INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

REMOÇÃO DA TOXICIDADE DO FÁRMACO PROPRANOLOL E DE SUA MISTURA COM CLORIDRATO DE FLUOXETINA EM SOLUÇÃO AQUOSA EMPREGANDO IRRADIAÇÃO COM FEIXE DE ELÉTRONS

NATHALIA FONSECA BOIANI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:
Dra. Sueli Ivone Borrely

São Paulo
2016

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

REMOÇÃO DA TOXICIDADE DO FÁRMACO PROPRANOLOL E DE SUA MISTURA COM CLORIDRATO DE FLUOXETINA EM SOLUÇÃO AQUOSA EMPREGANDO IRRADIAÇÃO COM FEIXE DE ELÉTRONS

NATHALIA FONSECA BOIANI

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:
Dra. Sueli Ivone Borrely

São Paulo
2016

“Cabe ao homem compreender que o solo fértil onde tudo que se planta dá, pode secar. Que o chão que dá frutos e flores pode dar ervas daninhas. Que a caça se dispersa e a terra da fartura pode se transformar na terra da penúria e da destruição. O homem precisa entender que de sua boa convivência com a natureza depende sua subsistência e que a destruição da natureza é sua própria destruição, pois a sua essência é a natureza, a sua origem e o seu fim.”

Autor Desconhecido

AGRADECIMENTOS

Á Dra Sueli Ivone Borrely, por todos os ensinamentos, dedicação, confiança, carinho e amizade no decorrer do mestrado, e principalmente pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos meus queridos pais, José e Maria Otilia por todo carinho, paciência e amor. Agradeço pelo grande apoio, incentivo e esforços em tornarem todos os meus sonhos realidade.

Ao meu irmão Fábio, obrigada por estar sempre ao meu lado em todas as minhas conquistas, pelo exemplo de caráter e dedicação, e de que com esforço tudo é possível. Ao meu irmão Gustavo (*in memoriam*), por cuidar de mim de onde estiver.

Ao meu noivo Caio, meu companheiro de vida e jornada, por todo o apoio, incentivo e amor, por sempre acreditar em mim e na minha capacidade, mesmo quando eu não acredito. Obrigada por tornar meus sonhos projetos de vida.

Aos grandes amigos de trabalho Stephanie, Flávio e Reginaldo, agradeço por todo o auxílio no laboratório, por toda a ajuda no processo de criação deste trabalho, pela amizade e confiança, e boas conversas e aprendizados.

Aos engenheiros Carlos e Beth, pela irradiação das amostras e pelo aprendizado.

A todos os professores e funcionários, do CTR e do Ensino do IPEN, por terem sido prestativos e terem contribuído com meus conhecimentos. Ao pessoal da segurança e da faxina, por tornarem o ambiente de trabalho agradável.

Aos colegas de trabalho Mariana, Bianca, Aline, Vanessa, Hayanne, que dividiram momentos durante esse período.

Ao IPEN/CNEN pela concessão da bolsa e oportunidades de realização do mestrado.

E a todos que deram sua contribuição, Muito obrigada!

REMOÇÃO DA TOXICIDADE DO FÁRMACO PROPRANOLOL E DE SUA MISTURA COM CLORIDRATO DE FLUOXETINA EM SOLUÇÃO AQUOSA EMPREGANDO IRRADIAÇÃO COM FEIXE DE ELÉTRONS

NATHALIA FONSECA BOIANI

RESUMO

A saúde do meio ambiente vem sendo comprometida devido ao descarte incorreto de produtos e seus subprodutos. Dentre os contaminantes emergentes encontram-se os fármacos, causadores de problemas ambientais por serem descartados no meio ambiente através dos efluentes. As técnicas convencionais de tratamento são insuficientes na remoção de diversos fármacos, por apresentarem resíduos resistentes e baixa biodegradabilidade. Sendo assim os processos oxidativos avançados vêm sendo estudados como alternativa para o tratamento de diferentes tipos de efluentes. O objetivo desse trabalho foi aplicar o processo de irradiação com feixe de elétrons para reduzir os efeitos tóxicos do propranolol, e de sua mistura com cloridrato de fluoxetina, em solução aquosa. Foram realizados ensaios ecotoxicológicos com o fármaco propranolol, e de sua mistura com o cloridrato de fluoxetina, utilizando como organismos-teste o microcrustáceo *Daphnia similis,* e a bactéria *Vibrio fischeri*. Observamos que o organismo *D. similis* mostrou-se mais sensível as amostras de fármacos quando comparado à bactéria *V.fischeri*. Após serem submetidas ao tratamento com radiação ionizante, todas as doses aplicadas para o propranolol e a mistura, mostraram significativa redução de toxicidade, tendo como organismo-teste *D. similis*. Para a bactéria *V. fischeri* apenas na dose de 5,0 kGy foi verificada a redução da toxicidade para o fármaco propranolol. Quanto à mistura dos fármacos, apenas as doses de 2,5 e 5,0 kGy apresentaram eficiência de remoção da toxicidade. A dose 5,0 kGy mostrou-se a melhor, apresentando redução de 79,94% para *D. similis*, e 15,64% para *V. fischeri,* quando expostas ao fármaco propranolol. Quanto à mistura, apresentou 81,59% e 26,93%, para
D.similis e *V.fischeri,* respectivamente.

Palavras-chave: Propranolol, Fluoxetina, mistura de fármacos, radiação ionizante, toxicidade.

REMOVAL OF TOXICITY THE PHARMACEUTICAL PROPRANOLOL AND YOUR MIXTURE WITH FLUOXETINE HYDROCHLORIDE IN AQUEOUS SOLUTION USING RADIATION WITH ELECTRON BEAM

NATHALIA FONSECA BOIANI

ABSTRACT

Environmental health has been damage due to incorrect disposal of products and by-products. Among emerging pollutants it is possible to account with several pharmaceuticals, causing those problems when disposed in the environment by effluents. Conventional processing techniques are insufficient in removal of the pharmaceuticals, for having resistant waste and low biodegradability. Thus the advanced oxidation processes have been studied as an alternative for the treatment of different types of effluents. The objective of this study was to apply the process of irradiation with electron beam in order to reduce the toxic effects of propranolol, and the mixture with fluoxetine hydrochloride in aqueous solution. Ecotoxicological tests conducted with propranolol, and the mixture with fluoxetine hydrochloride, for *Daphnia similis* microcrustacean, and the *Vibrio fischeri* bacterium. It was observed that *D. similis* was more sensitive to propranolol drug and to the mixture, when compared to bacterium *V.fischeri*. After being subjected to the treatment with ionizing radiation, all applied doses to the propranolol and the mixture, showed significant reduction of toxicity, for *D. similis*. Different were the results for *V. fischeri*, when only 5.0 kGy reduced toxicity to propranolol. The mixture of pharmaceuticals required 2.5 and 5.0 kGy for reducing toxicity. 5.0 kGy showed the best removal efficiency for toxicity: 79.94 % for *D. similis* and 15.64 % for *V. fischeri,* when exposed to propranolol. The mixture reduction eficacy were 81.59 % and 26.93 % for *D.similis* and *V.fischeri*, respectively.

Keywords: Propranolol, Fluoxetine, mixture of pharmaceuticals, ionizing radiation, toxicity.

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 11
2. OBJETIVOS 14
3. REVISÃO DA LITERATURA 15
3.1 Contaminação e presença de fármacos no meio hídrico 15
3.2 Cloridrato de fluoxetina 17
3.3 Propranolol 20
3.4 Excipientes Farmacêuticos 21
3.5 Processos Oxidativos Avançados 22
3.5.1 Radiações ionizantes no tratamento de águas 23
3.5.2 Radiólise da água 25
3.6 Ecotoxicologia Aquática 27
3.6.1 Organismos-teste 29
3.6.1.1 *Daphnia similis* 29
3.6.1.2 *Vibrio fischeri* 30
4. METODOLOGIA 32
4.1 Substâncias utilizadas no estudo 32
4.2 Preparo das soluções-teste 33
4.2.1 Propranolol 33
4.2.2 Cloridrato de Fluoxetina 33
4.2.3 Mistura do propranolol com o cloridrato de fluoxetina 33
4.3 Irradiação das soluções-teste 33
4.4 Ensaios Ecotoxicológicos 35
4.4.1 *Daphnia similis* 35
4.4.2 Água de cultivo e de diluição 35
4.4.3 Manutenção do cultivo de microcrustáceos 36
4.4.4 Ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis* 38
4.4.5 Ensaios de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* 38
4.4.6 Unidades Tóxicas e Eficiência do tratamento 39
4.4.7 Carta controle 40
4.4.8 Análise estatística 41
4.5 Descarte dos resíduos 41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 42
5.1 Ensaios ecotoxicológicos 42
5.1.2 *Daphnia similis* 42
5.1.3 *Vibrio fischeri* 46
5.1.4 Comparação entre os dados de toxicidade do Propranolol 51
5.1.5 Eficiência de remoção dos compostos 52
5.1.6 Efeito de Mistura 55
5.1.6.1 Características Farmacológicas – Propranolol 56
5.1.6.2 Características Farmacológicas – Cloridrato de Fluoxetina 58
5.2 Parâmetros físico-químicos 59
5.2.2 pH 59
5.2.3 Condutividade 61
5.2.4 Oxigênio Dissolvido 63
5.3 Ensaios com Fármacos Manipulados 64

5.3.1 *Daphnia similis* 64
5.3.2 *Vibrio fischeri* 66
5.4 Carta Controle 70
5.5 Análise Estatística 71
6. CONCLUSÕES 73
7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS 74
APÊNDICE A 75
APÊNDICE B 94
8. REFERENCIAS 108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações de fluoxetina detectadas em efluentes e águas superficiais em diferentes países. 19
Tabela 2 - Excipientes amplamente utilizados na indústria farmacêutica. **..... 22**
Tabela 3 – Trabalhos na área ambiental com a utilização de acelerador de elétrons como tratamento..... 24
Tabela 4 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para o propranolol com *D. similis*. 43
Tabela 5 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina com *D. similis.* *45*
Tabela 6 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para o propranolol com *V. fischeri*..... 47
Tabela 7 - Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina com *V. fischeri.* *49*
Tabela 8 – Comparação entre valores de CE50 (mg.L-1) do propranolol para *V. fischeri* e dafnídeos encontrados na literatura (Rosa, 2008, com modificações). 52
Tabela 9 – Eficiência de remoção da dose de 5,0 kGy. **..... 54**
Tabela 10 – Unidades Tóxicas obtidas dos fármacos propranolol e de sua mistura com CF, empregando dados da literatura..... 56
Tabela 11 – pH das soluções de propranolol (80 **mgL-1)antes e após** irradiação 60
Tabela 12 – pH das soluções da mistura de fármacos (1:1) antes e após irradiação 60
Tabela 13 – Condutividade das soluções de propranolol (80 mg.L^{-1}). **..... 62**
Tabela 14 – Condutividade das soluções da mistura de fármacos (1:1). **..... 62**
Tabela 15 – CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra do fármaco propranolol para *D. similis*. 64
Tabela 16 - CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra da mistura dos fármacos para *D. similis*..... 65
Tabela 17 – CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra do fármaco propranolol para *V. fischeri*..... 67
Tabela 18 - CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra da mistura dos fármacos para *V. fischeri*. 67
Tabela 19 – Dados calculados pelo Teste de Turkey para verificar a variação significativa entre as médias de CE50. 71
Tabela 20 – Dados calculados pelo Teste de Turkey para verificar a variação significativa entre as amostras do fármaco propranolol manipulado,..... 72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do cloridrato de fluoxetina. Fonte: Silva (2014). 18
Figura 2 – Estrutura molecular do fármaco Propranolol. Fonte: Rosa (2008). 20
Figura 3 - *Daphnia similis*. Fonte: Silva, 2014. **30**
Figura 4 – *Vibrio fischeri*. Fonte: UW Eye Research Institute. **31**
Figura 5 – Acelerador Industrial de Elétrons do Centro de Tecnologia das Radiações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares 34
Figura 6 - Amostras das soluções de fármacos contidas em vidro Pyrex® passando sob o feixe de elétrons durante o tratamento em um acelerador industrial de elétrons. 35
Figura 7 - Equipamentos utilizados para medir os valores de pH, condutividade e Oxigênio Dissolvido (OD). 36
Figura 8 - Câmara de germinação com temperatura e fotoperíodo controlados. 37
Figura 9 - Sistema analisador (Microbics® 500) empregado no ensaio com a bactéria bioluminescente *V. fischeri*. 39
Figura 10 – (a) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para o propranolol não irradiado. (b) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para o propranolol irradiado com 5,0kGy..... *44*
Figura 11 – (a) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para a mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) não irradiado. (b) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para a mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) irradiado..... 46
Figura 12 – Variação das Unidades Tóxicas do propranolol para *V. fischeri.* . 48
Figura 13 - Variação das Unidades Tóxicas da mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) para *V. fischeri* em função da dose aplicada (kGy). 50
Figura 14 – Eficiência de remoção do fármaco propranolol e de sua mistura com cloridrato de fluoxetina em resposta a dose aplicada, aplicando ensaios ecotoxicológicos com o organismo *D. similis*..... 53
Figura 15 – Valores de pH das amostras analisadas em relação as doses de radiação aplicadas. 61
Figura 16 – Condutividade das amostras analisadas versus dose de radiação 63
Figura 17 – Valores de oxigênio dissolvido das amostras analisadas em relação às doses de radiação aplicadas..... 63
Figura 18 – (a) e (b) Eficiência de remoção dos fármacos manipulados e comerciais, para o organismo *D. similis*. 66
Figura 19 – (a) e (b) Eficiência de remoção dos fármacos manipulados e comerciais, para o organismo *V. fischeri.* 68
Figura 20 – Carta controle dos ensaios de sensibilidade com cloreto de potássio para *D. similis*. 70
Figura 21 – Carta controle dos ensaios de sensibilidade com cloreto de potássio para *V. fischeri*. 70

1. INTRODUÇÃO

O crescimento populacional, em conjunto com a expansão industrial, ocasiona a produção de inúmeros poluentes, que acabam por contaminar o ar, o solo e as águas. Porém, nos últimos anos a conscientização da população tem aumentado em relação ao meio ambiente. Assim, se faz necessária a criação de técnicas que busquem evitar, reverter e minimizar a disposição dos poluentes e agentes tóxicos no ambiente, principalmente nos recursos hídricos.

