

Avaliação da toxicidade de dois elementos do grupo dos lantanídeos para organismos aquáticos

Toxicity evaluation of two elements from the lanthanides group for aquatic organisms

Tamine Martins Roldão

Bolsista Capacitação Institucional, Bióloga, MSc.

Silvia Gonçalves Egler

Supervisora, Bióloga, MSc.

Resumo

O interesse econômico pelos Elementos de Terras Raras (ETRs) vem crescendo devido à variedade de suas aplicações, particularmente, em alta tecnologia. O aumento na utilização destes elementos faz crescer a probabilidade de exposição e contaminação ambiental e assim, tornando crucial a realização da avaliação ecotoxicológica dos ETRs. O presente estudo avaliou o efeito de samário, lantânio e neodímio em soluções sintéticas, individualmente e em mistura, sobre a sobrevivência (efeito agudo) e reprodução (efeito crônico) de organismos aquáticos pertencentes a dois níveis tróficos. Representando os consumidores primários na cadeia trófica foi avaliado o microcrustáceo *Daphnia similis*, que foi mais sensível a neodímio do que a lantânio e samário, sendo igualmente sensível aos dois últimos. De forma geral, a biodisponibilidade dos elementos estudados foi reduzida pela presença de EDTA e da vitamina B12, constituintes do meio MS utilizado como água de diluição, em vista dos seus efeitos quelante e, portanto, seus usos devem ser evitados em ensaios de toxicidade com ETRs. Representando os produtores, foram avaliadas as microalgas *Raphidocelis subcapitata*, *Chlorella vulgaris* e *Ankistrodesmus falcatus*. Com raras exceções, as respostas obtidas nos ensaios com microalgas foram estatisticamente diferentes, no entanto, novos ensaios ainda serão realizados para avaliar o efeito das misturas de neodímio com samário e lantânio para os bioindicadores.

Palavras chave: elementos de terras raras, toxicidade, bioindicadores

Abstract

The Interest in Rare Earth Elements (REE) has been growing in recent years, due to the variety of their applications, particularly in high technology. The growing use of these elements, increases the probability of environmental exposure and contamination. In this context, REE ecotoxicological evaluation is crucial. The present study aims to evaluate the effect of samarium, lanthanum and neodymium, individually and in mixture, on the reproduction and survival of aquatic organisms belonging to two trophic levels. The toxic effects, acute and chronic, of three synthetic solutions of REE lanthanum, samarium and neodymium were analyzed over aquatic bioindicators. The microcrustacean *Daphnia similis* was used to represent the primary consumers of food chain. This organism was more sensitive to all lanthanides, being neodymium the most toxic for it. The bioavailability of the studied elements was reduced by the presence of EDTA and B12 vitamin, both being constituents of the used medium, in view of their chelating effects and therefore their use should be avoided in trials aiming to evaluate the toxicity of the REE. For *Raphidoceles subcapitata*, *Chlorella vulgaris* and *Ankistrodesmus falcatus* (food chain producer representatives), the response obtained in the algae assays were significantly different with few exception, however, new trials will be performed to evaluate the effects of the mixtures with samarium, lanthanum and neodymium, for the different species of bioindicators.

Keywords: rare earth elements, toxicity, bioindicators

1. Introdução

Os elementos de terras raras (ETR) são um grupo de elementos, da tabela periódica, compostos por 15 lantanídeos mais escândio e ítrio. Os lantanídeos possuem propriedades muito similares devido sua distribuição

eletrônica (GONZÁLEZ *et al.*, 2015). Possuem características químicas similares ao cálcio e alta afinidade por grupos fosfato em moléculas biológicas. Em consequência, interagem com sistemas biológicos provocando toxicidade, influenciando no metabolismo e provocando comprometimento funcional (GONZÁLEZ, *et al.*, 2015). Os ETRs são encontrados nos minerais monazita, bastnasita, xenotima, loparita e nas argilas lateríticas. Em geral ocorrem em baixas concentrações no solo, sedimento e na água e o crescente interesse por eles deve-se à variedade de aplicações, principalmente, em alta tecnologia (GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

