Szadkowska et al., 2003; Kirpnick-Sobol et al., 2006).

Logo após absorção oral ou dérmica de Cr (VI), o rim torna-se o órgão alvo da acumulação de cromo, o que pode resultar em uma necrose tubular aguda (NTA). Compostos de cromo produzem necrose na porção inicial dos túbulos contorcidos proximais. A NTA é caracterizada pelo rápido fracasso renal, uma fase inicial de oligúria<sup>10</sup>, e finalmente uma fase de poliúria<sup>11</sup> (Dartsch et al., 1998; Wedeen And Qian, 1991). A recuperação subsequente da função renal é gradual e se dá dentro de algumas semanas. Cromato de potássio, na dose de 15 mg/kg de peso vivo administrado por via parenteral, induz NTA em animais (Biber et al, 1968; Kramp et al., 1974).

Existem poucos estudos sobre a toxicidade do cromo em animais. Em um estudo realizado com peruas, adicionou-se à dieta destas aves 10µg/g de Cr (III), tendo sido verificada uma diminuição significativa na produção de ovos em relação ao grupo controle. Pássaros da região de Rhode Island nos Estados Unidos, onde altos níveis de cromo foram detectados no solo, no ar e nas águas de superfície, não tiveram seu crescimento afetado e reproduziram-se com sucesso. Entretanto, um elevado nível de ácido úrico foi constatado em relação ao mesmo tipo de aves de outros locais. Esta elevação do nível de ácido úrico sugere uma alteração na função renal devido a uma dieta com níveis de cromo acima de 7,6µg/g, mais altos que os existentes em locais não contaminados (*Canadian Environmental Protection ACT*, 1994).

Tentativas de utilização de resíduos de couro na alimentação animal já foram realizadas em suínos (Gruhn e Ludke, 1972), mas resíduos de cromo foram detectados especialmente no fígado e rins.

---

<sup>10</sup> produção de urina menor que 200 mL/dia em adultos humanos

<sup>11</sup> produção de urina excedendo 3 L/dia em adultos humanos

Dentre os fatores que devem ser considerados na avaliação da toxicidade dos compostos de cromo, destaca-se a pureza destes compostos; o cromo (III) pode estar contaminado com pequenas quantidades de Cr (VI), o que dificultaria a interpretação com animais de experimentação. Além disso, como o Cr (VI) é rapidamente reduzido a Cr (III) no organismo, torna-se difícil distinguir os efeitos nocivos de cada estado de oxidação, em separado (ATSDR, 2000).

A maioria dos efeitos tóxicos induzidos pelo cromo ocorrem no trato respiratório, quando a via de introdução é a pulmonar. Os efeitos tóxicos em indivíduos expostos ocupacionalmente a elevadas concentrações de cromo, particularmente Cr (VI), incluem ulcerações e perfuração de septo nasal, irritação do trato respiratório, possíveis efeitos cardiovasculares, gastrintestinais, hematológicos, hepáticos e renais, além do risco elevado de câncer pulmonar. Após a exposição oral, os efeitos mais prevalentes ocorrem nos tecidos hepático e renal (ATSDR, 2000).

Kaufman et al. (1970), citado em ATSDR (2000), relataram um caso de óbito em uma criança de 14 anos de idade após a ingestão de 7,5 mg/Kg de dicromato de potássio. Antes do óbito, a criança apresentou fortes dores abdominais e vômito. Alta atividade de enzimas hepáticas foram encontrados no soro após 24 horas da ingestão. Um exame pós-morte mostrou necrose de fígado e rins, além de edema renal.

## **2.9 Toxicocinética e toxicodinâmica do cromo no organismo**

A toxicocinética dos compostos de cromo depende do estado de oxidação do átomo e da natureza da ligação neste composto. A absorção dos compostos de Cr (VI) é maior do que a dos compostos de Cr (III). O ânion cromato penetra facilmente nas células através dos canais aniônicos não específicos. Já os compostos de Cr (III) são absorvidos por difusão passiva ou fagocitose (ATSDR, 2000). Enquanto a forma hexavalente facilita a entrada na

circulação e nas células, a forma trivalente ligada à proteína intracelular é que causa danos iniciais através de ligações com proteínas intracelulares (Wedeen And Qian, 1991).

A absorção por via oral é variável. Os compostos insolúveis de Cr (III), como óxido de cromo, praticamente não são absorvidos por esta via de introdução; 0,5 a 2 % dos compostos de Cr (III) presentes na dieta são absorvidos pelo trato gastrointestinal e, aproximadamente, de 2 a 10% de Cr (VI), como os cromatos de potássio e de sódio, são por ali absorvidos. Na ingestão de cromo hexavalente, este é rapidamente reduzido pelos compostos presentes na saliva e no suco gástrico a Cr (III), menos absorvido (Who, 1996; Wedeen & Qian, 1991)

Uma vez absorvido, o cromo é transportado pelo sangue para vários órgãos e tecidos. O Cr (III) liga-se principalmente a proteínas séricas, especialmente a transferrina. O Cr (VI) penetra rapidamente nos eritrócitos. O estado de oxidação do metal apresenta papel fundamental na distribuição pelo sangue e na retenção pelos diferentes órgãos. O Cromo transportado pelo sangue concentra-se, especialmente, no fígado, rim, baço e pulmão. Os dados da exposição humana a cromo referem-se, quase exclusivamente, ao seu acúmulo nos pulmões em consequência da inalação das partículas do metal (Who, 1996).

A distribuição do cromo, após exposição por via oral, leva ao acúmulo do metal em nível renal, hepático, pulmonar, cardíaco e pancreático. O metal pode ser transferido para o feto via placenta e para crianças via leite materno (ATSDR, 2000). O cromo é preferencialmente excretado pelos rins (na introdução por via oral 80% da dose administrada de Cr (VI) foi recuperada na urina) sendo que todo cromo encontrado na urina está na forma trivalente mostrando que o organismo converte a forma hexavalente em trivalente antes da excreção.

A toxicidade do cromo depende de seu estado de oxidação, sendo o Cr (VI) de maior toxicidade que o Cr (III). Acredita-se que um dos fatores que contribui para esta elevada toxicidade seja a grande habilidade do Cr (VI) em penetrar nas células, em comparação com o Cr (III). O Cr (VI) existe como ânion cromato tetraédrico, em pH fisiológico, e assemelha-se a outros ânions naturais como fosfato e sulfato, permeáveis através dos canais da membrana celular. O Cr (III), entretanto, forma complexos octaédricos e não pode penetrar facilmente através daqueles canais. Portanto, a baixa toxicidade do Cr (III) se deve, em parte, a esta dificuldade de penetração celular. A redução extracelular do Cr (VI) a Cr (III) diminui a penetração intracelular do cromo, reduzindo assim a sua toxicidade (ATSDR, 2000). Uma vez dentro das células, o Cr (VI) sofre redução a Cr (III), com Cr (V) e Cr (IV) como intermediários. Estas reações geralmente envolvem espécies intracelulares, como o ascorbato, a glutatona ou os aminoácidos. As espécies cromo (VI), (V) e (IV) estão envolvidas no ciclo oxidativo de Fenton, gerando radicais livres. Dificilmente, em condições fisiológicas normais, o Cr (III) gera este tipo de radical (ATSDR, 2000).

Os produtos da redução do Cr (VI) – radicais livres, cromo (IV) e (V) e o Cr (III) parecem ser os responsáveis pelos efeitos carcinogênicos observados. A interação destes produtos com o DNA pode resultar em danos estruturais e funcionais do mesmo e em efeitos celulares negativos. Os danos estruturais incluem quebra da fita, ligações cromo-DNA e aberrações cromossômicas. Os danos funcionais incluem seqüestro de DNA polimerase, mutagênese e alterações da expressão gênica. A formação de ligações entre DNA e proteínas pode interferir na replicação e transcrição do DNA ou, ainda, promover ou inibir a expressão de genes regulatórios celulares. A alteração da regulação celular pode levar à carcinogênese. As alterações estruturais e funcionais podem inibir o crescimento celular. O mecanismo de apoptose celular induzido pelo cromo não

está totalmente explicado; sabe-se, entretanto, que há a participação do estresse oxidativo<sup>12</sup>, da ligação cruzada DNA-DNA e da inibição da transcrição (ATSDR, 2000).

Para elementos essenciais como o cromo, há riscos associados ao ingresso corpóreo, tanto de baixas como de elevadas concentrações do metal. A faixa de concentração que preenche os requisitos biológicos e previne a toxicidade pode ser estreita. Assim, na avaliação do risco, estes dois aspectos – essencialidade e toxicidade- devem ser considerados tanto para o homem como para outras espécies do meio ambiente (Silva e Pedrozo, 2001).

A população em geral está exposta ao cromo pela inalação do ar ambiental, ingestão de água e alimentos contaminados. O espectro dos efeitos tóxicos do cromo promovidos pelos cromos (VI) e (III) incluem ação carcinogênica para o homem, atribuída ao Cr (VI), as dermatoses, ulcerações e perfurações do septo nasal, rinite atrófica e lesões renais, demonstrando a necessidade de se evitar a exposição a concentrações excessivas do metal, bem como à contaminação ambiental (ATSDR, 2000).

## **2.10 Utilização de Cr-EDTA como marcador em experimentação**

Desde a década de sessenta o complexo Cr-EDTA é utilizado em experimentos de digestão em ruminantes (Downes e McDonald, 1964). Esses autores demonstraram que, durante a passagem no trato gastrointestinal, inevitavelmente uma pequena parte do complexo Cr-EDTA era absorvido. A absorção foi em média de 3% em vacas e ovelhas e o cromo absorvido era rapidamente excretado e recuperado na urina. Udén et al. (1980) comparou

---

<sup>12</sup> Em determinadas situações adversas, a concentração de Radicais Livres aumenta de forma descontrolada, provocando diversos tipos de lesões, que atualmente são incontestavelmente relacionadas com a gênese de várias doenças.

marcadores de digestibilidade, entre eles o Cr-EDTA. No experimento ele usou vacas, cavalos, ovelhas, cabras e coelhos e demonstrou que a absorção do complexo Cr-EDTA foi de 2-3% nas espécies testadas com exceção dos coelhos onde 22% do marcador foi recuperado na urina.

O processo de extração do cromo do resíduo de couro (couro wet blue) desenvolvido por Oliveira (2004) é baseado na utilização de uma mistura ácida para a complexação e retirada do cromo da matriz sólida residual. Em seguida, o cromo livre em solução será complexado com EDTA para formar a espécie Cr-EDTA que será removida para recuperação do cromo. Assim, após a retirada do composto para reciclagem, a pequena quantidade de cromo remanescente no resíduo sólido de couro estará ligada ao EDTA, conferindo uma estabilidade muito grande à molécula, bem como baixa possibilidade de absorção em ruminantes.