A contaminação da água continua sendo um tema atual, em nível nacional e internacional, uma vez que o meio hídrico é o principal veículo de dispersão ambiental dos poluentes químicos. Os corpos hídricos são os receptores dos esgotos domésticos, industriais e agropecuários (GAFFNEY et al., 2014). O lançamento dos esgotos domésticos sobre os ambientes aquáticos, com ou sem tratamento prévio, afeta a qualidade das águas do sistema receptor, refletindo na manutenção das condições ideais para a sobrevivência dos organismos que ali se encontram, na qualidade da água e também na saúde humana.

Na tentativa de suprir necessidades do homem moderno, o descarte de produtos e subprodutos vem comprometendo a saúde do meio ambiente. Dentre os produtos a serem corretamente descartados, encontram-se os fármacos, causadores de problemas ambientais, uma vez que são liberados no meio através dos efluentes e esgotos domiciliares. A preocupação com a área da saúde fez crescer a produção industrial dos produtos farmacêuticos, que são destinados a combater diversas enfermidades e reduzir os seus riscos.

Fármacos de diversas classes terapêuticas têm sido encontrados em esgotos domésticos, em águas superficiais e em águas subterrâneas de várias partes do mundo, como consequência da excreção urinária e fecal, devendo ser considerados também os efluentes industriais, farmacêuticos e hospitalares, bem como o descarte de medicamentos em lixo comum e ainda a

disposição inadequada de fármacos com prazo de validade expirado (MELO et al., 2009).

Em uma investigação divulgada pela *Associated Press* (AP), em 2008, uma agência americana verificou que a água potável destinada a cerca de 41 milhões de pessoas dos Estados Unidos encontra-se contaminada com resíduos de fármacos. Em exames laboratoriais realizados em amostras de água foram encontrados cerca de 63 tipos diferentes de medicamentos, pertencentes a vários grupos como sedativos, calmantes, anticonvulsivantes, ansiolíticos e antibióticos (RODRIGUES, 2009).

O Cloridrato de fluoxetina (CF), conhecido mundialmente pelo nome comercial Prozac®, é um medicamento amplamente utilizado para o tratamento de transtornos depressivos, de ansiedade em geral, bulimia nervosa, transtorno obsessivo-compulsivo (TOC), e de transtorno disfórico pré-mentrual (TDPM) (ELI LILLY & COMPANY, 2013; MERCK, 2013).

Um levantamento realizado sobre a concentração de poluentes emergentes em amostras de estações de tratamento de esgotos demonstrou a presença de fluoxetina na concentração de 5,85 μL^{-1} em afluente e 0,112 μL^{-1} no efluente (DEBLOND et al., 2011).

Outra classe de fármacos, amplamente evidenciada nas águas do mundo todo são os β - bloqueadores, dentre eles o Propranolol, usado extensivamente para tratamentos de hipertensão, arritmias cardíacas, angina, angina pectoris, infarto do miocárdio e enxaquecas. Trata-se de um inibidor da ação dos agentes adrenérgicos (ROSA, 2008).

Ternes e colaboradores (1998) mencionam a ocorrência de β – bloqueadores, em águas superficiais, como o propranolol, o bisoprolol e o metroprolol, nas concentrações de 0,59; 2,9; e 2,2 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente.

As técnicas de tratamento, sobretudo a biodegradação dos efluentes são insuficientes na remoção dos traços para diferentes fármacos, sendo assim, buscam-se técnicas avançadas, tais como a ozonização, processos oxidativos avançados ou filtração com o uso de membranas para aumentar a eficiência na remoção de resíduos e subprodutos de medicamentos em águas (TERNES et al., 2003).

Estes Processos Oxidativos Avançados (POA), têm se mostrado como alternativa ou complemento aos processos convencionais de tratamento de efluentes. Caracterizam-se pelas reações de oxidação química intermediadas pelo radical hidroxila (HO•), esta espécie é pouco seletiva e altamente reativa, atuando na oxidação química de muitas substâncias (MELO et al., 2009). Assim, os POAs vêm sendo utilizados no tratamento de águas residuais, contribuindo na redução dos contaminantes orgânicos e ajudando na melhoria da biodegradabilidade dos efluentes industriais (RIZZO, 2011).

O presente trabalho se dedicou ao estudo de um processo oxidativo avançado, com emprego de acelerador de elétrons a fim de reduzir a toxicidade de fármacos, em solução aquosa.

2. OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi aplicar o processo de irradiação com feixe de elétrons como tratamento, visando à redução dos efeitos tóxicos do fármaco propranolol, e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina, em solução aquosa. As seguintes etapas foram desenvolvidas:

- Irradiação das amostras em diferentes doses de radiação.
- Determinação da toxicidade aguda desses fármacos e de sua mistura, antes e após o tratamento das amostras, empregando ensaios ecotoxicológicos com o microcrustáceo *Daphnia similis* e a bactéria *Vibrio fischeri.*
- Avaliação dos parâmetros físico-químicos, tais como, pH, condutividade e oxigênio dissolvido.
- Avaliação da eficiência do tratamento proposto na redução da toxicidade de fármacos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Contaminação e presença de fármacos no meio hídrico

O meio hídrico é o principal veículo de dispersão ambiental dos poluentes químicos, uma vez que são eles os receptores dos esgotos domésticos, industriais e agropecuários. Assim, a contaminação da água, continua sendo um tema atual, em nível nacional e internacional. O lançamento dos esgotos domésticos sobre os ambientes aquáticos, com ou sem tratamento prévio, afeta a qualidade das águas do sistema receptor, refletindo na manutenção das condições ideais para a sobrevivência dos organismos que ali se encontram, na qualidade da água, e também na saúde humana. Esses resíduos podem apresentar contaminantes e características físico-químicas que lhes classificam como substâncias tóxicas e/ou ambiente com potencial de risco (GAFFNEY et al., 2014).

O número de áreas contaminadas através da introdução de resíduos químicos ou outras substâncias que tenham sido depositadas nos compartimentos ambientais vem crescendo (água, solo, ar, sedimentos, entre outros).

Na tentativa de suprir as necessidades do homem moderno o descarte de produtos e subprodutos acaba por comprometer o meio ambiente. Dentre os produtos a serem corretamente descartados, encontram-se os fármacos, causadores de problemas ambientais, por serem liberados ao meio através dos efluentes. A preocupação com a saúde fez crescer a produção industrial dos produtos farmacêuticos, destinados a combater enfermidades e reduzir os seus riscos. À produção em larga escala e a facilidade de obtenção desses produtos deu origem ao seu uso indiscriminado e desenfreado.

A forma de entrada dos fármacos, mais significativa, no ambiente aquático, é através das estações de tratamento de esgotos (ETEs). A presença dos fármacos no ambiente pode acarretar efeitos adversos aos organismos que ali se encontram, sendo eles aquáticos ou terrestres (SUCHARA, 2007). Esses

efeitos podem ocorrer em diversos níveis de hierarquia biológica: células, órgãos, organismo, população e no ecossistema como um todo (GAFFNEY et al., 2014).

O monitoramento dos fármacos no meio ambiente vem crescendo, estudos têm mostrado que essas substâncias são persistentes no meio ambiente, e não são completamente removidas nas ETEs, diversos resíduos resistem aos tratamentos convencionais de água, sendo de baixa biodegradabilidade (CERON, 2011).

A eficiência da remoção dos fármacos nas ETEs depende das propriedades físico-químicas de cada composto. Melo e colaboradores (2009), ainda citam o comportamento dos medicamentos durante sua passagem pelo sistema de ETEs, onde compostos polares tendem a permanecer na fase aquosa, o que favorece a sua entrada no ambiente aquático, enquanto compostos pouco polares são removidos por adsorção no lodo ativado.

Segundo Bila e Dezotti (2003) e Gil e Mathias (2005), as vias de contaminação das águas por resíduos de fármacos e seus metabólitos, na área urbana, ocorrem principalmente por meio de excreção urinária e fecal, uma vez que grande parte da dose administrada pode ser excretada, e pelo descarte de medicamentos em lixo doméstico. Na área rural, essa contaminação é associada ao uso de medicamentos veterinários, tais como hormônios, antibióticos e antiparasitários, e ainda, cerca de 70 a 80% de drogas utilizadas nas fazendas são lançadas no meio ambiente.

No entanto, devem ser considerados também os efluentes industriais, farmacêuticos e hospitalares, bem como o descarte de medicamentos em lixo comum e ainda a disposição inadequada de fármacos com prazo de validade expirado (BILA & DEZOTTI, 2003; GIL & MATHIAS, 2005).

Em se tratando de efluentes hospitalares, que são constituídos por uma variedade de fármacos, torna-se inviável detectar, identificar e quantificar todas as substâncias presentes, e somente com a identificação e a quantificação desses fármacos seria possível estimar os efeitos que eles apresentam sobre a biota, uma vez que a sua atividade biológica depende das suas interações com os outros componentes do efluente, incluindo os não tóxicos (COSTA & OLIVI, 2008).

As empresas distribuidoras de fármacos, bem como hospitais, farmácias e drogarias, não apresentam sistema adequado para descarte seguro de medicamentos em desuso e dependem do apoio da prefeitura para a destinação dos resíduos (CERON, 2011). Há que se considerar, ainda, o descarte dos medicamentos pelo consumidor final, pois não há orientação e nem legislação que aponte a forma correta de dispor tal resíduo, ocorrendo o mesmo com farmácias, drogarias e centros de saúde que não são obrigados por lei a recolher esses produtos (BORRELY et al., 2012).

É de grande importância a oferta dos medicamentos, porém, além de ambicionar ao lucro, deve ser levado em consideração o meio ambiente.

A presença destes fármacos no meio ambiente pode representar um risco para os ecossistemas e até mesmo para o homem, uma vez que, foram produzidos para terem uma ação específica no corpo humano, atuando em concentrações muito baixas (GAFFNEY et al., 2014).

Além dos fármacos serem persistentes no meio ambiente, os seus resíduos têm trazido diversos problemas ambientais como efeitos causados por desreguladores endócrinos que causaram anomalias no sistema reprodutivo de animais como peixes, répteis e pássaros (BILA & DEZOTTI, 2007).

Os fármacos na água geram relevante preocupação em locais onde ocorre o reuso indireto da água, quando o efluente que é descartado nos córregos e rios, retorna como fonte natural, sendo usado na produção da água potável nas Estações de Tratamento de Água (ETA). Mesmo em baixas concentrações, não é aconselhável o reuso dessa água, devido à possibilidade de bioacumulação (JONES et al., 2005).

Fármacos de diversas classes terapêuticas, como antidepressivos, analgésicos, antiinflamatórios, antibióticos, antilipêmicos, cardiopatas, hormônios, entre outros, têm sido encontrados em esgotos domésticos, em águas superficiais e em águas subterrâneas de várias partes do mundo (MELO et al., 2009).

3.2 Cloridrato de fluoxetina

O cloridrato de fluoxetina é o cloridrato de (±)-N-metil-3-fenil-3-[(α,α,α-trifluoro-p-tolil)-oxi] propilamina, com a fórmula molecular $C_{17}H_{18}F_3NO{\cdot}HCl$

(Figura 1). Seu peso molecular é 345,79 g.mol^{-1}. É um pó cristalino branco, ou branco-amarelado, solúvel em água, em uma concentração de 14 mg.mL^{-1} (ELI LILLY & COMPANY, 2013; MERCK, 2013).

A molécula de fluoxetina foi descrita pela primeira vez na literatura científica como Lilly 110140 - na forma de cloridrato - onde foi publicada na revista *Life Sciences*, em Agosto de 1974. Em 1979 sua ação antidepressiva foi comprovada. Este medicamento foi aprovado para ser utilizado em tratamentos de depressão na Bélgica em 1986 e pela FDA dos Estados Unidos em 1987 (FERNANDES et al., 2009).

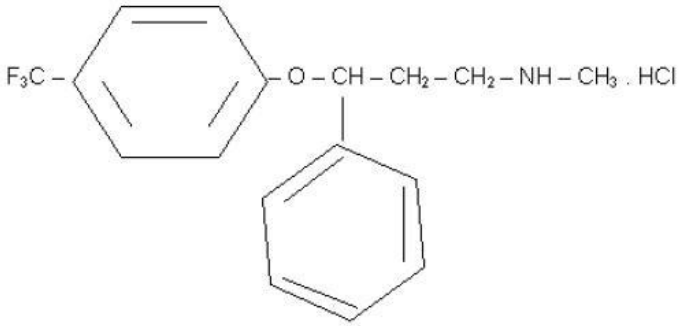

Figura 1 - Estrutura molecular do cloridrato de fluoxetina. Fonte: Silva (2014).

O Cloridrato de fluoxetina (CF), conhecido mundialmente pelo nome comercial Prozac®, foi um dos primeiros medicamentos desenvolvido e comercializado para o tratamento de enfermidades mentais, tais como a depressão, ansiedade, bulimia nervosa, transtorno obsessivo compulsivo (TOC), transtorno disfórico pré-menstrual (TDPM), incluindo tensão pré-menstrual (TPM), irritabilidade e disforia e indevidamente para controle de peso (BORRELY et al., 2012; ELI LILLY & COMPANY, 2013; MERCK, 2013). Ele é adotado como uma droga psicotrópica nos tratamentos de transtornos depressivos e de ansiedade em geral, pois é capaz de modificar mecanismos do Sistema Nervoso Central (ANDRADE et al., 2004). Trata-se de um inibidor seletivo da receptação da serotonima, que é o seu suposto mecanismo de ação (ELI LILLY & COMPANY, 2013; MERCK, 2013).

