

# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS EM ORGANISMOS TERRESTRES EXPOSTOS A SOLUÇÕES DE DOIS ELEMENTOS DO GRUPO DOS LANTANÍDEOS

## ASSESSMENT OF TOXIC EFFECTS ON TERRESTRIAL ORGANISMS EXPOSED TO SOLUTIONS OF TWO ELEMENTS OF THE LANTHANIDE GROUP.

**Amanda de Fátima Gomes de Oliveira Clementino**

Aluna de Graduação de Ciências Biológicas, 5º período, Universidade UNIGRANRIO

Período PIBIC ou PIBITI/CETEM: setembro de 2017 a julho de 2018, amandafgoc@gmail.com

**Silvia Gonçalves Egler**

Orientadora, Bióloga, M.Sc.  
segler@cetem.gov.br

**Tamine Martins Roldão**

Co-orientadora, Bióloga, M.Sc.  
troldao@cetem.gov.br

### Resumo

O presente estudo avaliou os efeitos tóxicos, letais e sub-letais sobre os organismos terrestres *Eisenia andrei* (minhoca vermelha da Califórnia) e sementes de *Lactuca sativa* (alface), expostos a soluções sintéticas de lantânio ( $\text{La}^{3+}$ ) e samário ( $\text{Sm}^{3+}$ ), dois elementos de terras raras (ETR). Foram realizados bioensaios ecotoxicológicos agudo e de fuga com *E. andrei* e brotamento com sementes de *L. sativa*. A  $\text{CE}_{50} = 1328,29$  ( $\text{IC}_{95\%} 1285,98 - 1372,00$ ) foi obtida no ensaio agudo de *E. andrei* com lantânio. No ensaio de fuga com lantânio, mais de 77% dos indivíduos fugiram para o solo controle. O pH no final do ensaio ficou abaixo de 4,84, o que pode ter provocado uma maior fuga dos indivíduos testados. Nos ensaios de brotamento com *L. sativa* com samário a  $\text{CE}_{50} = 256,12$  mg/kg ( $\text{IC}_{95\%} 217,09 - 302,17$ ) e a com lantânio  $\text{CE}_{50} 145,59$ mg/kg ( $\text{IC}_{95\%} 138,38 - 153,17$ ), indicando que lantânio é mais tóxico que samário. Novos ensaios serão realizados para avaliação dos ETRs individualmente e em misturas.

**Palavras chave:** lantânio; samário; ecotoxicidade

### Abstract

The present study evaluated the ecotoxicity, lethal and sublethal effects on the terrestrial organisms *Eisenia andrei* (red earthworm) and seeds' emergence of *Lactuca sativa* (lettuce), exposed to synthetic solutions of lanthanum ( $\text{La}^{3+}$ ) and samarium ( $\text{Sm}^{3+}$ ), two rare earth elements (REE). Acute and avoidance ecotoxicological tests were performed with *E. andrei* and emergence of *L. sativa* seeds.  $\text{EC}_{50} = 1328.29$  ( $\text{CI}_{95\%} 1285.98 - 1372.00$ ) was obtained in the acute test of *E. andrei* with lanthanum. In the lanthanum avoidance test, more than 77% of the individuals chose the control soil instead of test soils. The pH at the end of the test was below 4.84, which may have caused a greater avoidance behavior of the test organisms. In the emergence seedlings test with samarium *L. sativa*  $\text{EC}_{50} = 256.12$ mg/kg ( $\text{CI}_{95\%} 217,09 - 302,17$ ) was less toxic than lanthanum  $\text{EC}_{50} = 145.59$  mg/kg ( $\text{CI}_{95\%} 138, 38 - 153, 17$ ). New tests will be performed for the evaluation of individually REE, and in mixtures.