## **2.11 Provas de função hepática**

As aminotransferases são comumente usadas como marcadores de lesão hepatocelular. A aspartato-aminotransferase (AST) é encontrada em células sanguíneas e em diversos outros tecidos, incluindo fígado, músculo, cérebro, pâncreas e pulmões. A alanina-aminotransferase (ALT) é uma enzima citoplasmática, encontrada primariamente em hepatócitos, sendo um marcador mais específico de doença hepática (Kaplowitz, 1982). Apesar da AST não ser considerada uma enzima hepato-específica, pois enfermidades envolvendo tecidos musculares e hepáticos podem aumentar os valores dessa enzima no plasma (Coles, 1984), desde que se excluam lesões musculares e cardíacas o aumento da atividade enzimática da AST pode ser interpretado como sendo consequência de lesão hepática (Hagiwara, 1982) e essa lesão é diretamente proporcional ao número de hepatócitos lesados (Duncan e Prasse, 1982).

Outra enzima hepática que é utilizada como indicativo de lesão hepática é a fosfatase alcalina (FA) a qual indica obstrução do sistema biliar, quer seja no fígado ou nas vias biliares extra-hepáticas (Kaplowitz, 1982).

Um aumento do colesterol no plasma também pode sugerir lesão hepática por deficiência na captação, transporte e metabolismo do mesmo no fígado (Kaplowitz, 1982).

Portanto, a pesquisa desses marcadores é útil para precisar lesões hepáticas as quais podem ocorrer no caso de ingestão de altas concentrações de cromo.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS. **Transmissible spongiform encephalopathy agents: safe working and the prevention of infection.** London, UK: Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. HMSO, 1998.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for chromium.** Syracuse: U.S. Department of health & Human Services, 2000.

ALMEIDA, V.; NUNES T. Perspectivas de controlo das EET na Península Ibérica. In: ENCONTROS VETERINÁRIOS GALAICO-PORTUGUESES, 2004, Silleda. **Proceedings** Silleda, 2004. p.41-48.

ANDERSON, R.M.; DONNELLY, C.A.; FERGUSON, N.M.; WOOLHOUSE, M.E.J.; WATT, C.J.; UDY, H.J.; MAWHINNEY, S.; DUNSTAN, S.P.; SOUTHWOOD, T.R.E.; WILESMITH, J.W.; RYAN, J.B.M.; HOINVILLE, L.J.; HILLERTON, J.E.; AUSTIN, A.R.; WELLS, G.A.H. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. **Nature**, v.382, p.779–788, 1996.

ARGYLE, J.L.; BALDWIN, R.L. Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields. **Journal Dairy Science**, v.72, p.2017-2027, 1989.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**. Classificação de resíduos sólidos. Disponível em: <<http://www.abnt.org.br/>>. Acesso em: 14 abr. 2005. Sci., 72: 2017-2027, 1989.

AUSTIN A.R, HAWKINS S.A.C., KELAY N.S. & SIMMONS M.M. New observations on the clinical signs of BSE and scrapie. A Consultation on BSE with the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the **European Communities held in Brussels**, Belgium, 14–15 September 1993.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: CBNA, 2001. p.167-190.

BELLAVER, C.; LUDKE, J.; LIMA, G.J.M.M. Qualidade de ingredientes para rações. In: GLOBAL FEED AND FOOD FORUM, 2005, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: FAO/IFIF.Sindirações, 2005.

BERTRAND, J.A.; PARDUE, F.E.; JENKINS, T.C. Effect of ruminally protected amino acids on milk yield and composition of jersey cows fed whole cottonseed. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.8, p.2215–2220, 1998.

BIBER, T.U.; MYLLE, M.; BAINS, A.D.; GOTTSCHALK, C.W.; OLIVER, J.R.; MACDOWELL, M. A study by micropuncture and microdissection of acute renal damage in rats. **American Journal Medical**, v.44, p.664-705, 1968.

BINNERTS, W.T.; KLOOSTER, A.T.; FRENS, A.M. Soluble chromium indicator measured by atomic absorption in digestion experiments. **The Veterinary Record**, Apr. 20th, 1968.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 8, 25 de março de 2004**. 2004a. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6476>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 25, 06 de abril de 2004**. 2004b. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6817>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. 2005. Disponível em: <<http://www.mte.gov.br>> Acesso em: 29 maio 2007.

CANADIAN ENVIRONMENTAL PROTECTION. **Priority substances list assessment report.** Chromium and its compounds. Santé, Canadá: ACT, 1994. p.59.

CARDOSO, E.C. **Sistemas integrados de produção de peles e couros no Brasil.** Embrapa Gado de Corte, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc127/12sistemas.html>> Grande MS> Acesso em: 10 abr. 2005.

COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária.** 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

COMPASSI, M. K. **Processo de dissolução termo-química de serragem e/ou retalhos e aparas de couros curtidos ao cromo.** Br PI 9202408, 1992.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos.** 2.ed. São Paulo: Medsi, 1992. 843p.

DALLAGO, R.M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L.C.A. Resíduos sólidos de curtumes como absorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, v.28, p.433-437, 2005.

DARTSCH, P.C.; HILDENBRAND, S.; KIMMEL, R.; SCHMAHL, F.W. Investigations on the nephrotoxicity and hepatotoxicity of trivalent and hexavalent chromium compounds. **International Archive Occup Environmental Health**, v.71 S40-5, Sept. 1998. Supplement.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; LANGENEGGER, J.; DUTRA, I.S. Epizootic botulism of cattle in Brazil. **Dtsch. Tierärztl. Wschr.**, v.99, p.188-190, 1992.

DOWNES, A.M.; McDONALD, I.W. The chromium-51 complex of ethylenediamino tetracetic acid as soluble rumen marker. **Brit. Journal Nutrition**, v.18, p.153-162, 1964.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. **Patologia clínica veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1982. 217p.

DUTRA, I.S.; DÖBEREINER, J. Fatos e teorias sobre a doença da vaca caída: botulismo. **Hora Vet.**, Porto Alegre, v.84, p.7-10, 1995.

DUTRA, I.S.; DÖBEREINER, J.; ROSA, I.V.; SOUZA, L.A.A.; NONATO, M. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.2, p.43-48, abr./jun. 2001.

DUTRA, I.S.; WEISS, H.-E.; WEISS, H.; DÖBEREINER, J. Diagnóstico do botulismo em bovinos pela técnica de microfixação de complemento. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.13, n.3/4, p.83-86, 1993.

FÁVARO, D.I.T.; MAIHARA, V.A.; ARMELIN, M.J.A.; VASCONCELOS, M.B.A. Determination of As, Cd, Cr, Cu, Hg, Sb and Se concentrations by radiochemical neutron activation analysis in different Brazilian regional diets. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.181, n.2, p.385-394, 1994.

FERNANDES, C.G. Botulismo. In: \_\_\_\_\_. **Doenças de ruminante e equinos**. São Paulo:1998. p.147-149.

GIORDANO, G. **Tratamento e controle de efluentes industriais**, 2005 Disponível em: <[www.ufmt.br/esa/Modulo II Efluentes Industriais/](http://www.ufmt.br/esa/Modulo_II_Efluentes_Industriais/)>. Acesso em: 13 dez. 2006.

GRUHN, K.; LUDKE, H. Use of hydrolyzed chrome leather wastes in swine feeding and the content of chromium in flesh, liver, kidneys and hair. **Archive Tierernahr**, v.22, n.1, p.113-24, Feb. 1972.

HAGIWARA, M.K. **Curso de patologia clínica veterinária, promovido pela FMVZ-USP, SPMV e CRMV**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. 259p.

HANSEN, M.B.; JOHANSEN, J.D.; MENNE, T. **Chromium allergy**: significance of both Cr(III) and Cr(VI). Contact dermatitis, v.49, n.4, p.206-212, Oct. 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa industrial inovação tecnológica**. 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/industria/pia/produtos/producao2004/default.shtm>>. Acesso em: 16 fev. 2007.

KAMALUDEEN, S.P.; ARUNKUMAR, K.R.; AVUDAINAYAGAM, S.; RAMASAMY, K. Bioremediation of chromium contaminated environments. **Indian Journal Exp. Biology**, v.41, n.9, p.972-985, Sept. 2003.

KAPLOWITZ, N.; EBERLE, D.; YAMADA, T. Biochemical tests for liver disease. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. (Ed.). **Hepatology: a textbook of liver disease**. Philadelphia: WB, Saunders, 1982. v.1, p.583-607.

KIRPNICK-SOBOL, Z.; RELIENE, R.; SCHIESTL, R.H. Carcinogenic Cr(VI) and the Nutritional Supplement Cr(III) Induce DNA Deletions in Yeast and Mice Cancer. **Res.**, v.66, n.7, Apr. 2006.

KRAMP, R.A.; MACDOWELL, M.; GOTTSCHALK, C.W.; OLIVER, J.R. A study by microdissection and micropuncture of the structure and the function of the kidneys and the nephrons of rats with chronic renal damage. **Kidney Int.**, v.5, p.147-176, 1974.

McDOWELL, L.R. **Nutrition of grazing ruminants in warm climates**. Orlando: Academic, 1985. 443p.

MIN, B.R.; ATTWOOD, G.T.; REILLY, K. Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. **Canadian Journal Microbiology**, v.48, p.911-921, 2002.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental **Deliberação normativa nº 68. Minas Gerais, 10 de dezembro, 2003**. Disponível em: <[www.faemg.org.br/Content.aspx?Code=31&ParentPath=None;5](http://www.faemg.org.br/Content.aspx?Code=31&ParentPath=None;5)>. Acesso em: 10 fev. 2007.

MU, C.; LIN, W.; ZHANG, M.; ZHU, Q. Towards zero discharge of chromium-containing leather waste through improved alkali hydrolysis. **Waste Management**, v.23, p.835-843, 2003.

NATIONAL RESEARCH CONCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7<sup>th</sup>ed. rev. Washington: National Academy of Science, 2001. 408p.

OLIVEIRA, D.Q.L. **Tratamento de rejeitos sólidos contendo cromo da indústria de couro: uso em processos de adsorção e como fonte de nitrogênio na agricultura**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, L.C.A.; DALLAGO, R.M.; N. FILHO, I. Processo de reciclagem dos resíduos sólidos de curtumes por extração do cromo e recuperação do couro descontaminado. **Br PI 001538**, 2004.

ORSKOV, E.R.; HUGHES-JONES, M.; McDONALD, I. Degradability of protein supplements and utilization of undegraded protein by high-producing dairy cows. In: HARESIGN, W.; COLE, D.J.A. (Ed.). **Recent developments in ruminant nutrition**. London: Butterworths, 1981. p.17-30.

PACHECO, J.W.F. **Curtumes**. São Paulo: CETESB, 2005. 76p. (Série P + L). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 25 maio 2007.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente. **Resolução nº 073**. Rio Grande do Sul, 20 de agosto de 2004.

RIVELA, B.; MOREIRA, M.T.; BORNHARDT, C.; MENDEZ, R.; FEIJOO, G. Life cycle assessment as a tool for the environmental improvement of the tannery industry in developing countries. **Environment Science Technology**, v.38, n.6, p.1901-1909, Mar. 2004.

ROBINSON, P.H.; FREDEEN, A.H.; CHALUPA, W.; JULIEN, W.E.; SATO, H.; FUJIEDA; SUZUKI, H. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.3, p.582-594, 1995.

