



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
AQI 5240 – ESTÁGIO SUPERVISIONADO II

Respirometria: Metodologia para determinação, em tempo real, do consumo de oxigênio em função do tempo para organismos aquáticos e influência da água magnetizada na respirometria de *Carassius* sp. (Kinguio).

Erik Simões

Florianópolis, 18 de novembro de 2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

Respirometria: Metodologia para determinação, em tempo real, do consumo de oxigênio em função do tempo para organismos aquáticos e influência da água magnetizada na respirometria de *Carassius* sp. (Kinguio).

Trabalho apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro de Aquicultura.

Orientadora: Dra Maria Luisa Sartorelli
Co-orientador: Msc. Paulo Roberto Jardim Manso

Erik Simões
Florianópolis
2008

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a meus pais que me apoiaram em todas as decisões e me deram todas as condições para que pudesse concluir esse curso superior. Pela educação incondicional e amor que criaram seus filhos.

Ao meu irmão Thiago Simões que acompanhou minha vida acadêmica e conviveu comigo nesses últimos anos, em nossa pacata casinha no Campeche.

À minha amada esposa Luciane Aliprandini que não mediu esforços em me apoiar nos estudos. Pela paciência que teve nos diversos momentos em que estive ausente, me dedicando aos trabalhos acadêmicos.

A todos os amigos que passaram em minha vida nesses últimos anos de universidade e hoje estão Brasil e mundo à fora. Não caberia descrever todos vocês.

À Dra. Maria Luisa Sartorelli que me orientou impecavelmente durante a iniciação científica, nessa nova e intrigante linha de pesquisa à qual estamos trabalhando.

Ao Msc. Paulo Roberto Jardim Manso, que apesar de ser biomédico de formação, é um autêntico engenheiro e biólogo e muito me ensinou, em sua co-orientação nesse presente trabalho e nesses últimos anos de iniciação científica.

À Msc. Gisela responsável pelo Laboratório de Ictiologia do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR), que ofereceu espaço em seu laboratório para que conduzíssemos alguns ensaios e pela excelente convivência.

Ao Dr. Eduardo Juan Soriano-Sierra, coordenador do NEMAR, pelas orientações nas conduções dos experimentos e pelo excelente humor que traz ao ambiente de trabalho.

Ao meu querido amigo Montanha por sua amizade e pela contribuição na tradução do resumo desse trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos nesses últimos anos.

A Alfakit pelo empréstimo do oxímetro que viabilizou esse presente trabalho.

"Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário."

Albert Einstein

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento de um sistema semi-automatizado para medição das taxas de respiração, cujas câmaras de respirometria permitem trabalhar com qualquer organismo aquático de tamanho adequado para as mesmas. Sendo assim, seriam avaliadas as taxas de consumo de oxigênio em função do tempo, de peixes do gênero *Carassius* sp. em água destilada e deionizada sem e com exposição à linhas de campo magnético sob diferentes tempos de exposição. Com a transferência dos animais às unidades experimentais e realizada a primeira leitura com sucesso, foi verificado um constante aumento de temperatura e sinais de letargia nos animais com sucessivas mortes repentinas. As taxas de consumo de oxigênio não puderam ser concluídas, porém o sistema se mostrou adequado para esse tipo de avaliação necessitando apenas de um compressor que permita trabalhar com controle de baixas temperaturas.

Palavras-chave: Água magnetizada. Respirometria. Kinguio. *Carassius*.

ABSTRACT

This work presents a semi-automatized system, developed to measure breathing rates, in whose respirometry chambers permit work with any water organism which fit them. In this case, could be evaluated the oxygen consumption per time, of *Carassius* sp. in distilled and deionized water environment, with and without exposing them to magnetic fields for different time of exposure. After transferred organisms to experimental units, and accomplished the first success readings, it was verified a constant temperature grow, and lethargy signs on fishes with consecutive sudden-dead episodes. However the oxygen consumption rate chart could not be finished, this system is indicated to this sort of evaluation, only missing a low temperature operating air compressor.

Key-words: Magnetized water. Respirometry. Kinguio. *Carassius*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01.	Anatomia da brânquia de peixes.....	11
Figura 02.	Princípio de funcionamento de sensores de oxigênio.....	17
Figura 03.	Exemplar de Kinguio.....	22
Figura 04.	Sistema de respirometria.....	23
Figura 05.	Válvulas solenóides utilizadas no sistema.....	23
Figura 06.	Eletrobomba (30 W) utilizadas no sistema.....	23
Figura 07.	Oxímetro utilizado para as leituras do consumo de oxigênio.....	24
Figura 08.	Ilustração esquemática do sistema de respirometria.....	24
Figura 09.	Painel de controle.....	26
Figura 10.	Sistema de magnetização da água.....	26
Figura 11.	Esquema de condicionamento magnético da água.....	27
Figura 12.	Situação esquemática do sistema aberto.....	28
Figura 13.	Situação esquemática do sistema fechado.....	29
Figura 14.	Aclimatação dos animais.....	30
Figura 15.	Taxa de consumo de oxigênio da primeira unidade experimental controle.....	33
Figura 16.	Taxa de consumo do oxigênio da primeira unidade experimental contendo animal.....	33
Figura 17.	Taxa de consumo do oxigênio da segunda unidade experimental contendo animal.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP: Trifosfato de adenosina.

ACM: Água condicionada magneticamente.

CM: Condicionamento magnético.

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

vc/ha: Cavalos-vapor por hectare.

LCM: Laboratório de Camarões Marinhos.

ml: mililitro.

OD: Oxigênio dissolvido.

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina.

GLOSSÁRIO

Rotâmetro: Equipamento indicador da vazão (volume/tempo).

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Objetivos.....	21
2.2. Objetivos gerais.....	21
2.3. Objetivos específicos.....	21
3. Materiais e métodos.....	22
3.1. Local de estudo.....	22
3.2. Materiais.....	22
3.2.1. Material biológico.....	22
3.2.2. Materiais do sistema de respirometria desenvolvido.....	22
3.2.3. Materiais para o sistema de magnetização da água.....	26
3.3. Descrição do funcionamento do sistema de respirometria.....	27
3.4. Métodos.....	30
3.4.1. Ambientalização dos animais.....	30
3.4.2. Higienização do sistema.....	30
3.4.3. Metodologia da avaliação da taxa de consumo de oxigênio.....	31
3.4.4. Metodologia para o condicionamento magnético da água....	32
3.4.5. Análises estatísticas.....	32
4. Resultados.....	33
5. Discussões e conclusões.....	35
6. Referências bibliográficas.....	37

1. Introdução

Do ponto de vista fisiológico, o oxigênio é um dos gases mais importantes, fundamental para a produção energética de organismos. A solubilidade de gases na água, é dependente da natureza do gás, da pressão do gás na fase gasosa, da temperatura e da presença de outros solutos (Vinatea, 2004).

A quantidade de oxigênio presente na água é muito menor que a quantidade presente no ar. A água em equilíbrio com o ar atmosférico à 15°C e pressão de 1 atmosfera, contém 7,0 ml de oxigênio em 1 litro. Nessas mesmas condições, o ar contém 209,0 ml de oxigênio por litro (Schmidt-Nielsen, 1999).

Para animais aquáticos, essa inferior quantidade de oxigênio disponível na água faz com que os órgãos respiratórios apresentem adaptações para a tomada de oxigênio disponível no meio. Uma delas é o fluxo unidirecional, evitando o grande dispêndio de energia para a posterior liberação, em contrapartida com órgãos respiratórios que utilizam o ar atmosférico, por exemplo o pulmão, sem grandes dispêndios de energia com fluxo para dentro e para fora (Schmidt-Nielsen, 1999). Além da massa do meio respiratório, a viscosidade do fluido também contribui para a quantidade de trabalho necessário para mover o meio (Kramer, 1983a). A água é cerca de 50 vezes mais viscosa que o ar, conferindo uma maior necessidade energética para o bombeamento. Outro fator que contribui para as dificuldades da respiração aquática é a menor difusão do oxigênio na água em comparação com o ar.

Para que as trocas gasosas sejam adequadas, são necessários uma alta velocidade de fluxo de água e um estreito contato entre a água e a brânquia. Além disso, a brânquia deve ter uma grande área superficial para atender a demanda de oxigênio. A estrutura anatômica das brânquias permite que essas necessidades sejam atendidas, operando em fluxo contracorrente entre a água e o sangue nas lamelas branquiais (Schmidt-Nielsen, 1999).

As brânquias dos peixes consistem de diversos *arcos branquiais* principais de cada lado. De cada arco branquial estendem-se duas fileiras de

filamentos branquiais. As pontas desses filamentos, provenientes de arcos adjacentes, encontram-se forçando a água a fluir entre os filamentos. Cada filamento possui *lamelas* achatadas, densamente enfileiradas. As trocas gasosas ocorrem nessas lamelas à medida que a água vai entre elas em uma direção e o sangue, na direção oposta (Schmidt-Nielsen, 1999), como mostra a figura 01.

