



# UTILIZAÇÃO DE ELEMENTOS TERRAS RARAS PARA ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DE CONCHAS DE OSTRAS DO GÊNERO CRASSOSTREA

Wellington M. Farias<sup>1</sup> (M), Luiz R. L. Simone<sup>2</sup>, Vanessa S. Amaral<sup>3</sup>, Marcos A. Scapin<sup>1</sup>, Paulo S. C. Silva<sup>1</sup>

Endereço institucional do(s) autor(es). Incluir o e-mail do autor designado para receber as correspondências. Ex.:

1 - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN / CNEN, São Paulo - SP, [psc.silva@ipen.br](mailto:psc.silva@ipen.br)

2 - Museu de Zoologia da USP - São Paulo - SP

3 - Universidade Federal do Espírito Santo - UFES/CEUNES - São Mateus - ES

**Resumo:** Foram determinadas as concentrações de elementos terras raras e dos elementos maiores (Ca, Si, P, S, Cl e Sr) em amostras de conchas de ostras das espécies *Crassostrea mangle* e *Crassostrea brasiliana* provenientes de diversas regiões do Brasil. Foi feita uma normalização por meio do fator de enriquecimento utilizando o La como elemento conservativo e a concentração dos elementos na água do mar como normalizador. Verificou-se que as razões elementares normalizadas apresentam boa correlação entre si e que esta normalização permite separar as amostras de acordo com o ambiente em estas se formaram.

**Palavras-chave:** *Crassostrea mangle*, *Crassostrea brasiliana*, conchas, elementos terras raras

## *Use of rare earth elements for the composition study of Crassostrea gender oyster shells*

**Abstract:** Rare earth and major elements were determined in oyster shells of two Brazilian species. Enrichment factor using La and the concentration of the elements in the sea water was calculated allowing separating the samples according to the environment in which they grew.

**Keywords:** *Crassostrea mangle*, *Crassostrea brasiliana*, oyster shells, rare earth elements

## Introdução

A esclerocronologia considera que animais com carapaças carbonáticas constroem seu exoesqueleto a partir de íons presentes em seu ambiente (Mouchi et al., 2013). A composição elementar de conchas de moluscos é determinada por vários fatores, entre eles: a disponibilidade dos elementos na água do mar, salinidade, temperatura, mineralogia da concha e também está relacionada à biologia animal (Klein et al., 1996, Takesue et al., 2008). A incorporação destes elementos traço em é geralmente inversamente proporcional à salinidade (Wright, 1995), provavelmente devido à maior competição entre os íons dissolvidos e o cálcio. Por outro lado, a incorporação destes elementos pode variar também como resposta às características ambientais (Peacock e Seltzer, 2008).

Os elementos traço devem ser incorporados à estrutura da concha em substituição ao cálcio no retículo cristalino, como fases minerais independentes, em associação à compostos orgânicos ou ainda devido a processos de adsorção da rede cristalina (Peacock e Seltzer, 2008; Schöne et al., 2013; Emsbo et al., 2015). A formação da estrutura carbonática das conchas envolve a deposição do carbonato de cálcio na forma de calcita ou aragonita e em certos moluscos, ambos, como uma mistura polimórfica (Gosling, 2003). A maioria das pesquisas nesta área concentra sua atenção na incorporação de elementos dos metais alcalinos terrosos Mg, Sr e Ba à concha, devido a sua similaridade química com o Ca, bem como no estudo de suas razões elementares com este elemento. Um possível problema na utilização destas razões é que a concentração dos elementos

nas conchas, embora sejam dependentes de fatores externos também podem apresentar uma forte influência do controle biológico exercido pelo metabolismo animal (Gillikin et al., 2005; Freitas et al., 2006).

Elementos terras raras (TR) são úteis para a determinação da natureza de processos biogeoquímicos, visto que possuem um comportamento coerente e previsível, grande sensibilidade a mudanças de pH, condições redox e reações de adsorção e dessorção e podem ser usados como marcadores em condições de mudanças ambientais na água e em sedimentos no sistema aquático (Borrego et al., 2005). Em associação com informações de outros elementos, apresentam boa resposta como potenciais indicadores ambientais (Eltom et al., 2017). Desta forma, o objetivo deste trabalho é verificar as correlações entre elementos terras raras e elementos maiores presentes na estrutura de conchas das espécies *Crassostrea mangle* Amaral e Simone, 2014 e *Crassostrea brasiliana* Lamarck, 1819, bem como testar a viabilidade da utilização destes elementos como indicadores de proveniência das amostras analisadas.

