

# **Avaliação da biodisponibilidade de samário e lantânio para dois organismos terrestres expostos a solo natural contaminado com soluções sintéticas**

## **Evaluation of the bioavailability of samarium and lanthanum for two terrestrial organisms exposed to natural soil contaminated with synthetic solutions**

**Gisele Petronilho Heidelmann**  
Bolsista PCI, Bióloga.

**Silvia Gonçalves Egler**  
Supervisora, Bióloga, D. Sc.

### **Resumo**

Os elementos terras raras (ETR) são um grupo de elementos químicos com grande aplicabilidade em alta tecnologia, medicina e agricultura. Este uso aumenta a probabilidade de exposição e contaminação ambiental, tornando fundamental seu estudo ecotoxicológico em organismos e ecossistemas. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito tóxico de Lantânio (La) e Samário (Sm), impregnados em solo natural, sobre a sobrevivência e reprodução dos oligoquetas *Eisenia andrei*, um organismo base da cadeia alimentar terrestre. Nos ensaios de reprodução os elementos Sm e La não apresentaram efeito letal sobre os organismos. Houve redução no número de ovos e filhotes para ambos os elementos à medida que a concentração aumentou, embora lantânio tenha se mostrado mais tóxico que samário, apresentando um efeito adverso com uma concentração menor.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia, elementos terras raras, *eisenia andrei*.

### **Abstract**

Rare earth elements (REE) are a group of chemical elements with wide applicability in high technology, medicine, and agriculture. This use increases the probability of exposure and environmental contamination, making its ecotoxicological study in organisms and ecosystems essential. Thus, the present work aimed to evaluate the toxic effect of lanthanum (La) and samarium (Sm), impregnated in natural soil, on the survival and reproduction of *Eisenia andrei* oligochaetes, a base organism of the terrestrial food chain. In the reproduction assays, the Sm and La elements did not show a lethal effect on the organisms. There was a reduction in the number of eggs and hatchlings for both elements as the concentration increased, although lanthanum was shown to be more toxic than samarium, showing an adverse effect at a lower concentration.

**Key words:** ecotoxicology, rare earth elements, *eisenia andrei*.

## 1. Introdução

A Ecotoxicologia vem se mostrando de grande relevância, uma vez que através dela pode-se conhecer os efeitos tóxicos que poluentes naturais ou sintéticos, lançados no meio ambiente, podem ter sobre indivíduos, populações e comunidades de organismos vivos.

Alguns desses poluentes são artificiais, e outros, apesar de terem ocorrência natural, tiveram sua concentração aumentada no meio ambiente, tornando-se motivo de apreensão, dada a alta concentração que é encontrada em alguns locais e a capacidade de provocar danos aos seres vivos. Os Elementos Terras Raras são um ótimo exemplo disso, já que podem se acumular no tecido de organismos vivos causando disfunções fisiológicas (PASSAGLI, 2018; TRUHAUT, 1977).

Para identificar e quantificar os riscos resultantes da exposição de seres vivos a esses agentes tóxicos, determinando quantitativamente os potenciais efeitos sobre o meio ambiente, são realizados ensaios de toxicidade. Para isso, as condições de exposição, o indivíduo exposto e a determinação dos efeitos gerados pela exposição crônica e/ou aguda são realizados sob um elevado grau de controle e os resultados obtidos fornecem dados importantes na demonstração de um efeito adverso observado em animais de laboratório, que podem estar relacionados a organismos subsequentes na cadeia alimentar e conseqüentemente, os humanos, podendo assim prever um possível desequilíbrio ecológico (EATON; GILBERT, 2008).

Os ensaios agudos são realizados com objetivo de avaliar os efeitos de agentes tóxicos sobre espécies aquáticas e terrestres, durante um curto período de vida do organismo-teste. Através deles, pode-se avaliar a dose ou concentração na qual o contaminante pode gerar uma resposta específica capaz de ser mensurada no organismo-teste ou população, em um curto período (24 a 96h, normalmente). Em contrapartida, ensaios crônicos determinam os efeitos sobre o organismo por um período que abrange parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste, avaliando os possíveis efeitos tóxicos de substâncias químicas sob exposições prolongadas a concentrações que embora permitam a sobrevivência do organismo, afetam suas funções biológicas (LAVANDEIRA, 2014; COSTA et al., 2008).

