



AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS EM ORGANISMOS AQUÁTICOS EXPOSTOS A SOLUÇÕES DE LANTANÍDEOS: GADOLÍNIO E DISPRÓSIO

ROLDÃO, T.M.¹, HEIDELMANN, G.P.¹, EGLER, S.G.¹, CLEMENTINO, A.F.G.O.¹,
GIESE, E.C.¹, NASCIMENTO, M.¹

¹Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), Coordenação de Processos Metalúrgicos e Ambientais,
Laboratório de Ecotoxicologia. e-mail: segler@cetem.gov.br

RESUMO

Os elementos terras-raras (ETR) constituem elementos químicos do grupo dos lantanídeos, e mais dois metais de transição, ítrio e escândio, que possuem propriedades químicas semelhantes. Esses elementos são usados em produtos químicos, metalúrgicos, eletrônicos, ópticos, cerâmicos e também na medicina. O presente estudo avaliou o efeito tóxico agudo e crônico sobre dois grupos de organismos aquáticos, o microcrustáceo *Daphnia similis* (exposto a soluções-teste e controle com e sem quelantes) e as microalgas *Raphidocelis subcapitata* e *Ankistrodesmus falcatus*, respectivamente, expostos a solução sintética de gadolínio (Gd) e disprósio (Dy). As soluções dos dois lantanídeos foram preparadas a partir de óxidos solubilizados em ácido nítrico (HNO₃). Os cultivos e ensaios seguiram as normas ABNT NBR 12648/18 para as microalgas e ABNT 12713/16 para o microcrustáceo. As CE50 obtidas demonstraram que *D. similis* apresenta sensibilidade similar ao gadolínio e ao disprósio e que nas soluções-teste sem quelantes (EDTA e vitamina B12) os valores foram menores e pode estar associada a maior biodisponibilidade dos ETR nestas soluções-teste. As CI50 observadas para as microalgas demonstraram que *R. subcapitata* é mais sensível do que *A. falcatus* aos dois elementos de terras-raras testados.

PALAVRAS-CHAVE: elementos terras-raras, ecotoxicidade, organismos aquáticos.

ABSTRACT

Rare earth elements (REE) are chemical elements of the lanthanide group, and two transition metals, yttrium and scandium, having similar chemical properties. These elements are used in chemical products, metallurgical, electronic, optical, ceramic and also medicine. The present study evaluated the acute and chronic toxic effect on two groups of aquatic organisms, the microcrustacean *Daphnia similis* (exposed to test and control solutions with and without chelators) and the microalgae *Raphidocelis subcapitata* and *Ankistrodesmus falcatus*, respectively, exposed to the synthetic gadolinium solution (Gd) and dysprosium (Dy). The solutions of the two lanthanides were prepared from oxides solubilized in nitric acid (HNO₃). The cultures and tests followed the standards ABNT NBR 12648/18 for microalgae and ABNT 12713/16 for microcrustaceans. The EC50 obtained showed that *D. similis* shows similar sensitivity to gadolinium and dysprosium and that in the test solutions without chelators (EDTA and vitamin B12) the values were lower and may be associated with greater bioavailability of the REE in these test solutions. The IC50 observed for microalgae showed that *R. subcapitata* is more sensitive than *A. falcatus* to the two rare earth elements tested.

KEYWORDS: rare earth elements, ecotoxicity, aquatic organisms.

1. INTRODUÇÃO

Os lantanídeos são um grupo de 15 elementos químicos presentes na família VI B da tabela periódica, iniciando pelo lantânio (La) até o lutécio (Lu). Esses elementos em conjunto com dois metais de transição, o ítrio e o escândio, constituem os elementos terras-raras (ETR). Eles estão presentes em minerais dos grupos da bastnaesita (Ce, La) CO_3F , monazita (Ce, La) PO_4 , argilas iônicas portadoras de ETR e xenotímio (YPO_4) (Andrade, 2014). Estes elementos possuem inúmeras aplicações industriais e estão presentes em produtos químicos, metalúrgicos, óticos, eletrônicos e cerâmicos, sendo matéria-prima essencial para itens tecnológicos como ímãs para motores miniaturizados e turbinas para energia eólica, vidros, lentes, catalisadores de automóveis, refino de petróleo, na medicina como meio de contraste, na conservação de vacinas, entre outros (Andrade, 2014, Rogowska et al, 2018). Ainda que uma vasta variedade de minerais contenha ETR, esses elementos podem ser de difícil extração, tóxicos e poluentes, oferecendo riscos ao meio ambiente, como a contaminação da água, ar e lençóis freáticos, degradação da vegetação, alteração de áreas vizinhas e desgaste do solo, tornando sua produção mais cara (Silva, 2007).