## Experimental

As amostras de conchas de ostras foram obtidas no acervo do Museu de Zoologia da USP (MZUSP), em fazendas de criação de ostras e no comércio local em praias de diversas regiões do país, abrangendo uma extensão variando do Rio Grande do Sul ao Rio Grande no Norte. Todas as amostras foram identificadas e catalogadas no MZUSP como *Crassostrea mangle* e *Crassostrea brasiliana*.

A retirada dos contaminantes superficiais foi feita com auxílio de uma microrretífica dremel 4000, utilizando discos de cortes reforçados com fibra de vidro e ponta de carbureto de silício e lixas. Em seguida, as amostras foram mergulhadas em solução ácido clorídrico 4% por um minuto. Após o tratamento com ácido, as amostras foram lavadas até pH 6,5 com água ultra-pura e secas em estufa a 100 C°. A moagem foi feita de forma manual em um almofariz de porcelana e as amostras foram peneiradas em uma peneira de alumínio com malha de nylon a uma granulometria de 100 mesh.

A concentração dos elementos Ce, Eu, La, Lu, Nd, Sm, Tb e Yb foi determinada por análise por ativação neutrônica instrumental (INAA). Para a irradiação, foram pesados cerca de 170 mg de amostra pulverizada e dos materiais de referência certificados (CRM) Syenite, Table Mountain (STM-2), Estuarine Sediment Nist 1646a e soluções padrão pipetadas em papel de filtro. As amostras foram empacotadas em embalagens de polietileno, seladas e irradiadas no Reator de Pesquisa IEA-R1 no IPEN, sob um fluxo de nêutrons de aproximadamente  $10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  por 8h. As contagens das atividades gama induzidas nas amostras, nos CRM e nos padrões sintéticos foram feitas utilizando um detector de Ge-Hiperpuro, EG&G Ortec com resolução de 0,88 keV e 2,09 keV para os picos de 122 keV e 1332 keV do  $^{57}\text{Co}$  e  $^{60}\text{Co}$ , respectivamente, e equipamentos eletrônicos associados. A análise dos espectros foi feita utilizando-se o programa VISPECT2 e os cálculos foram feitos em planilha de Microsoft Excel®.

Para a determinação dos elementos Ca, Si, P, S, Cl e Sr foi utilizada fluorescência de raios X dispersiva de comprimento de onda (WDXRF). Aproximadamente 1 g de amostra foi compactada em uma prensa hidráulica utilizando-se uma pressão de  $20 \text{ Mpa} \cdot 2 \text{ s}^{-1}$  sobre uma base de ácido bórico ( $\pm 1,5 \text{ g}$  de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  PA), previamente compactado com  $50 \text{ MPa} \cdot 2 \text{ s}^{-1}$ . No final desse processo foram obtidas pastilhas prensadas de dupla camada com  $25,00 \pm 0,01 \text{ mm}$  de diâmetro e  $5,0 \pm 0,2 \text{ mm}$  de espessura total. O espectrômetro utilizado foi um WDXRF, Rigaku Co., modelo RIX 3000. Os parâmetros de operação foram: tubo de raios X com anodo de Rh (50 kV x 50 mA), colimador de 20 mm; detector de cintilação (NaI/T) para  $Z > 20$  e contador proporcional de fluxo (FPC) para  $Z \leq 20$ . A determinação quantitativa foi realizada por meio do método dos Parâmetros Fundamentais (PF), utilizando-se o modo 2 theta Scan, disponível no software acoplado ao espectrômetro. A avaliação da metodologia, em termos de precisão e exatidão foi realizada por meio de testes estatísticos de acordo com o DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2010), aplicados em réplicas de sete medidas no material de referência certificado (SRM) 1400, Bone Ashes, do NIST.

## Resultados e Discussão

Na tabela 1 são apresentados os resultados da estatística descritiva dos dados obtidos. Pode-se verificar que, no caso de alguns dos ETR, várias amostras apresentaram valores inferiores ao limite de detecção tendo sido determinados em um número relativamente baixo de amostras (Ce, Lu, Tb e Yb). Apenas os elementos Ce, Eu, La, Ca e Sr apresentam distribuição próxima à normal e somente o Ca apresentou uma pequena assimetria à esquerda.