A fluoxetina é parcialmente metabolizada no fígado, originando a norfluoxetina, o metabólito primário e ativo, e outros metabólitos não

identificados, que são excretados na urina. Sua meia vida de eliminação é de 4 a 6 dias, e do seu metabólito ativo, a norfluoxetina, é de 4 a 16 dias. Sendo assim, cerca de 20-30% da dose de fluoxetina administrada por humanos, é excretada na forma de metabólito (BORRELY et al., 2012; MERCK, 2013).

Em um estudo onde analisaram quatro estações de tratamento no Canadá, em três foram detectadas a fluoxetina nos seus efluentes, em concentrações de 0,038; 0,050 e 0,099 μL^{-1}. Também foi detectada a presença de fluoxetina em águas superficiais adjacentes as ETEs nas concentrações de 0,013 e 0,046 μL^{-1} (METCALFE et al., 2003). Em outro estudo analisaram a presença de fármacos, hormônios e outros contaminantes orgânicos de efluentes de córregos nos Estados Unidos, onde foi estimada uma média de 0,012 μL^{-1} de fluoxetina (KOLPIN et al., 2002).

Deblonde e colaboradores (2011) realizaram um levantamento sobre as concentrações de poluentes emergentes em afluentes e efluentes de estações de tratamento de esgotos, onde foi observada a presença de fluoxetina nas concentrações de 5,85 $\mu g.L^{-1}$ no afluente e,112 $\mu g.L^{-1}$ no efluente.

Diversos trabalhos tem evidenciado a presença da fluoxetina em várias matrizes ambientais e principalmente nos efluentes de ETE e nas águas superficiais (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentrações de fluoxetina detectadas em efluentes e águas superficiais em diferentes países.

País	**Concentração ambiental (ng L^{-1})**		**Referência**
Canadá	46	Águas superficiais	Metcalfe et al., 2003
	99	Efluentes de ETE	
	509	Efluentes de ETE	Chen et al., 2006
Croácia	66	Águas superficiais	Gros et al., 200
Coréia do Sul	2	Efluentes de ETE	Trenholm et al., 2006 Kim et al., 2007
Espanha	19 – 299	Efluentes de ETE	Martínez et al., 2007
	70	Efluentes de ETE	Gros et al., 2006
Suécia	225	Efluentes de ETE	Zorita et al., 2007

País	Concentração ambiental (ng L^{-1})		Referência
Estados Unidos	5	Águas de reuso	Kinney et al., 2006
	12	Águas superficiais	Kolpin et al., 2002
	18	Efluentes de ETE	Stackelberg et al., 2007
	58	Efluentes de ETE	Schultz & Furlong, 2008

Fonte: Gonzalez-Rey & Bebianno, 2013 *apud* Silva, 2014, com modificações.

3.3 Propranolol

O Propranolol, na sua nomenclatura é o (RS)-1-(isopropylamino)-3-(naphthalen-1-yloxy)-propan-2-ol, com a fórmula molecular $C_{16}H_{21}NO_2$ (Figura 2), seu peso molecular é 259,34 g.mol^{-1} (FARMACOPÉIA, 2001).

Em relação às características físicas, o fármaco propranolol é encontrado na forma sólida, como um pó branco que se funde a 163ºC (GARTI, 2012).

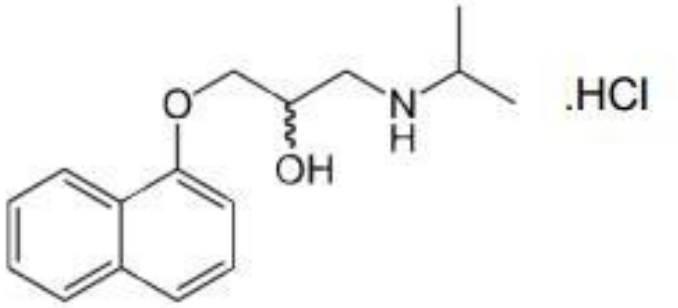

Figura 2 – Estrutura molecular do fármaco Propranolol. Fonte: Rosa (2008).

O Propranolol é um β-bloqueador, utilizado como medicamento para o tratamento de hipertensão, angina, fibrilação atrial, pós-infarto, taquicardia, arritmia, cardiomiopatia obstrutiva e enxaquecas. Estes compostos β-bloqueadores (atenolol, metoprolol, nadolol, propranolol), atuam basicamente impedindo que receptores β-adrenérgicos sejam ativados ao se ligarem com a noradrelina provocando uma série de eventos que culminam na hipertensão e outras complicações do sistema circulatório (ROSA, 2008).

Trata-se de um fármaco altamente lipofílico, sofrendo absorção quase completa após a administração oral, grande parte do fármaco é metabolizada pelo fígado, apenas cerca de 25% dele atinge a circulação sistêmica. Possui

amplo volume de distribuição e penetra facilmente no sistema nervoso central, é extensamente metabolizado e grande parte desses metabólitos está presente na urina. O 4-hidroxipropranolol é um dos produtos do metabolismo hepático (PONTES, 2009).

A ocorrência de propranolol em águas superficiais foi relatada em estudos de monitoramento de efluentes em ETEs no Reino Unido, encontrando concentrações médias de propranolol de 76 $\mu g.L^{-1}$ (SACHER et al., 2001).

Em um estudo realizado por Ternes e colaboradores (1998), foi mencionada a ocorrência de propranolol, bisoprolol e metropolol nas concentrações, respectivas, de 0,59; 2,9 e 2,2 $\mu g.L^{-1}$.

3.4 Excipientes Farmacêuticos

Uma formulação farmacêutica é composta, além do fármaco, de vários componentes conhecidos como excipientes, com função farmacêutica variada e especializada (MATOS, 2013).

Eles são adicionados às formulações, também para melhorar a sua ação terapêutica, atuando na mudança físico-química dos fármacos, como, por exemplo, aumentando a sua solubilidade, além de torná-los palatáveis, favorecendo uma adesão ao tratamento (BALBANI et al., 2006; MIRANDA et al., 2013). O conceito tradicional de excipiente farmacêutico são as substâncias que não apresentam funções farmacológicas e que são inseridos em uma formulação para facilitar sua administração e promover sua preservação (BARACAT et al., 2001).

Os fármacos, raras vezes são administrados isoladamente, geralmente fazem parte de uma formulação combinada com um ou mais agentes não farmacológicos com funções de solubilizar, suspender, espessar, diluir, estabilizar, conservar, colorir, enfim possibilitar a obtenção de formas farmacêuticas estáveis, eficazes e atraentes (MIRANDA et al., 2013).

Os fármacos, Cloridrato de Fluoxetina e Cloridrato de Propranolol, são classificados em fármacos com alta solubilidade e alta permeabilidade, que se dissolvem rapidamente quando administrados em formas farmacêuticas de liberação imediata e são também, transportados rapidamente pela parede do intestino.

Foi realizada uma pesquisa dos medicamentos industrializados e comercializados na forma farmacêutica cápsula que contivessem fármacos de cada uma das classes. As fórmulas foram analisadas e a partir destas foram relacionados os excipientes mais utilizados (Tabela 2).

Tabela 2 - Excipientes amplamente utilizados na indústria farmacêutica.

Excipientes	
Amido Glicolato de Sódio	Lactose Anidra
Amido de Milho	Lactose Monoidratada
Carragenina	Lauril Sulfato de Sódio
Celulose Microcristalina	Manitol
Croscarmelose Sódica	Metabissulfito de Sódio
Dióxido de Silício Coloidal	Metilcelulose
Docusato sódico	Polissorbatos 20, 60, 80
Edetato Dissódico – EDTA	Sacarose
Goma Xantana	Sorbato de Potássio
Glicolato sódico de amido	Talco

Fonte: MIRANDA et al., 2013.

A pesquisa na área da tecnologia farmacêutica tem focado no desenvolvimento de vários excipientes, principalmente os co-processados, que possuem dois ou mais excipientes interagindo, com o objetivo de fornecer sinergia entre as melhorias da funcionalidade, mascarar as propriedades indesejáveis e melhorar propriedades funcionais diferenciadas, sem provocar modificações químicas nas estruturas originais (ORLANDIN & GOMES, 2010).

3.5 Processos Oxidativos Avançados

Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são caracterizados pelas reações de oxidação química intermediada pelo radical hidroxila (HO), trata-se de espécies transitórias oxidantes, reativas e pouco seletivas (ANDREOZZI et al., 1999; AL-KDASI et al., 2004).

Por estes motivos, os POAs vêm sendo amplamente utilizados em tratamento de águas e águas residuais, para a remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos, e também para melhorar a biodegradabilidade dos efluentes (RIZZO, 2011).

Os POAs oferecem um potencial a ser explorado pela combinação com o tratamento biológico para a degradação de substâncias tóxicas ou refratárias,

o que pode diminuir os custos e obter um melhor resultado do tratamento (ANDREOZZI et al., 1999). Existem vários tipos, dentre eles encontramos os processos que utilizam a radiação UV, processo H_2O_2/UV, processo Fenton, processo foto-Fenton, a ozonização e a radiação ionizante (BORRELY, 2001).

Apesar dos POAs terem se apresentado como uma excelente alternativa no tratamento de efluentes complexos é necessário o acompanhamento da eficiência desses tratamentos quando utilizados como pré-tratamento, caso a oxidação dos contaminantes orgânicos tenha ocorrido de maneira parcial, pode haver a formação de compostos intermediários ainda mais tóxicos do que a amostra inicial, por isso são indicados ensaios de toxicidade para essa avaliação (RIZZO, 2011).

3.5.1 Radiações ionizantes no tratamento de águas

As radiações ionizantes vêm sendo aplicadas em diferentes áreas, tais como a irradiação de efluentes líquidos, gasosos, domésticos ou industriais, a fim de promover o aumento da biodegradabilidade. Em alimentos, para a redução da carga microbiana, aumentando a durabilidade e desinfestação de organismos e larvas. Em materiais médicos para a radioesterilização. Para o beneficiamento de pedras preciosas e semipreciosas. Em polímeros, para agregar características como a reticulação, e desta forma aumentar a resistência. Para o desenvolvimento de fontes radioativas para radioterapias; para radioesterilização de tecidos e ossos, com o objetivo de diminuir a carga microbiana, e assim reduzir a rejeição após transplante; dentre outras aplicações.

Em aplicações ambientais o acelerador de elétrons parece ser a melhor opção entre os irradiadores. A utilização da radiação ionizante, gerada a partir de um Acelerador de Feixe de Elétrons, vem sendo desenvolvida como um tratamento avançado que pode ser aplicado ao tratamento de águas e efluentes.

Os aceleradores de elétrons consistem em dispositivos capazes de acelerar partículas subatômicas de valores muito baixos até alguns milhões e vários bilhões de elétrons – Volt (eV) e altas energias cinéticas, pela combinação entre campos elétricos e magnéticos. A unidade elétron-Volt

corresponde a variação da energia de um elétron que atravessa uma diferença de potencial de 1 Volt, no vácuo. O potencial de alta voltagem é estabelecido entre o cátodo e o ânodo, sendo essa diferença de potencial a responsável pela aceleração das partículas (ROMANELLI, 2004).

A técnica de tratamento de efluentes que utiliza a radiação ionizante consiste em submeter à amostra desejada ao feixe de elétrons, respeitando a espessura da camada de água de acordo com a energia do equipamento que será utilizado (BORRELY, 2001).

A seguir, na Tabela 3, são apresentados alguns trabalhos na área ambiental utilizando os aceleradores de elétrons.

Tabela 3 – Trabalhos na área ambiental com a utilização de acelerador de elétrons como tratamento.

Acelerador de elétrons aplicado ao tratamento de efluentes e substâncias industriais

Autor/Ano	Local	Objetivo	Dose(kGy)
DUARTE (1999)	Brasil	Degradação de compostos orgânicos presentes em efluente industriais.	20 – 50
BORRELY (2001)	Brasil	Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação.	5,0 – 50
ROMANELLI (2004)	Brasil	Irradiação com feixe de elétrons dos surfactantes DSS e LAS.	3,0 – 12,0
HAN; SALIMOV; KUKSANOV (2007)	Coréia	Irradiação de efluente têxtil a fim de melhorar a biodegradabilidade.	1 – 2
NITZAN (2007)	Israel	Desinfecção de esgoto seco e uso na agricultura em forma de fertilizante.	10
HIGA (2008)	Brasil	Avaliação da eficiência da radiação ionizante e da adsorção da zeólitas no tratamento de efluentes coloridos	0,5 – 20
SILVA (2014)	Brasil	Avaliação da redução da toxicidade do cloridrato de fluoxetina, e em mistura de esgoto doméstico com feixe de elétrons.	0,5 – 20
MORAIS (2015)	Brasil	Remoção de cor e toxicidade de um efluente têxtil com feixe de elétrons.	0,5 – 20
TOMINAGA (2016)	Brasil	Redução da toxicidade do fármaco diclofenaco, cloridrato de fluoxetina, e mistura de ambos após irradiação.	2,5 – 10

Fonte: Morais (2015), com modificações.

3.5.2 Radiólise da água

A radiólise da água acontece quando um sistema aquoso é submetido a uma fonte de radiação ionizante, sofrendo assim várias modificações induzidas pelas espécies químicas que se formam a partir da interação da radiação com a água e seus componentes.

Nos primeiros estágios da radiólise da água, radicais intermediários reagem em conjunto ou com íons hidrogênio (H_3O^+), para formar H_2, H_2O_2 e H. Ao final desses processos, são formados os radicais (e_{aq}^-, H, OH) ou produtos moleculares (H_2, H_2O_2), que atuam na degradação de compostos. Os radicais livres originados em decorrência da radiólise da água são formas altamente reativas e interagem quimicamente entre si ou com moléculas próximas a eles (BORRELY, 2001; DUARTE, 1999; GETOFF, 1996).

