

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA DO CLORETO DE LÍTIO COM BIOENSAIO *Eisenia fetida*

Junilson Augusto de Paula Silva, mestre, UEG/CET, junilsomaugusto@gmail.com

Myllena Tolentino Firmino, mestre, UEG/CET, myllenatolentino@gmail.com

Marcelino Benvindo de Souza doutor, UEG/CET, marcelinobenvindo@gmail.com

Luciane Madureira de Almeida doutora, UEG/CET, luciane.almeida@ueg.br

Resumo: A crescente demanda por lítio tem aumentado sua liberação no ambiente, tornando-o um contaminante emergente. Este estudo avaliou a toxicidade aguda do cloreto de lítio (LiCl) em *Eisenia fetida* por meio do teste de papel filtro. Foram testadas concentrações de 3,12 a 200 mg/L por 24h e 48h. A sobrevivência dos organismos diminuiu com o aumento da concentração e do tempo, com EC50 de 38,2 mg/L (24h) e 24,08 mg/L (48h), demonstrando toxicidade tempo-dependente. A metodologia de contato com papel de filtro se revelou eficaz para a avaliação da toxicidade, eliminando interferências associadas ao solo e facilitando a interpretação dos dados. Esses resultados fornecem dados relevantes sobre os impactos do lítio em organismos-terrestres e contribuem para a compreensão da ecotoxicologia do lítio em ambientes naturais.

Palavras-chave: Contaminante emergente; Concentração-resposta; Ecotoxicologia; Mortalidade.

INTRODUÇÃO

A demanda global por lítio tem aumentado significativamente devido à transição energética, o que intensifica as atividades de mineração (GREY; HALL, 2020). Além da mineração, o descarte incorreto de resíduos eletrônicos é uma fonte relevante de contaminação por lítio, com exemplo em 2022 apenas 22,3% das 62 milhões de toneladas de lixo eletrônico geradas foram recicladas adequadamente (BALDÉ et al., 2024). A alta solubilidade do lítio facilita seu transporte entre água e solo, ampliando sua contaminação ambiental, gerando riscos ecotoxicológicos e à saúde única (BOLAN et al., 2021). Alguns trabalhos já revelaram as características do acúmulo de lítio no solo e na água (XU et al., 2023), sendo já relatado 272 mg/kg como valor máximo em solos de área de mineração na China (XU et al., 2019) e na Ucrânia 13,7 mg/L-1 em rios contaminados (SOBOLEV et al., 2019).

A utilização de diferentes organismos-teste, representando diversos compartimentos ambientais, amplia significativamente a compreensão dos efeitos ecotoxicológicos do lítio. Essa abordagem também fortalece a capacidade dos modelos preditivos ao incorporar respostas variadas. Os ensaios de toxicidade aguda, nesse contexto, são fundamentais não apenas por sua rapidez, mas por permitirem a identificação de concentrações limiares ambientalmente relevantes, que podem ser posteriormente validadas em testes crônicos (KULOĞLU et al., 2022).

No solo, as oligoquetas se destacam como bioindicadores, respondendo à contaminação por lítio com letalidade e bioacumulação tecidual, tornando-se ferramentas eficazes para análises ambientais (XU et al., 2023), devido à sua alta sensibilidade e fácil cultivo em laboratório a espécie *Eisenia fetida* é escolhida como organismo padrão para experimentos de exposição ao solo (OECD, 1984). Este trabalho tem como objetivo avaliar o potencial tóxico do cloreto de lítio (LiCl) por meio do teste agudo em papel filtro como ensaio preliminar para determinar a EC50 (concentração que causa efeito para 50% dos organismos testados).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi utilizado o Cloreto de Lítio (LiCl) com teor de 99% adquirido pela Sigma-Aldrich (CAS: 7447-41-8). Uma solução estoque (50 mg/L) de LiCl foi preparada pela dissolução do composto em água destilada. As concentrações usadas seguiram um fator de 2x (de 3,12 a 200 mg/L) e foram preparadas por diluições do estoque em água destilada, sendo usado a mesma água com controle negativo e dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) a 50 mg/L como controle positivo (OECD,

1984). As concentrações referentes aos íons de lítio (Li+) utilizada nos diferentes tratamentos está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos compostos testados em cada tratamento, sua concentração e a concentração do íon lítio.