Tabela 1: Estatística descritiva dos dados obtidos. Concentração dos ETR em mg kg<sup>-1</sup> e dos elementos maiores em %.

	n	Média	M. Geom.	Mediana	Mínimo	Máximo	Desv. Pad.	Assimetria	Curtose
Ce	26	0,305	0,207	0,236	0,0247	0,768	0,241	0,66	-0,94
Eu	45	0,008	0,006	0,007	0,0009	0,018	0,004	0,62	0,24
La	44	0,120	0,086	0,101	0,0049	0,383	0,094	1,02	0,29
Lu	11	0,003	0,002	0,002	0,0009	0,011	0,003	2,24	5,50
Nd	32	0,810	0,626	0,617	0,0484	4,220	0,730	3,53	15,63
Sm	30	0,015	0,010	0,012	0,0005	0,051	0,012	1,27	1,45
Tb	10	0,017	0,010	0,008	0,0016	0,068	0,020	2,16	5,23
Yb	14	0,033	0,024	0,024	0,0064	0,109	0,029	1,50	2,53
Si	54	0,019	0,015	0,016	0,0050	0,110	0,017	3,43	16,65
P	54	0,035	0,032	0,036	0,0080	0,092	0,014	1,21	4,51
S	54	0,143	0,134	0,130	0,0700	0,400	0,056	1,92	6,81
Cl	54	0,163	0,084	0,115	0,0050	1,000	0,192	2,33	6,68
Ca	54	38,2	38,2	38,6	35,7	39,5	0,9	-0,77	-0,07
Sr	54	0,040	0,040	0,040	0,0320	0,053	0,004	0,24	0,11

Na Figura 1 são mostradas as correlações entre os elementos maiores e o Ca. Verifica-se (Figura 1a) que apenas os elementos silício e enxofre apresentaram uma fraca correlação negativa significativa com este elemento. Como os estudos que buscam correlacionar a composição de conchas de ostras às condições ambientais são baseados em razões elementares, buscou-se verificar a hipótese de que os ETR podem ser utilizados como normalizadores para a incorporação dos elementos maiores à estrutura carbonática das conchas. Foi aplicada a normalização pelo fator de enriquecimento (FE), que é a dupla razão entre a concentração de um dado elemento por um elemento conservativo na amostra e em um normalizador. Neste caso, o La foi escolhido como elemento conservativo, pois além de poder substituir o Ca no retículo cristalino das conchas também foi determinado em um grande número de amostras. Como normalizador, foram utilizadas as concentrações dos elementos maiores, determinado neste trabalho, na água do mar, de acordo com Li (1982).

Verifica-se, na Figura 1b, que as razões normalizadas dos elementos Si\*, P\*, S\*, Cl\* e Sr\* com o Ca\* apresentaram forte correlação positiva significativa. O asterisco indica a concentração normalizada pelo FE em relação ao La e a água do mar.

Para verificar se estas razões normalizadas podem ser utilizadas como indicadoras da proveniência das amostras e, portanto, das condições ambientais em que as conchas se formaram, foi aplicada a análise de agrupamento.

O resultado é mostrado na Figura 2 e pode-se observar a formação de quatro grupos principais. O grupo *a* composto pelas amostras de *C. mangle* (com exceção da amostra BA-B-5) que habitam regiões de manguezal e o grupo *b* composto pelas amostras de *C. brasiliiana* (com exceção das amostras SE-M-2, SE-M-3 e RJ-M-2) que vivem tanto em regiões marinhas quanto em mangues. Os grupos *c* e *d* foram composto por amostras de ambas as espécies que não se enquadraram em seus respectivos grupos, sendo que a amostra PB-B-2 mostrou-se diferente de todas as demais.