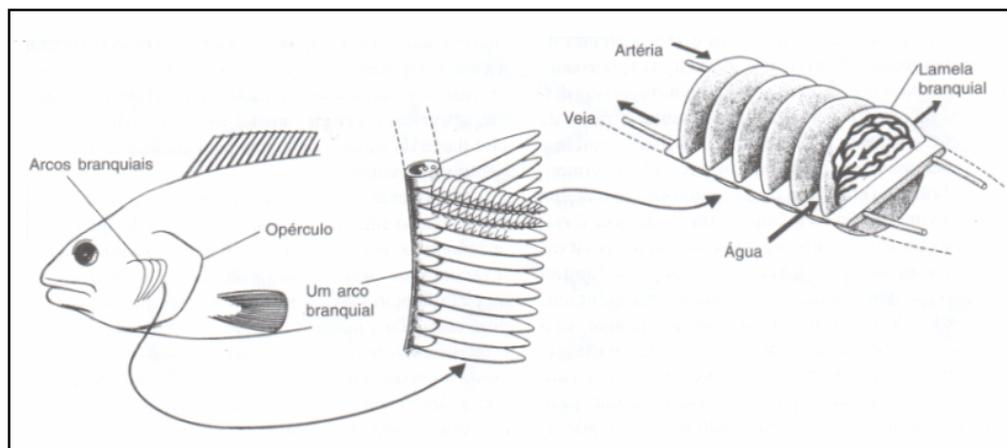


Figura 01: Anatomia da brânquia de peixes e esquema das trocas gasosas (Fonte: Schmidt-Nielsen, 1999).

Esse tipo de fluxo, contracorrente, tem uma importante consequência. Quando sangue está saindo da lamela branquial, ele encontra água cujo oxigênio ainda não foi removido. Dessa forma, esse sangue obtém oxigênio da água que tem ainda o conteúdo de oxigênio da água inspirada, permitindo que o conteúdo de oxigênio do sangue atinja o nível mais alto possível. À medida que a água corre entre as lamelas, ela encontra o sangue com um conteúdo cada vez mais baixo de oxigênio e, portanto, continua a liberar mais oxigênio. Assim, a lamela, ao longo de toda sua extensão, serve para captar o oxigênio da água (Schmidt-Nielsen, 1999).

Os processos que requerem energia e as reações no organismo vivo utilizam uma fonte comum de energia, o trifosfato de adenosina (ATP). O oxigênio é o receptor final de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial que permite o processo de fosforilação oxidativa e a geração de energia celular em forma de ATP (Toescu, 2004). Portanto, a quantidade de oxigênio consumida pode ser usada como uma medida do metabolismo energético. A taxa metabólica refere-se ao metabolismo de energia por unidade de tempo.

Segundo Schmidt-Nielsen (1999), ela pode, em princípio, ser determinada de três modos diferentes. No primeiro, calcula-se a diferença entre o valor energético de todo o alimento ingerido e o valor energético de todos os excrementos. O segundo método é feito a partir da produção total de calor do organismo. A terceira medida que pode ser usada para determinar a taxa metabólica é a quantidade de oxigênio usada nos processos de oxidação. A determinação do consumo de oxigênio, conhecido como respirometria, é comumente utilizada para a estimativa das taxas metabólicas, de modo que os dois termos são usados de modo intercambiável.

O principal motivo de analisar as taxas de consumo de animais aquáticos para aqüicultura, no caso de cultivos intensivos e semi-intensivos é prever a necessidade de aeração mecânica, de acordo com a densidade de estocagem nos viveiros. Não só os animais cultivados consomem o oxigênio, como também a própria coluna d'água através das demandas químicas e biológicas. Com essas três medidas, pode-se prever o tempo necessário de funcionamento de aeradores mecânicos, otimizando os custos de produção.

Baixas concentrações de oxigênio são conhecidas por modificar o metabolismo, taxa de crescimento e eficiência na alimentação em peixes (Pichavant *et al.*, 2000). Em baixas concentrações, o oxigênio pode atuar como um fator limitante no crescimento e, em algumas condições, como severas situações de hipoxia, pode ser um fator mais limitante que a alimentação (Kramer, 1987).

Os vertebrados dependem de um ininterrupto suprimento de oxigênio pra manter a produção de energia. Algumas espécies, porém, são aptas a sobreviver em condições severas de hipoxia por muitas horas, incluindo muitos peixes amazônicos, como por exemplo, o Oscar (*Astronotus ocellatus*) (Muusze *et al.*, 1998). Contudo, as espécies de carpa do gênero *Carassius* spp. parecem ser as que mais suportam condições de hipoxia e anoxia, sobrevivendo por meses em lagos congelados da Europa e Ásia sob essas condições (Holopainen, 1986). Essa carpa resolveu o problema de viver sem oxigênio de uma forma bastante exótica. Quando os níveis de oxigênio caem, a carpa regula a glicólise (Storey, 1987), mas para evitar uma alto-poluição pelo

incremento dos níveis de lactato, esse é convertido em etanol e liberado pelas brânquias (Johnston & Bernard, 1983). Com isso, a carpa está apta a manter a produção de energia na ausência de oxigênio enquanto tiver glicogênio presente no fígado (Nilsson, 1990).

As carpas do gênero *Carassius* estão entre as mais cultivadas mundialmente (FAO, 2007), sendo na China, principal produtora de organismos aquáticos, uma das espécies mais importantes para a aqüicultura local (Pan *et al.*, 2008), tendo uma excelente aceitação no mercado de aquariofilia, pesca esportiva e consumo humano. Segundo dados da FAO (2007) a espécie *Carassius auratus*, está entre as 10 espécies mais introduzidas em outros países, sendo a aqüicultura o principal motivo, e a espécie *Carassius carassius* entre as 10 espécies mais cultivadas no mundo.

A produção de peixes ornamentais para aquariofilia é uma indústria multimilionária nos Estados Unidos (Watson & Shireman, 1996). Nesse país, a popularidade e os altos valores de venda têm situado a produção de peixes ornamentais entre as principais fontes de renda da aqüicultura (Chapman *et al.*, 1997). As últimas quatro décadas têm testemunhado um considerável crescimento e diversificação no comércio internacional de peixes ornamentais. As exportações internacionais movimentaram cerca de US\$ 200 milhões em 2002 (Vannuccini, 2004).

Segundo dados do IBAMA (2007), o Brasil movimentou cerca de US\$ 6 milhões em exportações de peixes ornamentais de águas continentais, sendo o estado do Amazonas, o principal exportador, correspondendo com mais de 60,0 % desse montante.

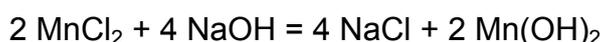
O principal aspecto que determina o comércio e a prosperidade da indústria de peixes ornamentais é a saúde dos peixes, que é diretamente dependente da qualidade da água, oferta de alimento e condições físicas do meio (Ghosh *et al.*, 2008).

A importância da análise das taxas metabólicas para peixes ornamentais é devido ao pequeno volume de água que a maioria dos aquários possui. Os

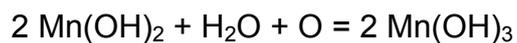
fatores abióticos se tornam altamente instáveis, principalmente quando não estão presentes sistemas de filtragem, aeração, controle de temperatura entre outros equipamentos onerosos. Os dados obtidos através da respirometria em animais aquáticos, comparando além do consumo de O₂, também a liberação de CO₂, podem ser inferidos sobre suas taxas metabólicas e são informações preciosas na formulação de rações, cujo perfeito balanceamento nutricional, promove adequações nas taxas metabólicas, e conseqüentemente não comprometem demasiadamente a qualidade da água.

Os métodos de análises de gases dissolvidos em água têm sido propostos ao longo da história por diversas formas. Até o século XIX, o método utilizado para quantificar gases em amostras de água era o proposto pelo químico inglês James Alfred Wanklyn (1907) que consistia em ferver a amostra de água, adsorver os gases com mercúrio e posteriormente quantificá-los. Nesse trabalho, Wanklyn alerta para a necessidade de preencher todo o volume do frasco da amostra evitando que quantidades de ar, dentro do frasco, possam ser incorporadas na amostra, levando à erros na quantificação, metodologia que até então não era utilizada em muitos trabalhos publicados, segundo o autor.