O gadolínio é um ETR pesado utilizado em tecnologias de baixo carbono com alto valor, sendo considerado um recurso crítico, por riscos de fornecimento e vulnerabilidade potencial de sua interrupção de produção. O uso do gadolínio como contraste em exames de imagem de ressonância magnética (IRM) teve início em 1988 e atualmente é administrado em cerca de 30-50% dos exames realizados (Thomsen, 2017). O íon livre de gadolínio é altamente tóxico devido sua inibição da sinalização regulada por Ca^{2+} nas células. Por isso é utilizado em nove tipos de contraste, associado a ligantes lineares ou cíclicos, iônicos ou não, sendo seis eliminados pelos rins e os três restantes pelo sistema biliar, não metabolizados. Devido sua estabilidade e solubilidade nenhum dos contrastes é removido pelo tratamento convencional utilizado nas estações de tratamento de água (ETA) ou de efluentes (ETE), mas sua remoção foi observada no tratamento com membrana de osmose reversa (Thomsen, 2017). Deste modo 90% alcança os corpos hídricos, poluindo os ecossistemas aquáticos, principalmente em locais com sistema de saúde desenvolvido (Rogowska et al, 2018, Thomsen, 2017).

Disprósio também é um ETR pesado e considerado um recurso crítico, por riscos de fornecimento e vulnerabilidade potencial de sua interrupção de produção. Noventa e cinco por cento de sua produção é destinada a ímãs permanentes usados em turbinas eólicas e carros elétricos. Sua extração e beneficiamento acarretam diversos impactos ambientais nos ecossistemas aquáticos doces e marinhos, terrestres e toxicidade humana (Zappa et al, 2018).

O presente estudo teve como finalidade avaliar o efeito agudo sobre a sobrevivência de *Daphnia similis* e o crônico nas microalgas *Raphidocelis subcapitata* e *Ankistrodesmus falcatus*, quando expostos a soluções sintéticas de gadolínio (Gd) e disprósio (Dy).

2. MATERIAL E MÉTODOS

As soluções-estoque dos dois lantanídeos foram preparadas a partir de óxidos solubilizados em ácido nítrico (HNO_3), tendo como concentração final 10 g/L de $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ e

Dy(NO₃)₃. As soluções-teste para os ensaios foram preparadas utilizando o meio de cultivo dos organismos-teste e diferentes concentrações da amostra.

2.1 Cultivo dos organismos-teste

O cultivo de *Daphnia similis*, foi realizado no Laboratório de Ecotoxicologia (LECOMIN) seguindo a norma da ABNT 12713 (ABNT, 2016). O meio utilizado foi o MS com pH 7-7,6, dureza 40-48 mg CaCO₃/L e oxigênio dissolvido (O.D.) ≥ 5 mg/L, em béqueres de 2 L. Foram mantidos em câmara de germinação (Tecnal TE-401) com temperatura de 18°C a 22°C, fotoperíodo 16:8 h luz:escuro e alimentação diária com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*. As microalgas *A. falcatus* e *R. subcapitata* foram cultivadas em meio L.C. Oligo, seguindo a norma ABNT 12648 (ABNT, 2018), mantidas em câmara de B.O.D. (Nova Ética 411D) com temperatura de 23°C a 25°C, com iluminação constante de 4500 lux e aeração constante. Diariamente os Erlenmeyers foram agitados para homogeneização das suspensões, durante sete dias quando ocorria repique para meio novo.

2.2 Ensaios de toxicidade

2.2.1 Ensaio agudo

Nos ensaios foram utilizados filhotes de *D. similis* com 6 a 24 h de vida, expostos a seis soluções-teste e um controle em béqueres de vidro de 25 mL contendo 18 mL de amostra e água de diluição, respectivamente. Vinte filhotes foram distribuídos em quatro réplicas/solução-teste e controle. Os ensaios tiveram duração de 48 horas e com os mesmos parâmetros do cultivo, porém no escuro e sem alimentação. Ao final foi contabilizada a imobilidade e mortalidade dos organismos testados. Para os ensaios foram utilizados meio MS Completo e Incompleto (sem os quelantes EDTA e vitamina B12). O pH e O.D. das soluções-teste e controle foram medidos no início e no final dos ensaios. Já os resultados calculados através dos programas Probit (amostras normais) e *Trimmed Spearman-Kärber* (amostras não-normais). A normalidade e homocedasticidade das variâncias foram testadas com o programa Toxstat 3.5. Os resultados foram expressos em concentração efetiva mediana nominal, CE50, que é a concentração da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos testados no tempo e condições do ensaio. A diferença significativa entre os valores foi avaliada através da sobreposição ou não dos Intervalos de Confiança de 95%. Quando os IC se sobrepõem, não existe diferença. O ensaio é considerado válido se a mortalidade no controle for ≤ 10%.