Os elementos terras raras (ETR) apesar de terem ocorrência natural, vem se concentrando no meio ambiente, pois possuem baixa mobilidade, e devido a sua grande aplicabilidade em alta tecnologia, descarte inadequado, mineração e uso em medicina, podem provocar danos aos seres vivos (MECHI; SANCHES, 2010; SILVA, 2007). São compostos por 17 elementos químicos, sendo 15 do grupo dos lantanídeos, do lantânio (La) até o lutécio (Lu), acrescidos de dois metais de transição, o ítrio e o escândio. Os ETR possuem grande semelhança química com o cálcio e magnésio e alta compatibilidade com grupos fosfato de macromoléculas biológicas, fazendo com que interajam com os sistemas biológicos dependentes desses elementos resultando em toxicidade, comprometendo suas funções (BARRY; MEEHAN, 2000).

Os ETRs são encontrados em minerais dos grupos da monazita (Ce, La) PO<sub>4</sub>, bastnaesita (Ce, La) CO<sub>3</sub>F, argilas iônicas portadoras de ETRs e xenotímio (YPO<sub>4</sub>), e possuem diversas aplicações industriais, estando presentes em produtos químicos, metalúrgicos, cerâmicos, óticos e eletrônicos, sendo utilizados como matéria prima para

itens tecnológicos como turbinas para energia eólica, microscópios eletrônicos, filmes para RX, baterias, catalisadores e na medicina como meio de contraste e como isótopo radioativo para tratamento de câncer ósseo (ANDRADE, 2014; ROGOWSKA et al., 2018).

Alguns estudos realizados avaliando seus efeitos sobre biotas têm demonstrado que podem ser positivos ou negativos sobre vegetais, no entanto, o número de estudos sobre os efeitos dos ETRs sobre ambientes terrestres ainda é escasso. Visando a carência de dados sobre o efeito tóxico desses elementos sobre a biota terrestre, é de extrema importância o desenvolvimento de pesquisas na área, visando a preservação dos ecossistemas. Sendo assim, para esse estudo foram realizados bioensaios de toxicidade, padronizados nacional e internacionalmente, utilizando organismo terrestre bioindicador, com objetivo de avaliar o tipo e intensidade dos efeitos causados por Lantânio e Samário, sobre a sobrevivência e reprodução dos organismos (COSTA et al., 2008).

A biodisponibilidade dos ETR no solo pode ser influenciada por fatores como pH, presença de compostos orgânicos e inorgânicos, potencial de oxi-redução (Eh) e níveis de fertilizantes (HU et al., 2002).

## 2. Objetivos

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito tóxico sobre a sobrevivência e reprodução do oligoqueta *Eisenia andrei* (minhoca vermelha da Califórnia), utilizando ensaios crônicos, expostos a soluções sintéticas de samário (Sm) e lantânio (La), impregnadas em solo natural.

## 3. Material e Métodos

Para o estudo foi utilizado o organismo teste, *Eisenia andrei* (Minhoca Vermelha da Califórnia), organismo detritívoro, cultivados no LECOMIN/COPMA/CETEM. Este organismo é um bioindicador padronizado internacional e nacionalmente para análises ecotoxicológicas e utilizado em larga escala por pesquisadores da área (PEREIRA, 2018; SOUSA et al., 2014).

As soluções sintéticas de ETRs foram preparadas a partir de óxidos de Samário ( $\text{Sm}_2\text{O}_3$ , marca PIDC, CAS# 7440-19-9) e Lantânio ( $\text{La}_2\text{O}_3$ , marca PIDC, CAS# 1312-81-8), solubilizados em ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ , marca Qhemis, CAS# 7697-37-2), obtendo como concentração final a solução-estoque de 50 g/L. As soluções-teste para os ensaios foram feitas utilizando água deionizada e diferentes concentrações das soluções-estoque.

O solo natural foi coletado em Seropédica (UFRRJ), na borda de um plantio de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) com o solo coberto por forrageiras. Para isso, foram retiradas as forrageiras e coletados os 20 cm superficiais. O solo foi classificado pelo laboratório da Embrapa Solos (RJ) como Argissolo vermelho amarelo (PVA), segundo o Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos (SiBCS), e 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, 5,1 de valor de pH em água e 10,8 g/kg de matéria

orgânica (EMBRAPA, 2018). Em laboratório, as amostras foram secas à temperatura ambiente, desagregadas, peneiradas a 2 mm (para remoção de raízes e outros detritos maiores), disposta em pilhas horizontais e quarteadas em subamostras de 5 kg