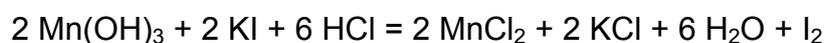
Em 1888, o químico húngaro Lajos Winkler, descobriu um método muito mais simples e preciso, de quantificar o oxigênio dissolvido na água, através de titulometria. Conhecido como o “método de Winkler”, e o mais utilizado até hoje (Gatti *et al.*, 2002). Descrito por Fox e Wingfield (1938) é baseado na oxidação de hidróxido de manganês (II) para hidróxido de manganês (III) pelo oxigênio presente na amostra. Primeiramente, adiciona-se solução de cloreto de manganês na amostra, seguido de solução de hidróxido de sódio contendo iodeto de potássio. Assim, se formará um precipitado de hidróxido de manganês (II), como mostra a reação abaixo:



Parte desse hidróxido de manganês (II) é convertido em hidróxido de manganês (III) por reações com a água da amostra e o oxigênio dissolvido:



Então a solução é acidificada terminando por oxidar o iodeto de potássio liberando iodo:



A reação mostra que para cada átomo de oxigênio dissolvido forma-se uma molécula de iodo.

Posteriormente essa solução é titulada com solução de tiosulfato de sódio utilizando amido como indicador. Cada mililitro de solução de tiosulfato utilizado na titulação corresponde a 1 mg de oxigênio por litro de amostra. O procedimento deve ser realizado com réplicas e o resultado apresentado em média.

Apesar de ser a técnica mais utilizada pelos pesquisadores para quantificação do oxigênio dissolvido na água, o método de Winkler é discutido em diversas etapas de seu procedimento. Fox & Wingfield (1938), alertam para as dificuldades em se utilizar tal técnica quando se trabalha com amostras de baixa concentração de oxigênio dissolvido comprometendo a acurácia das análises. Outro fator importante e questionado por Horibe *et al.* (1972), é que todo o procedimento do método de Winkler é realizado com as amostras em contato com o ar atmosférico afetando a concentração original da amostra. Também podem ser fontes de erro, o oxigênio dissolvido nos próprios reagentes (Jalukse *et al.*, 2008).

Como toda análise titulométrica, a neutralização de determinada solução é acompanhada pela virada de coloração da amostra. Essa é observada visualmente pelo responsável da análise e pode ser considerada uma avaliação subjetiva e também questionada por Furuya & Harada (1995) que desenvolveram um sistema que automatiza essa verificação do ponto de virada através de um potenciômetro, minimizando os erros apontados. Igualmente na tentativa de minimizar os erros durante essa etapa da análise, Bryan *et al.* (1975) propõem a leitura através de espectrofotometria que posteriormente foi aprimorada por Pai *et al.* (1993) quando utilizaram um sistema com fluxo da

amostra diretamente para a cubeta, sem o contato com o ar atmosférico, eliminando os erros pela volatilização do iodo. Contudo, Labasque *et al.* (2004) discutem a utilização da espectrofotometria pelos diferentes comprimentos de onda utilizados na literatura, já que o iodo pode também estar presente na forma de tri iodeto (I_3^-) cujos espectros são diferentes. Esses autores encontraram um ponto isobéptico para ambas as formas do iodo em 466 nm, sugerindo ser esse o comprimento de onda ideal para quantificação do oxigênio dissolvido.

Diversas modificações do método de Winkler têm sido propostas e utilizadas, como Carpenter (1965) e Golterman (1979), porém, sempre com diversos pontos críticos no procedimento da análise, principalmente com relação à padronização da solução de tiosulfato utilizada na titulação (Pai *et al.*, 1993). Segundo Ferreira (2008), as quatro principais modificações do método de Winkler são a utilização de azida sódica, permanganato, floculação com alumínio e floculação com ácido sulfâmico-sulfato de cobre, sendo a utilização de azida sódica, para remover a interferência de nitritos, a mais utilizada. Esse mesmo autor resume as principais técnicas para quantificação do oxigênio dissolvido na água. Além do método colorimétrico proposto por Winkler, existem outros métodos de leitura direta que reduzem essa cadeia de prováveis erros com resultados igualmente confiáveis. O método eletroquímico, que fundamenta os principais sensores de oxigênio dissolvido encontrados comercialmente, métodos ópticos como a espectrofotometria e mais recente o uso de fibras ópticas, que apresentam a vantagem de não necessitarem ficar em constante movimento como os sensores eletroquímicos. As membranas dos sensores eletroquímicos, são permeáveis ao oxigênio que em contato com o eletrodo, é reduzido produzindo uma corrente elétrica que será proporcional à quantidade de oxigênio dissolvido, ilustrado na figura 02.

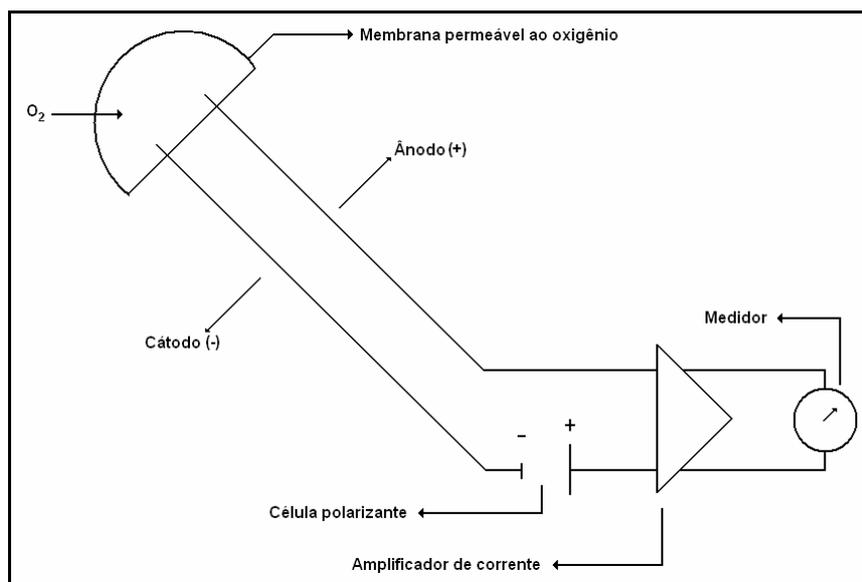


Figura 02: Princípio de funcionamento de sensores de oxigênio dissolvido. (Adaptado de Giese, 1975).

A taxa de consumo de oxigênio dissolvido pelos organismos, é melhor expressa em função do tempo, e em um grande número de observações com maior exatidão possível das leituras, sendo ideal a utilização de sensores, em detrimento do método colorimétrico. A utilização de sensores necessita recipientes hermeticamente fechados e ausência de bolhas de ar. Comercialmente, são encontrados respirômetros com essas características e até mesmo trabalhando com sistema de recirculação. No entanto, são unidades individuais de alto valor no mercado, inviabilizando delineamentos experimentais com repetições simultâneas e seqüenciais.

Tanto o clássico método de Winkler quanto suas modificações, operam com amostras e reagentes em contato com o ar atmosférico. Sistemas fechados atuando com recirculação e utilização de sensores de oxigênio mais precisos, podem ser uma alternativa viável, pois independem de reagentes, padronizações de soluções e da análise subjetiva do julgador. Além disso, evitam trocas gasosas com o ar atmosférico, perdas por volatilização, e permitem um controle mais preciso quando se trabalha com outras variáveis como, por exemplo, a temperatura. O sensor opera em tempo real, e com o número superior de dados obtidos, permite a construção de uma curva com maior exatidão.

Levando em consideração, tanto a precisão dos dados do consumo do oxigênio, quanto à necessidade de repetições simultâneas, foi desenvolvido um sistema para medição da taxa de consumo de oxigênio de organismos aquáticos em tempo real, em sistema de recirculação com a utilização de um único sensor eletroquímico.

A água é, sem dúvida, o solvente mais importante do planeta, responsável pela vida, tal como a conhecemos. É também uma das substâncias mais estudadas. No entanto, ainda pouco se conhece de sua organização. Este tem sido um assunto intensamente investigado por simulações em dinâmica molecular, mas a confiabilidade dos resultados ainda é severamente limitada pelo tamanho dos sistemas disponíveis. Da mesma forma, pouco se compreende dos efeitos de campos magnéticos estáticos sobre a água, de forma que os incontáveis relatos de efeitos mensuráveis em sistemas não-magnéticos ainda são recebidos com certo ceticismo pela comunidade científica, porque, até o momento não existe um modelo teórico estabelecido que explique as origens dos fenômenos observados (Simões, 2008).

Por outro lado existe um volume considerável de trabalhos científicos experimentais que demonstram que a aplicação de campos magnéticos entre outros efeitos: aumenta e redistribui a concentração de oxigênio dissolvido em água (Ueno *et al.*, 1994; Krzemieniewski *et al.*, 2004); altera a cinética de cristalização de sais dissolvidos ou em suspensão na água (Higashitani *et al.*, 1993; Chibowski *et al.*, 2003); aumenta a temperatura de saturação de sais inorgânicos (Freitas *et al.*, 1999); diminui a taxa de coagulação e o potencial zeta de colóides não magnéticos em solução aquosa (Higashitani *et al.*, 1995); aumenta a espessura de camadas adsorvidas em superfícies sólidas (Higashitani & Oshitani, 1998). Existem também relatos na literatura (Lin & Yotvat, 1990) de aumento da produtividade de vegetais irrigados com água condicionada magneticamente (CM).

