

Avaliação da toxicidade de Elementos Terras Raras para diferentes bioindicadores

Toxicity evaluation of rare earth elements for different bioindicators

Tamine Martins Roldão
Bolsista PCI, Bióloga, M.Sc.

Silvia Gonçalves Egler
Supervisora, Bióloga, M.Sc.

Resumo

Nos últimos anos tem havido um crescente interesse pelos elementos terras raras (ETR) devido a suas aplicações variadas, principalmente em altas tecnologias. O maior uso destes elementos, leva ao aumento da probabilidade de contaminação ambiental, levando a necessidade de avaliações ecotoxicológicas dos ETR visando à proteção ambiental. O presente estudo visou avaliar o efeito de três ETR, sobre o brotamento, sobrevivência e biomassa de organismos terrestres pertencentes a dois níveis tróficos. Foram estudados os efeitos tóxicos de samário, lantânio e neodímio sobre a sobrevivência de *Eisenia andrei* (oligoqueta detritívoro) e brotamento de sementes de *Lactuca sativa* (produtor) e a biomassa de ambos. Samário foi o elemento menos tóxico para ambos os organismos. Lantânio foi o elemento mais tóxico para a sobrevivência de *E. andrei*. Em relação a biomassa, neodímio foi o elemento menos tóxico. Para *L. sativa* neodímio foi o elemento mais tóxico em relação ao brotamento. Foi observado um efeito subletal (biomassa) nos ensaios com *L. sativa*, sendo lantânio o elemento mais tóxico. Produtores foram mais sensíveis aos ETR em estudo do que detritívoros. Novos ensaios ainda serão realizados para avaliar o efeito de misturas de samário, lantânio e neodímio para as diferentes espécies estudadas.

Palavras chave: elementos terras raras, toxicidade, bioindicadores.

Abstract

In recent years there has been a growing interest in rare earth elements (REE) due to their varied applications, mainly in high technologies. The greater use of these elements leads to an increased in the likelihood of environmental contamination, leading to the need for ecotoxicological assessments of REE, aiming at environmental protection. The present study aimed to evaluate the effect of three REE, on the growth and survival of terrestrial organisms belonging to two trophic levels. The toxic effects of samarium, lanthanum and neodymium on the survival of *Eisenia andrei* (detritivore earthworm) and seedlings of *Lactuca sativa* (producer) were studied. Samarium was the least toxic element for both organisms. Lanthanum was the most toxic element for the survival of *E. andrei*. In relation to biomass, neodymium was the least toxic element for this organism. For *L. sativa* neodymium was the most toxic element in relation to germination. A sublethal effect (biomass) was observed in the tests with *L. sativa*, with lanthanum being the most toxic element. Producers were more sensitive to ETR under study than detritivores. New trials will still be carried out to evaluate the effect of mixtures of samarium, lanthanum and neodymium for the different species studied.

Key words: rare earth elements, toxicity, bioindicators.

1. Introdução

Os elementos terras raras são um grupo de elementos da tabela periódica composto pelos 15 lantanídeos (do lantânio ao lutécio) além do escândio e ítrio, totalizando 17 elementos químicos situados no grupo III B (BARRY; MEEHAN, 2000). Estes elementos estão presentes naturalmente em vários países, no entanto, a China é o país que detém as maiores reservas de ETR e também é o maior produtor e consumidor mundial de óxidos de ETR. Estes elementos possuem propriedades espectroscópicas e magnéticas consideradas únicas, levando a uma ampla variedade de aplicações, principalmente em altas tecnologias, o que vem causando o aumento da demanda e consequentemente do interesse por estes elementos (MARTINS; ISOLANI, 2005).

A aplicação na agricultura (em fertilizantes), descarte inapropriado de materiais contendo estes elementos, a mineração e o processamento são as principais fontes de poluição por ETR. Esta poluição em conjunto com a baixa reciclagem, pode gerar acúmulo destes elementos no meio ambiente (CARPENTER et al., 2015). O acúmulo ambiental de ETR pode causar o aumento dos efeitos tóxicos em regiões contaminadas, tornando essencial o biomonitoramento e avaliação ecotoxicológica dos ETR, no entanto, os impactos ambientais e efeitos ecotoxicológicos dos ETR ainda são pouco conhecidos (BARRY; MEEHAN, 2000).

