

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, 7º período, UNIGRANRIO

Período PIBIC/CETEM: agosto de 2018 a julho de 2019

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

Os Elementos Terras Raras (ETR), 15 lantanídeos mais o ítrio e o escândio, são utilizados em alta tecnologia, na agricultura e na medicina. A diversidade das aplicações aumentam o uso dos ETRs e o seu descarte. Se este descarte é inadequado, a contaminação dos ecossistemas pode acarretar impactos nos seres vivos e meio abiótico. Ensaio ecotoxicológicos avaliam os efeitos tóxicos de contaminantes sobre a biota. O presente estudo avaliou os efeitos tóxicos, letais e sub-letais sobre os organismos terrestres *Eisenia andrei* (minhoca vermelha da Califórnia, ensaio agudo) e *Lactuca sativa* (alface, ensaio de brotamento), expostos a soluções sintéticas de lantânio (La^{3+}) e samário (Sm^{3+}), dois ETRs, individualmente e em misturas. A CE_{50} 1773,43 mg/kg, ($\text{IC}_{95\%}$ - 1726,37 – 1821,77) foi obtida no ensaio agudo de *E. andrei* com lantânio. Nos ensaios com *L. sativa*, samário foi mais tóxico que lantânio e o efeito das interações entre os dois ETR sinérgico. A % de Inibição da Germinação nas amostras indicou que as mesmas são fortemente tóxicas.

Palavras chave: lantânio; samário; ecotoxicidade.

ABSTRACT

Rare Earth Elements (ETR), 15 lanthanides plus yttrium and scandium, are used in high technology, in agriculture and medicine. The application diversity increases their use and discard. If this disposal is inadequate, the contamination of ecosystems can have impacts on living beings and the abiotic environment. Ecotoxicological tests evaluate the toxic effects of contaminants on biota. The present study evaluated the toxicity, lethal and sub-lethal effects on terrestrial organisms *Eisenia andrei* (California red worm, acute trial) and *Lactuca sativa* (lettuce, seedling trial), exposed to synthetic solutions of lanthanum (La^{3+}) and samarium (Sm^{3+}), two rare earth elements (ETR), individually and in mixtures. EC 50 1773.43 mg / kg, (95% CI - 1726.37-1821.77) was obtained in the acute test of *E. andrei* with lanthanum. In the trials with *L. sativa*, samarium was more toxic than lanthanum and the effect of the interactions between the two synergic ETR. The % inhibition of germination indicated samples strongly toxic.

Keywords: lanthanum; samarium; ecotoxicity.

1. INTRODUÇÃO

O grupo dos lantanídeos ou lantanoides é composto de 15 elementos químicos que variam do número atômico 57 (lantânio) ao número atômico 71 (lutécio). Junto com ítrio e escândio formam o grupo dos elementos terras raras (ETR). Esses elementos são quimicamente muito parecidos. O estado de oxidação da maioria dos lantanídeos é de +3, porém existem estados de oxidação +2 e +4 (MARTINS; ISOLANI, 2005). 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). Podem ser encontrados em toda crosta terrestre e em quase todas as formações rochosas maciças, sendo mais abundantes do que elementos como a prata, ouro e os metais do grupo platina. No entanto sua purificação é mais difícil. A partir da década de 1970 os elementos terras raras tiveram aumento na sua utilização em altas tecnologias, agricultura e medicina o que acarretou um maior valor agregado (SOUSA FILHO; SERRA, 2014).

A China é o maior produtor e consumidor de ETR, seguida pelo Japão e os Estados Unidos (LOUREIRO; SANTOS, 2013). O Brasil ao lado do Vietnã tem a segunda maior reserva desses minérios, porém não está entre os maiores produtores, ocupa a nona posição com apenas 1000 toneladas por ano, as maiores reservas de ETR no Brasil se encontram no Amazonas e em Minas Gerais, Araxá. Tendo em vista a crescente utilização dos ETRs, é de suma importância atentar-se ao descarte, pois se realizado de maneira inadequada, pode afetar os ecossistemas, acarretando a contaminação dos ambientes terrestres e aquáticos.

A Ecotoxicologia foi definida por Truhaut (1969) e mais tarde por Butler (1978) 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 e meio ambiente, aumentando assim a necessidade do desenvolvimento de pesquisas visando um melhor entendimento e elaboração de ações de prevenção dos riscos associados a sua deposição.

2. OBJETIVO

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

3. METODOLOGIA

O cultivo e os ensaios com o oligoqueta *Eisenia andrei* seguiram a norma ASTM E1676 (2012). Os organismos foram cultivados, em esterco curado, trocado a cada 30 dias.