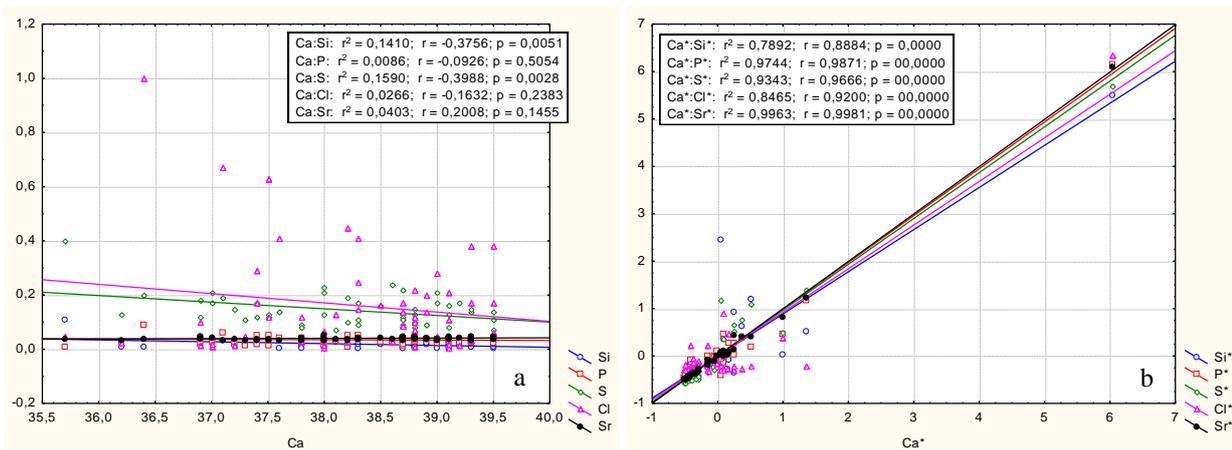


Figura 1: a) Concentrações dos elementos Si, P, S, Cl e Sr em função da concentração de Ca nas amostras. b) Razões normalizadas dos elementos Si\*, P\*, S\*, Cl\* e Sr\* em função da razão normalizada do Ca\*.

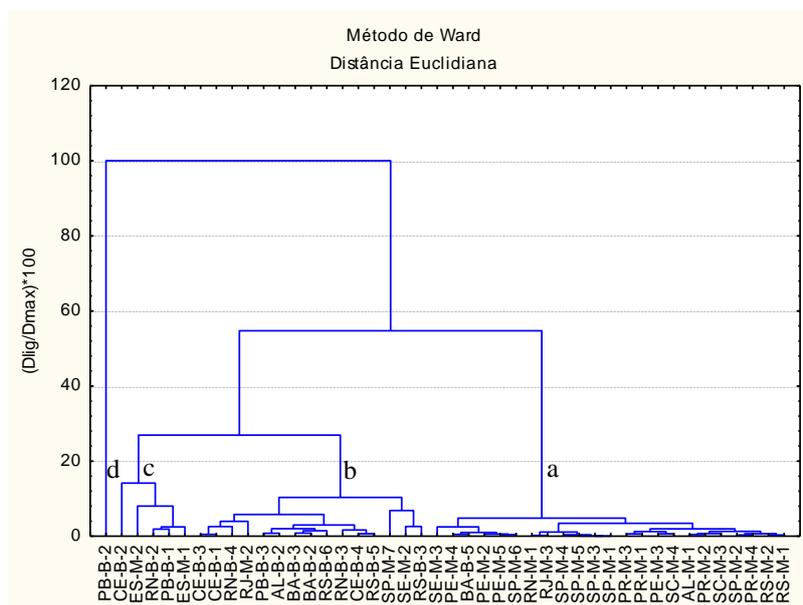


Figura 2: Dendrograma obtido das razões normalizadas para as amostras analisadas, as duas primeiras letras da denominação das amostras indicam o estado onde a amostra foi coletada, a letra entre hifens indica a espécie, M para *C. mangle* e B, para *C. brasiliana* e o número indica a ordem da amostra.

Estudos posteriores e avaliações mais criteriosas são necessários para explicar a formação dos grupos c e d, no entanto, a análise de agrupamento com os valores normalizados, embora não tenha separado as amostras em função de suas proveniências permitiu identificar as de conchas ostras analisadas em função de seu ambiente marinho ou de mangue.