Sabe-se que os ETR têm a capacidade de acumular em organismos vivos (ocupar sítios de ligação de cálcio e magnésio), solo e ecossistemas hídricos, além de interagir com outros elementos e influenciar em processos biológicos e funções celulares. Como no exemplo do cálcio, os ETR podem substituir elementos essenciais no organismo, interferindo no metabolismo e reações celulares, podendo levar a efeitos tóxicos, no entanto a forma como essa interação ocorre, tanto no meio ambiente quanto nos organismos vivos, ainda não foi completamente compreendida (GONZÁLEZ et al., 2015).

Já foram relatados efeitos positivos de ETR no crescimento de vegetais em cultivo, principalmente quando estes organismos estão passando por estresse hídrico levando a aplicação destes ETR (mais usados lantânio, cério, praseodímio e neodímio) nos cultivos junto com os fertilizantes, da mesma forma eles são utilizados na pecuária junto com o alimento, visando a melhora dos organismos cultivados (BARRY; MEEHAN, 2000). Apesar de serem aplicados na agricultura, foi relatado que a exposição a altas concentrações de ETR podem causar efeitos como a redução do crescimento e redução da germinação de sementes (parâmetros que serão avaliados neste estudo) (CARPENTER et al., 2015).

Atualmente há poucos registros de contaminação por lantanídeos, no entanto a exposição ambiental e humana vem aumentando (PAGANOA et al., 2015) e já podem ser encontrados registros de bioacumulação em solos, vegetais e em cabelo humano (HERRMANN et al., 2016).

A ecotoxicologia é uma subárea da toxicologia ambiental que tem como objetivo avaliar os efeitos gerados por contaminantes na biota, levando em consideração a influencia de fatores naturais e antrópicos. É utilizada como ferramenta para avaliação de risco, auxiliando na criação de valores orientadores para disposição ambiental e na tomada de decisões visando a preservação do meio ambiente (COSTA et al., 2008). Para a realização destes estudos são aplicados, além das análises físico-químicas, bioensaios de toxicidade, uma vez que análises físico-

químicas não possuem a capacidade de elucidar qual substância ou misturas causam o efeito tóxico, e nem como a amostra influencia os organismos expostos, assim as duas ferramentas são complementares para a realização de uma avaliação ambiental (COSTA et al., 2008).

2. Objetivos

Avaliar o efeito de lantânio, samário e neodímio, elementos terras raras, sobre a sobrevivência, brotamento e biomassa de organismos terrestres bioindicadores de ecotoxicidade.

3. Material e Métodos

Os ensaios de ecotoxicidade foram realizados com soluções de óxidos de lantânio (III – La³⁺), samário (III – Sm³⁺) e neodímio (III – Nd³⁺), solubilizados em ácido nítrico e diluídos em água deionizada. O pH ácido das soluções-estoque (cerca de 1,0) foi ajustado antes e após a preparação da diluição-teste com água deionizada para $6,0 \pm 0,5$. Este valor evita a precipitação do ETR na diluição-teste. Os organismos testes utilizados neste estudo foram: *Eisenia andrei*, ensaio agudo, um anelídeo pertencente à macrofauna de solos conhecido como minhoca vermelha da Califórnia, e sementes de *Lactuca sativa*, ensaio de brotamento, uma espécie de alface amplamente consumida, ambos bioindicadores padronizados e amplamente utilizados por pesquisadores da área.

Os resultados foram expressos em CL(I)₅₀ (concentração letal mediana inicial que causou toxicidade em 50% dos organismos testados comparados ao controle) e CI₅₀ (concentração de redução da biomassa em 50% dos organismos testados comparados ao controle). A CL₅₀ e a CI₅₀ têm relação inversa com a toxicidade, quanto menor seu valor, maior é a toxicidade. As análises estatísticas foram realizadas nos programas Excel 2010, *Trimmed Spearman-Kärber* (para mortalidade) e *Linear Interpolation* (para biomassa).