Os principais produtos moleculares e intermediários que são formados pela interação da radiação com a água estão representados na equação 1, onde estão as principais espécies formadas e seus respectivos rendimentos para 100 eV e energia absorvida (representado pelo valor de G – entre colchetes). O valor G é o número de moléculas produzidas ou que reagem para uma dada energia de radiação, estes valores são expressos em $mol.J^{-1}$, e dependentes do pH da solução (BORRELY, 2001; MORAIS, 2004).

$$H20 \rightarrow [2,6]\ e^-_{aq} + [0,6]\ H\bullet + [2,7]\ OH\bullet + [0,7]\ H_2O_2 + [2,6]\ H_3O^+ + [0,45]\ H_2$$

Em meio ácido é convertido em átomo de hidrogênio, como na equação 2:

$$e^-_{aq} + H^+_{aq} \rightarrow H\bullet$$

Em meio básico os átomos de hidrogênios são transferidos em e^-_{aq} e os radicais OH• dissociam-se, conforme as equações 3 e 4, respectivamente:

$$H\bullet + OH^-_{aq} \rightarrow e^-_{aq}$$

$$OH\bullet \rightarrow O_{aq} + H^+_{aq}$$

Na presença de ar ou nas soluções com oxigênio saturado ocorre a captura do e^-_{aq} e H• pelo oxigênio gerando os radicais ânion superóxido e perhidroxil, representados nas equações 5 e 6, respectivamente:

$$e^-_{aq} + O_2 \rightarrow O_2^-\bullet$$

$$H\bullet + O_2 \rightarrow HO_2^-$$

A interação dos radicais livres formados com as moléculas de poluentes induzem a reações de oxidação, redução, dissociação e degradação, que são as responsáveis pelo tratamento de efluentes (GETOFF, 1996).

Trabalhos pioneiros sobre as aplicações da radiação ionizante no tratamento de águas datam da década de 50, nesta época as fontes mais utilizadas eram as gamas. Atualmente são utilizados preferencialmente os aceleradores de elétrons para o tratamento de águas e efluentes, baseado no estágio atual da tecnologia e de sua versatilidade (SILVA, 2014).

Diversos autores obtiveram êxito ao utilizar doses de radiação por feixe de elétrons no tratamento de esgotos domésticos e industriais, e também de substâncias isoladas ou em misturas. Dentre esses pesquisadores, alguns sugerem ou obtiveram bons resultados com doses iguais ou menores que 20 kGy, para a redução da toxicidade das amostras estudadas (BORRELY, 2001; SANTOS, 2012; SILVA, 2014; TOMINAGA, 2016).

Borrely (2001) obteve redução significativa da toxicidade de misturas de esgotos domésticos e industriais provenientes da Estação de Esgoto de Suzano em São Paulo, após o tratamento com irradiação desses efluentes. A toxicidade foi diminuída entre 75% a 95% com doses de 50, 20 e 5 kGy. No efluente final, a irradiação promoveu uma redução de 40 a 60% na toxicidade, mensurada por ensaios ecotoxicológicos com o peixe *Poecilia reticulata.*

Silva (2014) estudou a eficiência de remoção do fármaco cloridrato de fluoxetina e de sua mistura com esgoto doméstico, submetidos ao tratamento por radiação ionizante. Obteve redução da toxicidade do fármaco cloridrato de fluoxetina, em ensaios com o organismo-teste *Daphnia similis*, acima de 80%, mesmo em doses baixas como 0,5 kGy. Quando exposto a amostras de esgoto doméstico e de mistura (CF + esgoto), a melhor dose foi de 5,0 kGy, que

apresentou eficiência de remoção da toxicidade de 100% e 79,32% respectivamente.

Santos (2012) constatou a dose de 5,0 kGy como a mais efetiva na redução da toxicidade do fármaco cloridrato de fluoxetina em solução aquosa, na concentração de 10 $mg.L^{-1}$.

Tominaga (2016) avaliou a redução da toxicidade da mistura dos fármacos, cloridrato de fluoxetina e diclofenaco de sódio, obtendo 56,82% de eficiência na dose de 7,5 kGy para a bactéria *V.fischeri*. Para o organismo *D.similis*, obteve eficiência de 34,7% na redução da toxicidade na dose de 2,5 kGy (melhores doses para o tratamento).

O fator econômico é um dos pontos mais importante para a instalação de uma planta de acelerador de elétrons, eles originam elétrons acelerados com energia que alcançam de 50 a 400 kW. No tratamento a gás, a energia necessária em elétrons é por volta de 0,7 a 1,0 Mev, porém para tratamento de águas residuais e higienização de esgotos, a energia deve ser superior a 1,0 MeV, o que torna o processo mais caro para o tratamento de efluentes industriais. Porém, doses baixas de radiação podem ser suficientes para a penetração de elétrons acelerados em águas residuais e originar mudanças na hidrodinâmica onde se encontram os poluentes, o que justifica seu uso (HAN et al., 2007; MORAIS, 2015).

De acordo com Morais (2015), esse método apresenta a vantagem de não ser um processo químico, o que evita a inserção de novas substâncias ao efluente. Formam-se radicais rapidamente e de curta duração. Porém, são necessários operadores treinados e o investimento para tal tecnologia é de alto custo. A redução do custo é fundamental para que essa técnica torne-se competitiva com as outras tecnologias, por isso, faz-se necessária a utilização de baixas doses de radiação.

3.6 Ecotoxicologia Aquática

O termo Ecotoxicologia surgiu em junho de 1969, durante a reunião do “Committee of International Council of Scientific Unions” (ICSU), em Estocolmo, pelo professor e pesquisador Frances René Truhaut (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Truhaut a definia como: “o estudo dos efeitos adversos

de substâncias químicas com o objetivo de proteger espécies naturais e populações”.

A Ecotoxicologia nos permite avaliar a contaminação e prever os impactos futuros nos diversos ecossistemas, após a comercialização de produtos químicos e seu lançamento em determinado ambiente, sendo utilizada como uma importante ferramenta de prevenção a poluição ambiental (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Tem como finalidade análises ecotoxicológicas a fim de saber em qual grandeza as substâncias químicas, isoladas ou em mistura, são nocivas e de que forma seus efeitos se manifestam (KNIE & LOPES, 2004).

Na Ecotoxicologia Aquática, buscamos a identificação das causas e efeitos nocivos sobre os indivíduos, à quantificação e avaliação dos seus efeitos, o reconhecimento dos mecanismos de ação, dos processos dos contaminantes nos organismos, e o seu destino no meio ambiente (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Seus principais objetivos são identificar os riscos associados à substância e determinar em quais condições de exposição esses riscos são induzidos (COSTA & OLIVI., 2008).

Os testes ecotoxicológicos são ensaios onde são expostos organismos indicadores, a determinadas substâncias, compostos químicos, amostras de efluentes ou água bruta, em diferentes concentrações e por determinado período de tempo. Eles são avaliados de acordo com a característica que o organismo apresentar, dentre alterações fisiológicas, morfológicas ou comportamentais, quando expostos a determinados poluentes (MAGALHÃES & FERRÃO-FILHO, 2008).

Os efeitos adversos que podem ser quantificados devido à exposição a poluentes são diversas: número de organismos vivos ou mortos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, números de anomalias ou incidência de tumores, alterações fisiológicas, densidade e diversidade de espécies em uma comunidade biológica, dentre outros. Ensaios de toxicidade com organismos aquáticos vêm sendo desenvolvidos em laboratórios sendo os mais utilizados em estudos para avaliação da toxidez de substâncias químicas, efluentes e águas superficiais (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Espécies a serem utilizadas em ensaios de toxicidade devem ser sensíveis a diversos agentes químicos, ter boa reprodutividade e repetibilidade dos resultados. É necessário ter conhecimento sobre a reprodução, alimentação, fisiologia e comportamento dos organismos. A disponibilidade e facilidade de manutenção dos organismos também são características importantes (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

A utilização de ensaios de toxicidade como ferramenta de avaliação dos POAs é de grande importância, visto que a oxidação parcial de contaminantes orgânicos pode resultar na formação de espécies químicas intermediárias mais tóxicas do que os compostos iniciais (RIZZO, 2011).

Entre os organismos difundidos em ensaios que apresentam metodologia padronizada pela ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – encontram-se os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dúbia*, bem como a bactéria *Vibrio fischeri.*

3.6.1 Organismos-teste

3.6.1.1 *Daphnia similis*

O organismo *Daphnia similis* é um microcrustáceo, com comprimento de 0,5 a 5,0 mm. São organismos filtradores, que se alimentam de algas, bactérias e detritos orgânicos presentes na água. Esse filtro é composto de cerdas exoesqueléticas posicionadas e arranjadas como os dentes de um pente. O terceiro par de apêndices é modificado em uma mandíbula para a trituração do alimento (BARNES & RUPPERT, 1996).

A natação acontece a partir do segundo par de antenas, com movimentação predominante vertical. O curso descente das antenas propele o animal para cima, depois ele afunda lentamente utilizando as antenas como pára-quedas. As pequenas cerdas plumosas na extremidade do abdômen agem como estabilizadores (BARNES & RUPPERT, 1996).

Os olhos são compostos por células córneas. A divisão do corpo é por placa dorsal ou tergo, uma ventral esterno e lateralmente as pleuras. Cada segmento exceto o primeiro pode apresentar um par de apêndices (ALMEIDA, 2002), conforme Figura 3.

Figura 3 - *Daphnia similis*. Fonte: Silva, 2014.

A reprodução geralmente acontece por partenogênese, ou seja, de forma assexuada, onde as fêmeas produzem células diploides, que dão origem a uma população constituída somente por fêmeas, que em condições favoráveis possuem crias de 4 a 65 jovens. Caso ocorra algum estresse ambiental, qualquer alteração como superpopulação, falta de alimento ou mudança de temperatura, pode acarretar no surgimento de machos, e/ou fêmeas com dois ovos haploides que são fecundados pelos machos (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Ensaios de toxicidade aguda com esse organismo vêm sendo amplamente utilizados e aceitos em publicações científicas, também estão incluídos em relatórios ambientais de qualidade de água e exigidos em monitoramentos por órgãos ambientais fiscalizadores. O cultivo desse organismo e os ensaios são simples e apresentam boa repetibilidade nos resultados (MORAIS, 2015).

3.6.1.2 *Vibrio fischeri*

A *Vibrio fischeri* trata-se de uma bactéria de origem marinha utilizada como microrganismo-teste em ensaios de toxicidade aguda, usualmente utilizada na forma liofilizada. É uma bactéria gram negativa e anaeróbia facultativa que emite luz naturalmente, sob condições favoráveis e concentrações de oxigênio superiores a 0,5 $mg.L^{-1}$ (KNIE & LOPES, 2004). Bactéria ilustrada na Figura 4.

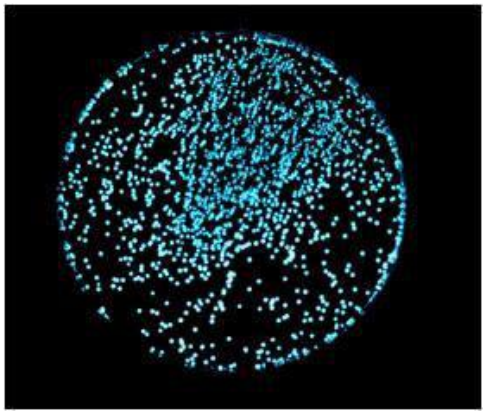

Figura 4 – *Vibrio fischeri*. Fonte: UW Eye Research Institute.

Os ensaios com *Vibrio fischeri* baseiam-se na medição da luminescência emitida pela bactéria, após exposição à amostra por 15 ou 30 minutos. A intensidade da luz é comparada a um controle, onde não é colocada a amostra, apenas o diluente. Quando a amostra possui substâncias tóxicas a bioluminescência diminui, onde a quantidade de perda de luz é proporcional a toxicidade da amostra (KNIE & LOPES, 2004).

Dentre os diversos testes ecotoxicológicos existentes, o de toxicidade aguda utilizando essa bactéria é o que mais vem sendo utilizado para a determinação de toxicidade de amostras ambientais em diferentes partes do mundo. Apesar de existirem controvérsias sobre a utilização deste organismo, por ser proveniente de ambiente marinho, este apresenta resultados similares a outros ensaios de toxicidade de águas doces. Apresenta vantagens quanto a sensibilidade, simplicidade e rapidez do teste e pequenas quantidades de amostra. Porém existe a desvantagem deste teste quanto à necessidade do ajuste da salinidade, pois a adição de cloreto de sódio pode causar variações na toxicidade de alguns compostos (SOARES, 2012).

No Brasil, vem sendo cada vez mais utilizado o teste com a bactéria *Vibrio fischeri* pelos setores industriais e órgãos ambientais, sendo contemplado pelas legislações de Santa Catarina e Paraná para lançamento de efluentes em corpos d’água e possui padronização pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) (SOARES, 2012).

4. METODOLOGIA

A metodologia do presente trabalho consistiu na avaliação da redução da toxicidade de fármacos, através de tratamento com a irradiação por feixe elétrons. Neste estudo foram utilizados os fármacos propranolol, isolado e em mistura com cloridrato de fluoxetina (Prozac®). As avaliações ecotoxicológicas foram realizadas com ensaios de toxicidade para efeitos agudos.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Ensaios Biológicos Ambientais do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

4.1 Substâncias utilizadas no estudo

Utilizou-se o medicamento Propranolol, do fabricante: EMS S/A, compreendendo em sua formulação 80 mg de propranolol, por comprimido, sob a forma de cloridrato e os excipientes farmacêuticos, ácido esteárico, lactose, dióxido de silício, celulose microcristalina e estearato de magnésio.

O fármaco propranolol, manipulado, do fabricante: Pharmadiun, compreendendo em sua formulação 80 mg de cloridrato de propranolol, grau de pureza de 99,9% sem os excipientes farmacêuticos, por cápsula.

O medicamento Prozac®, do fabricante: Eli Lilly do Brasil LTDA, contendo em sua formulação 22,40mg, equivalente a 20 mg de fluoxetina e os excipientes farmacêuticos, pó de amido e amido em pó 50% de silicone.