## Conclusões

Foram analisadas conchas de ostras das espécies *C. mangle* e *C. brasiliana* para determinação de elementos terras raras e elementos maiores Ca, Si, P, S, Cl e Sr. Os resultados obtidos pela normalização por meio do fator de enriquecimento utilizando o La como elemento conservativo em função da concentrações da água do mar mostram forte correlação positiva significativa entre as razões dos elementos maiores e o Ca. A análise de agrupamento indicou que as razões normalizadas podem ser características do ambiente de crescimento das espécies estudadas. A formação de um grupo de amostras que não se agruparam com suas respectivas espécies, bem como a presença de *C. mangle* entre as amostras do grupo *C. brasiliana* e vice versa indicam o erro associado a esta

determinação que pode estar relacionado à identificação da amostra, à sua origem ou ainda a erros analíticos. Mais estudos são necessários para explicar as incoerências observadas.

### **Agradecimentos**

Wellington M. Farias agradece ao CNPq pela bolsa de mestrado para execução deste trabalho.

### **Referências Bibliográficas**

- Amaral, S. Vanessa and Simone, R. Luiz. 2014. "Revision of genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil". *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 94(4): 811–836.
- Borrego, José, Nieves Lopez-Gonzalez, B. Carro, and O. Lozano-Soria. 2005. "Geochemistry of Rare-Earth elements in Holocene Sediments of an Acidic Estuary: Environmental Markers (Tinto River Estuary, South-Western Spain)". *Journal of Geochemical Exploration* 86:119-129.
- Eltom, A. Hassan, Osman M. Abdullatif and Lamidi O. Babalola. 2017. "Redox conditions through the Permian-Triassic transition in the upper Khuff formation, Saudi Arabia". *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 472(15): 203-215.
- Emsbo, Poul, Patrick I. McLaughlin, George N. Breit, Edward A. du Bray, and Alan E. Koenig. 2015. "Rare earth elements in sedimentary phosphate deposits: Solution to the global REE crisis?" *Gondwana Research*, 27(2): 776-785.
- Gillikin, P. David, Anne Lorrain, Jacques Navez, James W. Taylor, Luc André, Eddy Keppens, Willy Baeyens and Frank Dehairs. 2005. "Strong biological controls on Sr/Ca ratios in aragonitic marine bivalve shells". *Geochem. Geophys. Geosys.* 6:Q05009 doi:10.1029/2004GC000874.
- Freitas, S. Pedro, Leon J. Clarke, Hilary Kennedy, Christopher A. Richardson and Fátima Abrantes. 2006. "Environmental and biological controls on elemental (Mg/Ca, Sr/Ca and Mn/Ca) ratios in shells of the king scallop *Pecten maximus*". *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70(20): 5119-5133.
- Gosling, N. Simon. "The likelihood and potential impact of future change in the large-scale climate-earth system on ecosystem services". *Environmental Science & Policy*, 27(1): S15-S31.
- INMETRO. 2011. Orientação sobre validação de métodos analíticos. Last Accessed 04/2017. [www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_04.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf).
- Klein, T. Robert, Kyger C Lohmann, and Charles W. Thayer. 1996a. "Bivalves skeletons record sea-surface temperature and  $\delta^{18}\text{O}$  via Mg/Ca and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratios". *Geology* 24, 415–418.
- Li, Yuan-Hui. 1982. "A brief discussion on the mean oceanic residence time of elements". *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46: 2671-2675.
- Mouchi, Vincent, Marc de Rafélis, Franck Lartaud, Michel Fialin, and Eric Verrecchiad. 2013. "Chemical labelling of oyster shells used for time-calibrated high-resolution Mg/Ca ratios: A tool for estimation of past seasonal temperature variations". *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 373 (1): 66–74. 2013.
- Peacock, Evan, and Jennifer L. Seltzer. 2008. "A comparison of multiple proxy data sets for paleoenvironmental conditions as derived from freshwater bivalve (Unionid) shell". *Journal of Archaeological Science*, 35(9): 2557-2565.
- Schöne, R. Bernd. 2013. *Arctica islandica* (Bivalvia): "A unique paleoenvironmental archive of the northern North Atlantic Ocean. *Global and Planetary Change*". 111: 199–225.
- Wright A. David. 1995. "Trace metal and major ion interactions in aquatic animals". *Mar. Poll. Bull.* 31, 8–18.
- Takesue, K. Renee, Charles R. Bacon, and Janet K. Thompson. 2008. "Influences of organic matter and calcification rate on trace elements in aragonitic estuarine bivalve shells". *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(22): 5431-5445.