O cultivo de *E. andrei* foi realizado em esterco bovino curado, trocado mensalmente, com temperatura constante de 20 ± 2 °C, e fotoperíodo de 16 h luz e 8 h escuro. Os ensaios agudos com *E. andrei*, seguiram a norma ASTM 1676/2004. As amostras foram preparadas com solo artificial tropical - SAT (ASTM, 2004), umedecidos com soluções dos ETR em estudo entre 40 e 60% da CMRA (capacidade máxima de retenção de água), em cinco diferentes concentrações, mais o controle apenas com água deionizada. Os ensaios foram realizados em triplicata e distribuídos em recipientes-teste de 600 mL, devidamente identificados e contendo 200 g de amostra/réplica/diluição-teste (ASTM, 2004). Dez minhocas adultas pesando entre 300 e 600 mg, e cliteladas (estrutura reprodutora desenvolvida), foram dispostas na superfície da amostra. Após a disposição das minhocas, os béqueres foram fechados com filme plástico perfurado para permitir a ventilação. Em seguida cada réplica foi pesada, possibilitando a reposição de água, por comparação com o peso inicial. Os ensaios tiveram duração de 14 dias, nas mesmas condições de cultivo, mas sem alimentação e os parâmetros avaliados foram: mortalidade e efeitos sub-letais (biomassa). Ao fim dos ensaios as minhocas sobreviventes foram contadas, lavadas, secas e pesadas. Os ensaios foram considerados válidos, quando a mortalidade no controle foi $\leq 10\%$

dos organismos expostos. A concentração letal mediana (CL_{50}), baseada na mortalidade dos organismos, foi calculada através do programa *Trimmed Spearman-Kärber*.

Os ensaios de brotamento com alface da espécie *Lactuca sativa L.* seguiram a norma da ISO 17126 (2005). O meio de cultivo utilizado como controle e nas diluições-teste foi areia de quartzo. Para a preparação das amostras-testes, pratos de 15 cm de diâmetro foram cobertos com o meio de crescimento (100 gramas de areia de granulometria de 0,4 e 0,8 mm), sobre os quais 40 sementes viáveis foram depositadas e cobertas com 90 g de meio de cobertura (areia de granulometria de 0,8 a 1,4 mm). Em seguida, as amostras foram umedecidas até aproximadamente 85% da CMRA, com soluções de cinco concentrações dos ETR em estudo, com pH previamente medidos, os controles receberam apenas água deionizada. Após isso, as réplicas foram dispostas em sacos plásticos repletos de ar ambiente, e colocadas aleatoriamente em câmara de B.O.D., onde permaneceram em temperatura de 20 ± 2 °C e no escuro por 48h. As seguintes 120 h do ensaio foram submetidas a um fotoperíodo foi de 16 h de luz e 8 h de escuro. Diariamente o ar dos sacos foi renovado e a disposição das réplicas mudada aleatoriamente. Os ensaios foram realizados em triplicata. Para que o ensaio fosse considerado válido, 80% das sementes do controle devem germinar. Ao final, as sementes brotadas foram contadas, pesadas (peso úmido) e foi calculada a média \pm desvio padrão por diluição. Com os resultados obtidos, a CE_{50} foi calculada com o programa *Trimmed Spearman-Kärber* e a CI_{50} (concentração de inibição do crescimento em 50% das sementes) para a biomassa úmida foi calculada com o programa Interpolação gráfica (ENVIRONMENTAL CANADA, 2005). A CE_{50} e CI_{50} tem relação inversa com a toxicidade, quanto menor seu valor, maior é a toxicidade.

A diferença significativa entre os valores de CL_{50} , CE_{50} e CI_{50} nos ensaios foi avaliada através da sobreposição ou não dos Intervalos de Confiança de 95%. Se os limites dos intervalos de confiança das CL_{50} e CE_{50} se sobrepuassem, a comparação foi realizada usando o erro padrão das diferenças médias (USEPA, 1985).

4. Resultados Preliminares e Discussão

De acordo com a norma da EMBRAPA (1997) o pH das amostras de todos os ensaios foi medido em água e se manteve entre 5,5 e 6,5. Já no que diz respeito a umidade das amostras foi mantida entre 40 e 60% da CMRA (ISO, 2005).