Recentemente, Otsuka e Ozeki (2006) demonstraram, em uma série de experimentos realizados em água ultra-pura, que a mesma sofre condicionamento magnético, tendo algumas de suas propriedades modificadas,

tais como grau de hidrofiliçidade e espectro Raman. As modificações dessas propriedades só são observáveis, no entanto, na presença de oxigênio dissolvido; após degaseificação da água ultra-pura, as propriedades supracitadas retornam aos valores iniciais, mesmo na presença de campo magnético. Embora o mecanismo do efeito ainda seja desconhecido, esses autores sugerem que água condicionada magneticamente (ACM) deva ser considerada um novo tipo de solvente e suas propriedades investigadas a fundo.

Os trabalhos de Otsuka e Ozeki podem ser considerados um divisor de águas, por vários motivos. Em primeiro lugar, demonstra que os efeitos magnéticos anteriormente observados, predominantemente em soluções iônicas e coloidais, eram conseqüência de um fenômeno mais fundamental, relacionado à natureza do solvente, sem relação direta com o soluto envolvido. Em segundo lugar, corrobora os resultados obtidos anteriormente em diversos sistemas aquosos, por comprovar a existência do efeito magnético sobre a água.

É de se esperar que os efeitos magnéticos observados em sistemas aquosos inorgânicos possam estar diretamente relacionados às propriedades diferenciadas do solvente ACM. No caso de sistemas biológicos, no entanto, os mecanismos envolvidos podem ser muito mais complexos, uma vez que os elementos envolvidos: água, oxigênio e sais minerais são igualmente essenciais e se interrelacionam de maneira intrincada em diversos mecanismos bioquímicos celulares. Sendo assim, foi feita a opção pela investigação dos efeitos de ACM pela perspectiva da aplicação prática, avaliando os efeitos indiretos, ou seja, os animais não serão expostos ao campo magnético. A água onde se desenvolverá o experimento será previamente exposta às linhas de campo magnético.

Motivados pelos resultados intrigantes da literatura um experimento, inédito, em larvicultura de camarão *L. vannamei* foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da UFSC, que resultou em um trabalho de dissertação de mestrado (Manso, 2006). De acordo com este estudo a sobrevivência larval de tanques alimentados com água magneticamente tratada

foi de ordem de 30% superior à do tratamento controle assim como anteciparam a metamorfose das larvas em cerca de 12 horas em relação às larvas cultivadas em água não tratada. Esse trabalho é de extrema relevância visto a importância econômica do aumento de produtividade, por esta nova metodologia, representada pela economia de horas e aumento de sobrevivência em um sistema de produção contínua.

Uma vez que, segundo Goldsworthy *et al.* (1999), a exposição à campos magnéticos alteram a permeabilidade da membrana celular, os efeitos do condicionamento magnético da água podem interferir na difusão do oxigênio nas brânquias alterando a taxa de respiração de animais aquáticos, e por consequência, a alteração em suas taxas metabólicas.

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais

Avaliar a influência da água exposta ao campo magnético sobre a taxa de consumo de oxigênio nos peixes *Carassius* sp.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Desenvolver um sistema semi-automatizado para determinar o consumo de oxigênio de animais, em tempo real.

2.2.2. Quantificar o consumo de oxigênio de peixes *Carassius* sp. (Kinguio).

2.2.3. Quantificar o consumo de oxigênio de peixes *Carassius* sp., em água exposta às linhas de campo magnético em um novo sistema de respirometria desenvolvido.

3. Materiais e métodos

3.1. Local de estudo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tratamento de Água do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR) na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (27°36'02"S e 48°31'24").

3.2. Materiais

3.2.1. Material biológico

Os peixes utilizados são do gênero *Carassius* sp., popularmente conhecidos como Kingiuo ou Goldfish (figura 03), adquiridos em uma loja especializada em produtos de aquarofilia, sem histórico de suas condições de criação, grau de parentesco e identificação de espécie.



Figura 03: Exemplar de Kingiuo. (Fonte: www.fishbase.org)

3.2.2. Materiais do sistema de respirometria desenvolvido

Para a avaliação da taxa de respiração dos animais, foi utilizado um sistema semi-automatizado de respirometria (figura 04), desenvolvido com válvulas elétricas (figura 05) e eletro-bombas (figura 06), possibilitando trabalhar com repetições simultâneas. A leitura da saturação do oxigênio foi realizada com oxímetro AT-150 (figura 07) cujas especificações são descritas no anexo 01.



Figura 04: Sistema de respirometria.



Figura 05: Válvulas solenóides utilizadas no sistema.



Figura 06: Eletrobomba (30 W) utilizadas no sistema.



Figura 07: Oxímetro utilizado para as leituras do consumo de oxigênio.

O sistema é ilustrado esquematicamente na figura 08, indicando os principais componentes e conexões.

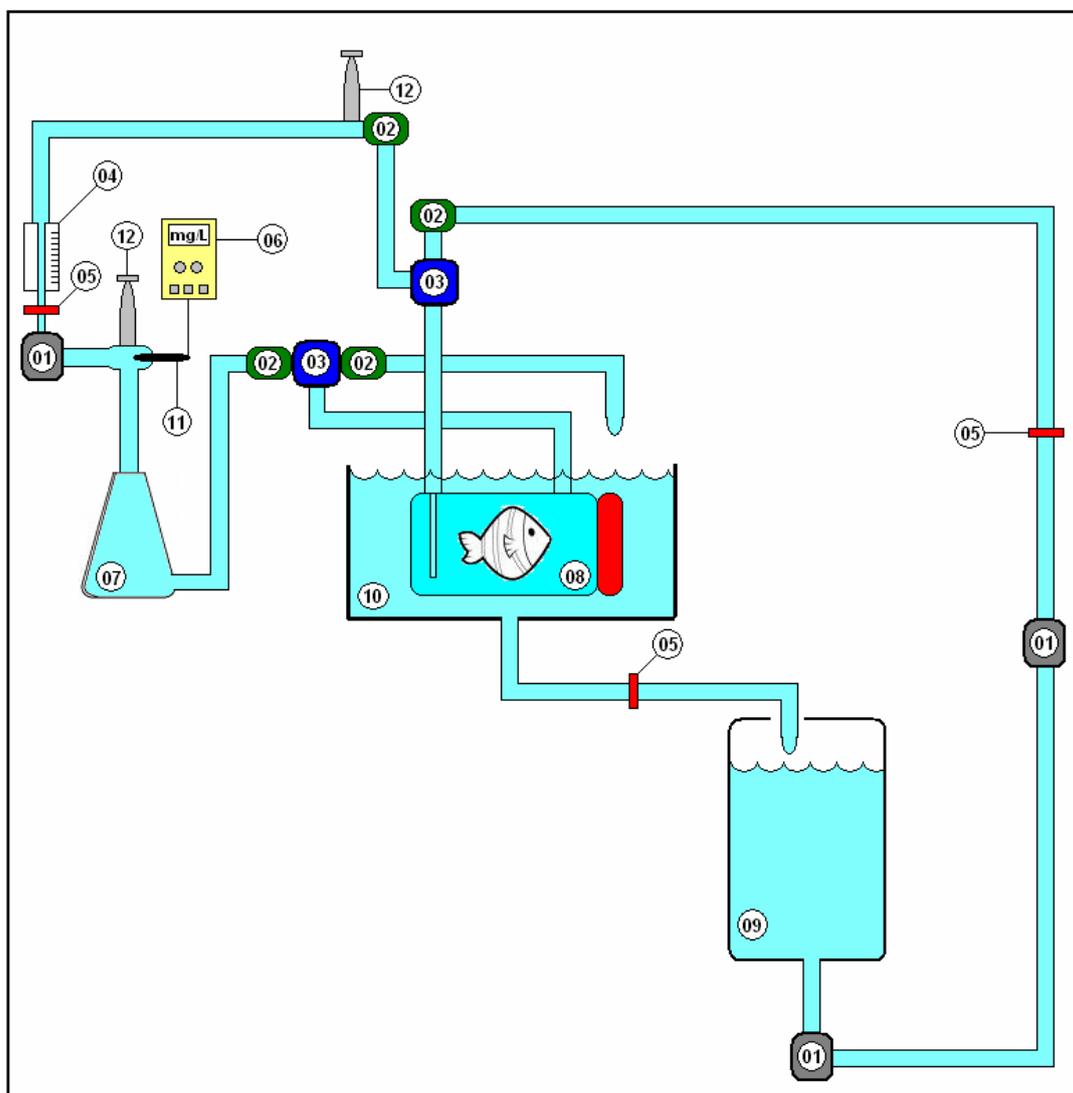


Figura 08: Ilustração esquemática do sistema de respirometria. 1) Bombas. 2) Válvulas elétricas. 3) Conexões "T". 4) Rotâmetro. 5) Registro. 6) Oxímetro (Modelo AT-150). 7) Frasco de distribuição. 8) Câmara de respirometria. 9) Reservatório principal. 10) Bandeja de imersão das unidades experimentais. 11) Sensor do oxímetro. 12) Câmaras de esgotamento de ar.