RODRIGUEZ, N.M. Importância da degradabilidade da proteína no rúmen para a formulação de rações para ruminantes. **Caderno Técnico da Escola Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n.1, p.27-45, 1986.

ROSENTRETER, H.; KLEIN, H.G.; WEHLING, B.; MAKOWKA, B. Processo de curtimento ao cromo de couros descarnados e depilados piquelados. **Br PI 8804055**, 1988.

SANTOS, A.M.M.M. et al. Panorama do setor de couro no Brasil. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n.16, p.57-84, set. 2002. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br/conhecimento/bnset/set1603.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2007.

SARAVANABHAVAN, S.; THANIKAIVELAN, P.; RAO JR., N. B.; RAMASAMI, T. Natural leathers from natural materials: progressing toward a new arena in leather processing. **Environmental Science Technology**, v.38, n.3, p.871-879, Feb. 2004.

SATTER, L.D. Protein supply from undegraded dietary protein. **Journal Dairy Science**, v.69, p.2734-2749, 1986.

SIDDONS, R.C.; PARADINE, J. Protein degradation in the rumen of sheep and cattle. **Journal Science Food Agricultural**, v.34, p.701-708, 1983.

SILVA, C.S. da; PEDROZO, M.F.M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 2001. (Cadernos de Referência Ambiental, 5).

SILVA FILHO, J.C. da; ARMELIN, M. J. A.; SILVA, A. G. da. Determinação da composição mineral de subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal, pela técnica de ativação neutrônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.235-241, fev. 1999.

SILVEIRA, I.C.; ROSA, D.; MONTEGGIA, L.O.; ROMEIRO, G.A.; BAYER, E.; KUTUBUDDIN, M. Low temperature conversion of sludge and shavings from leather industry. **Water Science Technology**, v.46, n.10, p.277-83, 2002.

SOCHA, M.T.; PUTNAM, D.E.; GARTHWAITE, B.D.; WHITEHOUSE, N.L.; KIERSTEAD, N.A.; SCHWAB, C.G.; DUCHARME, G.A.; ROBERT, J.C. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.3, 2005.

SZADKOWSKA-STANCZYK, I.; WOZNIAK, H.; STROSZEJN-MROWCA, G. Health effects of occupational exposure among shoe workers. **A Review Médical Pr.**, v.54, n.1, p.67-71, 2003.

TOKARNIA, C.H.; LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C.H.; CARVALHO, E.V. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira. Série Veterinária**, v.5, p.465-472, 1970.

UDÉN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passages studies. **Journal Science Food Agricultural**, v.31, p.625-632, 1980.

UNDERWOOD, E.J. **Trace elements in human and animal nutrition**. 4.ed. London: Academic, 1977. 545p.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2<sup>nd</sup>ed. Cornell: Cornell University, 1994.

VASANT, C.; RAJARAM, R.; RAMASAMI, T. Apoptosis of lymphocytes induced by chromium(VI/V) is through ROS-mediated activation of Src-family kinases and caspase-3. **Free Radic Biology Medical**, v.35, n.9, 1082-1100, Nov. 2003.

VIO, F.; ALLEGRINI, V. Dados do mercado brasileiro de couro. In: ENCONTRO NACIONAL DOS QUÍMICOS E TÉCNICOS DA INDÚSTRIA DO COURO, 2005. Disponível em: <<http://www.abiquim.org.br/releases/lanxess1.pdf>> Acesso em: 22 mar. 2007.

VISCARDI, M.L.C. **Hidratação da pele**. ABC do corpo salutar. 2002. <<http://www.abcdocorposalutar.com.br/artigo.php?codArt=363>>. Acesso em: 15 abr. 2005.

VOLDEN, H.; MYDLAND, L.T.; OLAISEN, V. Apparent ruminal degradation and rumen escape of soluble nitrogen fractions in grass and grass silage administered intraruminally to lactating dairy cows. **Journal Animal Science**, v.80, p.2704-2716, 2002.

WEDEEN, R.P.; QIAN, L. Chromium-Induced Kidney Disease. **Environmental Health Perspectives**, v.2, p.71-74, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chromium**. Geneva: Environmental Health Criteria, 1996. p.61.

## CAPÍTULO 2

### POTENCIALIDADES NUTRICIONAIS DE RESÍDUOS DE COURO *WET BLUE* PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

SILVA, Rodrigo Carvalho. Potencialidades Nutricionais de Resíduos de Couro *Wet Blue* para a Alimentação de Ruminantes. In\_\_\_\_. **Utilização de Rejeitos de Couro *Wet Blue* na Alimentação de Ruminantes: Potencialidades Nutricionais e Patológicas**. 2007. Cap. 2, p.33-45. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*.

#### RESUMO

O processo de curtimento de couro é caracterizado por produzir enorme quantidade de resíduos contaminados com cromo, os quais constituem um grave problema ambiental. Têm sido desenvolvidas tecnologias para a retirada do cromo desses resíduos, entretanto, há necessidade de se ter destinação adequada para os resíduos com baixo teor de cromo. O colágeno derivado de couro e pele é permitido pela legislação brasileira para a alimentação de ruminantes. O objetivo deste trabalho foi apontar uma alternativa para a minimização da contaminação ambiental por resíduos de couro, por meio de sua utilização na alimentação de ruminantes. Foram comparados os resíduos de couro *in natura* (WB) e os resíduos que tiveram o cromo extraído (CE). Ambos os materiais apresentaram 99,7% de MS, mas o teor de PB foi mais alto (90,4%) no CE do que no WB (74,3%). No entanto, a degradabilidade ruminal efetiva da MS foi 63% e da PB foi 65% no CE, sendo que o WB não sofreu degradação ruminal, provavelmente refletindo a estabilidade da molécula, conferida pelo cromo. A digestibilidade abomasal *in vitro* do CE foi 98%, demonstrando que, se protegido da degradação ruminal, esse material pode ser utilizado como fonte de proteína animal visando induzir mudança no perfil de aminoácidos da dieta de ruminantes. Essa alta digestibilidade abomasal também indica que o CE tem potencial para ser utilizado na alimentação de animais não ruminantes. O teor de matéria mineral foi mais alto no WB(10,4%) do que no CE(0,4%), refletindo o

---

\* Comitê Orientador: João Chrysóstomo de Resende Júnior – UFLA (Orientador), Luiz Carlos Alves de Oliveira – UFLA (Co-orientador).

teor de cromo e reforçando que o processo de retirada desse elemento é eficiente. A alimentação animal mostra-se como uma alternativa viável para a destinação das raspas e aparas de couro geradas pelos curtumes e tratadas pelo método de extração, minimizando assim a contaminação ambiental.

**Palavras-chave:** Alimento de Origem Animal; Degradabilidade; Digestibilidade; Meio Ambiente

## INTRODUÇÃO

A destinação adequada para os resíduos gerados pelos curtumes tem sido fator de preocupação entre as autoridades ambientais (COPAM, 2003; CONSEMA, 2004). Dentre todas as fases da cadeia produtiva do couro, a etapa de curtimento é a que gera maior quantidade de efluentes e resíduos sólidos. No Brasil, mais de 90% das peles curtidas são feitas ao cromo (Teixeira et al., 1999; Pacheco, 2005). O resíduo do couro curtido ao cromo, conhecido como couro *wet blue*, é considerado resíduo classe I, de acordo com a norma NBR 10004. Isso significa que é perigoso ao meio ambiente e aos animais, incluindo o homem. Esses resíduos são constituídos por raspas e aparas, as quais estão contaminadas com cromo, o que impede um descarte em aterros convencionais e outro tipo de utilização, como na alimentação animal. Foi desenvolvida uma tecnologia (Oliveira, 2004) que recupera o cromo contido nas raspas e aparas, possibilitando a sua reutilização no próprio processo de curtimento e obtém como produto final um material, composto predominantemente por colágeno, com baixos níveis de cromo. Entretanto, alternativas para aproveitamento desse resíduo devem ser pesquisadas, contribuindo para diminuição do descarte ambiental das indústrias curtidoras.

A utilização de subprodutos em dietas para nutrição animal fica cada vez mais importante e necessária quando se observa que é cada vez maior a

competição entre humanos e animais por alimentos concentrados como, por exemplo, milho e soja. Além do mais, os subprodutos possuem uma importância evidente no setor econômico tanto para as indústrias que os geram, onde se tornam fontes adicionais de rendimento, como para os criadores de animais onde significam uma diminuição de custos que muitas vezes viabilizam a produção (EMBRAPA, 2002).

Devido à particularidade de seu sistema digestório, com câmaras de fermentação microbiana localizadas antes do sítio de digestão química e enzimática e também de absorção de nutrientes, os ruminantes são animais capazes de aproveitar alimentos muitas vezes pobres nutricionalmente para espécies não ruminantes (Van Soest, 1994). Em adição, a despeito da proibição do uso de alimentos de origem animal para alimentação de ruminantes no Brasil, o colágeno, derivado exclusivamente de couro e peles, constitui um dos únicos produtos de origem animal permitidos para a alimentação de ruminantes pela instrução normativa Nº 8, de 25 de março de 2004, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Pretendeu-se, com este trabalho, apontar uma alternativa para a utilização dos resíduos de couro *wet blue*, após extração de cromo, por meio do seu uso na alimentação de ruminantes, caracterizando suas potencialidades nutricionais para essas espécies animais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Avaliação das características químicas do produto**

Essas avaliações, em duplicata, foram efetuadas nas amostras compostas dos resíduos *wet blue* (material curtido ao cromo) e nos resíduos tratados pelo método desenvolvido por Oliveira (2004), para minimização do

teor de cromo. O material *wet blue* foi coletado pelo departamento de química da UFLA em vários curtumes da região de Divinópolis-MG e continha 27150 ppm de cromo. O resíduo tratado foi fornecido pelo mesmo departamento após passar por processo de extração de cromo numa planta piloto localizada no próprio departamento. O resíduo tratado continha 150 ppm de cromo. A determinação do teor de matéria seca (MS) foi realizada utilizando-se estufa ventilada a 60 °C por 72 horas e posteriormente estufa a 105 °C por 24 horas. O teor de proteína bruta (PB) foi determinado por meio da análise de nitrogênio utilizando-se o aparelho de destilação a vapor micro-Kjeldahl, conforme AOAC (1970), corrigindo-se pelo fator de conversão 6,25. A porcentagem de extrato etéreo (EE) foi realizada por extração por meio de éter de petróleo em extrator contínuo de Soxhlet, de acordo com a AOAC (1970). A determinação da porcentagem de cinzas foi realizada por incineração do material em mufla a 550° C por 5 horas, pelo método da AOAC (1970). A quantidade de carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimada por diferença, de acordo com a equação  $CNF=1-(PB+EE+Cinzas)$ , assumindo-se que a quantidade de carboidratos fibrosos fosse desprezível, por se tratar de alimento de origem animal. Para a determinação do perfil de minerais dos materiais foi utilizado espectrofotometria de absorção atômica.