O Lantânio (La) é o lantanídeo mais eletropositivo entre os ETRs e apresenta propriedades químicas similares as dos alcalinos-terrosos, sendo muito utilizado em fertilizantes. No entanto, Barry e Meehan (2000) demonstraram que o La causou toxicidade em *Daphnia*. O neodímio (Nd) é utilizado na fabricação de vidros, ímãs permanentes, lasers e na produção de fertilizantes e pode formar fluoretos, cloretos, brometos, iodetos, sulfetos e óxidos. O samário (Sm) pode formar fluoretos, cloretos e sulfetos, entre outros compostos e assim como outros ETRs pode influenciar o metabolismo de organismos. Apesar de sua toxicidade parecer ser baixa, estudos anteriores demonstraram que Sm causou toxicidade em bioindicadores de diferentes grupos taxonômicos (BLAISE *et al.*, 2008).

A mineração e o descarte inapropriado são as principais fontes de contaminação ambiental por estes elementos. Os mecanismos pelos quais os ETRs podem afetar o ambiente não são claros, pois fatores físico-químicos podem afetar sua mobilidade e biodisponibilidade.). Em consequência, estudos sobre ecotoxicidade, bioacumulação e modo de ação devem ser desenvolvidos para um melhor entendimento e prevenção dos riscos associados a esta deposição (BARRY; MEEHAN, 2000, GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

Estudos ecotoxicológicos são ferramentas para o monitoramento da qualidade ambiental, avaliando os impactos de contaminantes (e seus metabólitos) sobre organismos vivos, populações, ou ecossistemas, considerando a influência de fatores ambientais (ROLDÃO, 2014), para prever níveis de exposição seguros. Para a realização destes estudos, são aplicados ensaios de toxicidade (agudos e crônicos), padronizados nacional e internacionalmente, com o uso de bioindicadores (ROLDÃO, 2014). No caso de ETRs, há pouca disponibilidade de literatura focando na avaliação dos seus efeitos tóxicos sobre bioindicadores, o que eleva a importância deste estudo.

2. Objetivo

O presente estudo visa avaliar o efeito de samário, lantânio e neodímio, individualmente e em mistura, sobre a sobrevivência e reprodução de organismos aquáticos pertencentes a dois níveis tróficos.

3. Material e Métodos

Os efluentes sintéticos testados foram preparados a partir de soluções-estoque de 5 g/L obtidas pela solubilização dos óxidos de La, Nd e Sm em ácido nítrico (HNO₃) p.a. a 65%. Os ensaios com misturas foram realizados nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1. A toxicidade do ácido nítrico, usado na solubilização dos óxidos para o preparo da solução-estoque, foi testada em ensaios com diluições de HNO₃, utilizando como maior concentração aquela presente na solução-estoque.

Os organismos testes utilizados foram: *Daphnia similis* (microcrustáceo planctônico de água doce) e as microalgas clorofíceas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella vulgaris* e *Raphidocelis subcapitata* (unicelulares de água doce), cultivados no LECOMIN/COPMA/CETEM. Estes organismos são bioindicadores padronizados para análises ecotoxicológicas e utilizados em larga escala por pesquisadores da área.

O cultivo de *D. similis* pré-estabelecido no Laboratório de Ecotoxicologia (LECOMIN/COPMA – Centro de Tecnologia Mineral – CETEM) foi iniciado em 2009 e segue a norma da ABNT-NBR 12713 (ABNT, 2016). O meio de cultivo utilizado foi o MS (ABNT, 2016), o pH do meio foi mantido entre 7 e 7,6 e a dureza entre 40 e 48 mg de CaCO₃/L, com oxigênio dissolvido (O.D.) superior a 5 mg/L. Os organismos foram mantidos na temperatura de 20 ± 2 °C, fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro e iluminação de 500 a 1000 lux. O meio de

cultivo foi trocado duas vezes por semana e a alimentação foi diária com alga *R. subcapitata*, na quantidade de 1 a 5×10^5 células por organismo. Com o objetivo de avaliar a qualidade e padronização dos cultivos, mensalmente foram realizados ensaios de sensibilidade para o estabelecimento da faixa de sensibilidade a uma substância de referência (NaCl) (ABNT, 2016).

