

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS SOBRE A REPRODUÇÃO E O  
COMPORTAMENTO DO OLIGOQUETA *Eisenia andrei* EXPOSTOS A  
SOLUÇÕES DE DOIS ELEMENTOS TERRAS RARAS: SAMÁRIO E  
LANTÂNIO.**

**EFFECTS EVALUATION ON OLIGOQUETA *Eisenia andrei* REPRODUCTION  
AND BEHAVIOR EXPOSED TO SOLUTIONS OF TWO RARE EARTH  
ELEMENTS: SAMARIUM AND LANTHANUM.**

**Gabriel de Oliveira Santos**

Aluno de Graduação de Ciências Biológicas, 5º período, Universidade  
Estácio de Sá.

Período PIBIC /CETEM: Julho de 2019 a Julho de 2020.

gabrieloliveirasantos8@outlook.com

**Sílvia 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), compostos de 15 lantanídeos mais os elementos ítrio e escândio são utilizados pelas suas propriedades químicas, físicas, espectrométricas, magnéticas e luminescentes nos mais variados segmentos da indústria química e farmacêutica, na agricultura e em medicina. O Brasil possui a segunda maior reserva mundial de óxidos de terras raras. O aumento na sua utilização pode levar a uma disposição inadequada dessas substâncias acarretando impactos no ambiente. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos tóxicos dos ERT, lantânio ( $\text{La}^{3+}$ ) e samário ( $\text{Sm}^{3+}$ ), sobre a minhoca vermelha da Califórnia (*Eisenia andrei*). As soluções dos dois lantanídeos foram preparadas a partir de óxidos solubilizados em ácido nítrico. Os ensaios realizados avaliaram o comportamento de fuga e a reprodução dos organismos-teste expostos a cinco concentrações-teste dos ETR estudados. Os resultados com o ensaio de fuga, lantânio foi mais tóxico que samário. No ensaio de reprodução realizado para samário não foi obtido o valor de  $\text{CE}_{50}$  para a produção de juvenis. Novos ensaios serão realizados no futuro.

**Palavras-chave:** minhocas, toxicidade, samário, lantânio.

**ABSTRACT**

The Rare Earth Elements (REE), composed of 15 lanthanides plus the elements yttrium and scandium are used for their chemical, physical, spectrometric, magnetic and luminescent properties in the most varied segments of the chemical and pharmaceutical industry, in agriculture and medicine. Brazil has one of the 10 largest reserves of rare earth oxides in the world. The increase in their use may lead to an inadequate disposal of these substances causing impacts on the environment. The aim of the study was to evaluate the toxic effects of REE, lanthanum ( $\text{La}^{3+}$ ) and samarium ( $\text{Sm}^{3+}$ ), on the California red earthworm (*Eisenia andrei*). The solutions of the two lanthanides were prepared from oxides solubilized in nitric acid. The tests performed evaluated the avoidance behavior and the reproduction of the test organisms exposed to five test concentrations of the studied ETR. The results of avoidance tests, lanthanum was more toxic than samarium. In the reproduction test carried out for samarium, the  $\text{EC}_{50}$  value for the production of juveniles was not obtained. New trials will be carried out in the future.

**Keywords:** earthworms, toxicity, samarium, lanthanum.

## 1. INTRODUÇÃO

Os elementos terras raras são compostos por um conjunto de 15 lantanídeos, do lantânio ao lutécio, mais ítrio e escândio (MARTINS; ISOLANI, 2004). Esses elementos estão presentes nos minerais pesados, pertencentes ao grupo dos carbonatos, dos fosfatos, dos óxidos e dos silicatos (MARTINS; ISOLANI, 2004). Os ETR são utilizados na fabricação de produtos tecnológicos modernos, no desenvolvimento de veículos híbridos, produção de energia eólica e solar, no fracionamento de petróleo, dentre outros. Com a expansão das aplicações dos ETR, o risco desses elementos contaminarem o ambiente aumentou de modo considerável (ZIANI, 2015).