O cultivo e os ensaios com o oligoqueta *Eisenia andrei* seguiram a norma ISO 11268-2 (ISO, 2012). Os organismos foram cultivados, em esterco curado, trocado a cada 30 dias. Para a realização do ensaio crônico, de reprodução e sobrevivência, que avalia o efeito letal e subletal, foram utilizados organismos adultos, com clitelo bem desenvolvido e massa individual entre 300 mg e 600 mg. No dia zero (T<sub>0</sub>) anterior ao início do ensaio as minhocas foram lavadas em água deionizada, secas e pesadas individualmente. Em seguida, separadas em lotes de 10 organismos de massa similar, 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 T<sub>0</sub>, o solo natural (SN) foi dopado 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 (T<sub>1</sub>) foram aferidos os valores de pH de todos os lotes de solos-teste e controle, em água deionizada (solo 1: água 2,5) (EMBRAPA, 1997), devendo o valor do controle estar entre  $6,0 \pm 0,5$  e o das amostras  $\text{pH} \geq 5$ . Os lotes dos solos-teste e do controle foram divididos em três réplicas de 200 g e dispostas em béqueres de vidro de 1000 mL. A distribuição dos grupos de minhocas por solo-controle e testes foi feita de forma aleatória, por meio de sorteio. As minhocas foram depositadas sobre a superfície da amostra, o recipiente-teste fechado com filme plástico e preso com elástico e em seguida, foram feitos furos para possibilitar a troca de ar. Os ensaios tiveram duração de 60 dias e foram mantidos à temperatura de  $20 \pm 2$  °C; fotoperíodo 16 h luz: 8 h escuro e semanalmente foi feita a reposição de umidade com adição de água deionizada e de alimento (10 mg de esterco curtido). Após 30 dias as oligoquetas adultas foram retiradas e os efeitos na mortalidade foram avaliados. Após 60 dias os casulos e juvenis foram contabilizados. Os resultados obtidos nos solos-teste foram comparados com os do solo controle. Para cada concentração, calculasse 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. As concentrações-teste utilizadas foram às mesmas nos dois ETR: controle, referência, 494, 692, 969, 1357 e 1900 mg/kg.

Os resultados do ensaio foram expressos por CL<sub>50</sub>, concentração letal mediana, que causa mortalidade em 50% dos organismos adultos testados e CE<sub>50</sub>, concentração efetiva mediana, que reduz a produção de juvenis a 50% comparada ao produzido no solo controle, através do número médio  $\pm$  desvio padrão de juvenis nascidos/solo-teste e controle. A CE<sub>50</sub> e CL<sub>50</sub> tem relação inversa com a toxicidade, ou seja, quanto menor o valor, maior a toxicidade.

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  $\leq 10\%$  (ISO, 2012).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o teste Shapiro-Wilks para verificação da normalidade e F-para duas amostras para variância; comparação entre amostras e controle os testes t-Student para amostras independentes com dados paramétricos e Mann-Whitney com não paramétricos; o programa utilizado foi o Excel 365 com suplemento *Real Statistics*. Para o cálculo das  $CL_{50}$  e respectivos Intervalos de Confiança de 95% (IC 95%) foi utilizado o programa *Trimmed Spearman Karber*.

#### 4. Resultados e Discussão

Foram realizados quatro ensaios de reprodução com *Eisenia andrei*, sendo dois com o elemento samário e dois com lantânio, entretanto apenas 2, sendo um de cada, foram considerados válidos baseados nos critérios de validação da ISO, 2012. Os ensaios realizados totalizaram 8 meses. O peso padronizado e o clitelo bem desenvolvido dos organismos adultos influenciaram nas tentativas de efetuar outros ensaios.

Com base nos resultados obtidos nos ensaios crônicos de Sm e La não houve efeito letal sobre os organismos adultos no controle e nas concentrações-teste, para ambos os elementos, ao final de 30 dias (Tabela1).

O número de filhotes apresentou declínio estatístico significativo para ambos os elementos, do controle (341 filhotes em Sm e 259 filhotes em La) até a última concentração de 1900 mg/kg (0 filhotes Sm e 4 filhotes La). Lantânio com  $CE_{50} = 264,35$  mg/kg (IC 95% = 255,89 – 283,50) foi mais tóxico para a espécie estudada do que Samário com  $CE_{50} = 301,34$  mg/kg (IC95% = 289,53 – 318,22), uma vez que obteve uma  $CE_{50}$  menor, o que significa que uma concentração menor de elemento terra rara foi suficiente para provocar uma resposta negativa ao organismo.