**Keywords:** lanthanum; samarium; ecotoxicity

## 1. INTRODUÇÃO

O grupo dos lantanídeos ou lantanoides é composto de 15 elementos químicos, que apresentam propriedades químicas e físicas bem semelhantes (MARTINS; ISOLANI, 2005). Juntamente com ítrio e escândio são conhecidos como elementos de terras raras (ETR) e formam parte do grupo 6 da Tabela Periódica. Podem ser encontrados em toda crosta terrestre e em quase todas as formações rochosas maciças, são mais abundantes do que elementos como a prata, ouro e os metais do grupo platina. No entanto sua purificação é mais difícil. Com base na configuração eletrônica, eles podem ser divididos em: leves, de lantânio a európio, que são considerados mais solúveis em água e pesados, de gadolínio a lutécio, considerados menos solúveis em água (SNELLER et al., 2000 *apud* GONZALEZ et al., 2014). A partir da década de 1970 os elementos de terras raras tiveram aumento no valor agregado, o que permitiu o desenvolvimento de seu atual uso (SOUZA FILHO; SERRA, 2014), como por exemplo, utilização na agricultura, na produção de energia renovável, metalurgia, fabricação de produtos de tecnologia de ponta, podendo inclusive, atuar em sistemas biológicos (MARTINS; ISOLANI, 2005).

O Japão e os Estados Unidos são os maiores consumidores mundiais de ETRs. Além da China, outros países como o Brasil, Índia, Austrália e Malásia vêm atuando na extração destes elementos (LOUREIRO; SANTOS, 2013). Tendo em vista a crescente utilização dos ETRs é de suma importância atentar-se ao descarte, pois se realizado de maneira inadequada, pode acarretar na bioconcentração nos ecossistemas terrestres e aquáticos.

A Ecotoxicologia foi definida por Truhaut (1977) como “o ramo da Toxicologia que estuda os efeitos tóxicos das substâncias naturais e artificiais, sobre os organismos vivos que constituem a biosfera”. Para a realização destes estudos, são aplicados bioensaios de toxicidade, padronizados nacional e internacionalmente, com o uso de bioindicadores (COSTA et al., 2008), no intuito de compreender o tipo e intensidade dos efeitos causados pela amostra ou substância em questão, sobre o organismo bioindicador estudado. Ainda existem poucas informações a respeito dos efeitos tóxicos de ETRs sobre a biota, aumentando assim a necessidade do desenvolvimento de pesquisas visando um melhor entendimento a respeito do tema e a prevenção dos riscos associados a sua disposição.

## 2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos tóxicos, letais e sub-letais (perda de peso) de soluções sintéticas de lantânio ( $\text{La}^{3+}$ ) e samário ( $\text{Sm}^{3+}$ ), dois elementos de terras raras, sobre os organismos terrestres *Eisenia andrei* (minhoca vermelha da Califórnia) cultivados no LECOMIN/COPMA/CETEM e brotamento de sementes de *Lactuca sativa* (alface).

## 3. METODOLOGIA

O cultivo e os ensaios com o oligoqueta *Eisenia andrei* seguiram as normas ABNT– NBR 15537 (2014) e ASTM E1676 (2012). Os organismos foram cultivados, em esterco curado, trocado a cada 30 dias.

Inicialmente foram realizados ensaios preliminares com o intuito de compreender o comportamento do pH nas amostras-teste ao longo do tempo. Estes ensaios foram realizados nas mesmas condições dos ensaios agudo, em solo artificial tropical (SAT) em lotes de 600 g (ASTM, 2012) dopados com soluções sintéticas de diferentes concentrações dos ETRs, preparadas a partir dos óxidos de lantânio ( $\text{La}^{3+}$ ) e samário ( $\text{Sm}^{3+}$ ) solubilizados com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ).

Para a realização dos ensaios agudo e de fuga, foram utilizados organismos adultos, com clitelo bem desenvolvido, e massa individual entre 300 mg e 600 mg. No dia zero ( $T_0$ ) antes do início do ensaio as minhocas foram retiradas do cultivo, lavadas em água deionizada, secas com folhas

de papel absorvente e pesadas individualmente, em seguida foram separadas em lotes de 10 organismos de massa semelhante distribuídos em caixas forradas com papel umedecido com água deionizada totalizando 180 organismos/ensaio, deixadas 24h para que seu conteúdo intestinal fosse eliminado. Ainda no T0, o SAT foi umedecido com as soluções-teste e o controle com água deionizada em volume equivalente a 40% da Capacidade Máxima de Retenção de Água (CMRA) (ISO, 2005) e deixados em repouso por 24 h para que as amostras estabilizassem.