As microalgas foram cultivadas em meio L.C. Oligo (ABNT, 2011), que foi trocado semanalmente, mantendo o cultivo em fase de crescimento exponencial, o que é ideal para a aplicação de ensaios ecotoxicológicos. O cultivo foi mantido com aeração constante, a 25 ± 2 °C, iluminação contínua de 4500 lux ($\pm 10\%$) e aerada constantemente com bombas de aquário. Mensalmente foram realizados ensaios de sensibilidade com a substância de referência (KCl) (ABNT, 2011).

Os ensaios com os organismos teste, cultivados no LECOMIN, seguiram as normas da ABNT NBR, ensaio agudo com *D. similis* (ABNT, 2016) e crônico com as microalgas (ABNT, 2011). As soluções-estoque de Sm, La e Nd foram diluídas no meio de cultivo específico de cada organismo para a obtenção das soluções-teste, individualmente e em misturas dos três elementos nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1, respectivamente. Com os resultados dos ensaios, foram avaliados os efeitos letais e de inibição da reprodução para os bioindicadores e estes foram expressos em relação às concentrações nominais (iniciais): CE(I)50_{48h}, (concentração efetiva mediana inicial) e UT (unidade tóxica = 100/CE50) para *D. similis*; e CI50_{96h}, (concentração de inibição mediana) e UT (unidade tóxica = 100/CI50) para microalgas.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas Excel 2010, Trimmed Spearman-Kärber e Linear Interpolation. A diferença estatisticamente significativa entre os pares de resultados tanto da CE50 quanto da CI50, foi determinada pela inspeção dos limites de confiança (se não houver sobreposição eles são considerados diferentes). Já caso os limites de confiança da CE50 se sobrepuerem, faz a comparação aplicando-se o erro padrão das diferenças médias, baseada na USEPA (1985). Se os limites de confiança da CI50 se sobrepuerem, a comparação será realizada utilizando o método *ad hoc* de Zajdlik no. 2, baseada em Environment Canada (2005),

Os ensaios agudos (*cladocero Daphnia similis*) foram realizados em beckeres de vidro de 25 mL, sob temperatura constante (21 °C) e sem iluminação, nem alimento, por um período de 48 horas. Para tal, foram utilizados 20 neonatos com 6 a 24 horas de nascidos, divididos em quadruplicatas de cinco indivíduos, por concentração-teste e controle com o meio MS. As concentrações utilizadas estavam na faixa entre 2 e 25 mg/L. Para diluição das soluções de ETRs e para o controle, foram utilizados os meios de cultivo MS completo (ABNT, 2016) e o MS incompleto, caracterizado pela ausência de EDTA e Vitamina B12 (ABNT, 2016). Os parâmetros pH e Oxigênio Dissolvido (OD) foram monitorados no início e no final dos ensaios para cada concentração-teste e controle. Ao final das 48 horas de ensaio, as amostras foram observadas e os organismos mortos ou imóveis foram contabilizados. Para se considerar o ensaio válido, a mortalidade no controle deve ser inferior ou igual a 10%, o OD superior a 3 mg/L e os resultados do ensaio de sensibilidade no intervalo de ± 2 DP (desvio-padrão) das médias dos ensaios anteriores.