A Tabela 1 apresenta os resultados dos ensaios agudos realizados com o bioindicador *E. andrei*. No que diz respeito aos resultados de mortalidade nos ensaios agudos de *E. andrei* (Tabela 1 – A) foi possível observar que lantânio foi o elemento mais tóxico, seguido por neodímio e o samário foi o elemento menos tóxico uma vez que não houve similaridade estatística entre os resultados obtidos. De acordo com Herrmann e colaboradores (2016) em um estudo com *Lumbriculus variegatus* a CL_{50} obtida foi de 18,8 mg/L para lantânio, indicando que a espécie terrestre seria menos sensível que a aquática ao ETR.

Em relação a biomassa (Tabela 1 – B), samário e lantânio apresentaram resultados similares e mais tóxicos que neodímio.

Tabela 1. Resultado dos ensaios ecotoxicológicos agudos de samário, lantânio e neodímio para o bioindicador *E. andrei*, nos parâmetros mortalidade (A) e biomassa (B). I.C.I = intervalo de confiança inferior, I.C.S. = intervalo de confiança superior, letras iguais = indicam diferenças não significativas entre os resultados.

(A)	Mortalidade			(B)	Biomassa		
	Elementos	CL ₅₀ (mg/kg)	I.C. I. (95%)		I. C. S. (95%)	CI ₅₀ (mg/kg)	I.C. I. (95%)
Samário	2003,80 ^a	1985,37	2022,41	1863,13 ^{a,d}	1691,94	2268,25	
Lantânio	1773,43 ^b	1726,37	1821,77	1685,08 ^d	1661,04	1700,00	
Neodímio	1890,08 ^c	1826,21	1956,18	2275,66 ^e	2000,00	2300,00	

Não houve diferença significativa entre os resultados de samário (tabela 1 – A e B) quando comparados os parâmetros mortalidade e biomassa, em lantânio a biomassa foi o parâmetro mais sensível quando comparado à mortalidade, indicando que houve um efeito subletal significativo, em neodímio a mortalidade foi o parâmetro mais sensível.

Os resultados obtidos nos ensaios com *L. sativa* demonstraram que no brotamento (Tabela 2 – A), samário foi menos tóxico dos três ETR e lantânio e neodímio apresentaram resultados similares, sendo neodímio o elemento mais tóxico entre os dois.

Em relação a biomassa (Tabela 2 – B) samário foi similar a neodímio e lantânio o mais tóxico que os dois anteriores. Nos ensaios com *L. sativa* o parâmetro biomassa foi o mais sensível quando comparado a brotamento, o que sugere um efeito subletal significativo nos ensaios com *L. sativa*. Estes resultados divergem de Carpenter e colaboradores (2015) que não encontraram efeito na porcentagem e tempo de germinação de diferentes vegetais expostos a ETR.

Tabela 2. Resultado dos ensaios ecotoxicológicos de brotamento com samário, lantânio e neodímio para o bioindicador *L. sativa*, nos parâmetros brotamento (A) e biomassa (B). I.C.I = intervalo de confiança inferior, I.C.S. = intervalo de confiança superior, letras iguais = indicam diferenças não significativas entre os resultados.

(A)	Brotamento			(B)	Biomassa		
	Elementos	CE ₅₀ (mg/kg)	I. C. I. (95%)		I. C. S. (95%)	CI ₅₀ (mg/kg)	I.C. I. (95%)
Samário	917,35 ^f	848,63	991,63	78,50 ^h	73,59	83,11	
Lantânio	832,65 ^{f,g}	747,33	927,70	61,39 ⁱ	58,25	66,82	
Neodímio	753,02 ^g	678,24	836,05	80,32 ^h	77,67	83,30	

Quando comparados os dois bioindicadores terrestres (Figura 1), o produtor *L. sativa* se mostrou mais sensível aos ETR em estudo que o detritívoro *E. andrei*, mesmo que a exposição de *E. andrei* tenha ocorrido por um período maior de tempo e que lantanídeos sejam aplicados junto a fertilizantes para estimular o crescimento de vegetais (BARRY; MEEHAN, 2000). É interessante ressaltar que enquanto o elemento mais tóxico para *E. andrei* foi o lantânio [similar ao ocorrido no estudo de Roldão e Egler (2018)], onde lantânio foi mais tóxico para as microalgas aquáticas dulcícolas do que os demais elementos estudados], o elemento mais tóxico para *L. sativa* foi neodímio, o mesmo ocorreu em Roldão e Egler (2018) onde neodímio foi o elemento mais tóxico para o consumidor primário dulcícola o microcrustáceo *D. similis*. Tanto os resultados dos ensaios com *E. andrei* quanto os ensaios com *L. sativa* discordam dos resultados encontrados por González e colaboradores (2015) que citaram que a toxicidade dos lantanídeos aumentaria com o aumento do número atômico.