2.2.2 Crônico

Os ensaios crônicos foram realizados em Erlenmeyer de 250 mL (com 100 mL de solução ou água de diluição), correspondente a cada concentração e controle, sendo 3 réplicas para cada concentração e controle. Eles foram inoculados com uma densidade inicial da microalga de 3 x 10⁵ células/mL de *R. subcapitata* ou *A. falcatus* e permaneceram em mesa agitadora com temperatura de 23 a 27°C, iluminação contínua de 4500 lux e velocidade de agitação contínua de 130 rpm. Para diluição das amostras e para o controle, foi utilizado o meio de cultivo L.C. Oligo. Ao final das 96 h de ensaio, as densidades celulares das amostras foram obtidas através da leitura em Espectrofotômetro (LaMotte Smart Spectro), com absorvância determinada em 675 nm para *R. subcapitata* e 450 nm para *A. falcatus*. O pH e O.D. das soluções-teste e do controle foram medidos no início e no final dos ensaios e os resultados calculados através dos programas Probit (amostras normais) e *Linear Interpolation* (amostras não-normais). A normalidade e homocedasticidade das

variâncias foram testadas com o programa Toxstat 3.5. Os resultados foram expressos em concentração de inibição mediana nominal, CI50, que é a concentração da amostra que causa efeito em 50% dos organismos testados e CENO, concentração de efeito não observado, no tempo e condições do ensaio. A diferença significativa entre os valores foi avaliada através da sobreposição ou não dos Intervalos de Confiança de 95% (IC). Quando os IC se sobrepõem, não existe diferença. O ensaio foi considerado válido quando a concentração algácea no controle foi, no mínimo, 100 vezes superior à inicial para 96 h e o coeficiente de variação da biomassa algácea final, entre as réplicas (três) do controle for \leq 20%.

2.2.3 Classificação da toxicidade

Diferentes métodos são usados para classificar a toxicidade de contaminantes como perigosos para o ambiente aquático e / ou terrestre (ILO, 2001, Musse et al., 2008, UN, 2017). Foi utilizada para a classificação obtida, a classificação segundo Musse et al. (2008) que elaboraram uma classificação qualitativa da toxicidade das substâncias químicas, Tabelas 3a e 3b, com base nos valores de L (E) C50 dos testes de peixes, crustáceos e algas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos de toxicidade com gadolínio observaram sua absorção em diferentes níveis tróficos demonstrando seu potencial de entrada na cadeia trófica humana: em planta aquática, *Lemma minor*, e terrestre, *Lepidium sativum*, expostas ao contraste de Gd (Omniscam® - gadodiamida) em meio de cultivo, com absorção pelas raízes e superfície das frondes, por difusão até equilíbrio da concentração meio-planta em *L. minor* e pelas raízes até as folhas, também por difusão, em *L. sativum* (Lingot et al., 2016); em *Daphnia magna* exposta ao contraste de Gd (Magnevist®- ácido gadopentético) em meio de cultivo, com absorção pela pele, guelras e intestino e no intestino através da ingestão de alimento (LINGOT et al., 2016); e em carpas (*Cyprinus carpio* L.) após 45 dias de exposição, foi observada bioacumulação (= valor antes da exposição – valor após exposição/tecido analisado), maior nos órgãos internos (45 $\mu\text{g/g}$), guelras (5,33 $\mu\text{g/g}$), esqueleto (2,30 $\mu\text{g/g}$) e músculos (1,59 $\mu\text{g/g}$) (Qiand et al, 1994).

Oral et al. (2017) realizaram ensaios de toxicidade com disprósio em embriões e espermatozoides de ouriços das espécies *Paracentrotus lividus* e *Arbacia lixula* e observaram aumento nos defeitos de desenvolvimento, diminuição da atividade mitótica, aumento de aberrações mitóticas nos embriões e diminuição da taxa de fertilização e mortalidade e defeitos de desenvolvimento nos filhotes nos espermatozoides.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstraram que a exposição dos organismos-teste a Gd e Dy, resultou em toxicidade aguda e crônica baixa a moderada (Musse et al., 2008).