Os ensaios crônicos (microalgas) foram realizados em Erlenmeyers de vidro de 250 mL (com 100 mL de solução), na temperatura de 25 ± 2 °C, iluminação contínua de 4500 lux ($\pm 10\%$), velocidade de agitação contínua de 130 rpm, em triplicata e a partir de um inóculo de alga de 3×10^5 células/mL de *A. falcatus*, *C. vulgaris* ou *R. subcapitata*. As concentrações utilizadas estavam na faixa entre 30 e 70 mg/L. Para diluição das amostras e para o controle, foi utilizado o meio de cultivo L. C. Oligo, mesmo meio utilizado no cultivo dos organismos. Ao final das 96 h de ensaio, as biomassas (densidade celular) das amostras foram obtidas através da leitura em Espectrofotômetro (marca LaMotte, modelo Smart II), com absorvância determinada em 675 nm para *C. vulgaris* e *R. subcapitata* e 450 nm para *A. falcatus*. O ensaio foi considerado válido quando a biomassa algácea no controle foi, pelo menos, 100 vezes superior à inicial para 96 h e o coeficiente de variação da biomassa algácea final, entre as réplicas (três) do controle foram $\leq 20\%$.

4. Resultados e Discussão

A CE(I)50_{48h}, e seu Intervalo de Confiança de 95%, obtidos para o ensaio com o ácido nítrico foram, 2,51 mL/L (2,34-2,69) para *D. similis* e 5,04 mL/L (4,93-5,13) para *C. vulgaris*, sendo estas, concentrações muito superiores aquelas utilizadas nos ensaios após a diluição da solução-estoque pelo meio de cultivo apropriado.

Os resultados obtidos dos ETRs, individualmente e em mistura para os bioindicadores estudados são apresentados nas Tabelas 1 e 2. Os valores obtidos nas CI50_{96h} foram menos tóxicos do que as CE50_{48h} obtidas para *D. similis*. Este resultado era esperado uma vez que os ETRs são utilizados em baixas concentrações como fertilizante em diversas culturas vegetais, principalmente na China (BARRY; MEEHAN, 2000), caracterizando um efeito de hormesis. Os resultados dos ensaios com *D. similis* obtidos com Nd não apresentaram diferença estatística significativa entre os meios MS completo e incompleto. Para os ensaios com samário e lantânio em meio MS completo e incompleto foi observada diferença significativa, possivelmente devido aos efeitos quelantes de EDTA e Vitamina B12, que ao se ligarem aos ETRs podem ter interferido na biodisponibilidade deste elementos. Estes resultados corroboram trabalhos anteriores, que demonstraram que os ETRs são mais tóxicos quando apresentados na forma de íons livres e que em alguns casos, íons livres de lantanídeos foram mais tóxicos inclusive que alguns metais mais estudados como cádmio, cobalto e cromo para organismos testes (GONZÁLEZ, *et al.*, 2015).

Segundo Barry e Meehan (2000) a toxicidade de La para *Daphnia carinata* variou entre 0,043 e 1,18 mg/L dependendo do meio utilizado, o que sugere que *D. carinata* é mais sensível a La do que a espécie utilizada no presente estudo. Estes autores discutem que a principal via de absorção de La seria através da carapaça e, portanto, a muda seria o principal momento em que o La afetaria o ciclo de vida destes organismos. As diferenças encontradas nos resultados de diferentes ensaios com cladoceros devem-se, principalmente, pela diferença entre as metodologias adotadas e a própria variação de sensibilidade entre as espécies.

Não foi observada diferença significativa entre Sm, La e Nd com meio MS Incompleto, contradizendo estudos anteriores que citaram que a toxicidade dos lantanídeos aumentaria com o aumento do número atômico (GONZÁLEZ *et al.*, 2015). No entanto, os ensaios realizados em meio MS completo, demonstraram que apesar de não haver diferença entre Sm e La, os resultados de Nd mostraram-se mais tóxicos para *D. similis* do que os anteriormente citados.

Os resultados da tabela 1 evidenciaram que as misturas de Sm e La 1:2 e 2:1 são mais tóxicas do que a exposição individual a estes elementos para *D. similis* nos dois meios utilizados. A proporção 1:1 foi similar a Sm em meio MS Completo e a La em meio MS Incompleto nos resultados individuais. Este resultado evidencia a interação entre estes dois ETRs quando em mistura.