Para a realização do ensaio agudo foram utilizados organismos adultos, com clitelo bem desenvolvido e massa individual entre 300 mg e 600 mg. No dia zero (T0) anterior ao início do ensaio as minhocas foram lavadas em água deionizada, secas e pesadas individualmente. Em seguida, foram separadas em lotes de 10 organismos de massa semelhante, totalizando 30 indivíduos/amostra-teste e controle, distribuídos em caixas forradas com papel umedecido com água deionizada onde permaneceram por 24h para purgamento do conteúdo intestinal. Ainda no T0, o solo artificial tropical (SAT) foi umedecido com cinco 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 (T1) foram medidos o pH de todos os solos-teste e controle, em água deionizada (1:2,5) (EMBRAPA, 1997), sendo normatizado que o do controle deve ser de $6,0 \pm 0,5$; os das amostras $\text{pH} \geq 5$. Os lotes dos solos-teste e do controle foram divididos em três réplicas de 200

g, dispostas em béqueres de vidro de 600 mL. A distribuição dos grupos de minhocas por solos-teste e controle foi realizada de forma aleatória, através de sorteio. As minhocas foram depositadas sobre a superfície da amostra, e o recipiente-teste fechado com filme plástico, preso com elástico, com furos 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 ± 2 °C e fotoperíodo de 16h:8h claro:escuro. Após os 14 dias as réplicas foram vertidas em bandejas e as minhocas sobreviventes contadas e pesadas, por réplica. O ensaio é considerado válido se a mortalidade no controle for $\leq 10\%$. Os resultados foram expressos em concentração letal mediana (CL50) na qual ocorre mortalidade em 50% dos organismos testados. Para o cálculo foi utilizado o programa Trimmed Spearman Karber.

Os ensaios de brotamento 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 (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 (0,8 – 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 réplica foi colocada em sacos plásticos repletos de ar ambiente e fechados com elástico 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 (biomassa) as sementes germinadas por concentração-teste e controle. O ensaio foi considerado válido se o brotamento das sementes no controle for $\geq 80\%$.

Os resultados foram expressos em concentração efetiva mediana (CE50) na qual ocorre a inibição de 50% do brotamento das sementes testadas. Para o cálculo foi utilizado o programa Trimmed Spearman Karber. A diferença significativa entre os valores foi avaliada através da sobreposição ou não dos Intervalos de Confiança de 95%. Se os limites de confiança da CE50 se sobrepuserem, a comparação foi realizada usando o erro padrão das diferenças médias (USEPA, 1985).

A porcentagem de inibição de germinação (%IG) foi calculada segundo a equação:

$$\% IG = \frac{GC - GA}{GC} \times 100 \text{ onde: } GC - \text{número de sementes germinadas no controle.}$$

GA - número de sementes germinadas na amostra.

Valores de %IG menor que 10% indicação de não toxicidade, valores entre 10 e 25 % indicativo de toxicidade moderada e acima de 25% indicativo de amostra fortemente tóxica (CHAMORRO et al., 2018).

As soluções-teste nas misturas foram realizadas nas proporções de 1:1, 1:2 e 2:1 de samário e lantânio. Os resultados foram expressos em Unidade Tóxica (UT) calculada por:

$$UT = \frac{\text{Concentração do Elemento na CE50 da Mistura}}{\text{CE50 Individual do Elemento}}$$

Se a soma das Unidades Tóxicas de cada elemento da mistura for =1 o efeito tóxico é aditivo. Se a soma das Unidades Tóxicas de cada elemento da mistura for >1 o efeito tóxico é sinérgico. Se a soma das Unidades Tóxicas de cada elemento da mistura for <1 o efeito tóxico é antagonico (PANOUILLERES et al., 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio agudo com lantânio foi observado efeito tóxico a partir de 1500 mg/kg, com CE50 1773,43 mg/kg, (IC_{95%} - 1726,37 – 1821,77) (Tabela 1). Clementino et al., (2018) realizaram ensaio agudo preliminares com lantânio, nas mesmas condições, e também observaram efeito tóxico a partir de 1500 mg/kg e CE50 = 1328,29 mg/kg (IC_{95%} 1285,98 – 1372,00).

Nos ensaios de brotamento de sementes de alface (*L. sativa*) lantânio (Tabela 1) foi menos tóxico do que samário. As biomassas por concentração-teste diminuíram com o aumento das concentrações, enquanto a %IG aumentou (Figura 1).

Nas misturas a CE50 do ensaio 1:1 foi significativamente diferente das demais misturas, que apresentaram valores similares e o efeito observado foi sinérgico (UT > 1).

Tabela 1: Resultados expressos em CE(I)50 e Unidade Tóxica (UT) dos ensaios de brotamento com sementes de *L. sativa* expostas a soluções sintéticas de samário (Sm) e lantânio (La). I.C.I. 95% = Intervalo de confiança de 95% Inferior e I.C.S. 95% = Intervalo de confiança de 95% Superior. Letras iguais não significativamente diferentes.