### **Avaliação da degradabilidade ruminal efetiva**

As análises de degradabilidade *in situ* foram realizadas segundo a metodologia descrita por Pereira (1997), nas amostras dos resíduos *wet blue*, *in natura*, e dos resíduos tratados, pelo método desenvolvido por Oliveira (2004), para minimização do teor de cromo. Foi utilizada uma amostra composta de cada material, constituída por três subamostras. Os tempos de incubação das sacolas no rúmen do animal foram 0, 12, 24 e 96 horas. Em cada saquinho (failete “poliéster” 9 x 15 cm) foram colocados cinco gramas de amostra seca a

55° C, correspondendo a uma relação de 18,5 mg/cm<sup>2</sup>. Foram utilizadas quatro vacas com cânula no saco dorsal do rúmen. A degradabilidade efetiva (DEF) da matéria seca foi calculada utilizando o modelo matemático:

$$DEF = A + B \frac{kd}{kd + kp}$$

sendo:

A: fração A (instantaneamente degradável) assumida como sendo o desaparecimento da amostra nos sacos de poliéster no tempo 0.

B: fração B (potencialmente degradável) obtida pela equação  $B = 100 - (A+C)$ .

C: fração C (indigestível) obtida do resíduo dos sacos incubados por 96 horas.

kd: taxa fracional de degradabilidade da fração B, determinada por regressão linear ao longo dos tempos 0,12 e 24 horas do logaritmo natural dos resíduos de cada saco após a subtração da fração C.

kp: taxa fracional de passagem ruminal, assumida como 4% por hora.

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (1999), utilizando o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + R_i + V_j + e_{ij}$$

Em que:

$\mu$  : média geral;

$R_i$  : o efeito do material incubado ( $i =$  resíduo *in natura* ou resíduo tratado);

$V_j$  : o efeito do bloco ( $j =$  vacas 1, 2, 3 e 4);

$e_{ij}$  : o erro experimental ( $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ).

### **Avaliação da digestibilidade abomasal “in vitro”**

Foram reproduzidas, *in vitro*, as condições do abomaso, simulando-se o suco gástrico com uma solução de ácido clorídrico (HCl) e pepsina. Incubou-se as amostras por 48 horas a 40°C com 6ml de HCl a 20% e 10 ml de pepsina a 5%. A digestibilidade abomasal foi calculada pela diferença de peso entre o material incubado e o resíduo ao final da incubação (AOAC, 1970).

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (1999), utilizando o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + R_i + e_{ij}$$

Em que:

$\mu$  : média geral;

$R_i$  : o efeito do material incubado ( $i$  = resíduo *in natura* ou tratado);

$e_{ij}$  : o erro experimental ( $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O teor de MS dos dois tipos de resíduo foi 99,7%. Houve diferença entre os princípios nutritivos do resíduo de couro *in natura* (WB) e o material que teve o cromo extraído (CE) (TABELA 1). Como era de se esperar, o material *in natura* apresentou um teor elevado de matéria mineral, determinado prioritariamente pelo alto teor de cromo (TABELA 2).

**TABELA 1** – Princípios nutritivos de resíduos de couro *wet blue*, *in natura*, ou submetido ao tratamento para extração de cromo

Princípios nutritivos (%)	Couro <i>wet blue</i>	Couro com cromo extraído	<i>P</i>
Proteína bruta (PB)	74,3	90,4	<0,001
Extrato etéreo (EE)	1,3	1,4	0,174
Matéria mineral (MM)	10,4	0,4	<0,001
Carboidratos não fibrosos (CNF) <sup>1</sup>	14	7,8	<0,001

<sup>1</sup> O percentual de CNF foi estimado por diferença, de acordo com a equação  $CNF=1-(PB+EE+MM)$ , assumindo-se que a quantidade de carboidratos fibrosos fosse desprezível, por se tratar de alimento de origem animal.

**TABELA 2.** Perfil de minerais de resíduos de couro tratados ao cromo (WB) ou com cromo extraído (CE)

Resíduo	N <sup>(1)</sup>	P <sup>(2)</sup>	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Zn	Cr
	%		mg/kg							
WB	10,4	1,0	0,15	0,60	0,44	12	133	2	5	27150
CE	14,0	2,6	0,14	0,48	0,08	3	70	1	10	84,7

<sup>1</sup>N Total. <sup>(2)</sup>CNA + H<sub>2</sub>O (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

O processo de extração de cromo (Oliveira et al., 2004) é eficiente uma vez que extrai 99,6% desse elemento do resíduo de couro (TABELA 2). O menor percentual de matéria mineral no resíduo que teve o cromo extraído refletiu em maior percentual de proteína bruta, indicando ser esse alimento um concentrado protéico com potencial de utilização como tal. De acordo com o National Research Council, NRC (2001), um alimento para ser considerado concentrado protéico deve apresentar no mínimo 20% de proteína bruta e no máximo 18% de fibra bruta na matéria seca. O tratamento para a retirada do cromo aumenta o teor de PB e ao mesmo tempo torna o material mais degradável no rúmen (TABELA 3) e mais digestível no abomaso (TABELA 4). A degradabilidade ruminal efetiva (Def) da matéria seca (MS) dos materiais testados e da PB diferiu grandemente entre os materiais (TABELA 3).

O material WB possui uma estabilidade conferida pelo processo de curtimento, a qual não permite qualquer ação de degradação no ambiente ruminal e esta estabilidade é perdida quando o material passa pelo processo de extração de cromo, como demonstrado por Oliveira (2007). Essa perda de estabilidade é que supostamente aumenta a *Def* ruminal e a digestibilidade abomasal do CE. Possuindo um alto teor de proteína com alta *Def* e alta digestibilidade abomasal o material se mostra com potencial para nutrição de ruminantes tendo em vista a capacidade dos mesmos de aproveitar proteína dietética para a síntese de proteína microbiana no rúmen (Argyle & Baldwin, 1989) e também de usarem a própria proteína dietética como fonte de aminoácidos quando esta chega ao abomaso e intestino delgado e possui potencial para sofrer digestão química e enzimática (Satter, 1986; Robinson et al., 1995), como é o caso do subproduto CE. O uso de produtos de origem animal (TABELA 4) para alimentação de ruminantes é interessante, especialmente quando se pretende interferir no perfil de aminoácidos da dieta, como lisina e metionina, o que é fundamentalmente importante na nutrição de

animais altamente produtivos, como vacas leiteiras no pico de lactação (NRC, 2001). O material CE possui alto teor de PB com 65% de degradabilidade ruminal e 35% de PND com alta digestibilidade. Quando se compara o material CE com outros subprodutos de origem animal como farinha de penas e farinha de sangue, por exemplo, notamos que todos possuem alto teor protéico (PB), no entanto esses outros subprodutos possuem maior porcentagem de PND, proteína esta com digestibilidade pós-ruminal inferior ao CE. Mesmo assim, a despeito da sua alta digestibilidade abomasal, o CE provavelmente não seja efetivo na indução do perfil de aminoácidos desejável para vacas de alta lactação uma vez que a proteína é altamente degradável no rúmen, a não ser que sejam desenvolvidas tecnologias que o preserve da degradação ruminal. Nesse caso, a potencialidade de degradação abomasal que foi de 55% para WB e 98% para CE ( $p<0,001$ ) tornar-se-ia importante.

**TABELA 3** - Parâmetros de degradabilidade ruminal de resíduos de couro *wet blue*, in natura, ou submetido ao tratamento para extração de cromo

Parâmetro de degradabilidade (%)	Couro wet	Couro com cromo	P
	blue	extraído	
Degradabilidade ruminal efetiva (Def) da matéria seca	0	63	<0,001
Def da proteína bruta	0	65	<0,001
Fração A	-	4	
Fração B	-	92	
Fração C	100	4	<0,001
kd da fração B (% por hora)	-	8	

**TABELA 4.** Teores de proteína bruta (PB), proteína não degradável no rúmen (PND) e digestibilidade da PND, presentes em alguns subprodutos de origem animal utilizados na alimentação de ruminantes, de acordo com o NRC (2001) e com os resultados obtidos no presente trabalho

Alimento	PB (% da MS)	PND (% da PB)	Digestibilidade da PND (% da PND)
Farinha de penas	90,0	70	65 <sup>2</sup>
Farinha de peixe	66,7	60	90 <sup>2</sup>
Farinha de sangue	87,2	65	65 <sup>2</sup>
Farinha de carne e ossos	54,1	50	60 <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Couro com cromo extraído	90,0	35	98 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Valores referentes aos resultados obtidos no presente trabalho.

<sup>2</sup> Valor de digestibilidade intestinal.

<sup>3</sup> Valor de digestibilidade abomasal.

Devido à ação dos componentes do suco gástrico, até o material WB apresenta potencial de aproveitamento, o qual se mostra em torno da metade da digestibilidade abomasal do CE. Esse potencial de digestibilidade, superior ao dos outros alimentos de origem animal disponíveis (TABELA 4), indica inclusive a possibilidade do aproveitamento desse resíduo, com baixo teor de cromo, na alimentação de animais não ruminantes, como suínos e carnívoros. Tentativas de utilização de resíduos de couro na alimentação animal já foram realizadas em suínos (Gruhn e Ludke, 1972), mas resíduos de cromo foram detectados especialmente no fígado e rins devido ao alto teor de cromo nos resíduos.

Tendo em vista o potencial do material CE para nutrição, tanto de ruminantes quanto de não ruminantes, a utilização do mesmo para a alimentação

animal se torna interessante uma vez que se apresenta como uma alternativa para minimização de custos de produção e, ao mesmo tempo, diminui a contaminação ambiental pelos resíduos provenientes das indústrias curtidoras.

## CONCLUSÕES

A técnica de extração de cromo do material WB com conseqüente obtenção do material CE torna esse resíduo altamente degradável no rúmen e altamente digestível no abomaso, conferindo-lhe grande potencial nutricional que associado ao seu alto teor de PB indica que o mesmo pode ser utilizado como suplemento protéico na alimentação animal, inclusive não ruminantes. Sua utilização na alimentação animal parece ser uma alternativa viável para minimização da contaminação ambiental pelos rejeitos do processo de curtimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGYLE, J.L.; BALDWIN, R.L. Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields. **Journal Dairy Science**, v.72, p.2017-2027, 1989.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004. Classificação de resíduos sólidos**. Disponível em: <<http://www.abnt.org.br/>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 13<sup>th</sup>ed. Washington, 1970. 1094p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 8, 25 de março de 2004**. 2004. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6476>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Tabuleiros Costeiros. **Aproveitamento de resíduos e subprodutos agropecuários pelos ruminantes.** 2002. Disponível em: <[www.cpatc.embrapa.br/index.php?idpagina=artigos&artigo=914](http://www.cpatc.embrapa.br/index.php?idpagina=artigos&artigo=914)>. Acesso em: 10 maio 2007.

GRUHN K.; LUDKE, H. Use of hydrolyzed chrome leather wastes in swine feeding and the content of chromium in flesh, liver, kidneys and hair. **Arch Tierernahr**, v.22, n.1, p.113-24, Feb. 1972.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental **Deliberação normativa nº 68. Minas Gerais, 10 de dezembro, 2003.** Disponível em: <[www.faemg.org.br/Content.aspx?Code=31&ParentPath=None;5](http://www.faemg.org.br/Content.aspx?Code=31&ParentPath=None;5)>. Acesso em: 10 fev. 2007.