Além da diferença entre a toxicidade destes elementos individualmente e em mistura, a somatória das médias das UTs dos ETRs individualmente testados (Tabela 1) com meio MS completo ($UT = 4,51 + 4,88 = 9,39$) é maior que os valores obtidos nos ensaios com as misturas (Tabela 1). Este resultado caracteriza um efeito tóxico antagonico (COSTA *et al.*, 2008), quando a interação diminui o efeito total, discordando de Gonzalez e colaboradores (2015), que descreveram que seria esperado um efeito aditivo no caso de exposição a mais de um lantanídeo simultaneamente. Neste caso a proporção 1:2 foi menos tóxica que a proporção 2:1.

Nos ensaios com meio MS incompleto a somatória das médias ($UT = 7,69 + 8,81 = 16,50$ – Tabela 1) é similar ao resultado obtido na proporção 2:1, caracterizando um efeito tóxico aditivo, quando a interação não interfere no efeito tóxico final, e o mesmo ocorreu com *A. falcatus* nesta proporção (tabela 2). Estes resultados corrobora com Gonzalez e colaboradores (2015) que afirmaram que seria esperado um efeito aditivo no caso de exposições a mais de um lantanídeo ao mesmo tempo.

No caso do ensaio com meio MS incompleto nas proporções 1:2 e 1:1, o somatório das médias das UTs individuais é maior que os valores obtidos nos ensaios com a mistura (Tabelas 1), caracterizando novamente um efeito tóxico antagonico (COSTA *et al.*, 2008).

Tabela 1: Resultados em CE50,48 h e Unidade Tóxica (UT) dos ensaios agudos de ecotoxicidade com o microcrustáceo *Daphnia similis*, com soluções sintéticas de lantânio e samário individualmente e em mistura, em meio de cultivo MS Completo e MS Incompleto (sem ETDA e Vitamina B12). I.C.I. (95%) = Intervalo de Confiança Inferior de 95%. I.C.S. (95%) = Intervalo de Confiança Superior de 95%. Letras iguais = estatisticamente similar. n = quantidade de ensaios realizados.

Amostra	Espécie – Meio de Cultivo											
	<i>Daphnia similis</i> - MS Completo					<i>Daphnia similis</i> - MS Incompleto						
	n	CE50 (mg/L)	I. C. I. (95%)	I. C. S. (95%)	UT Média	n	CE50 (mg/L)	I. C. I. (95%)	I. C. S. (95%)	UT Média		
Samário	9	22,36 ^a	21,54	23,22	4,47	4,51	11	16,85	15,58	18,23	5,93	7,69
		22,59 ^a	21,40	23,84	4,43			11,89 ^b	10,29	13,74	8,41	
		21,49 ^a	20,64	22,68	4,65			11,46 ^b	9,52	13,79	8,73	
		22,33 ^a	20,97	23,77	4,48							
Lantânio	8	19,05 ^c	17,77	20,41	5,25	4,88	9	10,79 ^b	9,99	11,66	9,27	8,81
		21,46 ^{a,c}	19,32	23,84	4,66			11,45 ^b	10,38	12,63	8,73	
		21,20 ^{a,c}	18,81	23,90	4,72			11,86 ^b	10,85	12,95	8,43	
Neodímio	3	11,36 ^d	9,70	13,31	8,80	9,93	3	12,31 ^b	10,88	13,94	8,12	8,41
		9,43 ^d	7,71	11,52	10,60			11,89 ^{b,d}	10,40	13,60	8,41	
		9,62 ^d	7,91	11,71	10,40			11,49 ^{b,d}	9,97	13,24	8,70	
Sm + La 1:1	8	21,58 ^a	19,46	23,93	4,63	6,78	4	11,22 ^b	9,60	13,12	8,91	12,41
		21,20 ^a	18,81	23,90	4,72			5,35 ^f	4,49	6,36	18,69	
		9,09 ^e	8,04	10,28	11,00			10,40 ^{b,e}	9,10	11,89	9,62	
Sm + La 1:2	5	16,00 ^{c,g}	14,04	20,10	6,25	6,55	4	5,16 ^f	3,00	8,89	19,38	14,57
		12,47 ^h	12,05	12,91	8,02			6,07 ^f	4,72	7,80	16,47	
		18,55 ^{a,g}	15,30	22,50	5,39			12,72 ^{b,h}	11,26	14,38	7,86	
Sm + La 2:1	3	12,68 ^h	12,10	13,28	7,89	8,01	5	6,39 ^f	5,60	7,30	15,65	16,25
		13,30 ^h	12,44	14,21	7,52			6,24 ^f	5,54	7,03	16,03	
		11,59 ^h	10,72	12,48	8,63			5,86 ^f	5,48	6,26	17,06	