Elementos Misturas	<i>Lactuca sativa</i>			
	CE50 (mg/L)	I. C. I. (95%)	I. C. S. (95%)	UT
Samário (Sm)	258,55	219,83	304,10	
Lantânio (La)	832,65	747,33	927,70	
Sm + La 1:1	585,30 ^a	551,99	620,62	1,483
Sm + La 1:2	680,39 ^b	622,99	743,08	1,422
Sm + La 2:1	766,18 ^b	683,73	858,56	2,282

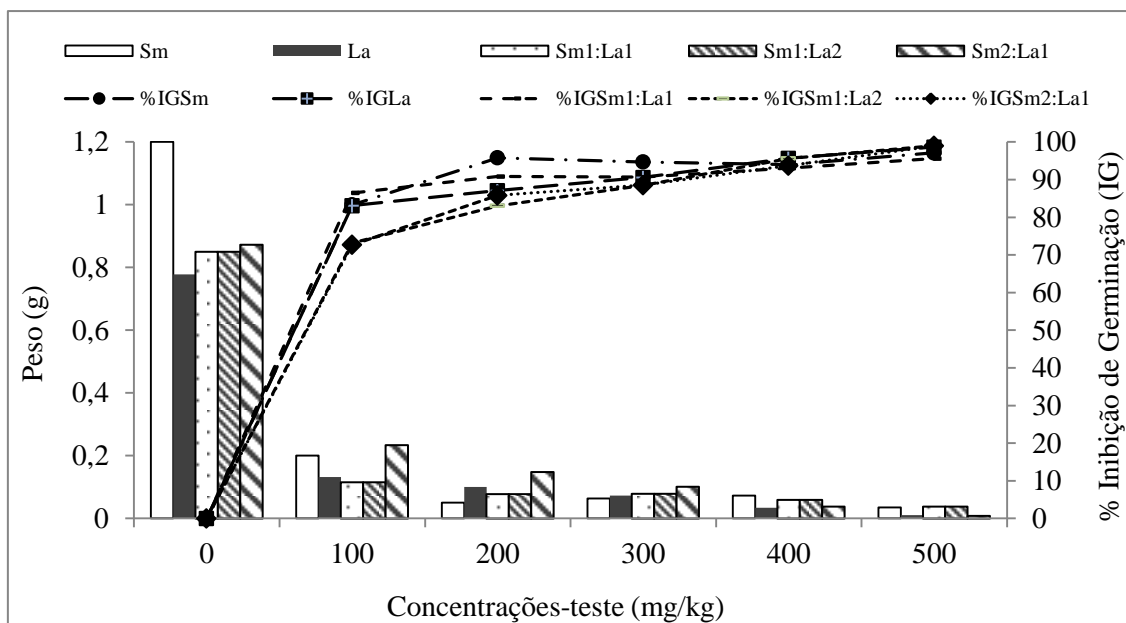


Figura 1: Biomassa das sementes brotadas nos ensaios com *L. sativa* em solo artificial tropical (SAT) e % de Inibição de Germinação. Sm – samário, La – lantânio.

5. CONCLUSÕES

Para *L. sativa*, samário foi mais tóxico que lantânio. A biomassa das sementes germinadas (broto) diminuiu com o aumento das concentrações dos ETR, levando a um %IG indicativo de amostras fortemente tóxicas. Nas misturas o efeito observado foi sinérgico ($UT > 1$), e Sm parece potencializar os efeitos. Novos ensaios serão realizados individualmente e em misturas dos dois ETRs para *E. andrei*.

6. AGRADECIMENTOS

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

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTM - American Society for Testing and Materials. **Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the lumbricid earthworm *Eisenia fetida* and the enchytraeid potworm *Enchytraeus albidus***. E 1676. 2012. 32 p.

CHAMORRO, S.; BARATA, C.; PIÑA, B.; CASADO, M.; SCHWARZ, A.; SÁEZ, K.; VIDAL, G. Toxicological analysis of acid mine drainage by water quality and land use bioassays. **Mine Water Environ**, v. 37, p. 88-97. 2018.

CLEMENTINO, F.G.O.; EGLER, S.G.; ROLDÃO, T.M. Avaliação dos efeitos tóxicos em organismos terrestres expostos a soluções de dois elementos do grupo dos lantanídeos. In: **XXVI Jornada de Iniciação Científica e II Jornada de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação**. CETEM, Rio de Janeiro, RJ.

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.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. In: **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro, RJ, 1997. 212p.

GONZALEZ, V.; VIGNATI, D.; LEYVAL, C.; GIAMBERINI, L. Environmental fate and ecotoxicity of lanthanides: are they a uniform group beyond chemistry? **Environ. Intern.**, 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* L.)**. ISO 17126. 2005. p. 13.

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

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

PANOULLERES, M.; BOILLOT, C.; PERRODIN, Y. Study of combined effects of a peracetic acid-based disinfectant and surfactants contained in hospital effluents on *Daphnia similis*, *Ecotoxicology*, v. 16, p. 327-340, 2007.

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

USEPA – United States Environmental Protection Agency – **Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms**. EPA-600/4-85/013. 1985, 275 p.