NATIONAL RESEARCH CONCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7<sup>th</sup>ed. rev. Washington: National Academy of Science, 2001. 408p.

OLIVEIRA, D.Q.L. **Tratamento de rejeitos sólidos contendo cromo da indústria de couro:** uso em processos de adsorção e como fonte de nitrogênio na agricultura. 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L.C.A.; DALLAGO, R.M.; N. FILHO, I. Processo de reciclagem dos resíduos sólidos de curtumes por extração do cromo e recuperação do couro descontaminado. **Br PI 001538**, 2004.

PACHECO, J.W.F. **Curtumes** São Paulo: CETESB, 2005. 76p. (Série P + L). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 25 maio 2007.

PEREIRA, M.N. **Responses of lacting cows to dietary fiber from alfafa or cereal by products.** 1997. 186p. (PhD Thesis)-University of Wisconsin, Madison.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente. **Resolução nº 073.** Rio Grande do Sul, 20 de agosto de 2004.

ROBINSON, P.H.; FREDEEN A.H.; CHALUPA, W.; JULIEN, W.E.; SATO, H.; SUZUKI H. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.3, p.582-594, 1995.

SAS Institute. **User'S guide:** statistics. Version 8 Cary, USA, 1999.

SATTER, L.D. Protein supply from undegraded dietary protein. **Journal Dairy Science**, v.69, p.2734-2749, 1986.

TEIXEIRA, R.C.; BASEGIO, T.M.; BERGHMANN, C.P. Caracterização química de resíduos sólidos de curtume (serragem de couro ao cromo) e sua aplicação como carga em materiais cerâmicos. In: ENCONTRO NACIONAL DOS QUÍMICOS E TÉCNICOS DA INDÚSTRIA DO COURO, 14., 1999, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 1999.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2<sup>nd</sup>ed. Cornell: Cornell University, 1994.

## CAPÍTULO 3

### POTENCIALIDADES PATOLÓGICAS DA UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DE CURTUME NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

SILVA, Rodrigo Carvalho. Potencialidades Patológicas da Utilização de Resíduos de Curtume na Alimentação Animal. In\_\_\_\_. **Utilização de Rejeitos de Couro Wet Blue na Alimentação de Ruminantes: Potencialidades Nutricionais e Patológicas**. 2007. Cap. 3, p.46-69. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*.

#### RESUMO

A indústria brasileira de curtume produz anualmente uma enorme quantidade de raspas e aparas de couro impregnadas com cromo devido ao processo de curtimento. Tecnologias têm sido desenvolvidas para retirar o cromo desse material. O resíduo resultante do processo de retirada do cromo apresenta alta degradabilidade ruminal e alta digestibilidade em suco gástrico simulado *in vitro*, apontando uma possível utilização do material na alimentação animal. Pela natureza do material existe risco de intoxicação por cromo e de desencadeamento de botulismo. Com o presente experimento objetivou-se estabelecer os riscos reais da utilização dos resíduos de curtume na alimentação animal, utilizando ratos como modelo experimental. Quarenta e oito ratos Wistar foram alocados em oito tratamentos num arranjo fatorial 2X4. Os ratos foram alimentados durante 60 dias com dieta padrão AIN-93 e os tratamentos consistiram da substituição da dieta por 0%, 25%, 37,5% ou 50% do resíduo de couro curtido ao cromo, *in natura* (WB), ou desse resíduo processado industrialmente para a retirada do cromo (CE). O processamento industrial foi capaz de retirar 70 a 80% do cromo do resíduo, resultando em um produto ainda com teor de cromo bem acima do permitido pela legislação e do preconizado pela literatura. Esse alto teor de cromo teve efeito negativo no ganho de peso dos

---

\* Comitê Orientador: João Chrysóstomo de Resende Júnior – UFLA (Orientador), Luiz Carlos Alves de Oliveira – UFLA (Co-orientador).

animais e desencadeou lesões macro e microscópicas nos rins especialmente no material CE, sugerindo que o processamento aumenta a atividade biológica do cromo tornando-o altamente nefrotóxico. A gravidade desses efeitos foi diretamente proporcional ao nível de inclusão. Não foram detectadas anormalidades no fígado de qualquer animal do experimento e nem foi detectada a presença de esporos e toxinas do *Clostridium botulinum* nas amostras analisadas. Até que se melhore o processamento industrial para retirar o cromo do resíduo, deixando-o com concentração dentro do padrão preconizado na literatura, a utilização dos resíduos de curtume na alimentação animal não é segura.

**Palavras-chave:** Couro, cromo, histopatologia, nefrotoxicidade.

## INTRODUÇÃO

O Brasil anualmente produz, aproximadamente, 910 mil toneladas de peles curtidas ao cromo, processo que resulta no produto conhecido como couro *Wet Blue* (WB). Essa produção gera cerca de 91 mil toneladas de resíduos sólidos contaminados com cromo, mostrando tendência ascendente de produção (Pacheco, 2005). Devido a essa produção intensa e à dificuldade de destinação dos resíduos, seja pelo alto custo, seja pela falta de pesquisas que apontem possibilidade de reciclagem, novas alternativas de utilização devem ser desenvolvidas.

Foi desenvolvida uma tecnologia (Oliveira et al., 2004) que visa recuperar o cromo contido nas raspas e aparas, possibilitando a reutilização desse cromo no próprio processo de curtimento e também o reaproveitamento do material resultante, com baixos níveis de cromo, em indústrias de fertilizantes (Oliveira, 2007) ou como adsorvente de contaminantes orgânicos (Dallago, 2005; Oliveira, 2007). O método é promissor e eficiente em retirar o cromo do resíduo, utilizando-o para reciclagem. O processo de extração do cromo do resíduo de couro desenvolvidos por Oliveira (2004) é fundamentado na utilização de uma mistura ácida para a complexação e retirada do cromo da

matriz sólida residual. Em seguida, o cromo livre em solução é complexado com EDTA para formar a molécula Cr-EDTA. Assim, após a retirada do composto para reciclagem, a pequena quantidade de cromo remanescente no resíduo sólido de couro está ligada ao EDTA, conferindo uma estabilidade muito grande à molécula. Desde a década de 1960 o complexo Cr-EDTA é utilizado em experimentos de digestão em ruminantes (Downes e McDonald, 1964; Binnerts et al., 1968; Udén et al., 1980), devido à sua estabilidade e à sua irrisória absorção pela parede do trato gastrointestinal. Em laboratório foi possível extrair 99,6% do cromo do resíduo que possuía 27150 mg/Kg e passou a ter 84,7 mg/Kg (Oliveira, 2007). Após extração de cromo, o componente do resíduo é uma matriz sólida protéica, possuindo 90% de proteína bruta com 98% de digestibilidade em suco gástrico simulado, *in vitro* (Silva, 2007). O material, até ser submetido à extração do cromo, é armazenado nos curtumes e, segundo Fernandes (1998), produtos de origem animal armazenados inadequadamente podem constituir meios de cultura para o *Clostridium botulinum* e para a produção da toxina botulínica. Então, uma patologia a ser considerada quando se pensa no uso dos resíduos de couro para alimentação animal, certamente é o botulismo.

No homem e em animais, o cromo trivalente é um nutriente essencial que desempenha um papel importante no metabolismo de glicose, gorduras e proteínas (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR, 2000). Ao contrário de produtos à base de cromo trivalente, aqueles à base de cromo hexavalente são agentes oxidantes capazes de induzir danos teciduais como dermatites (Hansen, et al., 2003), apoptose de linfócitos (Vasant et al., 2003), nefrotoxicidade (Dartsch et al., 1998; Wedeen And Qian, 1991) e hepatotoxicidade (Dartsch et al., 1998), além de possuírem um risco em potencial no desenvolvimento de processos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos (Szadkowska et al., 2003; Kirpnick-Sobol et al, 2006). No entanto deve-se

salientar que a baixa toxicidade do Cr (III) em relação ao Cr (VI) é devida à sua menor absorção celular, pois Kirpnick-Sobol et al. (2006) ao dosar o cromo intracelular, observou que o Cr (III) provoca uma maior indução de deleção de DNA que o Cr (VI) (Dartsch et al., 1998; Wedeen and Qian, 1991). Existem poucos estudos sobre a toxicidade do cromo em animais, mas já foram detectados problemas de toxicidade em aves (Canadian Environmental Protection ACT, 1994) e suínos (Gruhn e Ludke, 1972).

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) pode ser uma patologia de relevância a ser considerada, caso o resíduo de couro seja destinado à alimentação de ruminantes. No entanto, o Brasil encontra-se na categoria I da lista do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2004b), instrução normativa N° 25 de 06 de abril de 2004, como um dos países onde é altamente improvável ou improvável a presença de um ou mais casos clínicos ou sub-clínicos da EEB, sendo que nunca houve relato de caso no país. Além disso, gelatina e o colágeno preparados exclusivamente a partir de couro e peles estão entre os quatro produtos de origem animal permitidos para a alimentação de ruminantes pela instrução normativa N° 8, de 25 de março de 2004, do MAPA (Brasil, 2004a).

Com o presente trabalho objetivou-se verificar as potencialidades patológicas da utilização de resíduos de couro WB, com baixo teor de cromo, na alimentação animal, dando ênfase à pesquisa da toxina botulínica e possíveis lesões teciduais atribuídas à intoxicação por cromo, utilizando-se ratos como modelo experimental.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### **Pesquisa de esporos e toxina do *Clostridium botulinum***

Os materiais utilizados no experimento foram recebidos do departamento de química da Universidade Federal de Lavras-UFLA. O material *wet blue* (WB) foi coletado pelo departamento de química em vários curtumes do estado de Minas Gerais e o material tratado para extração de cromo (CE) foi proveniente de uma planta piloto localizada na cidade de Divinópolis-MG. Estes materiais foram homogeneizados e então foram coletadas três amostras do montante total de cada material. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Enfermidades Infecciosas dos Animais Unesp - Câmpus de Araçatuba (Rua Clóvis Pestana 793 Jardim Dona Amélia 16050-680 Araçatuba, SP Telefax: 18-36228451) para a pesquisa de esporos do clostrídio e da toxina botulínica.

### **Avaliação do risco potencial de intoxicação pelo cromo**

Foram utilizados 48 ratos machos Wistar, divididos em oito grupos de seis animais. Cada grupo recebeu um dos oito tratamentos, por 60 dias, com água *ad libitum*. Os tratamentos foram formados por um arranjo fatorial 2X4, e os fatores foram: resíduo de couro e nível de inclusão do resíduo. Os resíduos de couro utilizados foram couro *Wet Blue* (WB), *in natura*, e couro que teve o cromo extraído (CE), pela técnica desenvolvida por Oliveira (2004). O processo de extração de cromo do material CE foi em escala industrial e este mecanismo está sendo aprimorado para se aproximar o máximo possível da extração feita em laboratório que é de 99,6%. Os níveis de inclusão foram 50%, 37,5%, 25% e 0% de resíduo de couro na dieta dos animais, conforme detalhado a seguir: Os animais que constituíram os tratamentos WB0 e CE0 tiveram 0% de inclusão de resíduo de couro na dieta e receberam alimentação normal (Acharya et al., 2001

modificado), *ad libitum*, com dieta padrão preparada de acordo com AIN-93G (Reeves et al., 1993). Nos grupos WB50, WB37,5 e WB25 os animais, respectivamente, tiveram 50%, 37,5% e 25% da dieta padrão substituída por resíduo de couro WB. Nos grupos CE50, CE37,5 e CE25 os animais, respectivamente, tiveram 50%, 37,5% e 25% da dieta padrão substituída por resíduo de couro CE (TABELA 1).