Os resultados expressos na Tabela 2 demonstram que La foi mais tóxico do que Sm individualmente para as três espécies de alga, o mesmo ocorreu com Nd, com exceção de *C. vulgares*, para qual Sm foi mais tóxico que Nd, sendo que La também foi mais tóxico que Nd para *C. vulgares* e *A. falcatus*, já para *R. subcapitata* a toxicidade de La foi estatisticamente similar a de Nd (Tabelas 2). Vale ressaltar que as respostas obtidas por *R. subcapitata* e *A. falcatus* foram estatisticamente similares quando expostos a Nd. Estes dados vão de encontro com o que observaram Gonzalez e colaboradores (2015), que observou um aumento da toxicidade com o aumento do número atômico em um ensaio com a microalga *Raphidocelis subcapitata*.

Quando comparadas as diferentes espécies de alga, podemos observar que *R. subcapitata* foi a espécie de microalga mais sensível dentre as analisadas (Tabelas 2) no que diz respeito a exposição individual, se comparadas as medias das unidades tóxicas. Já *A. falcatus* foi a espécie de microalga mais sensível dentre as analisadas (Tabelas 2), quando exposta a mistura dos ETRs, se comparadas as medias das unidades tóxicas. Sendo assim, pode-se considerar que *Raphidocelis subcapitata*, assim como *A. falcatus* são bons bioindicador para os ETRs estudados, como representante da base da cadeia alimentar aquática.

Quando se analisa os ensaios das microalgas na proporção 1:1 (tabela 2), observa-se que as três algas apresentaram resultados estatisticamente diferentes quando expostas a La e Sm individualmente e em mistura na proporção 1:1, quando comparados os grupos de ensaios. Os resultados obtidos demonstram que La foi mais tóxico individualmente do que em mistura com Sm na proporção 1:1 para as três algas e na proporção 1:2 para *R. subcapitata*, a proporção 2:1 foi mais tóxica que La para as três algas, quando comparadas as medias das UTs. Quando se compara Sm as proporções, o elemento foi menos tóxico para as microalgas do que as misturas

com exceção de *C. vulgaris* na proporção 1:1 (Tabelas 2). A análise destes resultados demonstram que a interação entre os elementos influenciou na toxicidade para as microalgas. É interessante ressaltar que tanto para *A. falcatus* quanto para *C. vulgares* as proporções 1:2 e 2:1 apresentaram resultados similares, demonstrando que o a proporção dos elementos não influenciaram nos resultados.

Tabela 2: Resultados em CI50,96 h e Unidade Tóxica (UT) dos ensaios de crônicos de ecotoxicidade, com as microalgas *Raphidocelis subcapitata*, *Chlorella vulgaris* e *Ankistrodesmus falcatus*, com soluções sintéticas de lantânio e samário individualmente e em mistura. I.C.I. (95%) = Intervalo de Confiança Inferior de 95%. I.C.S. (95%) = Intervalo de Confiança Superior de 95%. Letras iguais denotam semelhança estatística. n indica quantidade de ensaios realizados.