Os resultados em concentrações nominais obtidos nos ensaios agudos dos ETR disprósio e gadolínio, para o bioindicador estudado são apresentados na Tabela 1.

D. similis apresentou toxicidade similar para os dois ETR testados, com exceção dos primeiros ensaios de Dy e Gd com MS Incompleto. Também em meio MS Incompleto, Gd foi mais tóxico do que os demais ensaios realizados. Esta maior toxicidade pode estar

relacionada à maior biodisponibilidade dos ETR neste meio sem quelantes. Estes resultados corroboram com Roldão e Eglér (2018), onde as autoras encontraram diferença estatística significativa entre os meios MS completo e incompleto para os ensaios de biodisponibilidade de samário e lantânio.

Segundo Barry e Meehan (2000) a toxicidade do La para *Daphnia carinata* foi fortemente dependente do tipo de meio utilizado, onde a dureza do carbonato e a presença de cálcio podem influenciar grandemente, já que o excesso de íons Ca^{2+} em solução competiria com os íons La^{3+} por sítios de ligação, reduzindo seu efeito tóxico. Os autores consideraram que a principal *via* de absorção de La poderia ser através da carapaça, no momento da absorção de cálcio, durante a muda, já que La está frequentemente ligado ao cálcio, interferindo no ciclo normal da muda desse organismo.

Tabela 1: Resultados expressos em CE50 dos ensaios agudos de toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia similis* exposto a soluções sintéticas de disprósio (Dy) e gadolínio (Gd), em meio de cultivo MS Completo e MS Incompleto (sem ETDA e Vitamina B12). I.C. 95% = Intervalo de Confiança de 95%.

<i>Daphnia similis</i>				
Elemento	Tipo de MS	CE50 (mg/L)	I.C. 95% (mg/L)	
			Inferior	Superior
Disprósio	Completo	17,14 ^a	15,63	18,79
		14,34 ^b	12,72	16,15
		16,75 ^a	15,92	18,62
	Incompleto	5,85 ^c	3,94	8,7
		15,45 ^a	13,95	17,12
		16,22 ^a	15,01	17,52
Gadolínio	Completo	13,93 ^b	12,04	16,1
		16,63 ^a	15,82	17,52
		12,57 ^b	11,88	16,1
	Incompleto	9,5 ^d	8,12	11,11
		12,01 ^e	11,29	12,78
		12,38 ^e	11,94	12,84

Letras iguais não diferentes significativamente.

Os resultados obtidos nos ensaios dos ETR disprósio e gadolínio, para as microalgas estudadas estão expostos na Tabela 2.

Os valores nominais obtidos nas CI50 mostraram que *Raphidocelis subcapitata* foi mais sensível que *Ankistrodesmus falcatus* quando exposta a gadolínio e disprósio, com valores menores que os de *A. falcatus*. Estes resultados foram similares aos encontrados por Roldão e Eglér (2018), onde *R. subcapitata* foi a espécie de microalga mais sensível dentre as analisadas, expostas a solução de neodímio, samário e lantânio, mostrando ser um bom bioindicador para os ETR estudados. Disprósio foi menos tóxico que gadolínio, para as duas espécies de microalgas, o que pode estar associado ao fato do íon Gd, quando quelado a

uma molécula, ter sua farmacocinética alterada, acelerando sua depuração e, portanto, reduzindo acentuadamente a sua toxicidade relativa (Brito, 2016, Thomsen, 2017).

Tabela 2: Resultados expressos em CI50 dos ensaios crônicos de toxicidade com as microalgas *Raphidocelis subcapitata* e *Ankistrodesmus falcatus* expostas a soluções sintéticas de disprósio (Dy) e gadolínio (Gd), em meio de cultivo LC. Oligo. I.C. 95% = Intervalo de Confiança de 95%. NC = não calculado

Elemento	CI50 (mg/L)	I. C. 95% (mg/L)		CENO (mg/L)	
		Inferior	Superior		
<i>Raphidocelis subcapitata</i>					
Gadolínio	25,38 ^g	24,99	25,81	20	
Disprósio	26,31 ^h	26,2	26,45	20	
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>					
Gadolínio	36,17 ^f	34,55	37,41	20	
Disprósio	40,6 ^f	33,28	44,51	NC	