Foram instaladas duas câmaras de escape de ar reguladas por um registro nos dois principais pontos críticos. O primeiro se encontra no nível mais alto do sistema onde o ar é empurrado. Quando todo o volume de ar é expulso sendo preenchido o volume da câmara com água, o registro é fechado. O mesmo princípio é seguido para a segunda câmara de escape localizada acima do sensor do oxímetro.

As câmaras do respirômetro, num total de 12 unidades, são frascos plásticos, com 520 ml de capacidade, fechados hermeticamente com tampa plástica de rosca dotada de um anel de borracha vedante em sua face interior. A entrada de água se dá através de uma mangueira de látex, conectada à câmara, e a saída de água através de uma mangueira siliconada, também conectada à câmara.

O acionamento e direcionamento do fluxo de água pelo sistema são realizados por válvulas elétricas ligadas em um painel (figura 09) e comandadas por chaves liga-desliga. O fluxo de água é promovido por 3 bombas (30 W). A primeira, localizada abaixo do reservatório, é a responsável por injetar a água no sistema enquanto ele estiver aberto. A segunda bomba, em série com a primeira, ajuda a vencer a altura manométrica e a elevada perda de carga nas tubulações e conexões, também quando o sistema estiver aberto. A terceira bomba, única utilizada com o sistema fechado, está localizada entre o rotâmetro e o frasco de distribuição, e também promove o abatimento da perda de carga. Sua vazão é controlada por um registro localizado entre a bomba e o rotâmetro, objetivando a equidade das vazões para cada repetição, além de promover uma movimentação da água na membrana do sensor de oxigênio. À frente do sensor, foi instalado um visor objetivando a verificação visual da presença de bolhas de ar. A temperatura é indicada e controlada por combistatos (Carel IR 32).

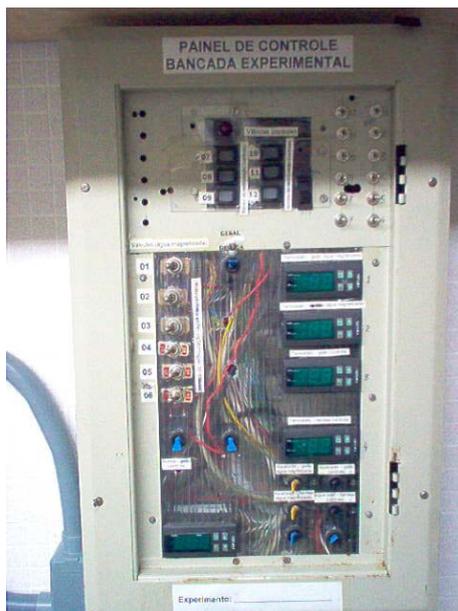


Figura 09: Painel de controle.

3.2.3. Materiais para o sistema de condicionamento magnético da água

O sistema de magnetização da água consiste de um reservatório em polipropileno de alta densidade, com capacidade para 20 litros, um par de condicionadores hidromagnéticos instalados externamente na tubulação de recirculação e uma eletrobomba (figura 10).



Figura 10: Sistema de magnetização da água. 1) Par de condicionador hidromagnético. 2) Eletro-bomba de 34w – 1200l/h – 1MCA. 3) Registro para coleta da água. 4) Reservatório com capacidade de 20 litros.

Conhecido o volume e a velocidade da água na seção sob as linhas de campo magnético, faz-se o cálculo do tempo de recirculação necessário para expor todo o volume do reservatório ao campo magnético no tempo desejado. O funcionamento desse sistema é ilustrado na figura 11.

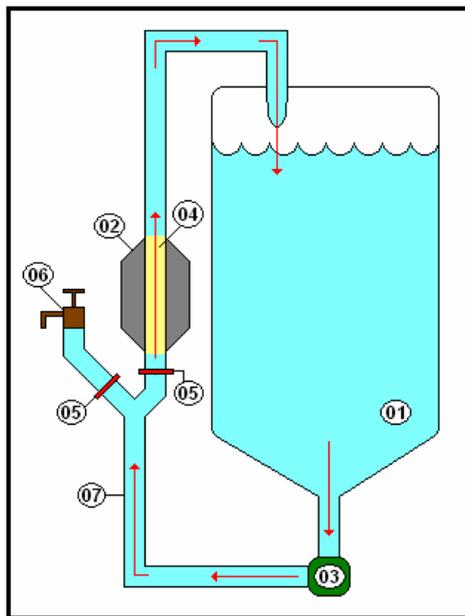


Figura 11: Esquema de condicionamento magnético da água. 1) Reservatório de água. 2) Par de condicionadores hidromagnéticos. 3) Eletro-bomba. 4) Região sob exposição às linhas de campo magnético. 5) Registros. 6) Registro para coleta de água. 7) Tubulações e conexões em PVC.

3.3. Descrição do funcionamento do sistema de respirometria

O sistema de respirometria desenvolvido consiste em manter os animais separados em 12 unidades experimentais sob aeração exclusiva das trocas gasosas atmosféricas, imersas 6 a 6 em duas bandejas plásticas de 11 L com uma saída central por gravidade. Quando o sistema estiver aberto, sob acionamento das válvulas (I e II abertas e III e IV fechadas), a água é escoada para um reservatório plástico de 20 litros de capacidade e bombeada ao sistema através das duas bombas em série. Assim, é direcionada à válvula (I), passa pela conexão “T” e segue à câmara do respirômetro, cuja saída é direcionada a outra conexão “T”, passa pela válvula (II) e retorna novamente à bandeja, como mostra a figura 12.

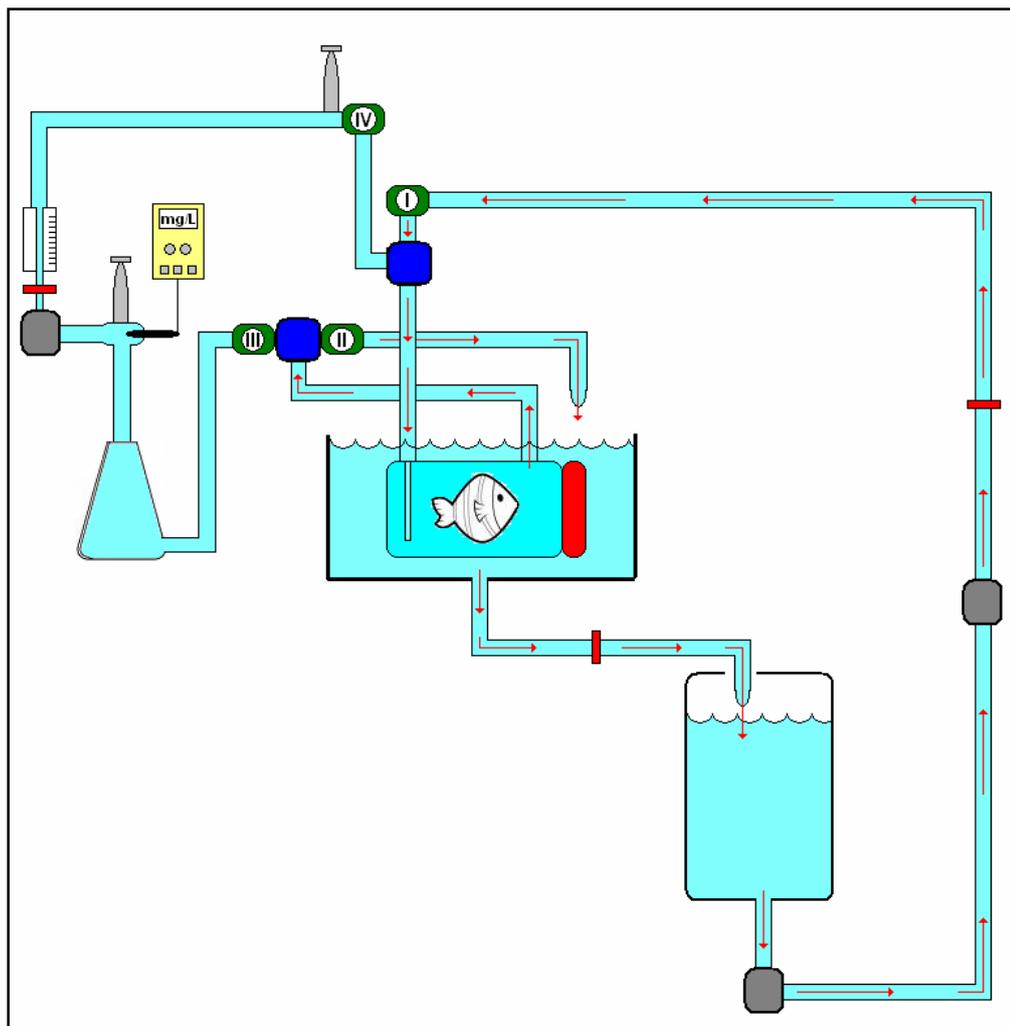


Figura 12: Situação esquemática do sistema aberto.