TRATAMENTOS	COMPOSIÇÃO TESTE	CONCENTRAÇÕES (mg/L)	
		Li ⁺	LiCl
C1	Cloreto de Lítio	0,5	3,12
C2	Cloreto de Lítio	1,0	6,25
C3	Cloreto de Lítio	2,0	12,5
C4	Cloreto de Lítio	4,0	25
C5	Cloreto de Lítio	8,0	50
C6	Cloreto de Lítio	16,0	100
C7	Cloreto de Lítio	32,0	200
Controle Negativo	Água destilada	-	-
Controle Positivo	Dicromato de potássio	50	50

Os espécimes adultos de *E. fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) foram adquiridos de um curral-fazenda de minhocas em Anápolis-GO. Ao chegar no laboratório são mantidas em uma caixa composteira como solo preparado da mistura de substrato orgânico e solo “*in natura*”, sem fontes de contaminação para o período de aclimação, conforme Figura 1. Após 24h de aclimação, os indivíduos adultos com clitelo bem desenvolvido são lavados individualmente em água destilada e mantidos em papel filtro úmido por 3h (no escuro a $20 \pm 1^\circ\text{C}$) para esvaziar seu conteúdo intestinal. Após essa etapa, eles foram pesados em balança e aqueles com peso ≥ 350 mg foram selecionados para o teste de toxicidade aguda, usando o método de contato com papel de filtro. Após a pesagem, as minhocas foram dispostas em placas de Petri revestidas com papel filtro Whatman número 1, sendo umedecido com três (3) mL da solução de cada concentração, usando 10 minhocas por concentração, sendo uma por placa, ou seja, 10 por tratamento testado. Após o contato direto com as soluções teste, as placas são fechadas e incubadas na ausência de luz por até 48 horas à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (OECD 207, 1984; OLIVEIRA et al., 2018).

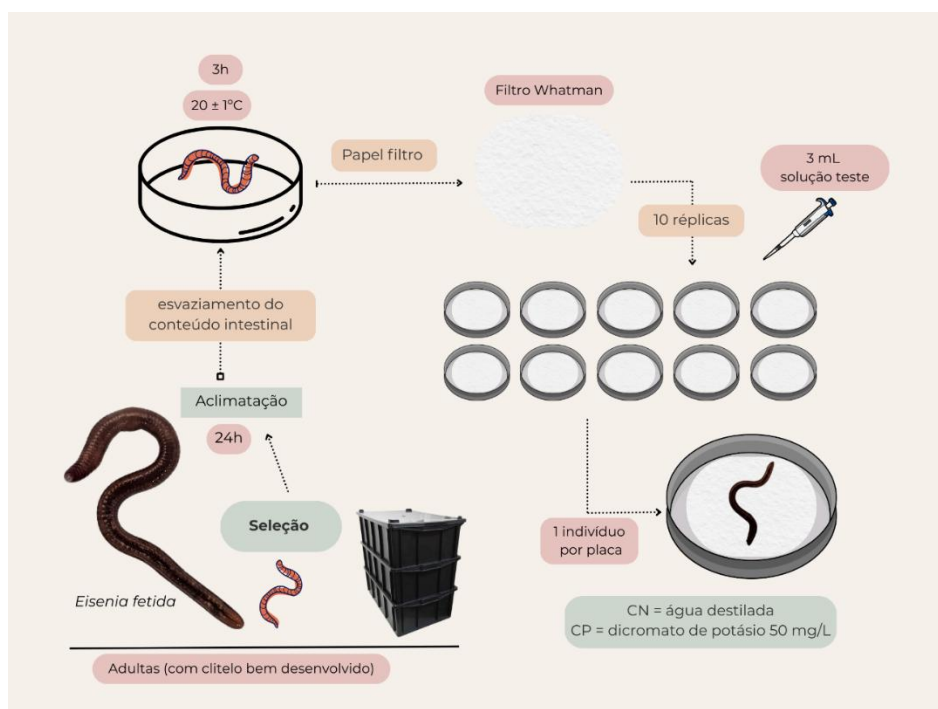


Figura 1. Fluxograma do protocolo experimental

Seguindo o protocolo OECD 207 (1984), após os períodos de exposição, entre 24h e 48h, foram registradas a letalidade dos organismos em cada concentração, sendo considerado mortalidade os indivíduos que não apresentaram reação a uma estimulação mecânica suave, a fim de estimar a concentração capaz de provocar 50% de mortes neste sistema experimental (EC50). Dentre os critérios de validação do ensaio, a letalidade do controle negativo foi inferior a 10% e o controle positivo foi acima de 30%. Para as análises estatísticas foi utilizado os dados do pacote DRC do software R, para o cálculo e plotagem da curva dose-resposta.

RESULTADOS

Os resultados mostraram uma diferença na sobrevivência dos organismos ao longo dos períodos de 24h e 48h, com variação nas concentrações, conforme evidente na Figura 2. Após 24h de exposição, as concentrações mais baixas de 3,12 mg/L a 12,5 mg/L apresentaram uma taxa de sobrevivência acumulada próxima a 100%, igual ao controle negativo (CN). No entanto, na concentração de 25 mg/L houve uma redução na sobrevivência para 90%, e nas concentrações mais altas 50 mg/L, 100 mg/L, e 200 mg/L as taxas de sobrevivência foram 50%, 40% e 30% respectivamente, mostrando o efeito tóxico do LiCl nestas concentrações.