O fármaco cloridrato de fluoxetina, manipulado, do fabricante: Pharma Nostra, compreendendo em sua formulação 20 mg de fluoxetina, grau de pureza de 99.9% sem os excipientes farmacêuticos, por cápsula.

Para a validação dos ensaios de toxicidade foram utilizadas como substância de referência o cloreto de potássio (KCl) para a *Daphnia similis*, e o fenol para a *Vibrio fischeri*, ambas grau PA > (mín. 99%) da marca Anidrol Produtos Químicos.

A escolha desses fármacos ocorreu com base em estudos da literatura, que demostraram estes metabólitos dentre os mais encontrados em diversas matrizes ambientais entre todos os países que fizeram detecção de fármacos

em águas. Além de serem medicamentos amplamente utilizados pela população, e do seu consumo vir aumentando a cada ano.

4.2 Preparo das soluções-teste

4.2.1 Propranolol

A solução estoque do fármaco propranolol comercial foi preparada na concentração de 80 $mg.L^{-1}$, onde foi realizada a diluição de 1 comprimido em 1 litro de água destilada. Para a solução estoque do fármaco manipulado, foi preparada a diluição de uma cápsula de 80 $mg.L^{-1}$, em 1 litro de água destilada.

4.2.2 Cloridrato de Fluoxetina

A solução estoque do medicamento Prozac®, foi preparada com a diluição de uma cápsula (20 $mg.L^{-1}$), em 2 litros de água destilada, obtendo a concentração de 10 $mg.L^{-1}$. Para a solução estoque do fármaco manipulado, foi preparada a diluição de uma cápsula de 10 $mg.L^{-1}$, em 1 litro de água destilada.

4.2.3 Mistura do propranolol com o cloridrato de fluoxetina

Levando em consideração que no meio ambiente ocorre a mistura de diversos contaminantes, que podem trazer interações toxicológicas resultantes em efeitos que podem ser sinérgicos, antagônicos, de potenciação e adição, buscou-se a mistura desses fármacos, a fim de, avaliar se poderia ocorrer alguma interação toxicológica entre as substâncias da mistura, já pensando na mistura como um possível efluente.

A preparação da mistura foi realizada na proporção de 1:1, onde misturou-se 500mL de cada solução teste, em balão volumétrico de 1L, para os ensaios com os organismos-teste, concentração esperada de 50% de cada amostra de fármaco.

4.3 Irradiação das soluções-teste

As irradiações foram realizadas no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), em São

Paulo, Brasil. As soluções aquosas dos fármacos propranolol (80 $mg.L^{-1}$) e sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina (10 $mg.L^{-1}$), foram irradiadas no Acelerador Industrial de Elétrons, do tipo Dynamitron® (Figura 5).

Figura 5 – Acelerador Industrial de Elétrons do Centro de Tecnologia das Radiações, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

As amostras líquidas foram irradiadas usando o sistema de bateladas, contidas em recipientes de borosilicato (tipo Pyrex®) cobertas com filme plástico, a fim de evitar a contaminação e a perda de conteúdo. O volume de amostra no recipiente (Pyrex®) correspondeu a 246 mL da amostra, de maneira a manter uma espessura de 4mm, para um processamento mais homogeneo durante a irradiação (Figura 6).

Durante as irradiações a energia do acelerador foi fixada em 1,4 MeV. A corrente elétrica variou conforme as doses de radiação solicitadas ao operador.

A confirmação da dose recebida pela camada de amostra submetida à irradiação foi realizada com uso do dosímetro B3 Dose Stix, experimento realizado pelo Laboratório de Dosimetria do CTR.

Figura 6 - Amostras das soluções de fármacos contidas em vidro Pyrex® passando sob o feixe de elétrons durante o tratamento em um acelerador industrial de elétrons.

4.4 Ensaios Ecotoxicológicos

Para os ensaios de toxicidade aguda e para o cultivo dos organismos-teste em laboratório foram utilizadas metodologias normatizadas, seguindo as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT-NBR).

Os ensaios foram realizados com o microcrustáceo *Daphnia similis*, e com a bactéria *Vibrio fischeri*, conforme as respectivas normas ABNT NBR 12713/2009 e NBR 15411-3/2012.

Para a validação dos ensaios de toxicidade foram realizados ensaios com substâncias de referências, sendo elas, cloreto de potássio (KCl) para *Daphnia similis* e fenol para *Vibrio fischeri.*

As avaliações dos resultados dos efeitos tóxicos foram obtidas com base nos valores médios de Concentração de Efeito a 50% dos organismos (CE50%), bem como nos valores de desvios-padrão e os intervalos de confiança dos experiementos realizados.

4.4.1 *Daphnia similis*

Neste item foram descritos os procedimentos quanto a coleta de água de cultivo, manutenção e ensaios com os organismos-teste *Daphnia similis.*

4.4.2 Água de cultivo e de diluição

A água utilizada para a manutenção do cultivo dos organismos *Daphnia similis*, bem como para a diluição das soluções-padrão dos fármacos foi procedente de uma adutora no município de Salto/SP, portanto água natural com ajuste de dureza.

Após a coleta de cada lote de água, foram realizados ensaios de viabilidade para os organismos-teste, por meio de ensaios com exposição de 20 organismos. Foram determinados os parâmetros físico-químicos da água natural como o pH, o oxigênio dissolvido na água (OD), a condutividade elétrica e a dureza da água, sendo esta corrigida para 45 ± 2 mg $CaCO_3$/L, conforme a norma ABNT 12713/2009. Embora a norma recomende que o cultivo do pH

seja mantido entre 7,0 e 7,6, por práticas e procedimentos do Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais (LEBA), não ocorreu ajuste de pH em água natural, a fim de manter uma situação próxima a real do curso d'água. Esses parâmetros são de extrema importância para a vida aquática, sendo portanto imprescindíveis para a compreensão dos resultados de ecotoxicidade.

Os ensaios foram encerrados após 48 horas de exposição dos organismo, sem adição de alimento. Todos os lotes de água coletados no período de desenvolvimento deste trabalho foram satisfatórios, pois não apresentaram imobilidade dos organismos superior a 10% do total dos indivíduos expostos.

As medições de pH foram efetuadas no pHmetro de bancada da marca Micronal, modelo B474. As análises de OD e condutividade foram realizadas pelo analisador multiparâmetros medidor da marca HACH, modelo HQ40d (Figura 7). A medição da dureza foi realizada pelo método titulométrico do EDTA (CETESB, 1992).

Figura 7 - Equipamentos utilizados para medir os valores de pH, condutividade e Oxigênio Dissolvido (OD).

4.4.3 Manutenção do cultivo de microcrustáceos

Os cultivos dos organismos foram mantidos em uma câmara de germinação em temperatura de 20º C ± 1ºC, com fotoperíodo de 16 horas luz / 8 horas escuro, em cristalizadores com capacidade de aproximadamente 2 litros, contendo entre 30 a 40 organismos em água de cultivo, sendo esta renovada uma vez por semana (Figura 8).

Figura 8 - Câmara de germinação com temperatura e fotoperíodo controlados.

A alimentação dos organismos foi diária, com a microalga *Pseudokirchneriella subcaptada* na concentração de 1 a 5 x 10^6 células por organismo, sendo complementada com a ração para peixes da marca Alcon Basic® MEP Complex com adição de leveduras a ração líquida (RL), na proporção de 100 μl de microalga e 50 μl de ração por indivíduo.

A microalga foi cultivada no laboratório LEBA, com o meio de cultura L.C Oligo, preparado conforme ABNT 12648/2011, sob aeração e iluminação constante. A fim de atingir uma concentração ideal da microalga a suspensão algacea foi centrifugada, semanalmente, por 5 minutos em uma centrifuga da marca Quimis, modelo Q222T. O sobrenadante foi descartado e a microalga foi concentrada e ressuspensa em cerca de 1,0 mL de água de cultivo na centrífuga de tubos, tipo vortex da marca Phoenix modelo AP56.

A ração líquida foi preparada através da fermentação da ração para peixes em flocos da marca Alcon Basic® MEP Complex. A fermentação foi realizada em um balão de destilação contendo 5,0 g de ração em 1,0 litro de água destilada. Essa mistura foi mantida sob forte aeração constante por sete dias. Posteriormente, 50 mL dessa ração fermentada foi misturada a 0,5 g de fermento biológico (levedura) e 75 mL de água destilada.

A manutenção dos organismos foi realizada diariamente, alimentando-os e retirando-se as neonatas de cada cultivo e as carapaças liberadas durante as mudas (exoesqueleto). Cada cultivo foi mantido por um período de 28 dias.

4.4.4 Ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

As neonatas selecionadas para os ensaios possuiam de 6 a 24 horas de vida, provenientes de cultivos com idade de 7 a 28 dias. Os ensaios foram realizados com a diluição das soluções-padrão preparadas em água de cultivo, somando no mínino de cinco concentrações distintas.

Cada concentração foi distribuída em quatro tubos de ensaio contendo 10,0 mL da amostra, sendo estes levados a um período de aclimatação em uma incubadora. Posteriormente, em cada tubo de ensaio foram adicionados 5 organismos, totalizando 20 organismos por concentração. Após esses procedimentos, os tubos de ensaio foram encobertos com filme plástico e plásticos escuros, a fim de isolar as amostras da interação com o ambiente e inibir o deslocamento dos organismos para regiões mais claras. Em seguida, foram levados a uma incubadora a 20ºC ± 2ºC, por um período de 48 horas.

Cada ensaio foi acompanhado de um controle, que baseou-se num grupo de organismos expostos as mesmas condições do ensaio, entretanto, estes foram colocados em água de cultivo. Após o período de 48 horas, avaliou-se a imobilidade/mortalidade dos organismos em cada concentração. Os valores das CE50/48h (concentração que causa 50% de efeito nos organismos expostos) foram calculados utilizando-se o método estatístico "Trimmed Spearman Karber" (HAMILTON et al., 1977).

4.4.5 Ensaios de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

As bactérias *Vibrio fischeri* foram adquiridas na forma liofilizada da marca Biolux®, sendo estas mantidas a – 20º C ± 2ºC em freezer. Ao iniciar os ensaios, as bactérias foram hidratadas com 1000µL de solução tampão de reativação (adquirida juntamente com a bactéria). Em seguida, essa solução foi transferida para uma das cubetas disposta no aparelho Microbics® (M500 Toxicity Analyzer), mantida a temperatura de 4ºC (Figura 9).

A diluição serial da amostra foi realizada utilizando uma solução diluente (1:10 - solução Biolux) juntamente com os controles. As concentrações das amostras utilizadas para os testes de toxicidade aguda foram equivalentes a 5,11%, 10,23%, 20,47% e 40,95%. Duas sequências de cubetas foram

preparadas: na primeira as amostras com suas diluições e o devido ajuste osmótico. A segunda fileira de cubetas recebeu as bactérias, e foram utilizadas para obter as leituras iniciais (I_0). Após a adição das amostras às cubetas que continham as bactérias luminescentes, procedeu-se a leitura da bioluminescencia final (I_{15}) - após 15 minutos de exposição.

Figura 9 - Sistema analisador (Microbics® 500) empregado no ensaio com a bactéria bioluminescente *V. fischeri.*

A análise estatística empregada para o cálculo da CE50% do organismo-teste *Vibrio fischeri,* foi baseada no valor de gama (relação entre a luz perdida e a luz remanescente a partir de cada par) e a concentração da amostra. Esses dados foram inseridos em planilha do Excel que calculou a regressão linear a partir da diminuição da luminescencia em função da concentração da amostra. Assim, foram obtidos os valores de $CE50_{15min}$, e o respectivo intervalo de confiança.

4.4.6 Unidades Tóxicas e Eficiência do tratamento

A Unidade Tóxica (UT) é uma transformação dos valores de CE50, uma vez que a relação entre a CE50 e a toxicidade são inversamente proporcionais, ou seja, quanto maior o valor de CE50, menor será a toxicidade de determinada amostra. Esse valor pode ser transformado em uma unidade direta, denominada UT, obtida através da equação 7 (ZAGATO & BERTOLETTI, 2006):

$$UT = 100/CE50$$

A partir dos valores de UT foi possível o cálculo da eficiencia do tratamento na redução da toxicidade de uma amostra, através da equação 8 (SILVA, 2014):

$$\text{Eficiência} = ((UT_{bruto} - UT_{amostra\ irradiada}) \times 100/UT_{bruto})$$

Sendo:

UT_{bruto}: Unidade Tóxica da amostra antes do tratamento.

$UT_{amostra\ irradiada}$: Unidade Tóxica da amostra irradiada em determinada dose de radiação.

4.4.7 Carta controle

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas, (NBR 12713:2004), mensalmente a sensibilidade dos organismos-teste devem ser avaliadas por meio de um ensaio com substância de referência. Esse valor obtido pelo ensaio de sensibilidade deve compreender um intervalo de ± 2 desvios-padrão em relação aos valores médios anteriormente obtidos para a espécie. Um grupo de 20 ensaios deverá compor a carta-controle. O ensaio de sensibilidade deve ser realizado conforme as condições do ensaio definitivo.

Para a construção da carta controle, foram realizados ensaios de toxicidade com a substância de referência cloreto de potássio para *Daphnia similis,* e fenol para *Vibrio fischeri*, nas mesmas condições dos ensaios definitivos.

Calculou-se a média dos valores de CE50 e os valores correspondentes aos desvios-padrão superior e inferior a esta média (intervalo de confiança). Para que a garantia da qualidade analítica do estudo seja aprovada, os valores de CE50 obtidos para as substâncias de referência precisam estar inseridos entre dois valores de desvio para cima e para baixo do valor médio das 21 medidas.