A China é o maior produtor e consumidor de ETR, seguida pelo Japão e os Estados Unidos (LOUREIRO; SANTOS, 2013). O Brasil tem a segunda maior reserva desses minérios, porém atualmente não a explora. As maiores reservas de ETR no Brasil se encontram nos estados do Amazonas e Minas Gerais.

Tendo em vista a crescente utilização dos ETR, são de suma importância o descarte e a reciclagem adequados, pois se realizados de maneira inadequada podem contaminar os ecossistemas terrestres e aquáticos.

O conhecimento atual sobre a ecotoxicologia dos ETR, ciência que estuda a relação de substâncias com o ambiente e os organismos que o habitam, e seu comportamento nos ecossistemas aquáticos e terrestres são insuficientes para a avaliação dos riscos relacionados a concentrações elevadas desses elementos. Portanto, é importante que estudos ecotoxicológicos sobre os ETR sejam cada vez mais realizados fornecendo informações sobre seus efeitos no ambiente, de modo a auxiliar na adoção de ações e legislações a fim de minimizar os possíveis impactos destas substâncias.

Como novos contaminantes emergentes não possuem regulamentação de valores de ingestão em seres humanos e orientadores ambientais, não são avaliados em programas de monitoramentos ambientais e de saúde pública, e seus mecanismos de toxicidade ambiental e humana são pouco compreendidos (GONZÁLEZ et al., 2014)

## 2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos de soluções sintéticas de lantânio ( $\text{La}^{3+}$ ) e samário ( $\text{Sm}^{3+}$ ), sobre a reprodução e comportamento de *Eisenia andrei* (minhoca vermelha da Califórnia) cultivados no LECOMIN/COPMA/CETEM.

## 3. METODOLOGIA

O cultivo do oligoqueta *Eisenia andrei* seguiu as normas ASTM E1676 (2012) e ISO 11268-2 (2012). Os organismos foram cultivados, em recipientes plásticos de aproximadamente 37 x 29 x 15 cm, contendo esterco curado (trocado a cada 30 dias), mantidos à temperatura de  $21 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 16h:8h claro-escuro. O solo utilizado nos ensaios foi natural, coletado em Seropédica (UFRRJ), classificado pela EMBRAPA Solos (RJ) como Argissolo vermelho amarelo (PVA), com os seguintes parâmetros físico-químicos, 605,5 g/ kg de areia, 106,7 g/ kg de silte e 287,7 g kg de argila, pH em água 5,7, matéria orgânica 8,3 g/ kg.

As soluções-testes foram preparadas com água deionizada a partir de uma solução-estoque de 50 g ETR/L, de acordo com as concentrações-teste utilizadas e o volume final das soluções-teste, de samário (Sm) e lantânio (La). As soluções-estoque foram preparadas a partir da solubilização de óxidos dos lantanídeos em ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) p.a. a 65%. O pH ácido das soluções-estoque foi ajustado para 5,5 a 6,5 antes das soluções-testes serem preparadas. O mesmo pH foi ajustado para as soluções-teste caso estivessem com outro valor.

As concentrações-teste utilizadas neste estudo foram definidas após a realização de ensaios agudos e obtenção das  $\text{CL}_{50}$ , 14 dias por ETR estudado, concentração letal mediana que causa mortalidade em 50% dos organismos testados comparadas ao controle com solo natural de

referência (ASTM, 2012). Tanto no ensaio de fuga como no de reprodução são avaliados efeitos subletais e deve ser evitada a mortalidade dos organismos, já que preferencialmente os efeitos avaliados são comportamentais e biomassa e produção de juvenis, respectivamente (ABNT, 2011, ISO, 2012).

### 3.1. Organismo–Teste

A espécie *Eisenia andrei*, é um bioindicador amplamente utilizado em ensaios ecotoxicológicos, com ampla capacidade de adaptação a grandes variações de umidade e temperatura e possuem respiração cutânea (DOMÍNGUEZ et al., 2005).