Após 48h de exposição, houve mortalidade acentuada nas concentrações mais altas. As concentrações de 3,12 mg/L, 6,25 mg/L, e 12,5 mg/L ainda apresentaram taxas de sobrevivência em 100%, como no teste de 24h, contudo a concentração de 25 mg/L passou a ter 50% de mortalidade. Concentrações mais altas de 50 mg/L e 100 mg/L reduziram a sobrevivência para 40% e 30%, respectivamente, enquanto a concentração de 200 mg/L resultou em 0% de sobrevivência (Figura 2B), evidenciando o aumento da letalidade com o tempo e com a concentração de lítio.

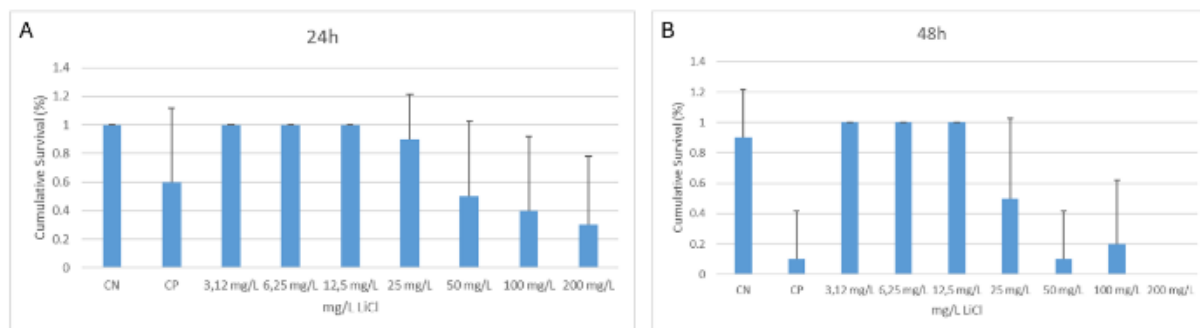


Figura 2. Gráficos de sobrevivência cumulativa expressos em 24h (2A) e em 48h (2B) nas diferentes concentrações testadas

Foram avaliados os efeitos do LiCl na sobrevivência de *Eisenia fetida* e verificada a viabilidade do método de contato com papel de filtro para avaliação de ensaios de toxicidade aguda. Após as primeiras 24h de exposição, temos uma EC50 de 38,20 mg/L, como mais um período igual de intervalo, temos EC50 de 24,08 mg/L em 48h de exposição. A partir dos dados experimentais obtidos nos testes de exposição a 24 e 48 horas, foi observado que a concentração de 25 mg/L apresentou os primeiros sinais de efeitos adversos, com uma mortalidade superior a 10%, mas abaixo da mortalidade total.

DISCUSSÃO

Dada a preocupação com a quantidade de materiais eletroeletrônicos presentes no ambiente, este trabalho buscou entender a relação da toxicidade do Li^+ no ambiente terrestre e determinar concentrações que podem afetar os organismos que vivem no solo. Neste estudo foi possível identificar concentrações que causam letalidade em minhocas, sendo o LiCl presente

naturalmente no solo, com o aumento do descarte de baterias, pilhas e aparelhos eletrônicos, identifica-se que existe um potencial tóxico real para os organismos da fauna edáfica, primeiro local onde a degradação e contaminação irá provocar alterações.

Na literatura, existem dados que confirmam a sensibilidade e a capacidade de acumulação de Li em representantes anelídeos, como é o caso do poliqueta marinho *P. cultrifera*, que foi observado um aumento significativo dos níveis de LiCl em todos os vermes tratados em concentrações variando de 20 a 80 mg/L durante 48h (GHRIBI et al., 2023). Esse padrão de toxicidade tempo-dependente já foi descrito para outros compostos iônicos, como o cádmio e o chumbo, que demonstraram bioacumulação significativa em minhocas da espécie *Eisenia andrei* em papel filtro e reforçados com efeitos ainda mais adversos em exposições prolongadas (OLIVEIRA, 2019).

Em ensaios comportamentais com *Eisenia andrei* usando solo artificial com concentrações entre 100 à 800 mg de Li₂SO₄ e Li₂CO₃, mostraram resposta de fuga significativa já a partir de 100 mg/kg-1, evidenciando que não toleram os sais de lítio mesmo em solo (BARROSO et al., 2024).