A variabilidade dos resultados deve ser analisada através do coeficiente de variação (CV), dada pela equação 9:

$$CV = (S/X) \times 100$$

Onde:

S: desvio padrão

X: média dos resultados

O método ecotoxicológico é considerado bom quando a variação dos resultados, expressa pelo valor de CV, seja ≤ 30%. Se a sensibilidade dos organismos-teste estiver fora dos limites estabelecidos pela norma é sinal de que ocorreu alteração em algum fator no ambiente do sistema do teste (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

4.4.8 Análise estatística

A fim de avaliar a significância entre os dados obtidos nos ensaios realizados, utilizou-se o método estatísco de Análise de Variância (ANOVA), com o Teste de Turkey. A Análise de Variância é utilizada para comparar três ou mais condições impostas que se deseja medir ou avaliar em um experimento (UFPR, 2009).

Após a verificação de que a variação foi significativa através da ANOVA, o passo seguinte foi comparar as médias das condições utilizando algum teste de comparação de médias ou contrastes para identificar condições diferentes. Um dos métodos utilizados é o Teste de Turkey, que permite testar qualquer contraste, entre duas médias de condições (UFPR, 2009). Utilizou-se o software Action versão 2.6 para as análises estatíticas.

4.5 Descarte dos resíduos

As soluções utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos foram armazenadas em bombonas de 20L, que foram identificadas e entregues ao setor responsável pela coleta e destinação final de resíduos do IPEN, evitando assim, possíveis contaminações ambientais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos nos ensaios ecotoxicológicos realizados com as amostras do fármaco propranolol, bem como de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina (Prozac®). Essas substâncias foram tratadas, em solução aquosa, por radiação ionizante, proveniente do acelerador de elétrons. Levamos em consideração os valores de toxidade aguda obtidos nos ensaios, para a discussão sobre a eficiência de remoção desse processo oxidativo avançado aqui estudado.

5.1 Ensaios ecotoxicológicos

5.1.2 *Daphnia similis*

Foram realizados ensaios ecotoxicológicos com o fármaco propranolol, isolado, e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina (Prozac®). Considerando a irradiação com feixe de elétrons como tratamento para os fármacos foram avaliadas amostras irradiadas e não irradiadas. As doses de radiação aplicadas foram 2,5 kGy, 5,0 kGy, 7,5 kGy e 10,0 kGy.

Os valores determinados neste estudo, tendo como organismo-teste o microcrustáceo *Daphnia similis* foram representados quanto à concentração de efeito (CE50%), calculada pelo método Trimmed Spearman Karber (TSK) com os valores de médias (X) e desvio padrão (S), os intervalos de confianças entre parênteses, unidade tóxica (UT) e eficiência do processo de remoção (%), foram apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para o propranolol com *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{48h}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	8,25 (6,77 – 10,04)	12,12	-
0,0	2	7,29 (5,66 – 9,39)	13,71	-
	3	6,81 (5,54 – 8,17)	14,68	-
	X ± S	**7,45 ± 0,53**	**13,50 ± 0,92**	**-**
	1	27,35 (22,40 – 33,39)	3,65	72,96
2,5	2	28,52 (24,71 – 33,37)	3,50	74,07
	3	30,12 (25,03 – 36,26)	3,32	75,40
	X ± S	**28,66 ± 0,97**	**3,49 ± 0,11**	**74,14 ± 0,83**
	1	36,18 (32,81 – 36,20)	2,76	79,55
5,0	2	37,89 (33,28 – 43,12)	2,63	80,51
	3	36,60 (25,03 – 41,06)	2,73	79,77
	X ± S	**36,85 ± 0,68**	**2,70 ± 0,05**	**79,94 ± 0,37**
	1	25,00 (21,13 – 29,58)	4,00	70,37
7,5	2	22,53 (18,82 – 26,98)	4,43	67,18
	3	26,79 (22,64 – 31,71)	3,73	72,37
	X ± S	**24,77 ± 1,49**	**4,05 ± 0,25**	**69,97 ± 1,86**
	1	27,74 (23,69 – 32,40)	3,60	73,33
10,0	2	28,72 (24,71 – 33,37)	3,48	74,22
	3	26,79 (22,77 – 31,52)	3,73	72,37
	X ± S	**27,75 ± 0,64**	**3,60 ± 0,84**	**73,30 ± 0,62**

Quando comparados os valores médios de $CE50_{48h}$ do fármaco propranolol, irradiado e não irradiado, foi possível notar que a amostra não irradiada se apresenta mais tóxica, evidenciando uma visível redução da toxicidade do fármaco após ser submetido à irradiação por feixe de elétrons.

Na Figura 10, foram apresentados os valores de porcentagem de sobrevivência versus as concentrações do propranolol utilizadas no estudo antes da irradiação e após as irradiações na melhor dose verificada, de 5,0 kGy. Verificamos o aumento do nível de sobrevivência após a irradiação das amostras do propranolol, principalmente nas doses menores.

(a) (b)

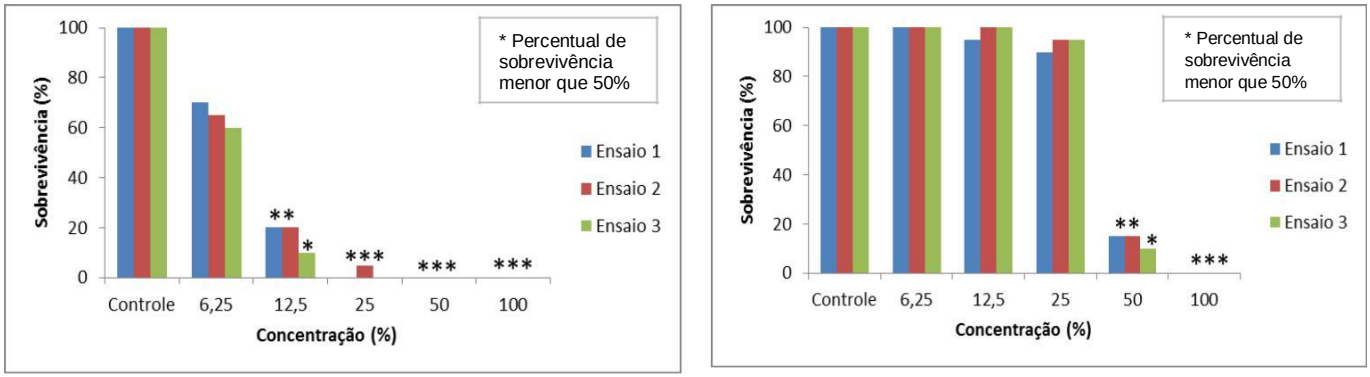

Figura 10 – (a) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para o propranolol não irradiado. (b) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para o propranolol irradiado com 5,0kGy.

A dose de 5,0 kGy mostrou-se a melhor na redução da toxicidade desse fármaco, apresentando uma eficiência de remoção de 79,94%. A dose de 2,5 kGy, apresentou 74,14% de eficiência de remoção, seguida das doses de 7,5 e 10,0 kGy, apresentando 69,97% e 73,30%, respectivamente.

Na Tabela 5 foram apresentados os ensaios realizados com a mistura dos fármacos (propranolol + cloridrato de fluoxetina), bem como CE50%, as médias, desvios padrão, unidades tóxicas e eficiência de remoção.

Tabela 5 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina com *D. similis.*

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{48h}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	9,80 (7,91 – 12,15)	10,20	-
0,0	2	9,81 (8,03 – 11,98)	10,19	-
	3	8,55 (6,89 – 10,61)	11,69	-
	X ± S	**9,38 ± 0,55**	**10,69 ± 0,66**	**-**
	1	48,30 (40,78 – 57,19)	2,07	80,59
2,5	2	49,06 (40,33 – 69,31)	2,03	80,97
	3	47,83 (42,32 – 54,04)	2,09	80,41
	X ± S	**48,39 ± 0,44**	**2,06 ± 0,02**	**80,65 ± 0,20**
	1	46,20 (40,18 – 53,12)	2,16	79,75
5,0	2	55,50 (48,19 – 63,92)	1,80	83,12
	3	51,76 (43,87 – 60,80)	1,93	81,90
	X ± S	**51,15 ± 3,30**	**1,96 ± 0,13**	**81,59 ± 1,22**
	1	36,39 (31,23 – 42,41)	2,74	74,33
7,5	2	39,63 (33,50 – 46,88)	2,52	76,38
	3	40,47 (32,13 – 50,97)	2,47	76,85
	X ± S	**38,83 ± 1,62**	**2,57 ± 0,10**	**75,85 ± 1,01**
	1	22,74 (18,06 – 28,63)	4,39	58,90
10,0	2	20,29 (15,47 – 26,61)	4,92	53,94
	3	26,01 (18,41 – 36,75)	3,84	64,04
	X ± S	**23,01 ± 1,99**	**4,38 ± 0,36**	**58,96 ± 3,38**

Nos ensaios realizados com a mistura dos fármacos, apresentados na Tabela 5, pode ser notada a redução da toxidade nas doses aplicadas, mostrando uma eficiência de remoção de 80,65%, para a dose de 2,5 kGy, 81,59% para 5,0 kGy, 75,85% para 7,5 kGy e 58,96% para a dose de 10 kGy. Novamente as doses menores mostraram-se mais eficientes na redução da toxicidade quando comparadas com as demais, destacando 5,0 kGy.

Na Figura 11 foram apresentados os valores da porcentagem de sobrevivência versus as concentrações da mistura dos fármacos, da amostra bruta e na dose de 5,0 kGy.

(a) (b)

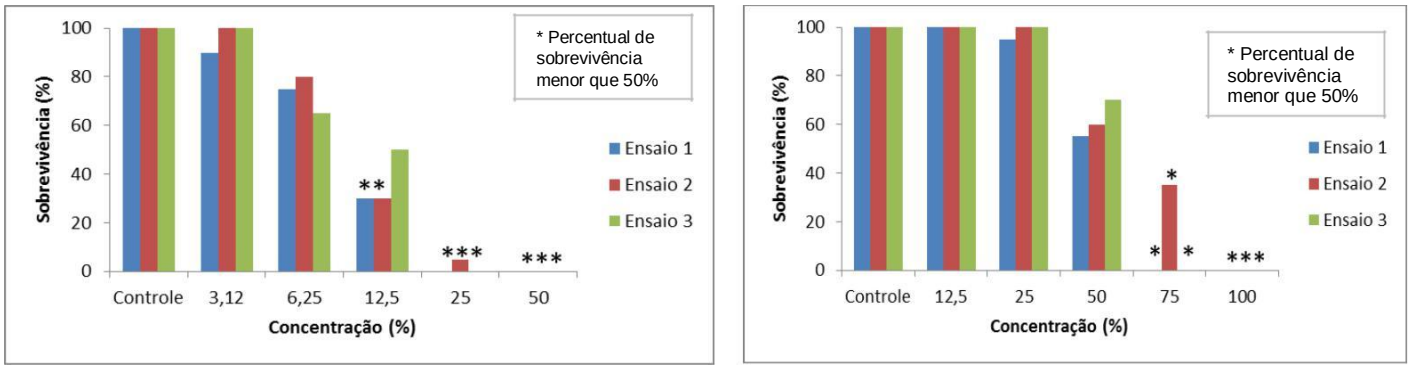

Figura 11 – (a) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para a mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) não irradiado. (b) Percentual de sobrevivência do organismo *D. similis* para a mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) irradiado

5.1.3 *Vibrio fischeri*

Neste estudo, também foram realizados ensaios ecotoxicológicos com a bactéria *Vibrio fischeri,* com o fármaco propranolol isolado, e com a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina, em amostras não irradiadas e irradiadas na dose de 2,5 kGy, 5,0 kGy, 7,5 kGy e 10,0 kGy.

Os valores de $CE50_{15min}$ determinados neste estudo, bem como as médias, desvios-padrão, unidades tóxicas e eficiência de remoção constam na Tabela 6.

Tabela 6 – Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para o propranolol com *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
0,0	1	56,87 (47,16 – 68,58)	1,75	-
	2	54,21 (33,42 – 87,94)	1,84	-
	3	54,53 (46,48 – 63,97)	1,84	-
	X ± S	**55,20 ±1,11**	**1,81 ± 0,04**	**-**
2,5	1	41,32 (33,81 – 50,49)	2,42	-
	2	43,74 (34,49 – 55,48)	2,28	-
	3	42,09 (35,63 – 49,72)	2,37	-
	X ± S	**42,38 ±0,90**	**2,35 ± 0,05**	**-**
5,0	1	68,62 (51,25 – 91,88)	1,45	19,88
	2	63,87 (43,65 – 93,47)	1,56	13,81
	3	63,42 (47,72 – 84,28)	1,57	13,25
	X ± S	**65,30 ±2,21**	**1,52 ± 0,05**	**15,64 ± 2,82**
7,5	1	41,13 (26,72 – 62,71)	2,43	-
	2	35,11 (19,60 – 62,87)	2,84	-
	3	39,29 (25,40 – 60,77)	2,54	-
	X ± S	**38,51 ±2,26**	**2,60 ± 0,15**	**-**
10,0	1	18,92 (11,05 – 32,39)	5,28	-
	2	19,27 (5,97 - 62,17)	5,18	-
	3	18,03 (8,69– 37,39)	5,54	-
	X ± S	**18,74 ±0,47**	**5,33 ± 0,13**	**-**

Com base nesses resultados, comparando os valores de $CE50_{15min}$ das amostras não irradiadas com as irradiadas, foi possível verificar que somente uma das doses, 5,0 kGy, apresentou melhora na toxicidade das amostras tratadas (Figura 12). As demais doses de radiação aplicadas elevaram a toxicidade das soluções, não apresentando eficiência de remoção da toxicidade para essa amostra.