### 3.2. Ensaio de Fuga

O ensaio de fuga avalia a função de habitat de solos e a influência de contaminantes e de substâncias químicas no comportamento de oligoquetas (ABNT, 2011). O ensaio foi realizado com três replicatas por solo-teste e controle. Para as concentrações-teste e controles foram pesados lotes de 1800 g peso seco, equivalente a 600 g para cada uma das três replicatas, umedecidos com volume equivalente a 40% - 60% da Capacidade Máxima de Retenção de Água (CMRA). No início do ensaio, os recipientes-teste, caixas plásticas, foram divididos em duas seções iguais por meio de um divisor introduzido verticalmente. Uma das metades do recipiente foi preenchida com solo-teste e a outra metade com solo–controle. Para a validação do ensaio foi realizado o ensaio duplo-controle, onde em ambas as metades foram colocadas solo artificial tropical (SAT). Após o separador foi removido e foram depositadas 10 minhocas adultas (clitelo desenvolvido e peso entre 300 e 600 mg) na linha de separação dos solos. Os recipientes foram cobertos com tampa transparente perfuradas para permitir a troca gasosa com o ambiente e penetração de luminosidade. Eles foram colocados na câmara de B.O.D. (Tecnal TE-401), mantida com temperatura de  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro na mesma posição. O ensaio tem duração de 48 horas, ao final deste período, o solo-controle e o solo-teste em cada recipiente foram separados pela inserção do divisor, que foi inserido antes do recipiente ser removido da câmara de B.O.D. Cada tipo de solo foi removido separadamente e contabilizadas as minhocas presentes. Minhocas que escaparam ou morreram são consideradas perdidas. O pH foi medido em H<sub>2</sub>O no início e final do ensaio (EMPRAPA, 1997).

Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  DP (Desvio Padrão) de organismos nos solos-teste por replicata, pelo cálculo do percentual de fuga segundo a fórmula:

$$X = (nc - nt/N) \times 100$$

Onde: X = porcentagem de fuga; nc = número de indivíduos no solo-controle por replicata ou em todas as replicatas no controle; nt = número de indivíduos no solo-teste por replicata ou em todas as replicatas de solos-teste; N = número total de minhocas expostas por replicata ou total no controle. Se todas as minhocas forem encontradas no solo-teste a porcentagem de fuga é considerada 0%.

E pela CE<sub>50</sub>, 48 h, concentração efetiva mediana que causa uma resposta comportamental em 50% dos organismos testados, a CE<sub>50</sub> tem relação inversa com a toxicidade, quanto menor seu valor, maior é a toxicidade.

A validação do ensaio depende de dois fatores: morte ou perda de organismo-teste  $\leq$  10% por concentração-teste, sendo uma por replicata, e nos ensaios duplos-controles a distribuição dos organismos deverá ser aproximadamente igual em ambos os lados. Nas análises do ensaio duplo será aplicado um teste de hipóteses para verificação da diferença entre as médias.

### 3.3. Ensaio de Reprodução

O ensaio avalia o efeito subletal na reprodução de minhocas adultas da espécie *Eisenia andrei*, por um período total de 2 meses, expostas a contaminantes e substâncias químicas, e são registradas observações sobre a sobrevivência e biomassa das minhocas adultas em 30 dias e produção de jovens em 60 dias (ISO, 2012).

Para realização do ensaio foram utilizadas minhocas adultas com massa entre 300 e 600 mg. Adicionado 10 indivíduos para cada recipiente teste/controle, cobertos com filme plástico perfurado e presos por elástico. Foi realizada a reposição de água e alimento (10 g de esterco úmido) semanalmente. Os recipientes utilizados foram béqueres de vidro de 400 g com massa seca de substrato de 200 g. Eles foram mantidos com temperatura de  $20 \pm 2$  °C, e fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro.