Letras iguais não diferentes significativamente.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para a toxicidade aguda de disprósio e gadolínio foram diferentes para o organismo-teste quando houve a alteração do meio MS utilizado como água de diluição da solução-estoque. Os efeitos quelantes do EDTA e vitamina B12 do meio MS Completo podem interferir na biodisponibilidade destes ETR, indicando que seu uso deve ser evitado em estudos com ETR. De acordo com os valores obtidos nas CE50 os elementos terras-raras gadolínio e disprósio apresentaram toxicidades similares para o microcrustáceo *D. similis*. *R. subcapitata* foi mais sensível aos elementos terras-raras do que *A. falcatus*. *R. subcapitata* é um ótimo bioindicador para os ETR estudados, como representante da base da cadeia alimentar aquática.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelas bolsas do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica de G. Heidelmann e A.F.G.O. Clementino e do Programa de Capacitação Institucional de T. Roldão; Ao CETEM, pela infraestrutura, a A.L.C. Moraes pelo fornecimento dos efluentes sintéticos e a Y. M. Vera pelo auxílio na escolha dos ETR estudados.

6. REFERÊNCIAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12648. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT 2018. 24 p.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT 2016. 23 p.
- Andrade, RHP. Terras raras. In: Brasil. Departamento Nacional de Produção Mineral. Sumário Mineral v. 34 / Coordenadores Thiers Muniz Lima, Carlos Augusto Ramos Neves. Brasília: DNPM, 2014. 141 p.
- Brito, KS. Gadolínio: uma revisão geral. Programa de Residência Médica em Radiologia e Diagnóstico por Imagem, Fortaleza-CE, 2016.
- ILO - International Labour Organization. Hazardous to the aquatic environment. In: Globally harmonized system for the classification and labelling of chemicals (GHS). Programme on safety and health at work and the environment (Safework). Chapter 14. 16 p. International Labour Organization. 2001. Available at: <https://www.ilo.org/legacy/english/protection/safework/ghs/ghsfinal/ghsc14.pdf>.
- Lingott, J, Lindner, U, Telgmann, L, Esteban-Fernandez, D, Jakubowski, N, Panne, U. Gadolinium-uptake by aquatic and terrestrial organisms-distribution determined by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Environmental Science: Progress & Impacts*; 2016; 18; 200-207.
- Musee, N, Lorenzen, L, Aldrich, C. New methodology for hazardous waste classification using fuzzy set theory. Part I. Knowledge acquisition. *Journal of Hazardous Materials*; 2008; 154 (1-3); 1040–1051.
- Oral, R, Pagano, G, Siciliano, A, Gravina, M, Palumbo, A, Castellano, I, Migliaccio, O, Thomas, PJ, Guida, M, Tommasi, F, Trifuoggi, M. Heavy rare earth elements affect early life stages in *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* sea urchins. *Environmental Research*; 2017; 154; 240–246.
- Qiang, T, Xiao-rong, W, Li-qing, T, Le-mei, D. Bioaccumulation of the rare earth elements, lanthanum, gadolinium and yttrium. *Environmental Pollution*; 1994; 85(3); 345-350.
- Rogowska, J, Olkowska, E, Ratajczyk, W, Wolska, L. Gadolinium as a new emerging contaminant of aquatic environments. *Environmental Toxicology and Chemistry – Polônia*. 2018; 37(6); 1523-1534.
- Roldão, TM, Egler, SG. Avaliação da toxicidade de dois elementos do grupo dos lantanídeos para organismos aquáticos. Jornadas do programa de capacitação institucional - CETEM. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/2209/1/CJP%200012-00-18.pdf>.
- Silva, JPS. Impactos ambientais causados por mineração. Brasília: Revista Espaço da Sophia; 2007; 8;1-13.
- Thomsen, HS. Are the increasing amounts of gadolinium in surface and tap water dangerous? *Acta Radiologica*; 2017; 58(3); 259–263.
- UN - United Nations. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (ST/SG/AC.10/30/Rev.7). 2017. Available at: https://read.un-ilibrary.org/environment-and-climate-change/globally-harmonized-system-of-classification-and-labelling-of-chemicals-ghs_e9e7b6dc-en#page1
- Zappa, P, Marx, J, Schreiber, A, Friedrich, B, Voßenkaul, D. Comparison of dysprosium production from different resources by life cycle assessment. *Resources, Conservation & Recycling*; 2018; 130; 248–259.