No dia 1 do ensaio (T1) foram medidos o pH de todas as concentrações-teste e controle, em água deionizada (1:2,5), sendo que o do controle deveria estar entre  $6,0 \pm 0,5$ . Os lotes das concentrações-teste e do controle foram divididos em três réplicas de 200 g (agudo) ou 1500 g (fuga), e dispostas em béqueres de vidro de 600 mL, nos ensaios agudos, e em recipientes plásticos de 2,5L, nos ensaios de fuga. A distribuição dos grupos de minhocas por concentrações-teste e controle foi realizado de forma aleatória, através de sorteio. Cuidadosamente as minhocas foram depositadas sobre a superfície da amostra, e o recipiente teste devidamente fechado, certificando-se que há uma boa troca de ar.

No ensaio agudo, cada béquer foi coberto com filme plástico, preso com elástico e pequenos furos foram feitos para possibilitar a troca de ar. Todo o conjunto foi pesado, visando a reposição semanal de umidade por comparação de pesos. Os ensaios tiveram duração de 14 dias e foram mantidos à temperatura de  $21 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 16h:8h claro:escuro. Após os 14 dias as réplicas foram vertidas em bandejas e as minhocas sobreviventes foram contadas e pesadas, por réplica. O ensaio é considerado válido se a mortalidade no controle for  $\leq 10\%$ .

No ensaio de fuga é avaliada a qualidade do solo como habitat e os efeitos dos ETRs no comportamento das oligoquetas. O T0 do ensaio foi realizado conforme descrito acima em relação à separação das minhocas. Neste ensaio os organismos-teste são expostos concomitantemente ao solo-teste e ao solo controle nos recipientes-teste e no duplo controle ao solo controle em ambos os lados. Na montagem dos recipientes-teste um divisor foi introduzido verticalmente para dividir o recipiente em duas sessões iguais, um lado foi preenchido com o solo controle e a outra metade com o solo-teste. Após, o divisor foi removido e 10 minhocas foram colocadas na linha de separação entre os diferentes solos testados. O ensaio teve duração de 48 h, à temperatura de  $21 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 16h:8h claro: escuro. Após esse período o número de minhocas vivas em cada sessão/réplica foi contabilizado e o ensaio foi considerado válido se a média de oligoquetas encontradas em cada compartimento no duplo controle estivesse na faixa de 60 – 40%.

Os ensaios realizados com sementes de *Lactuca sativa* seguiram a norma ISO 17126 (2005), que consiste na observação do brotamento de 40 sementes, dispostas em recipientes plásticos de 15 cm de diâmetro contendo 100 g de areia fina (meio de crescimento com 0,4 a 0,8 mm de granulometria) sobre a qual foram dispostas as sementes que em seguida foram cobertas com 90 g de areia grossa (material de cobertura com 0,8 a 1,4 mm de granulometria). Este conjunto foi umedecido com cinco diferentes soluções-teste e o controle apenas com água deionizada. Foram montadas três réplicas por concentração-teste e controle, cada uma foi envolvida por sacos plásticos repletos de ar ambiente e fechados para evitar o escape da umidade. O ensaio teve duração de sete dias, em Câmara de Germinação a 21°C com fotoperíodo de 16h: 8h claro: escuro, sendo que os dois primeiros dias o ensaio foi mantido no escuro.

Diariamente o ar dos sacos foi trocado e as réplicas reposicionadas aleatoriamente dentro da Câmara de Germinação. Após os sete dias foram contabilizadas e pesadas as sementes germinadas por concentração-teste e controle. O ensaio foi considerado válido se o brotamento das sementes no controle for  $\geq 80\%$ .

As análises estatísticas descritivas, concentrações letais medianas (CL50) e concentrações efetivas medianas (CE50) foram calculadas nos programas, Excel 2010 e Trimmed Spearman-Kärber, respectivamente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio preliminar de pH com concentrações de zero (controle) a 1000 mg/kg de ETR o pH inicial da solução-estoque foi de 2,84. Após a diluição com água deionizada para a obtenção das concentrações-teste o pH foi para 5,07 no controle e 3,16 na maior concentração de ETR. Após a dopagem do SAT o pH inicial foi alterado para 5,66 a 4,27, no controle e na maior concentração, respectivamente. Após 10 dias o pH medido foi de 5,91 – 4,65. No dia 15 os valores de pH estavam entre 7,41 a 5,56, já no dia 20 o pH variou de 7 a 7,5 demonstrando que o SAT dopado teve seu pH anteriormente ácido, aumentado até a neutralidade no decorrer do tempo nestas concentrações-teste.