Com o sistema fechado, também sob acionamento das válvulas (I e II fechadas e III e IV abertas), a água da saída da câmara do respirômetro, é direcionada à conexão “T”, passa pela válvula (III) e segue ao frasco de distribuição. Por sucção pela bomba, a água passa pelo sensor de oxigênio, promovendo a movimentação necessária para a alteração e indicação dos dados pelo sensor, posteriormente pelo rotômetro e segue para a válvula (IV) cuja saída está unida por outra conexão “T” com destino novamente à câmara do respirômetro, como mostra a figura 13.

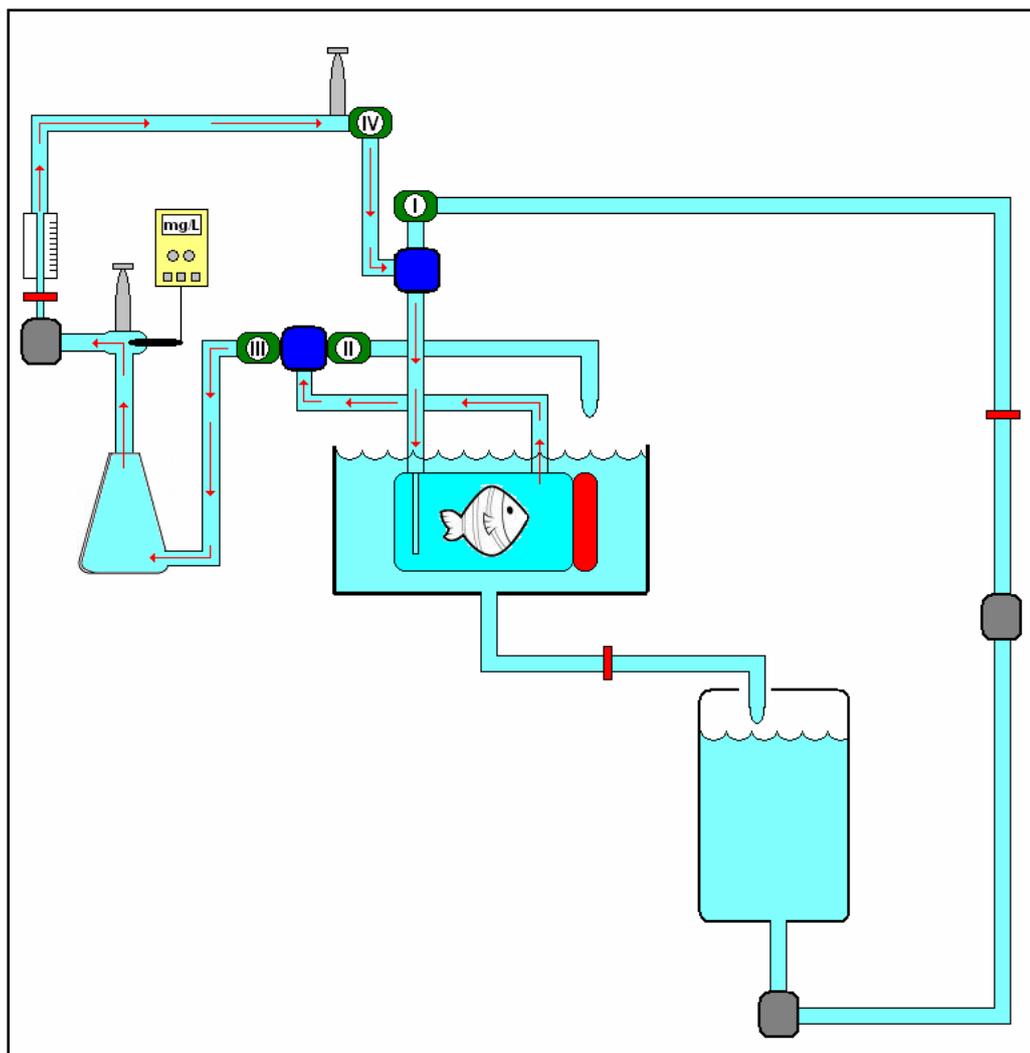


Figura 13: Situação esquemática do sistema fechado.

Dessa forma, a concentração do oxigênio dissolvido cairá em função do tempo, e os valores serão anotados em períodos pré-estabelecidos para construção da curva de consumo.

Todas as unidades experimentais estão conectadas com o frasco de distribuição por mangueiras siliconadas. O fluxo de água direcionada a esse frasco será individual para cada repetição. A vazão que passa pelo sensor do oxímetro é de 90 L/h e dentro das câmaras do respirômetro de 39 L/h.

Para renovar a água à baixas concentrações de oxigênio dissolvido resultantes no frasco de distribuição, entre as leituras, as válvulas serão acionadas de forma a todas unidades experimentais direcionarem seu fluxos ao frasco e também para substituir a água que ficou confinada na unidade experimental. De acordo com a vazão obtida, matematicamente seriam

necessários 1,5 minutos para a total renovação da água no frasco de distribuição, porém foi adotado um tempo de 3 minutos como garantia, sendo assim, a próxima leitura ficando apta a ser realizada.

3.4. Métodos

3.4.1. Ambientalização dos animais

Os animais foram aclimatados individualmente em aquários contendo 2,0 litros de água destilada e deionizada (figura 14), por um período de 11 dias, sob as mesmas condições de aeração e alimentação e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, sendo a água 100% renovada a cada 24 horas. Durante o período de aclimação, os valores de pH foram monitorados com três leituras por dia.



Figura 14: Aclimação dos animais.

3.4.2 Higienização do sistema

Para a limpeza interna do sistema, antes do início das leituras, foi utilizado detergente neutro diluído a 3,0% em água destilada e deionizada. O sistema foi acionado de forma a circular por todas as conexões. Posteriormente foi enxaguado com água destilada e deionizada.

3.4.3. Metodologia da avaliação da taxa de consumo de oxigênio

Para observar qual um tempo aproximado que este animal levaria para baixar a concentração de oxigênio dissolvido, foi realizado um pré-ensaio o qual mostrou o período de 1 hora para atingir cerca de 71,0 % da saturação, que levou a estabelecer as leituras a cada 5 minutos pelo período de 60 minutos independente da saturação alcançada.

O consumo de oxigênio será calculado segundo Lefrançois & Claireaux (2003) de acordo com a equação:

$$MO_2 = \frac{\Delta O_2}{\Delta t} \times \frac{V}{m}$$

Onde,

MO_2 = consumo de oxigênio ($mgO_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$),

ΔO_2 = variação da concentração do oxigênio ($mg \text{ L}^{-1}$),

Δt = tempo decorrido (h),

V = volume do respirômetro menos o volume do peixe (L) e

m = massa do peixe (Kg).

Serão utilizadas 4 unidades experimentais como controle, sem a presença de animais, que podem detectar uma possível variação devido a demanda biológica de oxigênio, e 8 unidades experimentais como repetições. Os animais serão pesados e medidos seus volumes antes da transferência para as câmaras de respirometria. O MO_2 calculado para cada animal terá seu valor subtraído da média das MO_2 das unidades controle.

Nas 24 horas que antecedem a transferência dos animais para as unidades experimentais, será cessada a alimentação.

Antes do início das leituras, os animais serão mantidos com o sistema aberto por cerca de 30 minutos até adaptarem-se às condições das câmaras do respirômetro evitando alterações das taxas de respiração devido ao stress.

3.4.4. Metodologia para o condicionamento magnético da água

Tendo o preceito de que os efeitos do condicionamento magnético são dependentes do tempo de exposição, foram realizados os cálculos para que se obtenha água sob diferentes tempos de exposição aos campos magnéticos através da seguinte fórmula:

$$T_r = \frac{(T_e) \times (V_r)}{(V_t)}$$

Onde,

T_r = Tempo de recirculação necessário (s)

T_e = Tempo de exposição ao campo magnético necessário (s)

V_r = Volume de água no reservatório do sistema de magnetização (L)

V_t = Volume da tubulação sob influência do campo magnético (L)

3.4.5. Análises estatísticas

Os resultados serão submetidos à ANOVA para verificar diferenças entre os tratamentos e posteriormente ao teste de Duncan para quantificar tais diferenças. O nível de significância utilizado será de 5,0%.