**TABELA 1-**Composição em g/100g das dietas experimentais, de ratos Wistar alimentados por 60 dias, com a inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro *Wet Blue* (WB), *in natura*, ou com cromo extraído(CE)

<b>Ingredientes</b>	<b>Controle</b>	<b>CT25</b>	<b>CT37,5</b>	<b>CT50</b>	<b>WB25</b>	<b>WB37,5</b>	<b>WB50</b>
<b>Amido de milho</b>	53,03	39,75	33,14	26,5	39,75	33,14	26,5
<b>Caseína</b>	20,00	15,00	12,5	10,00	15,00	12,5	10,00
<b>Óleo de soja</b>	7,00	5,25	4,38	3,50	5,25	4,38	3,50
<b>Sacarose</b>	10,00	7,50	6,25	5,00	7,50	6,25	5,00
<b>Celulose</b>	5,00	3,75	3,13	2,50	3,75	3,13	2,50
<b>Premix mineral</b>	3,50	2,63	2,19	1,75	2,63	2,19	1,75
<b>Premix vitamínico</b>	1,00	0,75	0,62	0,50	0,75	0,62	0,50
<b>Metionina</b>	0,25	0,19	0,16	0,13	0,19	0,16	0,13
<b>Colina</b>	0,20	0,15	0,12	0,10	0,15	0,12	0,10
<b>BHT</b>	0,01	0,0075	0,006	0,005	0,0075	0,006	0,005
<b>Tocoferol</b>	0,01	0,0075	0,006	0,005	0,0075	0,006	0,005
<b>CE</b>	0,00	25	37,5	50	0	0	0
<b>WB</b>	0,00	0	0	0	25	37,5	50

Os animais foram pesados uma vez por semana e o consumo de alimento foi monitorado diariamente. Ao final dos 60 dias os ratos foram anestesiados por meio de éter dietílico e coletou-se sangue por punção cardíaca, utilizando-se tubos com vácuo (VACUETTE® 4 ml - Greiner Bio-one, Rua Affonso Pansan, 1967-Americana-SP, Fone: 19-3468-9600) sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. O soro obtido foi congelado a -20 °C até as análises da presença de cromo por espectrofotometria de absorção atômica (Varian AA-175 series).

O fígado e os rins foram removidos e lavados com salina resfriada e uma porção de cada órgão foi fixada com formaldeído. Posteriormente foi feita inclusão em parafina e realizados os cortes histológicos que foram corados pela hematoxilina e eosina para análise histopatológica. As porções remanescentes do fígado e dos rins foram dessecadas em estufa (100 °C) e depois passaram por digestão nitroperclórica (0,5 grama de amostra em 6 ml de solução nitroperclórica 2:1 por 3 horas em temperatura crescente até 300 °C) para dosagem do teor de cromo por espectrofotometria de absorção atômica (Varian AA-175 series).

A ingestão de matéria seca e a ingestão de cromo diários foram analisados por regressão com o procedimento REG do pacote estatístico SAS. O ganho médio diário foi analisado pelo procedimento GLM do SAS, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + R_j + N_k + (RN)_{jk} + e_{ijk};$$

onde  $\mu$  : média geral;  $B_i$  : efeito de bloco ( $i = 1$  à  $8$ );  $R_j$  : efeito do resíduo de couro ( $j =$  WB ou CE);  $N_k$  : efeito do nível de inclusão de resíduo ( $k = 0; 25; 37,5$  ou  $50\%$ );  $(RN)_{jk}$  : efeito da interação entre resíduo e nível de inclusão;  $e_{ijk}$  : resíduo, assumido independente e identicamente distribuído em uma distribuição normal com média zero e variância  $\sigma^2$ . Os graus de liberdade do nível de inclusão foram divididos em contrastes para testar os efeitos linear, quadrático e

cúbico. Os coeficientes dos polinômios ortogonais utilizados foram: Efeito linear: -0,9000; -0,1000; 0,3000 e 0,7000; Efeito quadrático: 0,4167; -0,6667; -0,3333 e 0,5833; Efeito cúbico: -0,1111; 0,6667; -0,8889 e 0,3333. Os coeficientes foram obtidos pelo método de Grandage (1958).

### **Avaliação do perfil de enzimas hepáticas (ALT<sup>13</sup>, AST<sup>14</sup> e FA<sup>15</sup>) no soro.**

As enzimas hepáticas foram dosadas usando teste cinético com Kits comerciais (Bioclin® - Quibasa Química Básica Ltda, Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca Cep-31565-130 – Belo Horizonte-MG, Tel 31-3427-5454). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (SPECTRO VISION®) de UV/Visível termostatizado de acordo com as instruções do fabricante dos Kits.

### **Avaliação de colesterol e glicose no soro.**

O colesterol e a glicose foram dosados usando teste enzimático colorimétrico por Kits comerciais (Bioclin®) pelos métodos da colesterol oxidase e glicose oxidase respectivamente. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (SPECTRO VISION®) de UV/Visível de acordo com as instruções do fabricante dos Kits.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não foram encontrados esporos e toxina do *Clostridium botulinum* em nenhum dos dois materiais testados (WB e CE), sugerindo ausência de risco de ingestão dos materiais quando ao desenvolvimento de botulismo. Da mesma forma, nenhum rato apresentou qualquer sintoma associado ao botulismo,

---

<sup>13</sup> Alanina-aminotransferase

<sup>14</sup> Aspartato-aminotransferase

<sup>15</sup> Fosfatase alcalina

durante os 60 dias de ingestão dos resíduos de couro. Entretanto, como a variedade de indústrias curtidoras de pele é muito grande e as condições de armazenamento podem ser diversas, é necessário se estabelecer condições adequadas de armazenamento no caso de se aproveitar esses resíduos para alimentação animal.

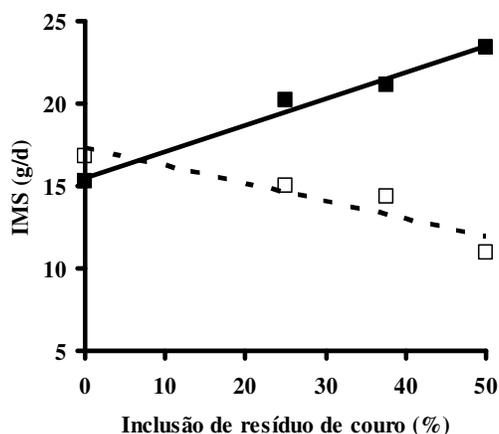
A concentração de cromo na dieta dos ratos aumentou à medida que se aumentou a quantidade de resíduo de couro WB ou CE na dieta (TABELA 1). A dieta com WB apresentou de 3 a 5 vezes mais cromo do que a com CE e a amplitude da diferença foi inversamente proporcional ao nível de inclusão na dieta. A porcentagem de cromo extraída variou de 70 a 80% indicando que o processo industrial de retirada do cromo ainda deve ser bastante aprimorado para chegar aos níveis laboratoriais, acima dos 99%. As concentrações de cromo tanto no material WB como CE extrapolam muito aquelas descritas por Silva Filho (1999), o qual mensurou níveis de minerais, entre eles o cromo, em vários

**TABELA 2-**Concentração (mg/Kg) de cromo presente nas dietas experimentais, de ratos Wistar alimentados por 60 dias, com a inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro *Wet Blue* (WB), *in natura*, ou com cromo extraído(CE)

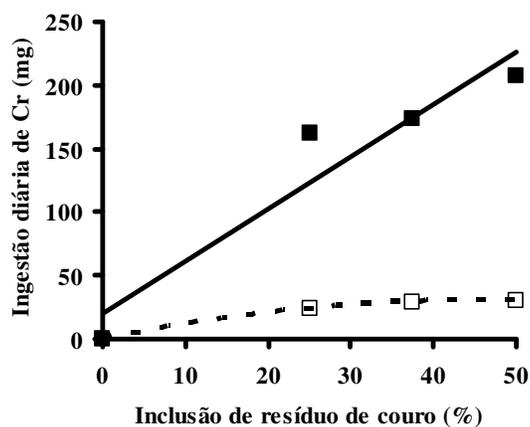
Rações experimentais	Concentração de Cr (ppm)
WB0 e CE0	0
CE25	1625
CE37,5	2032
CE50	2741
WB25	8031
WB37,5	8191
WB50	8835

subprodutos utilizados na alimentação animal tais como farelos de algodão, arroz, canola, soja e trigo; farinhas de peixe, pena, carne e penas + vísceras; cascas de algodão, arroz, laranja e bagaços de tomate. Os níveis de Cr dos bagaços de tomate (3,35ppm) e de laranja (6,27ppm), foram altos comparados as demais amostras, as quais tiveram concentrações que variaram de 0,03 a 0,61 ppm, mas mesmo assim muito inferiores às detectadas nos resíduos de couro do presente experimento. McDowell (1985) cita valores de 0,11; 0,24; 0,424 e 1,17 ppm, respectivamente em milho, germe de trigo, farelo de trigo e levedura de cerveja. Fávoro et al. (1994), analisando folhas de citrus, detectaram nível médio de Cr de 1,0 ppm. Concentrações de 10ppm de cromo foram suficientes para causar efeitos deletérios em galinhas (*Canadian Environmental Protection*, 1994). Cromato de potássio, na dose de 15 mg/kg de peso vivo administrado por via parenteral, induziu necrose tubular aguda em rins de animais (Biber et al, 1968; Kramp et al, 1974). O teor máximo de cromo presente em alimento permitido para alimentação humana pela legislação brasileira é de 1µg/ml para Cr III e 0,05µg/ml para Cr VI (Silva e Pedrozo, 2001). Esses dados indicam que até o atual momento, o processo industrial de extração do cromo não o torna um alimento seguro para a alimentação animal.

À medida que se aumentou a inclusão de WB na dieta, houve aumento na ingestão de matéria seca (IMS) ( $Pr < 0,01$ ). O contrário aconteceu com a IMS do CE ( $Pr = 0,069$ ) (FIGURA 1). O aumento da IMS que acompanhou o aumento da inclusão de material WB implicou em aumento de ingestão de cromo e a diminuição da IMS observada quando se aumentou a inclusão de material CE fez com que a ingestão de cromo nestes tratamentos aumentasse até o nível de inclusão de 37,5% a partir do qual a diminuição da IMS se acentuou tornando a ingestão de cromo semelhante entre os tratamentos CE37,5 e CE50 (FIGURA 2).