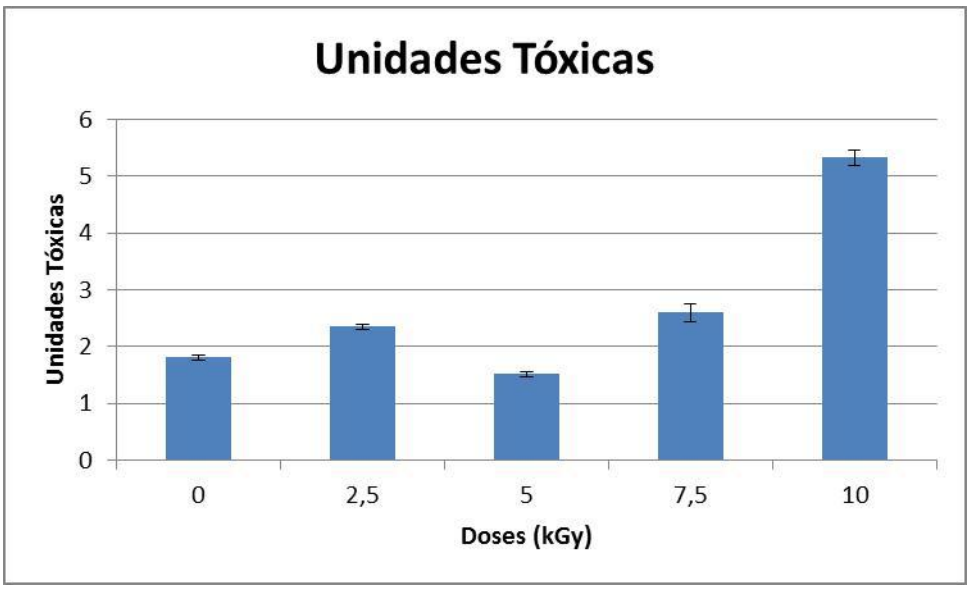

Figura 12 – Variação das Unidades Tóxicas do propranolol para *V. fischeri.*

Sendo assim, nos ensaios utilizando o fármaco propranolol com *Vibrio fischeri*, apenas no tratamento com dose de 5,0 kGy, foi apresentada a eficiência de remoção de 15,64%.

Os resultados obtidos para a mistura dos fármacos foram organizados na Tabela 7.

Tabela 7 - Eficiência do tratamento em função da dose de radiação aplicada para a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina com *V. fischeri.*

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	47,28 (32,14 – 69,54)	2,11	-
0,0	2	44,05 (25,93 – 74,83)	2,27	-
	3	45,62 (36,69 – 56,72)	2,19	-
	X ± S	**45,65 ±1,08**	**2,19 ± 0,05**	**-**
	1	60,02 (39,27 – 91,73)	1,66	24,19
2,5	2	55,21 (38,44 – 79,31)	1,81	17,35
	3	57,73 (23,17– 143,83)	1,73	21,00
	X ± S	**57,65 ±1,62**	**1,73 ± 0,05**	**20,84 ± 2,33**
	1	64,82 (37,02– 113,50)	1,54	29,67
5,0	2	65,43 (42,54– 100,63)	1,52	30,59
	3	57,29 (45,56 – 72,05)	1,74	20,54
	X ± S	**62,51 ±3,48**	**1,60 ± 0,09**	**26,93 ± 4,26**
	1	25,46 (14,44 – 44,90)	3,92	-
7,5	2	27,74 (16,16 – 47,62)	3,60	-
	3	27,58 (12,51 – 60,79)	3,62	-
	X ± S	**26,92 ±0,97**	**3,71 ± 0,13**	**-**
	1	19,13 (4,75– 77,09)	5,22	-
10,0	2	20,55 (8,00 - 52,79)	4,86	-
	3	18,31 (3,68– 82,28)	5,46	-
	X ± S	**19,33 ±0,81**	**5,18 ± 0,21**	**-**

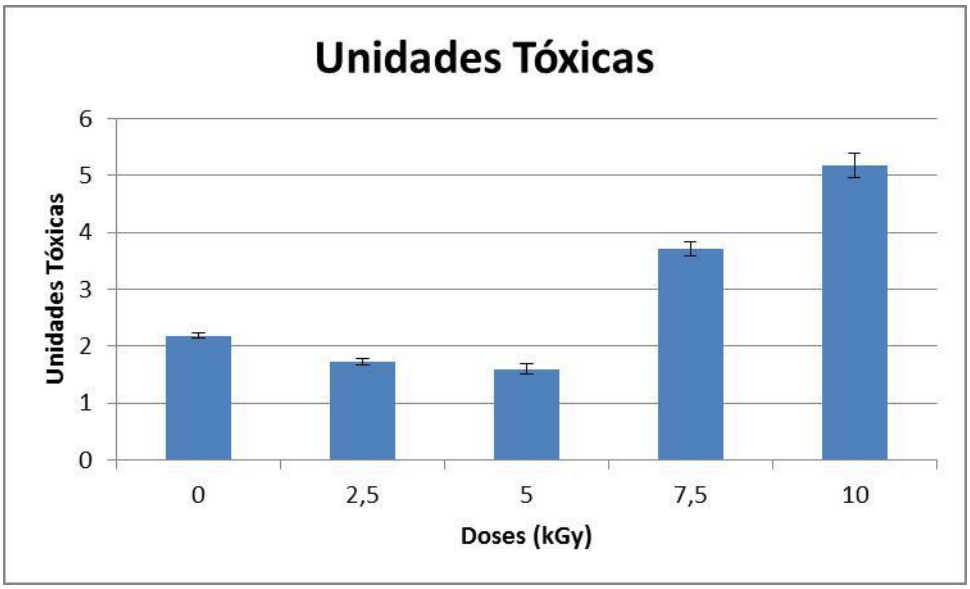

Figura 13 - Variação das Unidades Tóxicas da mistura (propranolol + cloridrato de fluoxetina) para *V. fischeri* em função da dose aplicada (kGy).

As doses de 2,5 kGy e 5,0 kGy foram as melhores na redução da toxicidade da mistura dos fármacos (Figura 13). Novamente a dose de 5,0 kGy se destacou, com 26,93% de eficiência de remoção, seguida da dose de 2,5 kGy com eficiência de remoção de 20,84%, apresentando uma redução significativa da toxicidade. As doses seguintes de 7,5 e 10,0 kGy, apresentaram um aumento na UT, em relação a solução não irradiada, não apresentando eficiência de remoção.

O aumento da toxicidade em função do aumento da dose, pode ter ocorrido devido a diminuição do pH, decorrente da formação dos ácidos orgânicos (SILVA, 2014). Ainda nesse estudo, Silva (2014) evidenciou que mesmo após a correção do pH em doses de radiações mais altas, a eficiência de remoção do composto continuou abaixo dos 30%, indicando que não foi somente o pH que influenciou na toxicidade, e sim a formação de algum subproduto que conferiu toxicidade a bactéria *Vibrio fischeri*. Tal fato deve explicar o aumento da toxicidade nas doses mais elevadas, mesmo quando comparadas as amostras não irradiadas, essas se mostraram mais tóxicas, tanto nas amostras de propranolol isolado, quanto na mistura dos fármacos.

5.1.4 Comparação entre os dados de toxicidade do Propranolol

No presente trabalho, foi observado que para o fármaco propranolol não irradiado, o valor médio de CE50(mg.L^{-1}) de 3,74 mg.L^{-1}, para o organismo *Daphnia similis*, e de 5,20 mg.L$^{-1,}$ para *Vibrio fischeri*, valor esse que corrobora com outros estudos realizados, que serão citados a seguir.

Lilius e colaboradores, (1995) relataram os primeiros dados sobre a toxicidade aguda do propranolol para organismos aquáticos, obtendo para *Daphnia magna* e *Daphnia pulex*, valores de $CE50_{24h}$ de 2,5 e 3,6 mg.L^{-1}, respectivamente. Em ensaios realizados avaliando a toxicidade aguda nas espécies *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*, constataram a $CE50_{48h}$, do propranolol, no valor de 2,75 e 1,52 mg.L^{-1} (FERRARI et al., 2003).

Em estudos realizados para o crustáceo *Ceriodaphnia silvestrii*, com ênfase em efeitos na população, os valores determinados para a $CE50_{48h}$, foram de 2,87 e 2,63 mg.L^{-1} (ROSA, 2008).

No estudo de Huggett e colaboradores (2002), foi apresentada a toxicidade aguda de β-bloqueadores para invertebrados aquáticos, onde foi obtida a $CE50_{48h}$ de 0,8 mg.L^{-1} (*Ceriodaphnia dubia*), 1,6 mg.L^{-1} (*Daphnia magna*), e 29,8 mg.L^{-1} (*Hyalella azteca*). Segundo os autores, o propranolol mostrou-se o β-bloqueador mais tóxico entre os analisados.

Halling-Sorensen e colaboradores (1998), compilaram dados de toxicidade para diversos fármacos, listando aproximadamente 100 medicamentos de diferentes fontes. Esses autores também constataram que existem poucos dados na literatura relativos a toxicidade de β–bloqueadores para organismos aquáticos.

No presente estudo, foi observado para *Daphnia similis*, e *Vibrio fischeri* um valor de $CE50_{48h}$ de 3,74 mg.L^{-1} e 5,20 mg.L^{-1}, respectivamente, mostrando que o crustáceo apresenta maior sensibilidade ao fármaco, do que a bactéria. Fato este que corrobora com estudos já realizados, que podem ser observados na Tabela 8, onde a bactéria *Vibrio fischeri* apresenta valores maiores de CE50, quando comparada a diferentes espécies de microcrustáceos estudados.

Tabela 8 – Comparação entre valores de CE50 ($mg.L^{-1}$) do propranolol para *V. fischeri* e dafnídeos encontrados na literatura (Rosa, 2008, com modificações).

Organismo	Espécie	Exposição	"Endpoint"	CE50	Referência
Bactéria	*Vibrio fischeri*	5 min	Luminescência	184,39	CALLEJA et al. (1994)
Bactéria	*Vibrio fischeri*	30 min	Luminescência	61,00	FERRARI et al. (2003)
Bactéria	***Vibrio fischeri***	**15 min**	**Luminescência**	**5,20**	**Presente Trabalho**
Microcrustáceo	*Daphnia pulex*	24h	Mortalidade	3,83	LILIUS et al. (1995)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	24h	Mortalidade	2,70	LILIUS et al. (1995)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	24h	Mortalidade	15,87	CALLEJA et al., (1994)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	48h	Mortalidade	1,60	HUGGET et al. (2002)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	48h	Mortalidade	2,75	FERRARI et al. (2003)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	48h	Mortalidade	7,5	CLEUVERS (2002)
Microcrustáceo	*Daphnia magna*	48h	Mortalidade	1,67	STANLEY (2005)
Microcrustáceo	***Daphnia similis***	**24h**	**Mortalidade**	**3,74**	**Presente Trabalho**
Microcrustáceo	*Ceriodaphnia dubia*	48h	Mortalidade	0,8	HUGGET et al. (2002)
Microcrustáceo	*Ceriodaphnia dubia*	48h	Mortalidade	1,51	FERRARI et al. (2003)
Microcrustáceo	*Ceriodaphnia dubia*	48h	Mortalidade	1,40	FRAYSSE et al. (2005)
Microcrustáceo	*Ceriodaphnia silvestrii*	48h	Mortalidade	2,87	ROSA (2008)

De acordo com a legislação europeia, as categorias de toxicidade são baseadas nos valores de CE50, onde são considerados "muito tóxico" para os organismos aquáticos (CE50 ≤ 1 $mg.L^{-1}$), "tóxico" (CE50 no intervalo de 1 a 10 $mg.L^{-1}$), e "perigosas" (CE50 entre 10 e 10 $mg.L^{-1}$) (*Commission of the European Communities*, 1996). Conforme esse sistema, os resultados obtidos durante este estudo classificam o medicamento propranolol como uma substância tóxica, tanto para *Daphnia similis,* quanto para *Vibrio fischeri.*

5.1.5 Eficiência de remoção dos compostos

Os resultados obtidos para os ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia similis* apresentaram uma porcentagem de redução da toxicidade muito superior, chegando a cerca de 80% de eficiência de remoção, quando comparada ao organismo *Vibrio fischeri*, onde os ensaios apresentaram apenas 15% de eficiência, conforme Figura 14.

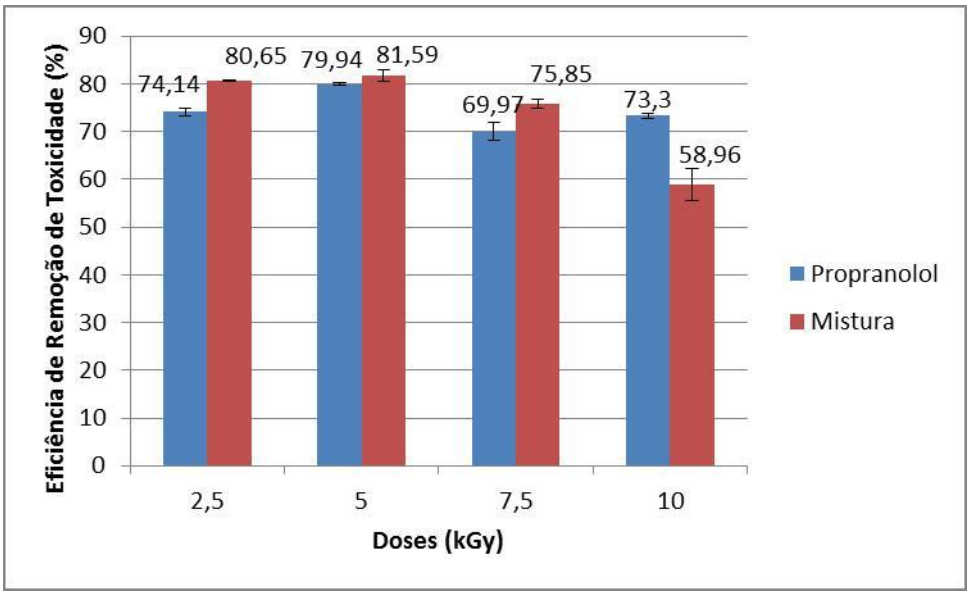

Figura 14 – Eficiência de remoção do fármaco propranolol e de sua mistura com cloridrato de fluoxetina em resposta a dose aplicada, aplicando ensaios ecotoxicológicos com o organismo *D. similis*.