Após quatro semanas, os indivíduos adultos foram removidos dos recipientes testes-controles e os efeitos na mortalidade e na biomassa foram medidos. O efeito na reprodução no final dos 60 dias foi medido com a contagem do número de juvenis nascidos por concentração-teste e controle. Os resultados obtidos nos solos-teste foram comparados com os do solo controle.

Para cada concentração foi calculada uma porcentagem de perda/aumento da biomassa dos adultos sobreviventes após quatro semanas e o número de juvenis produzidos após o outro período de quatro semanas.

Os resultados serão expressos pela média e desvio padrão dos resultados obtidos nos solos testes e solos controle e pela  $CE_{50}$ , 60 dias, concentração efetiva mediana que causa 50% de redução no nascimento de jovens comparada ao controle.

O ensaio é considerado válido quando a taxa de produção de juvenis é pelo menos 30 por réplica de controle, o coeficiente de variação da reprodução no controle não exceda 30% e a porcentagem de mortalidade dos adultos observadas no controle seja de  $\leq 10\%$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos ensaios de fuga nas concentrações-teste utilizadas estão descritos na Tabela 1. O comportamento de fuga foi observado a partir da segunda concentração testada em ambos os ETR, sendo mais acentuado em lantânio. Para samário foram necessárias concentrações-testes maiores para a obtenção da  $CE_{50}$  e o intervalo de confiança de 95% que foi de 852,44 mg/kg (768,39 – 945,67) e para lantânio, concentrações-teste menores, 365,93 mg/kg (333,26 – 401,80). Estes resultados demonstram que no ensaio de fuga o lantânio foi mais tóxico do que samário.

**Tabela 1:** Resultados dos ensaios de fuga com *Eisenia andrei* em solo natural com os elementos terras raras (ETR) estudados.

Concentração (mg/kg)	Samário			Concentração (mg/kg)	Lantânio		
	Organismos no solo-teste				Organismos no solo-teste		
	Média	Desvio padrão	% de fuga		Média	Desvio padrão	% de fuga
700	7	1,73	-40	300	7,33	2,08	-13
900	5	2,08	7	500	1,33	1,53	73
1100	0,33	0,58	93	700	0,33	0,58	93
1300	0,67	0,58	87	900	0,67	0,58	87
1500	0	0	100	1100	0,00	0,00	100

No ensaio de reprodução realizado com samário foram utilizadas as seguintes concentrações-teste – 0, 900, 1100, 1300, 1500 e 1700 mg/kg. Com os resultados obtidos não foi possível o cálculo da  $CE_{50}$  para a produção de juvenis nas concentrações-teste utilizadas.

## 5. CONCLUSÕES

No ensaio de fuga o lantânio foi mais tóxico do que samário. No ensaio de reprodução realizado para samário ainda não foi possível obter o valor de CE<sub>50</sub> para a produção de juvenis. Novos ensaios serão realizados no futuro.

## 6. AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Silvia Egler, por toda dedicação, orientação e paciência concedida a mim. Ao CNPq pela bolsa fornecida. Ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) pela infraestrutura. A Tamine Roldão por todo conhecimento cedido e pela assistência oferecida durante o projeto. Gisele Heidelmann pela parceria e ajuda no laboratório. A Ana Lúcia Morais e Marisa Nascimento pelas soluções cedidas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solo e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1 – Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*)**. ABNT 17512-1. 2011. 32 p.

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.

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.

DOMINGUEZ, J. State of the art and new perspectives on vermicomposting research. In: EDWARDS, C. A. **Earthworm ecology**. 2. ed. Florida: CRC Press, 2004. p. 401-424, 2004

GONZÁLEZ, V., VIGNATI, D.A.L., 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 — effects of pollutants on earthworms – Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei***. ISO 11268-2. 2012. 27 p.

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. **Química Nova**, v.28, p.111-117. 2004.

ZIANI, P.R. **Elementos terras-raras: características e aplicações**. UFSM, Rio Grande do Sul (Brasil). 2015. 35p.