**FIGURA 1:** Ingestão de matéria seca (g/d) de ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro Wet Blue *in natura* (IMSWB) (■), ou com cromo extraído (IMSCE) (□). IMSWB =  $15,5 + 0,16\text{Inclusão couro}$ ;  $r^2 = 0,98$ ;  $P = 0,010$ . IMSCE =  $17,3 - 0,11\text{Inclusão couro}$ ;  $r^2 = 0,86$ ;  $P = 0,070$ .



**FIGURA 2:** Ingestão diária de cromo (mg/d) de ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro Wet Blue *in natura* (IDCrWB) (■), ou com cromo extraído (IDCrCE) (□). IDCrbW =  $19,51 + 4,13\text{Inclusão couro}$ ;  $r^2 = 0,91$ ;  $P = 0,046$ . IDCrCE =  $0,03 + 1,33\text{Inclusão couro} - 0,01\text{Inclusão couro}^2$ ;  $r^2 = 0,99$ ;  $P = 0,013$ .

O aumento da IMS que acompanhou o aumento da inclusão de material WB não implicou em aumento de ganho de peso médio diário (GMD) (TABELA 3) demonstrando que o material não estava sendo aproveitado nutricionalmente pelos animais. Isso se deve provavelmente à estabilidade que o material apresenta (Oliveira, 2007) sendo pouco digestível (Silva, 2007). No entanto, o aumento dos níveis de inclusão de CE, que resultou na queda da IMS foi coerente com a queda no GMD dos animais (TABELA 3), pois apesar do material apresentar boa digestibilidade (Silva, 2007), houve queda acentuada na IMS.

No decorrer do experimento foi observado que os animais que consumiam as rações contendo 37,5% e 50% de inclusão de material CE apresentaram-se apáticos, com pêlos arrepiados, além de diminuírem o consumo de ração em relação aos outros grupos. Esses sinais foram observados com maior intensidade entre a 1ª e a 3ª semanas experimentais e foram mais persistentes no grupo com 50% de inclusão. Outra característica observada é que os animais desses dois grupos apresentaram poliúria, caracterizada por excesso de urina nas gaiolas. A poliúria é um sintoma de necrose tubular aguda (NTA) causada na intoxicação por cromo (Dartsch et al., 1998; Wedeen And Qian, 1991). Podemos observar uma perda de peso ( $p < 0,01$ ) durante esse período nos grupos com 37,5% e 50% de inclusão de material CE coincidindo com os sinais clínicos apresentados.

**TABELA 3-**Ganho de peso médio diário (g/d) de ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com a inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro *Wet Blue* (WB), *in natura*, ou com cromo extraído (CE)

	CE				WB				EPM	<i>P</i> <sup>1</sup>				
	0,0%	25,0%	37,5%	50,0%	0,0%	25,0%	37,5%	50,0%		R	N	R*N	L	Q
GMD (g/d)	2,21	2,11	0,96	0,36	1,86	1,99	1,54	0,53	0,30	0,75	<0,01	0,47	<0,01	<0,01

<sup>1</sup> R: efeito de resíduo de couro; N: efeito de nível de inclusão; R\*N: efeito da interação entre resíduo e nível; L: efeito linear para nível de inclusão; Q: efeito quadrático para nível de inclusão.

Durante o sacrifício dos animais e coleta de material para análises, foi observado que os rins dos animais que receberam os tratamentos CE 37,5% e CE 50% se apresentavam aumentados de volume, edemaciados e com pontos esbranquiçados na cortical, sugestivas de necrose e inflamação, o que reforça a suspeita de intoxicação por cromo (Kaufman et al., 1970 citado por ATSDR, 2000; Wedeen And Qian, 1991). No caso do fígado não foram observadas anormalidades macroscópicas em nenhum animal do experimento.

Na análise histopatológica dos rins observou-se que os animais que receberam o tratamento com 50% de inclusão de WB apresentaram degeneração e necrose tubular discreta dos túbulos da região medular, caracterizado por vacuolização das células epiteliais, citoplasma fortemente eosinofílico e granular, com raros núcleos picnóticos associados à discreta descamação para a luz tubular.

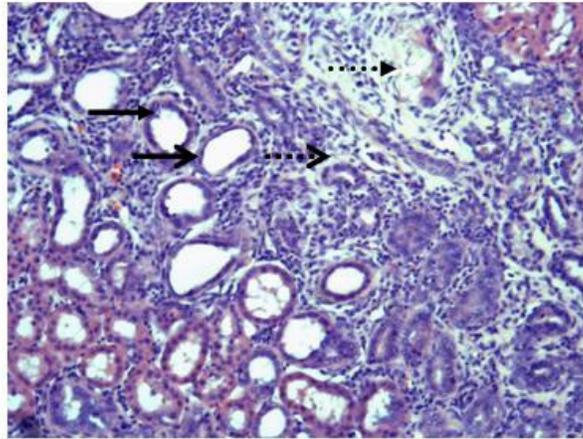
Já os animais que receberam os tratamentos com inclusão de CE 37,5% e CE 50% apresentaram na região cortical áreas multifocais com acentuada regeneração do epitélio dos túbulos contorcidos proximais, caracterizado por células epiteliais com núcleo basofílico achatado ou ovalado (FIGURA 3), e aumento de volume e da celularidade dos mesmos, (FIGURA 4), chegando em alguns túbulos a preencher totalmente sua luz. Observou-se um pigmento marrom-amarelado no citoplasma e na luz tubular, assim como, em nove animais presença de cristais amarelados refringentes na luz dos túbulos necrosados da região cortical (FIGURA 5). Havia fibrose intersticial associada a infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário moderado a acentuado (FIGURA 3). Na região medular notou-se a presença de cristais amarelados refringentes nos túbulos coletores, levando a dilatação dos mesmos e necrose epitelial, onde em alguns túbulos observou-se somente à presença da membrana basal tubular e em outros, vacuolização epitelial e picnose de núcleos com descamação das células

necrosadas para a luz. Essas lesões caracterizam um quadro de regeneração do epitélio dos túbulos contorcidos proximais, nefrite e fibrose intersticial moderada a acentuada, secundárias a nefrose tubular acentuada que ocorreu previamente nestes animais. Assim como, a lesão dos túbulos coletores provavelmente ocorreu associado à necrose prévia e obstrução da luz por células necrosadas descamadas e posterior formação de cristais. A necrose do epitélio dos túbulos contorcidos proximais é descrita como uma lesão frequentemente associada à intoxicação por cromo (Dartschi et al., 1998; Wedeen And Qian, 1991), assim como outros metais pesados (Newman et al., 2007).

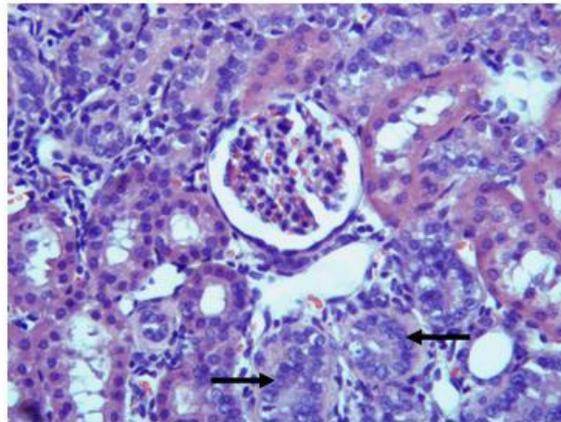
No tratamento com inclusão de 37,5% de WB três ratos não apresentaram lesão renal. Dois ratos apresentaram discreta nefrose tubular dos túbulos contorcidos proximais e túbulos da região medular caracterizando um quadro de nefrose tubular (Newman et al., 2007). Em um animal observou-se um pigmento marrom-amarelado no citoplasma dos túbulos da cortical.

Dos seis animais que receberam o tratamento CE 25% dois apresentaram pigmento marrom-amarelado no citoplasma e na luz de alguns túbulos e um foco de fibrose discreta na cortical. Um outro animal apresentou na medula presença de pouca quantidade de cristais e raras células descamadas para a luz tubular. Outro animal apresentou um foco discreto de nefrite intersticial na medular e presença de pouca quantidade de pigmento marrom-amarelado. O quinto animal apresentou lesões moderadas semelhantes às aquelas apresentadas pelos animais que receberam tratamento CE 37,5% e CE 50%. O último rato não apresentou lesão. Os animais dos grupos sem inclusão de resíduo de couro não apresentaram qualquer lesão renal.

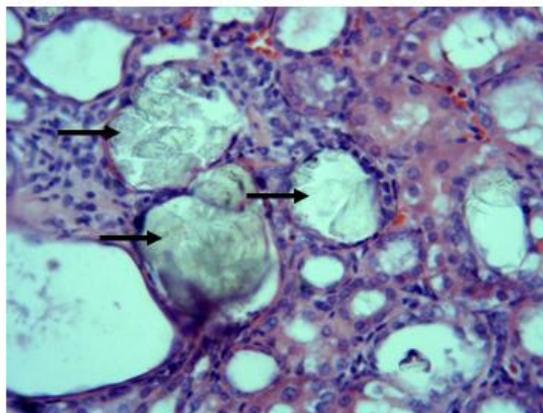
Em nenhum dos tratamentos os animais apresentaram lesões microscópicas no fígado.



**FIGURA 3** – Aspecto microscópico da intoxicação crônica por cromo, em ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 37,5% e 50% de resíduos de couro que teve o cromo extraído (CE). Note os túbulos contorcidos proximais regenerados caracterizados por células com núcleo basofílico ovalado ( → ) e núcleos achatados ( → ) acompanhado de fibrose intersticial ( - - - - - ) e cristais refringentes na luz do túbulo necrosado ( - - - - - ). H.E Obj. 100x



**FIGURA 4** - Aspecto microscópico da intoxicação crônica por cromo, em ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 37,5% e 50% de resíduos de couro que teve o cromo extraído (CE). Note os túbulos contorcidos proximais apresentando aumento de volume e da celularidade. H.E Obj. 200x



**FIGURA 5** - Aspecto microscópico da intoxicação crônica por cromo, em ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 37,5% e 50% de resíduos de couro que teve o cromo extraído (CE). Note a presença de cristais amarelados refringentes nos túbulos da região cortical, levando a dilatação dos mesmos e necrose epitelial. H.E Obj. 200x.

As lesões histopatológicas são compatíveis com as descritas na literatura para intoxicação por cromo (Wedeen And Qian, 1991). Estas mostram que os ratos que receberam tratamentos com inclusão do material CE apresentaram lesões mais graves e em maior quantidade quando comparados aos animais que receberam tratamentos com inclusão do material WB. Além disso, essas lesões se tornaram mais graves nos tratamentos CE 37,5% e CE 50% onde a ingestão de cromo foi maior (FIGURA 2), mostrando um caráter de dose dependência. Isto sugere que o processo pelo qual o material passa para extração de cromo disponibiliza o cromo residual para absorção, ou seja, o material que era estável perde essa estabilidade (Oliveira, 2007), tornando-se mais digestível (Silva, 2007) e disponibilizando o cromo para absorção, provavelmente não ligado à molécula de EDTA. Após a absorção o cromo mostrou ter como alvo as células dos rins (Dartsch et al., 1998) onde causam as lesões que são coerentes às citadas por Wedeen & Qian (1991).