As concentrações-teste utilizadas no ensaio agudo de *E. andrei* com lantânio foram: 0 mg/kg, 1000 mg/kg, 1250 mg/kg, 1500 mg/kg, 1750 mg/kg e 2000 mg/kg. Foi observado efeito tóxico agudo a partir de 1500 mg/kg, com CE50 = 1328,29 mg/kg (IC95% 1285,98 – 1372,00). O pH inicial variou de 8,04 no controle a 5,21 na maior concentração e o pH final variou de 8,84 no controle e 6,47 na concentração de 1500 mg/kg.

Para o ensaio com samário foram utilizadas as concentrações-teste: 0 mg/kg, 1000 mg/kg, 1100 mg/kg, 1200 mg/kg, 1300 mg/kg e 1400 mg/kg, porém não foi observado efeito tóxico agudo. Novo ensaio vai ser realizado com maiores concentrações-teste.

No ensaio de fuga acima de 77% dos organismos-teste fugiram para o solo-controle. Este comportamento pode ter sido influenciado pelo baixo pH observado nas concentrações-teste com médias de 4,88. Essa observação sugere que a dopagem do SAT com o lantânio tornou esse solo um habitat limitado para a sobrevivência das oligoquetas, causando efeitos comportamentais de fuga.

Para o ensaios de brotamento de sementes de alface (*L. sativa*) foram utilizadas as concentrações-teste de lantânio: 0 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg e 200 mg/kg e nos de samário: 0 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg e 500 mg/kg. A CE50 de lantânio foi 145,59 mg/kg (IC95% 138,38 – 153,17) e a de samário 256,12 mg/kg (IC95% 217,09 – 302,17). Lantânio foi mais tóxico do que samário sugerindo que as soluções sintéticas dos dois ETRs inibem o brotamento e crescimento da semente de alface.

### 4. CONCLUSÕES

Nos ensaios com lantânio e samário com brotamento de sementes de alface, lantânio foi o elemento mais tóxico. A mudança dos valores de pH de ácido para neutro quando em contato com o SAT após 20 dias indica que um intervalo maior de tempo entre dopagem e início do ensaio deve ser adotado para amostras sólidas quando a substância-teste são ETRs. Ensaios futuros com samário e misturas dos dois ETRs serão realizados, para melhor compreendermos os efeitos destes elementos sobre a biota terrestre em estudo.

### 5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica, ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pela estrutura e equipamentos fornecidos, à S. Egler pela oportunidade, assistência e orientação ao longo deste projeto, à T. Roldão pela paciência e conhecimento transmitidos, à G. Heidelmann pela parceria durante a elaboração dos ensaios. À M. Nascimento e A. L. C. Moraes pelas soluções sintéticas fornecidas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 17512–1. **Qualidade do solo - Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1 – ensaios com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*)**. Rio de Janeiro, ABNT ISSO, 2011. 26p.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 15537. **Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaios com minhocas (*Lumbricidae*)**. Rio de Janeiro, ABNT, 2014. 17p.

ASTM E 1676-12, **Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia Fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus***, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

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

GONZALEZ, V.; VIGNATI, D.; LEYVAL, C.; GIAMBERINI, L. Environmental fate and ecotoxicity of lanthanides: are they a uniform group beyond chemistry. **Environmental International**, v.71, p.148-157, 2014.

ISO – International Organization for Standardization. Soil quality – **Determination of the effects of pollutants on soil flora Screening test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa*)**. ISO 17126, 2005. 13p.

LOUREIRO, F. E. L.; SANTOS, R. L. C.(Ed.) **O Brasil e a reglobalização da indústria das terras raras**. Revista Prof. Iran Ferreira Machado. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2013. 216 p.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Terras raras: aplicações industriais e biológicas. **Química Nova**, v.28, n.1, p.111-117, 2005.

SOUSA FILHO, P.C.; SERRA, O. A. Terras raras no Brasil: histórico, produção e perspectivas. **Química Nova**, v.37, n.4, p. 753-760, 2014.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, p.151-173, 1977.