4. Resultados

O sistema, previamente testado, sem a utilização de animais, mostrou-se bem projetado, tanto na instalação hidráulica quanto elétrica, sendo facilmente monitorado e manipulado através das chaves no painel.

As leituras da primeira unidade experimental controle, mantiveram os valores iniciais em torno de 88,0% pelo período de 20 minutos sem variações das taxas de consumo de oxigênio (figura 15).

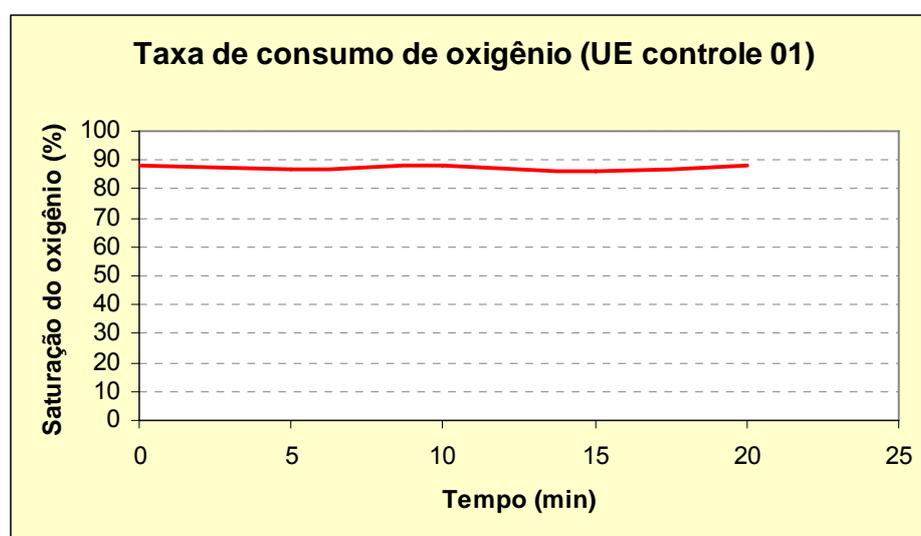


Figura 15: Taxa de consumo de oxigênio da primeira unidade experimental controle.

A leitura da primeira unidade experimental contendo um animal atingiu o valor de 71,0 % da saturação no período de 1 hora como mostra a figura 16.

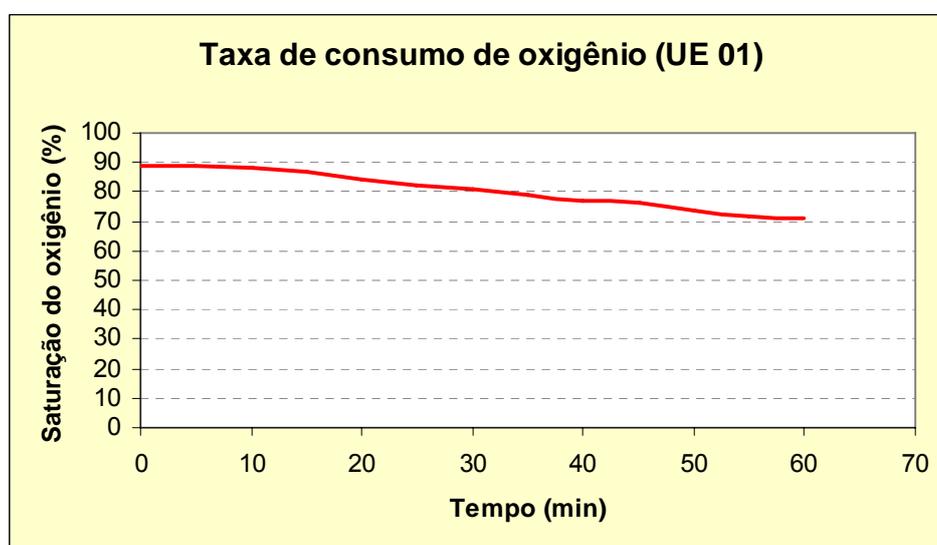


Figura 16: Taxa de consumo do oxigênio da primeira unidade experimental contendo animal.

As leituras da segunda unidade experimental contendo animal não indicaram alterações nos valores da saturação do oxigênio dissolvido como mostra a figura 17.

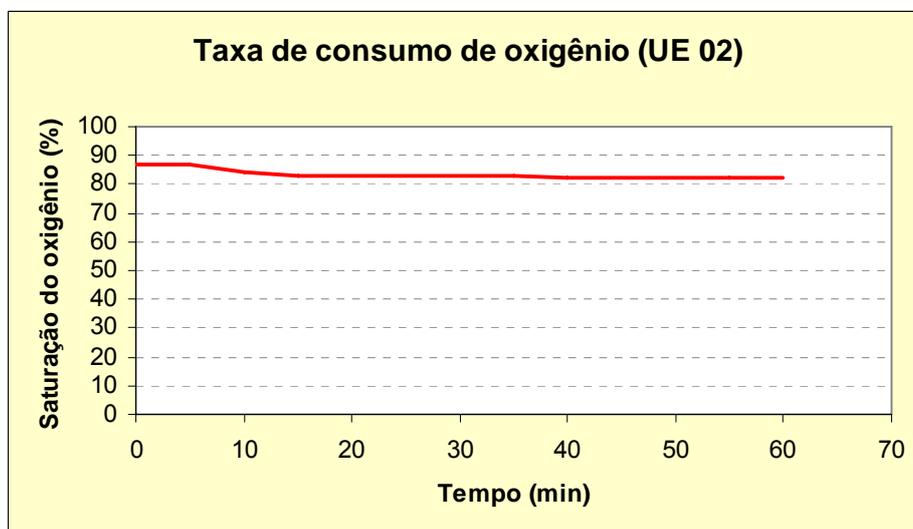


Figura 17: Taxa de consumo do oxigênio da segunda unidade experimental contendo animal.

Com as sucessivas mortes ocorridas, o procedimento teve que ser interrompido e os resultados foram prejudicados. Também não foi possível a realização das leituras utilizando águas previamente expostas às linhas de campo magnético.

A configuração do sistema implantado para a passagem da água pela membrana do sensor do oxímetro mostrou-se eficiente, uma vez que, conforme a figura 15 mostrada anteriormente, os valores obtidos na leitura permaneceram estáveis pelo período de 20 minutos.

5. Discussões e conclusões

Durante a realização das primeiras leituras, foi verificado um aumento constante da temperatura da água, inicialmente em 24°C chegando a 28,3°C. Os animais passaram a apresentar sinais de letargia e começaram a perecer, impossibilitando as demais leituras. As leituras da segunda unidade experimental contendo animal comprovam o estado letárgico do mesmo, não sendo indicada alterações nos valores do consumo de oxigênio.

As carpas do gênero *Carassius* são originárias da Ásia, notadamente de águas frias e algumas espécies podem suportar dias em situações de anoxia em lagos congelados dessa região (Jeng *et al.*, 2008), porém Beitinger & Bennet (2000) comprovam que a espécie *Carassius auratus*, possivelmente a espécie utilizada nesse presente trabalho, pode suportar temperaturas na faixa de 0 a 41°C, sob aclimação.

As possíveis fontes de aquecimento da água do sistema são as bombas e válvulas elétricas utilizadas. Essas são movidas através da indução de campos magnéticos, promovidas pela corrente elétrica em válvulas solenóides, que com o contínuo uso, passam a aquecer. Apesar das conclusões de Beitinger & Bennet sobre as altas temperaturas em que a espécie *C. auratus* pode suportar, os animais utilizados nesse estudo não foram aclimatados para maiores temperaturas, ficando nesse período sob temperatura ambiente (22 a 24°C).

Segundo Gomes (2008), à partir de 30°C, a água em aquários se torna comprometida quanto ao oxigênio dissolvido, sendo 28°C, perfeitamente tolerável pelos peixes do gênero *Carassius*. Outra possível causa da morte repentina dos peixes, deve-se à contaminação proveniente das colas utilizadas nas diversas conexões do sistema, apesar de estarem bem secas.

Apesar da impossibilidade da continuação das avaliações das taxas de consumo de oxigênio em função do tempo para peixes Kinguio (*Carassius* sp.), o sistema desenvolvido mostrou-se eficiente para tal determinação, necessitando apenas de um sistema de refrigeração que permita trabalhar

tanto com temperaturas baixas quanto manter determinada temperatura estipulada. A configuração adotada para a passagem de água sob movimentação pela membrana do oxímetro, também mostrou-se adequada indicando que esse sistema desenvolvido pode seguramente ser utilizado para a determinação das taxas de consumo de oxigênio para organismos aquáticos.

6. Referências bibliográficas

Bryan, J.R.; Riley, J.P.; Le, B.; Williams, P.J. 1976. A Winkler procedure for making precise measurement of oxygen concentration for productivity and related studies. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 21: 191-197.

Chapman, F.A.; Fitz-Coy, S.A.; Thumberg, E.M. United States of America trade in ornamental fish. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.28, n.1, p.1-10, 1997.