Amostr a	Espécies														
	<i>Raphidocelis subcapitata</i>				<i>Ankistrodesmus falcatus</i>				<i>Chlorella vulgaris</i>						
	n	CE50 (mg/L)	I. C. (95%) I.	I. C. S. (95%)	UT	n	CE50 (mg/L)	I. C. (95%) I.	I. C. S. (95%)	UT	n	CE50 (mg/L)	I. C. (95%) I.	I. C. S. (95%)	UT
Sm	3	40,80 ⁱ	38,93	43,15	2,45	5	47,16 ^k	47,07	47,25	2,1	6	58,22 ^m	57,72	58,63	1,72
		46,10 ^k	45,06	47,64	2,17		55,00 ^m	54,66	55,34	1,8		36,45 ^j	29,48	40,74	2,74
		44,97 ^k	44,47	45,15	2,22		48,51 ^k	48,34	48,57	2,0		46,21 ^k	45,39	46,52	2,16
La	3	33,91 ^j	32,37	34,88	2,95	3	35,70 ⁱ	35,45	35,76	2,8	3	35,72 ⁱ	35,69	35,75	2,80
		26,21 ^l	25,56	26,32	3,82		24,60 ^l	24,14	25,10	4,0		46,90 ^k	45,25	50,54	2,13
		33,99 ^j	33,36	34,38	2,94		35,34 ^j	35,04	35,38	2,8		45,49 ^k	45,17	55,73	2,20
Nd	3	34,77 ⁱ	33,96	35,18	2,88	3	34,93 ^j	34,61	35,00	2,8	4	52,89 ^m	51,73	53,89	1,89
		35,08 ⁱ	34,87	35,28	2,85		35,00 ^j	34,92	35,00	2,8		55,84 ^m	55,26	56,61	1,79
		33,79 ⁱ	32,66	35,05	2,96		34,97 ^j	34,08	35,00	2,8		55,86 ^m	55,51	56,60	1,79
Sm + La 1:1	3	43,64 ⁱ	43,36	43,93	2,29	3	36,74 ⁱ	35,31	42,72	2,7	3	56,43 ^m	55,08	57,05	1,77
		34,63 ^j	34,14	35,04	2,89		35,40 ^j	35,21	35,57	2,8		49,78 ^k	42,34	52,08	2,01
		36,98 ^j	34,63	44,09	2,70		35,25 ^j	35,02	35,27	2,8		47,13 ^k	46,44	47,35	2,12
Sm + La 1:2	4	25,53 ^l	25,51	25,54	3,92	3	25,15 ^l	24,80	25,60	3,9	3	35,66 ⁱ	35,52	35,70	2,80
		38,37 ^l	35,73	39,98	2,61		27,79 ^l	25,47	31,10	8		35,52 ⁱ	35,31	35,80	2,82
		41,49 ⁱ	41,06	41,83	2,41		31,14 ^l	30,11	31,90	3,6		35,75 ⁱ	35,51	35,98	2,80
Sm + La 2:1	4	24,58 ^l	24,03	25,21	4,07	5	26,73 ^l	24,22	27,20	3,2	6	36,67 ^j	34,73	37,39	2,73
		34,59 ^l	34,33	34,90	2,89		26,71 ^l	26,56	26,91	3,7		36,23 ⁱ	36,09	36,37	2,76
		34,06 ^j	33,63	34,51	2,94		12,53	12,23	12,88	7,9		37,16 ⁱ	36,27	38,67	2,69

Já no que diz respeito à unidade tóxica dos ensaios realizados com as microalgas em todas as proporções, com exceção da proporção 2:1 com a microalga *A. falcatus*, já descrita anteriormente (Tabelas 2), observamos que as três microalgas, apresentaram um efeito antagônico, no qual a soma das médias das unidades tóxicas individuais é superior à unidade tóxica das misturas, reafirmando que a interação entre os elementos influenciou a toxicidade para as microalgas.

Para uma melhor compreensão do efeito dos lantanídeos sobre os bioindicadores em estudo, novos ensaios ainda serão realizados para avaliar o efeito de outros lantanídeos sozinhos e em misturas, para as diferentes espécies, levando em consideração que HERRMANN e colaboradores (2014) observaram que baixas concentrações de La podem estimular o crescimento de microalgas. No entanto, concentrações a partir de 72 mols inibem consideravelmente o crescimento. É interessante ressaltar que a toxicidade causada por La pode ser direta (por exemplo, influência na atividade fotossintética e na bomba de cálcio) ou indireta (devido à remoção de nutrientes do meio levando as microalgas a inanição) (HERRMANN *et al.*, 2014).