Se tratando indivíduos do gênero *Eisenia*, avaliações em intervalos diferentes para ensaios agudos possibilitam relacionar respostas morfológicas, como constrictões nos metâmeros, inchaço no clitelo e degeneração das extremidades do corpo, como visto por RAO et al. (2003) em exposições de 48h a clorpirifós, um pesticida, em doses relativamente baixas. Além das informações morfológicas, também a coleta de respostas fisiológicas em papel filtro, como expurgamento de secreções mucosas e lesões sanguinolentas. Tais condições expressam a sensibilidade do bioensaio e a robustez do teste, pois condições semelhantes foram vistas nos resultados deste presente estudo.

Sendo assim, teste de letalidade com oligoquetas é uma ferramenta importante na identificação de concentrações para ensaios agudos e crônicos, permitindo a ampliação e maior delineamento experimental no uso de diferentes biomarcadores, como o ensaio cometa na avaliação de dano no DNA (ZANG et al., 2000), ensaios de comportamento e reprodução (XIAO et al., 2006), também e biomarcadores enzimáticos, histológicos e citogenotoxicidade (RIBERA et al., 2001).

CONCLUSÕES

Os resultados confirmam a eficácia do teste com papel filtro como método sensível para ensaios ecotoxicológicos com minhocas, permitindo avaliar efeitos agudos de substâncias bioacumulativas. Bioensaios com oligoquetas destacam a importância de biomarcadores na previsão de riscos ecológicos. A sensibilidade desses anelídeos ao lítio, mesmo em baixas concentrações, revela uma ameaça emergente, agravada pelo descarte inadequado de baterias. Isso reforça a urgência de estudos mais amplos, especialmente crônicos, para compreender os impactos prolongados dessa contaminação na fauna edáfica e sua relevância para a saúde dos ecossistemas terrestres.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Laboratório de Biotecnologia da UEG Anápolis (Labiotec).

REFERÊNCIAS

BALDÉ, et al. **Global E-waste Monitor 2024**. International Telecommunication Union (ITU) and United Nations Institute for Training and Research (UNITAR). Geneva/Bonn, 2024.

BARROSO, J. et al. Efeito de dois sais de lítio no comportamento da *Eisenia andrei* em ensaios de evitamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v.47, n.4, p.583-588, 2024. DOI: <https://doi.org/10.19084/rca.38922>

BOLAN, N. et al. From mine to mind and mobiles – lithium contamination and its risk management. **Environ. Pollut.**, 290, 118067, 2021. DOI: [10.1016/J.ENVPOL.2021.118067](https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2021.118067)

GHRIBI, F. et al. New insight into the toxic effects of lithium in the ragworm *Perinereis cultrifera* as revealed by lipidomic biomarkers, redox status, and histopathological features. **Environmental Science and Pollution Research**, v.30, p.68821–68835, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27223-7>

GREY, C.P.; HALL, D.S. Prospects for lithium-ion batteries and beyond—a 2030 vision. **Nature Communications**, v.11, n.6279, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19991-4>

KULOĞLU, S.S. et al. Dose-dependent toxicity profile and genotoxicity mechanism of lithium carbonate. **Nature: Sci. Rep.** v.12, n.13504, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17838-0>

KANG, D.H.P.; CHEN, M.; OGUNSEITAN, O.A. Potential Environmental and Human Health Impacts of Rechargeable Lithium Batteries in Electronic Waste. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n.10, p.5495–5503, 2013. DOI: [10.1021/es400614y](https://doi.org/10.1021/es400614y)

OECD, Test No. 207: **Earthworm, Acute Toxicity Tests**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264070042>.

OLIVEIRA, G.A.R. et al. A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. **Chem. Biol. Interact.** v.291, p.171–179, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.06.026>.

OLIVEIRA, R.B. **Estudo de bioacumulação de Cd, Pb e mistura de ambos pela *Eisenia andrei* e de homeostase metálica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/59796/59796.PDF> Acesso em: 10/abr/2025.

RAO, J.V.; PAVAN, Y.S.; MADHAVENDRA, S.S. Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia foetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.54, n.3, p.296–301, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00013-1)

RIBERA, D. et al. Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil, effects of carbaryl. **Soil Biology and Biochemistry**. v.33, p.7–8, p.1123–1130, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00035-9)

SOBOLEV, O.I. et al. Lithium in the natural environment and its migration in the trophic chain. **Ukr. J. Ecol.**, v.9, p.195–203, 2019.

XU, Z. et al. Ecotoxicological effects of soil lithium on earthworm *Eisenia fetida*: Lethality, bioaccumulation, biomarker responses, and histopathological changes. **Environmental Pollution**, v.330, n.121748, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121748>

XU, Z. et al. Extraction of soils above concealed lithium deposits for rare metal exploration in Jiajika area: A pilot study. **Applied Geochemistry**, v.107, p.142–151, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.05.018>

ZANG, Y. et al. Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm *Eisenia fetida*. **Environmental Pollution**, v.108, n.2, p.271–278, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00191-8](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00191-8)