Carpenter, J.H. 1965. The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis. **Limnology and Oceanography**. Vol. 10, p. 135-140.

Chibowski, E.; Hotysz, L.; Szczes. A.; Chibowski, E.; 2003. Precipitation of Calcium Carbonate from Magnetically Treated Sodium Carbonate Solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**. (225) 63-73.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2006**. FAO Information Division. Rome, Italy, 2007. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em 15/11/2008.

Ferreira, M.A.C. 2008. **Desenvolvimento de sensores de oxigênio dissolvido utilizando métodos eletroquímicos e ópticos para monitoramento em tempo real da qualidade da água**. Tese de Doutorado, USP, 154 p.

Fox, H.M., Wingfield, C.A., 1938. A portable apparatus for the determination of oxygen dissolved in small volume of water. **J. Exp. Biol.** 15, 437-445.

Freitas, A. M. B.; Landgraf, F. J. G.; Nyvlt, J.; Giuliatti, M.; 1999. Influence of magnetic field in the kinetics of crystallization of diamagnetic and paramagnetic inorganic salts. **Cryst. Res. Technol**, 34 (10), 1239-1244.

Furuya, K.; Harada, K. 1995. An automated precise Winkler titration for determining dissolved oxygen on board ship. **Journal of Oceanography**. Vol. 51, p. 375-383.

Gatti, S.; Brey, T.; Muller, W.E.G; Heilmayer, O.; Holst, G. 2002. Oxygen microoptodes: a new tool for oxygen measurements in aquatic animal ecology. **Marine Biology**, 140: 1075-1085.

Giese, A.C. 1975. **Fisiologia celular y general**. México. Ed. Interamericana. 730 p.

Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C. 2008. Bioaugmentation in the growth and water quality of livebearing ornamental fishes. **Aquacult. Int.** 16:393-403.

Goldsworthy, A.; Whitney, H.; Morris, E. 1999. Biological effects of physically conditioned water. **Water Research**. Vol. 33, n. 7, p. 1618-1626.

Golterman, H.J.; Wisselo, A.G. 1979. Ceriometry, a combined method for chemical oxygen demand and dissolved oxygen (with a discussion on the precision of the Winkler technique). **Hydrobiologia**. Vol. 77, p. 37-42.

Higashitani K.; Kage, A.; Katamura, S.; Imai, K.; Hatade, S.; 1993. Effects of a Magnetic Field on the Formation of CaCO₃ Particles; **Journal of Colloid and Interface Science** 156, 90-95.

Higashitani, K.; Iseri, H.; Okuhara, K.; Kage, A.; Hatade, S.; 1995. Magnetic Effects on Zeta Potential and Diffusivity of Nonmagnetic Colloidal Particles. **J. Colloid Interface Sci.** 172, 383-388.

Higashitani K.; Oshitani, J.;1998. Magnetic Effects on Thickness of Adsorbed Layer in Aqueous Solutions Evaluated Directly by Atomic Force Microscope. **J. Colloid Interface Sci.** 204, 363-368.

Holopainen, I.J.; Hyvarinen, H.; Piironen, J. 1986. Anaerobic Wintering of Crucian Carp (*Carassius carassius*). 2. metabolic products. **Comp. Biochem. Physiol.** 83A(2):239-242.

Horibe, Y.; Kodama, Y.; Shigehara, K. 1972. Errors in sampling procedure for the determination of dissolved oxygen by Winkler method. **Journal of the Oceanographical Society of Japan**. Vol. 28, p. 203-206.

IBAMA. 2007. **Controle de Registros de Exportação de Peixes Ornamentais de Águas Continentais**. Disponível em < http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/valores_exportxestados_2007_doce.pdf>. Acesso em 12/11/2008.

Jalukse, L.; Helm, I.; Saks, O.; Leito, I. On the accuracy of micro Winkler titration procedures: a case study. **Accred. Qual. Assur.** 13: 575-579.

Jeng, S.S.; Lin, T.Y.; Wang, M.S.; Chang, Y.Y.; Chen, C.Y.; Chang, C.C. 2008. Anoxia survival in common carp and crucian carp is related to high zinc concentration in tissue. **Fisheries science** (74):627-634.

Johnston, I.A.; L.M. Bernard. 1983. Utilization of the Ethanol Pathway in Carp Following Exposure to Anoxia. **J. Exp. Biol.** 104:73-78.

Kramer, D.L. 1987. Dissolved oxygen and fish behaviour. **Environ. Biol. Fishes** 18:81-92.

Kramer, D.L. 1983. The Evolutionary Ecology of Respiratory Mode in Fishes: an analysis based on the costs of breathing. **Environ. Biol. Fishes** 9:145-158.

Krzemieniewski, M., Debowski, M., Dobrzynska, A., Zielinski, M., 2004. **Chemical Oxygen Demand Reduction of Various Wastewater Types Using Magnetic Field-Assisted Fenton Reaction**. Water Environment Research. 76(4) 301-309.

Lefrançois, C.; Claireaux, G. 2003. Influence of ambient oxygenation and temperature on metabolic scope and scope for heart rate in the common sole *Solea solea*. **Marine Ecology Progress Series**. Vol. 259, p. 273-284.

Lin, I. J.; Yotvat, J.; 1990. Exposure of irrigation and drinking water to a magnetic field with controlled power and direction. **J.Magn. Magn. Mater.** 83, 525-526.

Manso, P. R. J. 2006. **Influência do Campo Magnético sobre a Metamorfose e Sobrevivência Larval: Produção em Cativeiro de Larvas de Camarão Marinho *Litopenaeus vannamei***. Dissertação de Mestrado, PPGEF, UFSC.

- Muusze, B.; Marcon, J.; van den Thillart, G.; Almeida-Val, V. 1998. Hypoxia tolerance of Amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. **Comp. Biochem. Physiol.** 120A(1): 151-156.
- Nilsson, G.E. 1990. Long-Term Anoxia in Crucian Carp – Changes in the Levels of Amino-Acid and Monoamine Neurotransmitters in the Brain, Catecholamines in Chromaffin Tissue, and Liver-Glycogen. **J. Exp. Biol.** 150: 295-320.
- Otsuka, I.; Ozeki, S. 2006. Does magnetic treatment of water change its properties?, **J. Phys. Chem. B** 110, 1509.
- Ozeki, S.; Otsuka, I. 2006. Transient oxygen-clathrate-like hydrate and water networks induced by magnetic fields. **J. Phys. Chem B** 110, 20067.
- Pai, S.C.; Gong, G.C.; Liu, K.K. 1993. Determination of dissolved oxygen in seawater by direct espectrophotometry of total iodine. **Mar. Chem.** 41: 343-351.
- Pan, L.; Zhu, X.; Xie, S.; Lei, W.; Han, D.; Yang, Y. 2008. Effects of dietary manganese on growth and tissue manganese concentrations of juvenile gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture Nutrition**, Vol. 14, p. 459-463.
- Pichavant, K.; Jerson-Le-Ruyet, J.; Le Bayon, N.; Severe, A.; Le Roux, A.; Quemener, L.; Maxime, V.; Nonnotte, G.; Boeuf, G. 2000. Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot. **Aquaculture** 188 (1-2): 103-114.
- Schmidt-Nielsen, K.; 1999. **Fisiologia Animal - Adaptação e Meio Ambiente**. São Paulo. Ed. Livraria Santos. 600p.
- Simões, E.; Sartorelli, M.L.; Manso, P.R.J. 2008. **Tratamento magnético da água e sua influência na fertilização de *Crassostrea gigas***. 18° Seminário de Iniciação Científica da UFSC. Disponível em: <http://www.dep.ufsc.br/sic08/listar_resumo.php?matricula=5189101>, acesso em 15/11/2008.
- Storey, K.B. 1987. Tissue-Specific Controls on Carbohydrate Catabolism During Anoxia in Goldfish. **Physiol. Zool.** 60:601-607.

Toescu, E.C. 2004. Hypoxia sensing and pathways of cytosolic Ca^{2+} increases. **Cell Calcium**, 36:187-199.

Ueno, S.; Iwasaka, M.; Kitajima, T.; 1994. Redistribution of dissolved oxygen concentration under magnetic fields up to 8 T. **J. Appl. Phys.** 75(10) 7174-7176.

Vannuccini, S. 2004. Overview of fish production, utilization, consumption and trade. FAO, Fishery Information, Data and Statistics Unit. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Disponível em < <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/overview/overview.pdf>>. Acesso em 13/11/2008.

Vinatea, L. A. **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura**. . Florianópolis. Ed. UFSC, 2004. 166 p.

Wanklyn, J. A. 1907. **Water analysis**. 11 ed. London. 239 p.

Watson, C.A., Shireman, J.V. 1996. **Production of Ornamental Aquarium Fish**. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. FA-35.