Li e colaboradores (2018) realizaram ensaios de reprodução com *E. andrei*, em solo natural padrão LUFA2.2, com La e obtiveram a  $CL_{50} = 1850$  mg/kg (IC95% = > 1088 < 3133) e  $CE_{50} = 529$  mg La/kg (IC95% = 295 – 762). Nossos resultados de  $CE_{50}$  foram mais tóxicos do que os obtidos pelos autores, provavelmente devido à diferença no tipo de substrato utilizado, que podem influenciar na biodisponibilidade dos ETR aos organismos (HU et al., 2002).

#### 5. Conclusões

A partir dos resultados obtidos, foram verificados efeitos tóxicos dos elementos sobre a reprodução de *Eisenia andrei*, com diminuição estatística significativa na produção de juvenis em concentrações-teste maiores. A toxicidade de lantânio foi maior do que de samário. Os resultados obtidos melhoram a compreensão dos efeitos dos ETR no meio ambiente contribuindo para o estabelecimento de valores norteadores futuros e no cálculo de risco ecológico.

Tabela 1. Resultados dos ensaios crônicos com samário e lantânio em argissolo vermelho amarelo. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ,  $\alpha = 0,05$ .

Concentração (mg/kg)	Samário						Lantânio							
	Total de adultos em 30 dias	Juvenis em 60 dias				Total de juvenis	Média e desvio padrão de juvenis em 60 dias	Total de adultos em 30 dias	Juvenis em 60 dias				Total de juvenis	Média e desvio padrão de juvenis em 60 dias
		Réplicas			1				2	3	Réplicas			
controle	30	135	101	105		341	114 ± 19	30			8 6	112	61	259
494	30	17	13	17	47	19 ± 6 *	30	0	2	0	2	1 ± 1 *		
692	30	26	32	18	76	25 ± 7 **	30	2 0	2	0	22	7 ± 11 **		
969	30	19	1	12	32	11 ± 9 **	30	3	4	0	7	2 ± 2 *		
1357	30	8	6	8	22	7 ± 1 *	30	0	0	5	5	2 ± 3 *		
1900	30	0	0	0	0	0	30	4	0	0	4	1 ± 2 *		

## 6. Agradecimentos

Gostaria de agradecer a minha supervisora Sílvia Egler, pela atenciosa orientação; À M. Nascimento e A. L. C. Moraes pelas soluções fornecidas; 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

ANDRADE, R.H.P.D. **Sumário Mineral** - Departamento Nacional de Produção Mineral, Brasília, v. 34, p.123-124, dez. 2014.

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

COSTA, C.R. et. al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

EATON, D.L.; GILBERT, S.G. Principles of toxicology. In: KLAASSEN.C.D. et al. (Eds). **Toxicology- The basic Science of poison**. 7 ed. p. 11-43. Kansas City, Kansas. Department of Pharmacology, Toxicology, and Therapeutics University of Kansas Medical Center, 2008, p. 11-43.

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.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. In: Sistema Brasileiro de Classificação de solos. Brasília, DF, 2018. 355 p.

HU, X., DING, Z.H., CHEN, Y., WANG, X., DAI, L. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the grown of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 48, p. 621 - 629. 2002.

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. p. 13.

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. 23 p.

LAVANDEIRA, F.M.F. **Ensaios toxicológicos pré-clínicos na avaliação da segurança de novos fármacos**, Dissertação (Mestrado) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa. 2014. 70 p.

LI, J.; Verweij R.A., van Gestel C.A.M. Lanthanum toxicity to five different species of soil invertebrates in relation to availability in soil. **Chemosphere** 193:412-420. 2018.

MECHI, A.; SANCHES, D.L. Impactos ambientais da mineração no Estado de São Paulo. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 209-220, 2010.

PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense – Teoria e Prática**. Millennium editora. 5ª Edição, cap. 1, 2018.

PEREIRA, V.C. **Aspectos gerais sobre espécie *Eisenia andrei* (minhoca vermelha) em ambiente controlado – observação**. Programa de Iniciação Científica – Unid Ciências Biológicas, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – USP. 2018.

ROGOWSKA, J.; OLKOWSKA, E.; RATAJCZYK, W.; WOLSKA, L. Gadolinium as a New Emerging Contaminant of Aquatic.

Environments. **Environmental Toxicology and Chemistry – Polônia**. v. 37, n. 6, p. 1523-1534, 2018.

SILVA, J.P.S. Impactos ambientais causados por mineração. Brasília: **Revista Espaço da Sophia**, v. 8, p. 1-13. 2007.

SOUSA, T.P. et al., Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, p. 168 - 172, 2014.

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