5. Conclusão

Samário foi o elemento menos tóxico para ambos os organismos. Lantânio foi o elemento mais tóxico para *E. andrei*, com relação a mortalidade seguido por neodímio. Já com relação a biomassa, neodímio foi o elemento menos tóxico. Quando comparados os parâmetros mortalidade e biomassa, no caso do lantânio a biomassa foi o parâmetro mais sensível quando comparado a mortalidade para *E. andrei*, indicando que houve um efeito subletal significativo. Para *L. sativa* neodímio foi o elemento mais tóxico em relação ao brotamento entre os três ETR estudados. O parâmetro biomassa foi muito mais sensível quando comparado a brotamento, o que sugere um efeito subletal significativo nos ensaios com *L. sativa*, principalmente em relação a lantânio que foi o elemento mais tóxico. O nível trófico dos produtores, representado por *L. sativa* foi mais sensível aos ETR em estudo que o nível trófico dos detritívoros, representado por *E. andrei*. Para uma melhor compreensão do efeito dos lantanídeos sobre o brotamento de *L. sativa* e a sobrevivência de *E. andrei*, novos ensaios ainda serão realizados para avaliar o efeito de samário, lantânio e neodímio, individualmente e em mistura e, com isso, gerar uma melhor compreensão do efeito dos ETR sobre organismos responsáveis pela base da cadeia alimentar terrestre.

6. Agradecimentos

À M.Sc. S. Egler, pela supervisão durante o período da bolsa e pelos conhecimentos transmitidos a mim. À A. F. G. O. Clementino, G.O. Santos e G. Heidelmann pela assistência prestada durante a elaboração dos ensaios. À M. Nascimento e A. L. C. Moraes pelas soluções sintéticas fornecidas. À E. Giese pelo auxílio em discussões na fase de elaboração do projeto. Ao CETEM pela estrutura fornecida. Ao MCTIC em conjunto com o CNPq pela bolsa concedida.

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***. ASTM 1676-04, 2004.

BARRY, M. J.; MEEHAN, B. J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata*. **Chemosphere** v.41, p. 1669-1674, 2000.

CARPENTER, D.; BOUTIN, C.; ALLISON, J. E.; PARSONS, J. L.; ELLIS, D. M. Uptake and Effects of Six Rare Earth Elements (REEs) on Selected Native and Crop Species Growing in Contaminated Soils. **Plos One**. v.10, n. 6, p. 1 – 21. 2015.

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 – **Manual de métodos de análise de solo**. 2ª. Edição. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, MAPA. 1997. 212 p.

ENVIRONMENT CANADA – **Biological test methods. Test for measuring emergence and growth of terrestrial plants exposed to contaminants in soils**. Environmental Protection Series, EPS 1/RM/45. Ottawa, Ontario, 2005, 159 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.

HERRMANN, H.; NOLDE, J.; BERGER, S.; HEISE, S. Aquatic ecotoxicity of lanthanum – A review and an attempt to derive water and sediment quality criteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.124, p. 213-238. 2016.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Soil quality— determination of the effects of pollutants on soil flora—Screaming test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.)**. ISO 17126, 2005, 13p.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. *Terras Raras: Aplicações Industriais e Biológicas*. **Química Nova**. V.28, N.1, p.111 – 117. 2005.

PAGANO, G.; ALIBERTI, F.; GUIDA, M.; ORAL, R.; SICILIANO, A.; TRIFUOGGI, M.; TOMMASI, F. *Rare earth elements in human and animal health: State of art and research priorities*. **Environmental Research**. v. 142, p. 215 -226. 2015.

ROLDÃO, T. M.; EGLER, S. G.. Avaliação da toxicidade de dois elementos do grupo dos lantanídeos para organismos aquáticos. In: **VI Jornada do Programa de Capacitação Institucional – PCI/CETEM**. 2018. 8 p.

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.