5. Conclusão

As respostas obtidas para a toxicidade aguda e crônica a um ou dois tipos de lantanídeos (La e Sm) observados neste estudo foram diferentes para os organismos-teste e para a água de diluição utilizada. O microcrustáceo *D. similis* foi o organismo mais sensível às soluções sintéticas testadas. Os efeitos quelantes do EDTA e vitamina B12 podem ter reduzido a biodisponibilidade dos ETRS estudados, evidenciando que seu uso deve ser evitado em estudos com ETRs. Os efeitos observados nas proporções das misturas testadas foram antagônicos para todos os ensaios com exceção dos ensaios com MS incompleto e para *A. falcatus* ambos na proporção 2:1, cujo efeito observado foi Aditivo. Para as microalgas, não houve semelhança significativa entre os ensaios com *R. subcapitata*, com exceção de La que foi similar a Nd e o mesmo ocorreu com *A. falcatus* e *C. vulgares* entre as proporções 1:2 e 2:1. Já na comparação entre as algas, pode se observar uma similaridade nas respostas de *R. subcapitata* e *A. falcatus*, quando expostas a Nd e entre *R. subcapitata* e *C. vulgares* quando expostas a proporção 1:2. No entanto, novos ensaios ainda serão realizados para avaliar o efeito de diferentes ETRs sobre os bioindicadores aquáticos em estudo, visando uma melhor compreensão do efeito dos ETRs sobre organismos responsáveis pela base da cadeia alimentar aquática. Novos ensaios também serão realizados com bioindicadores de contaminação terrestre e assim, será possível compreender melhor os efeitos dos ETRs sobre os organismos pertencentes a diferentes matrizes ambientais, levando à compreensão da interação dos ETRs com diferentes ecossistemas.

6. Agradecimentos

À M.Sc. S. Egler, pela importante e atenciosa supervisão durante o período da bolsa. À A. F. G. O. Clementino, C.Santos e G. Heidelmann pela assistência prestada durante a elaboração dos ensaios. À M. Nascimento e A. L. C. Moraes pelas soluções fornecidas. À E. Giese pelo auxílio em discussões na fase de elaboração do projeto. Ao CETEM - Centro de Tecnologia Mineral pela estrutura fornecida e ao MCTIC – Ministério da Ciência Tecnologia, Inovação e Comunicação em conjunto com o CNPq pela bolsa concedida.

7. Referências Bibliográficas

- ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática–Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* ssp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT 2016. 23p.
- ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS). **NBR 12648**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT 2011. 24 p.
- BARRY, M. J.; MEEHAN, B. J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata*. **Chemosphere** v.41, p. 1669-1674, 2000.
- BLAISE, C.; GAGNÉ, F.; FÉRARD, J. F.; EULLAFFROY, P. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. **Environmental Toxicology**, v. 23, p. 591–598, 2008.
- 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.
- ENVIRONMENT CANADA – Guidance document on statistical methods for environmental toxicity tests. Method development and applications section, Environmental Technology Centre. EPS 1/RM/46.**Environmental Protection Series**. 2005. 283 p.

GONZÁLEZ, V.; VIGNATI, D. A.L.; PONS, M. N.; Montarges-Pelletier, E.; Bojic, C.; Giamberini, L. Lanthanide ecotoxicity: first attempt to measure environmental risk for aquatic organisms. **Environmental Pollution**, v. 199, p. 139-147, 2015.

ROLDÃO, T. M. **Avaliação do Efeito Combinado de Carbofurano e Temperatura para *Ceriodaphnia dubia***. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública – Saneamento Ambiental). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brasil. 2014, 60 p.

USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms**. W.H. Peltier, C.I. Weber (eds). EPA/600/4-85/013, (1985).231 p.