Os animais que receberam inclusão de 25% dos materiais WB e CE não tiveram perda de desempenho, indicada pelo GMD, em relação aos controles (TABELA 3) e as lesões observadas no grupo que recebeu o tratamento CE 25% foram bem discretas. Silva e Pedrozo (2001) mostraram que a concentração que preenche os requisitos biológicos e previne a toxicidade pode ser estreita. Assim, na avaliação do risco, estes dois aspectos – essencialidade e toxicidade- devem ser considerados tanto para o homem como para outras espécies e para o meio ambiente.

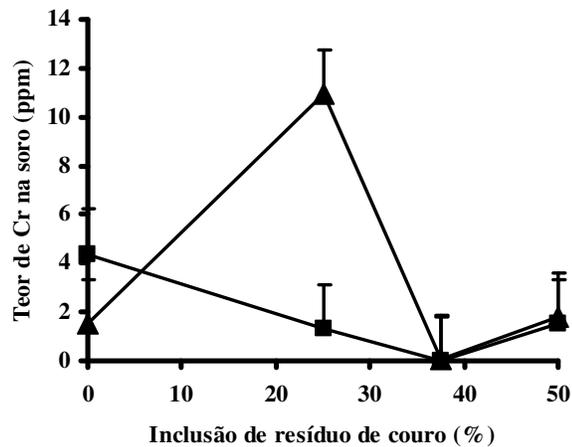
Os níveis séricos de enzimas hepáticas e de colesterol não diferiram entre os tratamentos e estiveram dentro dos valores normais para a espécie (Viana, 2007). A ausência de lesões no fígado associada aos resultados do perfil enzimático demonstra que as células hepáticas são menos atingidas no caso de intoxicação por cromo conforme demonstrado por Dartsch et al. (1998).

Apesar de o cromo participar do metabolismo da glicose (ATSDR, 2000) não houve diferença dos níveis de glicose sanguínea dos grupos tratados em relação aos grupos controle e esses níveis estavam dentro dos parâmetros normais para a espécie testada (Viana, 2007).

Não foi detectado cromo nos tecidos do fígado e dos rins. O cromo pode não ter se acumulado nos órgãos, sendo rapidamente eliminado na urina como demonstrado por Downes e McDonald (1964) e Úden et al. (1980), ou então a metodologia utilizada não foi eficiente para detectar o metal nesses tecidos.

Na análise de cromo no soro houve efeito da interação entre o resíduo de couro e a dose ( $P < 0,01$ ), sendo que na dose de 25% o couro WB apresentou maior concentração plasmática de cromo (10,93 ppm) do que o CE (1,33 ppm) ( $p < 0,001$ ). Já dentro de couro só houve efeito no material WB, sendo este efeito cúbico ( $p < 0,001$ ) (FIGURA 6). O resultado não foi coerente com o quadro de intoxicação dos animais, visto que os animais que possuíram maior teor de cromo no soro não apresentaram nenhum sinal de intoxicação e nem lesão renal

no tempo experimental empregado. A análise também refletiu um momento pontual, pois o soro foi coletado apenas no dia do sacrifício dos animais o que pode não ter sido suficiente para detectar cromo nos demais tratamentos visto que este poderia ter sido eliminado rapidamente (Binnerts et al., 1968; Úden et al., 1980) ou então a metodologia utilizada não foi eficiente para detectar com precisão o metal no soro dos animais. A dosagem de cromo na urina (Silva & Pedroso, 2001) bem como de algumas proteínas como beta-glicuronidase e lisozima (Mutti et al, 1979) parece ser mais eficiente para se detectar aumento dos níveis de cromo circulante e sua agressão aos tecidos renais.



**FIGURA 6:** Concentração de Cr plasmática (ppm) de ratos Wistar alimentados, por 60 dias, com dieta contendo inclusão de 0%, 25%, 37,5% e 50% de resíduos de couro Wet Blue (▲) *in natura*, ou com cromo extraído (■).  $P = 0,177$  para efeito de couro;  $P = 0,013$  para efeito de dose;  $P = 0,009$  para efeito da interação entre couro e dose.

## CONCLUSÕES

A alimentação de ratos com resíduos de couro curtidos ao cromo teve efeitos negativos na saúde dos animais caracterizados principalmente por lesões renais e perda de peso. A gravidade dos efeitos na integridade física dos animais foi diretamente proporcional à quantidade de resíduo de couro incluído na dieta e principalmente a dose de cromo ingerida.

Há indícios de que o processo de extração de cromo diminui a estabilidade do material WB liberando o cromo residual no material CE para absorção indicando que o processo de retirada do cromo dos resíduos de couro, em escala industrial, deve ser aprimorado e a utilização desse subproduto na alimentação animal só pode ser considerada quando as concentrações de cromo no resíduo atingir os níveis preconizados na literatura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, S.; MEHTA, K.; KRISHNAN, S.; RAO, C.V. A subtoxic interactive toxicity study of ethanol and chromium in male Wistar rats. **Alcohol**, v.23, n.2, p.99-108, Feb. 2001.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for chromium**. Syracuse: U.S. Department of Health & Human Services, 2000.

BIBER, T.U.; MYLLE, M.; BAINS, A.D.; GOTTSCHALK, C.W.; OLIVER, J.R.; MACDOWELL, M. A study by micropuncture and microdissection of acute renal damage in rats. **American Journal Medical**, v. 44, p. 664-705, 1968.

BINNERTS, W.T.; KLOOSTER, A.T.; FRENS, A.M. Soluble chromium indicator measured by atomic absorption in digestion experiments. **The Veterinary Record**, Apr 20th, 1968.

BRASIL Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 8**, 25 de março de 2004. 2004a Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6476>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 25**, 06 de abril de 2004. 2004b Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6817>>. . Acesso em: 14 abr. 2005.

CANADIAN ENVIRONMENTAL PROTECTION. **Priority substances list assessment report**. Chromium and its compounds. Santé, Canadá: ACT, 1994. p.59.

DALLAGO, R.M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L.C.A. Resíduos sólidos de curtumes como absorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, v.28, p.433-437, 2005.

DARTSCH, P.C.; HILDENBRAND, S.; KIMMEL, R.; SCHMAHL, F.W. Investigations on the nephrotoxicity and hepatotoxicity of trivalent and hexavalent chromium compounds. **International Archive Occup. Environment Health**, v.71, S40-5, Sept. 1998. Supplement.

DOWNES, A.M.; McDONALD, I.W. The chromium-51 complex of ethylenediamino tetracetic acid as soluble rumen marker. **Brit. Journal Nutrition**, v. 18, p.153-162, 1964.

FÁVARO, D.I.T.; MAIHARA, V.A.; ARMELIN, M.J.A.; VASCONCELOS, M.B.A. Determination of As, Cd, Cr, Cu, Hg, Sb and Se concentrations by radiochemical neutron activation analysis in different Brazilian regional diets. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.181, n.2, p.385-394, 1994.

FERNANDES, C.G. Botulismo. In: \_\_\_\_\_. **Doenças de ruminante e equinos**. São Paulo:1998. p.147-149.

GRANDAGE, A. 130 Query: orthogonal coefficients for unequal intervals. **Biometrics**, v. 14, n. 2, p. 287-289, June 1958.

GRUHN, K.; LUDKE H. Use of hydrolyzed chrome leather wastes in swine feeding and the content of chromium in flesh, liver, kidneys and hair. **Archive Tierernahr**, v. 22, n. 1, p. 113-24, Feb. 1972.

HANSEN, M.B.; JOHANSEN, J.D.; MENNE, T. Chromium allergy: significance of both Cr(III) and Cr(VI). **Contact Dermatitis**, v.49, n.4, p.206-12, Oct. 2003.

KIRPNICK-SOBOL, Z.; RELIENE, R.; SCHIESTL, R.H. Carcinogenic Cr(VI) and the nutritional supplement Cr(III) induce DNA deletions in yeast and mice cancer. **Res.**, v.66, n.7, Apr. 2006.

KRAMP, R.A.; MACDOWELL, M.; GOTTSCHALK, C.W.; OLIVER, J.R. A study by microdissection and micropuncture of the structure and the function of the kidneys and the nephrons of rats with chronic renal damage. **Kidney International**, v. 5, p. 147-176, 1974.

McDOWELL, L.R. **Nutrition of grazing ruminants in warm climates**. Orlando: Academic, 1985. 443 p.

MUTTI, A.; CAVATORTA, A.; PEDRONI, C.; BORGHI, C.; FRANCHINI. The role of chromium accumulation in the relationship between airborne and urinary chromium in welders. **International Archive Occup. Environment Health**, v. 43, p. 123-133, 1979.

NEWMAN, S.L.; CONFER, A.W.; PANCIERA, R.J. Urinary system. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4<sup>nd</sup>ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. Cap. 11, p. 613-691.

OLIVEIRA, D.Q.L. **Tratamento de rejeitos sólidos contendo cromo da indústria de couro: uso em processos de adsorção e como fonte de nitrogênio na agricultura**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, L.C.A.; DALLAGO, R.M.; N. FILHO, I. Processo de reciclagem dos resíduos sólidos de curtumes por extração do cromo e recuperação do couro descontaminado. **Br PI 001538** 2004.

PACHECO, J.W.F. **Curtimes**. São Paulo: CETESB, 2005. 76 p. (Série P + L). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 25 maio 2007.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEEY, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

SAS Institute. **User'S guide**: statistics, Version 8 Cary, USA, 1999.

SILVA, R. C. Potencialidades Nutricionais de Resíduos de Couro *Wet Blue* para a Alimentação de Ruminantes. In\_\_\_\_. **Utilização de Rejeitos de Couro *Wet Blue* na Alimentação de Ruminantes: Potencialidades Nutricionais e Patológicas**. 2007. Cap. 2, p.33-45. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA FILHO, J.C. da; ARMELIN, M.J.A.; SILVA, A.G. da. Determinação da composição mineral de subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal, pela técnica de ativação neutrônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.235-241, fev. 1999.

SILVA, C.S. da; PEDROZO, M.F.M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais, 2001. 100p. (Cadernos de Referência Ambiental, 5).

SZADKOWSKA-STANCZYK, I.; WOZNIAK, H.; STROSZEJN-MROWCA G. Health effects of occupational exposure among shoe workers. **A Review Med. Pr.**, v.54, n.1, p.67-71, 2003.

UDÉN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passages studies. **Journal Science Food Agricultural**, v.31, p.625-632, 1980.

VASANT, C.; RAJARAM, R.; RAMASAMI, T. Apoptosis of lymphocytes induced by chromium(VI/V) is through ROS-mediated activation of Src-family kinases and caspase-3. **Free Radic Biology Medical**, v.35, n.9, p.1082-1100, Nov. 2003.

VIANA, F.A.B. **Guia terapêutico veterinário**. 2.ed. CEM, 2007. 444 p.

WEDEEN, R.P.; QIAN, L. Chromium-Induced Kidney Disease.  
**Environmental Health Perspectives**, v.92, p.71-74, 1991.