No trabalho de Silva (2014), também foi possível observar essa diferença, onde foram apresentados valores acima de 80% de redução de toxicidade no ensaios empregados para o organismo *Daphnia similis*, e para a bactéria *Vibrio fischeri*, valores relativamente baixos de redução (< 22%). Tal diferença foi associada a formação de algum subproduto que conferiu toxicidade à bactéria *Vibrio fischeri*.

Silva e colaboradores (2016) ao empregar a irradiação para a degradação da fluoxetina obtiveram os produtos secundários da irradiação, através da espectrometria de massa e cromatografia iônica, indicando a hidroxilação da fluoxetina, originando ânions de flúor e nitrato.

A dose que se mostrou mais eficiente na redução da toxicidade, em todos os ensaios, para os dois organismos-teste, para a mistura e para o fármaco isolado, foi 5.0 kGy (Tabela 9).

Tabela 9 – Eficiência de remoção da dose de 5,0 kGy.

Dose (kGy)	Fármaco	Organismo-Teste	Eficiência de Remoção
5.0 kGy	Propranolol	*Daphnia similis*	79,94%
	Propranolol + Fluoxetina	*Daphnia similis*	81,59%
	Propranolol	*Vibrio fischeri*	15,64%
	Propranolol + Fluoxetina	*Vibrio fischeri*	26,93%

Sendo assim fica evidenciada a melhor dose para o tratamento e para a redução da toxicidade aguda em fármacos, proporcionando considerável eficiência de remoção após o tratamento com radiação. Diversos trabalhos evidenciaram a dose de 5,0 kGy, como sendo a mais relevante no tratamento de redução da toxicidade de fármacos e também de compostos orgânicos, diminuindo seu efeito tóxico (BORRELY, 2001; SANTOS, 2012; SILVA, 2014).

Borrely (2001) realizou ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, a fim de avaliar o tratamento por feixe de elétrons de um efluente da ETE Suzano. Após a irradiação das amostras, observou a redução da toxicidade aguda acima de 85%, em resposta ao aumento das doses aplicadas, entre 5,0 kGy e 50,0 kGy.

Nos efluentes de indústrias têxteis, doses de 0,5 kGy e 3,0 kGy apresentaram eficiências de remoção da toxicidade significativas. Porém em efluentes coloridos da indústria química de corantes, só foi verificada eficiência de remoção em doses superiores a 40,0 kGy, para os organismos *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* (HIGA, 2008).

Duarte e colaboradores (2000), sugerem em seu trabalho a utilização da dose de 20,0 kGy para o tratamento de efluentes industriais, antes de serem liberados na ETE.

No estudo realizado por Santos (2012), a dose de 5,0 kGy foi a que apresentou a maior eficiência de remoção para o fármaco cloridrato de fluoxetina, apresentando os seguintes valores de redução, 91,95% para *Hyalella azteca*, 82,97% para *Daphnia similis* e 79,21% para *Vibrio fischeri*. Ainda nesse trabalho foram observados os percentuais de eficiência de redução para a mistura do fármaco cloridrato de fluoxetina com o surfactante dodecil sulfato de sódio, tendo como resultado os valores de 91,89%, 87,57% e

89,10%, para *H. azteca, D. similis* e *V. fischeri,* respectivamente. Romanelli e colaboradores (2004), também concluíram que 3,0 kGy e 6,0 kGy foram as doses de maior eficiência para a redução da toxicidade de surfactantes, para o organismo *Daphnia similis*.

No trabalho de Silva, (2014), a melhor dose evidenciada foi de 5,0 kGy, apresentando eficiência de remoção da toxicidade de 100% e 79,32%, para amostras de esgoto doméstico e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina. A dose de 0,5 kGy, quando aplicada ao cloridrato de fluoxetina, apresentou eficiência superior a 98% na redução da toxicidade aguda para o organismo *Daphnia similis*. Em relação ao efeito crônico, com o organismo *Ceriodaphnia dubia*, a dose de tratamento de 5,0 kGy também se mostrou a mais eficiente, como 97,50% de taxa de redução.

Morais (2015), no estudo de um efluente têxtil, observou a dose de 2,5 kGy como a melhor na eficiência de remoção da toxicidade por feixe de elétrons, tendo os percentuais de 15,52% e 16,71% para *Daphnia similis* e *Brachionus plicatilis*, respectivamente. Para o organismo *Vibrio fischeri*, a melhor dose encontrada nesse estudo foi a de 5,0 kGy, conferindo 42,15% de eficiência de remoção.

5.1.6 Efeito de Mistura

Em relação à toxicidade de misturas, podem ocorrer os efeitos resultantes das interações dos seus constituintes, podendo ser aditivos, quando a toxicidade da mistura é igual à soma das toxicidades individuais de cada composto; sinergéticos, quando a toxicidade da mistura é maior que a soma das toxicidades individuais; e antagônicos, onde a toxicidade da mistura é menor que a soma das toxicidades de seus componentes (COSTA & OLIVI, 2008). Com base nos estudos, foi possível dizer que a mistura de fármacos (propranolol + cloridrato de fluoxetina), para ambos os organismos-teste empregados, apresenta toxicidade menor em relação à soma dos fármacos estudados individualmente, (Tabela 10) sendo assim, foi observado o efeito antagônico da mistura dos fármacos. A ocorrência desses efeitos depende dos mecanismos de interação entre os constituintes da mistura e o sítio alvo no organismo, onde quatro tipos de interações são possíveis; os constituintes

dessa mistura podem afetar a mesma função fisiológica; a interação química entre os constituintes da mistura podem afetar a toxicidade de um dos compostos; a absorção, o metabolismo, a distribuição ou a excreção de um dos constituintes sofre alterações que são provocadas pelos demais constituintes; e a competição entre os constituintes da mistura pelo mesmo receptor (JAMES et al.,2000).

Tabela 10 – Unidades Tóxicas obtidas dos fármacos propranolol e de sua mistura com CF, empregando dados da literatura.

Organismos – Teste	**Fármacos**		
	Propranolol	Fluoxetina (Silva, 2014)	Mistura de Fármacos
Daphnia similis	13,50 ± 0,92	8,03 ± 1,53	10,69 ± 0,66
Vibrio fischeri	1,81 ± 0,04	4,35 ± 0,25	2,19 ± 0,05

5.1.6.1 Características Farmacológicas – Propranolol

O propranolol é um agente bloqueador de receptores β-adrenérgicos, não possuindo qualquer outra atividade sobre o sistema nervoso autônomo. Compete especificamente com agentes estimulantes de receptores β-adrenérgicos, pelos sítios receptores disponíveis. Quando o acesso aos sítios receptores β-adrenérgicos é bloqueado pelo cloridrato de propranolol, as respostas cronotrópica, inotrópica e vasodilatadora do estímulo β-adrenérgico são proporcionalmente diminuídas.

Entre os fatores que contribuem para a ação anti-hipertensiva desse medicamento, temos a diminuição do débito cardíaco, inibição da secreção de renina pelos rins e a diminuição do tônus simpático proveniente dos centros vasomotores do cérebro.

O propranolol é quase completamente absorvido pelo trato gastrintestinal. Em seguida, vai ao fígado onde fixa-se aos sítios de ligação não específicos. Ocorrem grandes diferenças individuais na saturação hepática,

devido às diferenças de fluxo hepático. Após administração oral, a droga não atinge a circulação geral até que os sítios de ligação hepática estejam saturados. Após a saturação, as ligações hepáticas não mais afetam a passagem de propranolol para a corrente sanguínea.

Após 30 minutos da administração oral, o propranolol atinge nível plasmático, e o pico de concentração plasmática ocorre entre 60 a 90 minutos. Ele é largamente distribuído nos tecidos do organismo, incluindo fígado, coração, rins e pulmões. A droga atravessa rapidamente a barreira hematoencefálica e a placenta.

A eliminação da droga parece seguir cinética de primeira ordem. A meia-vida biológica é de aproximadamente 4 horas. O propranolol é metabolizado no fígado, e pelo menos oito metabólitos foram diferenciados na urina. Somente 1 a 4% de uma dose oral da droga aparece nas fezes de forma inalterada ou como metabólito.

Nos animais, após uma dose aguda, o propranolol é considerado um fármaco moderadamente tóxico, com uma DL50 oral de cerca de 600 mg/kg. Os principais efeitos após a administração repetida do propranolol em ratos adultos e jovens incluíram a diminuição transitória do peso corporal e um aumento do peso corporal associado a uma diminuição transitória do peso dos órgãos, efeitos que foram totalmente reversíveis quando o tratamento foi suspenso. Em estudos de administração ligados à dieta, nos quais ratos foram tratados com propranolol durante um período máximo de 18 meses, com doses até 150 mg/kg/dia, não foi obtida evidência de tumorigênese relacionada com o fármaco. Em ratos adultos fêmeas, o propranolol administrado no útero ou por via intravaginal constitui um potente agente anti-implantação, numa dose ≥4 mg por animal, sendo que os efeitos são reversíveis. Em ratos adultos machos, a administração repetida do propranolol em níveis de dose altos (≥7,5 mg/kg) induziu lesões histopatológicas dos testículos, epidídimo e vesículas seminais, diminuição da mobilidade espermática, concentração das células espermáticas, níveis plasmáticos de testosterona e aumento significativo das anomalias em termos de cabeça e cauda dos espermatozoides, porém, esses efeitos apresentaram uma inversão total após a cessação do tratamento. No estudo realizado em animais jovens tratados ao longo de todo o período de

desenvolvimento correspondente à primeira infância, infância e adolescência, não se observou qualquer efeito nas fertilidades masculina e feminina (EMA).

5.1.6.2 Características Farmacológicas – Cloridrato de Fluoxetina

A fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptação neural de serotonina e um aumento resultante na neurotransmissão serotonérgica no sistema nervoso central. Possui pouca afinidade com outros neuroreceptores, tais como α^1, α^2 e β-adrenérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos histaminérgicos H1, muscarínicos e receptores do GABA.

O cloridrato de fluoxetina é bem absorvido após administração oral. Concentrações plasmáticas máximas são alcançadas dentro de 6 a 8 horas. Liga-se fortemente às proteínas do plasma, distribuindo-se amplamente. Concentrações plasmáticas estáveis são alcançadas após doses contínuas em 4 a 5 semanas.

Quanto a sua excreção, a fluoxetina é extensivamente metabolizada no fígado à norfluoxetina e a outros metabólitos, até o momento não identificados, excretados na urina. A meia-vida de eliminação é de 4 a 6 dias e a de seu metabólito ativo é de 4 a 16 dias.

Em estudos realizados em animais não houve evidência de carcinogênese ou mutagênese. Não foram observados danos à fertilidade em ratos adultos em doses até 12,5 mg/kg/dia - aproximadamente 1,5 vezes a dose humana máxima recomendada em base de mg/m2. Em um estudo toxicológico em ratos jovens, a administração de 30 mg/kg de cloridrato de fluoxetina (entre o 21º e o 90º dia após o nascimento), resultou em um aumento dos níveis séricos de creatinina quinase e aspartato aminotransferase, que foram acompanhadas microscopicamente através da degeneração da musculatura esquelética, necrose e regeneração. Outros achados em ratos aos quais também foram administrados 30 mg/kg de cloridrato de fluoxetina constataram degeneração e necrose dos túbulos seminíferos dos testículos, vacuolização do epitélio do epidídimo dos ratos machos e imaturidade/ inatividade do trato reprodutivo de ratos fêmeas. As

concentrações plasmáticas alcançadas nestes animais foram maiores quando comparadas às

concentrações plasmáticas normalmente alcançadas em pacientes pediátricos (em animais que receberam 30 mg/kg, o aumento foi de aproximadamente 5 a 8 vezes para fluoxetina e de 18 a 20 vezes para norfluoxetina. Em ratos que receberam 10 mg/kg, o aumento foi de aproximadamente 2 vezes para fluoxetina e 8 vezes para norfluoxetina. Ocorreram atrasos na maturação sexual nos machos tratados com 10 mg/kg e nas fêmeas e machos tratados com 30 mg/kg. A relevância destes achados em seres humanos é desconhecida. Houve uma diminuição na extensão de crescimento do fêmur de ratos tratados com 30 mg/kg quando comparados com o grupo controle (EMA).

5.2 Parâmetros físico-químicos

A avaliação dos parâmetros físico-químicos, tais como o pH, condutividade, e o oxigênio dissolvido devem ser levados em conta, uma vez que podem interferir diretamente nas taxas de sobrevivência dos organismos aquáticos (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008). Esses parâmetros foram determinados antes e após o tratamento das amostras com a irradiação ionizante, e também ao início e término dos ensaios de toxicidade.

5.2.2 pH

O potencial de hidrogênio (pH), é o parâmetro físico-químico que confere a característica a determinada solução quanto a acidez (0 à 6,9), neutralidade (7), ou alcalinidade (7,1 a 14).

Organismos aquáticos se desenvolvem melhor em condições de neutralidade, por isso é de grande importância que as variações de pH sejam acompanhadas durante os ensaios ecotoxicológicos, devido ao fato de que podem ser responsáveis por conferir toxicidade a uma amostra.

Os valores de pH obtidos nos ensaios para o propranolol, e para sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina, antes e após a irradiação, foram apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – pH das soluções de propranolol (80 mgL^{-1}) antes e após irradiação.

Ph					
	Dose (kGy)				
Ensaio	**0,0**	**2,5**	**5,0**	**7,5**	**10,0**
1	7,69	5,86	4,66	3,92	4,03
2	6,10	4,93	4,36	4,12	4,10
3	7,95	6,35	5,46	4,26	4,50
X ± S	**7,24 ± 0,76**	**5,71 ± 0,52**	**4,82 ± 0,42**	**4,10 ± 0,12**	**4,21 ± 0,19**

Tabela 12 – pH das soluções da mistura de fármacos (1:1) antes e após irradiação.

Ph					
	Dose (kGy)				
Ensaio	**0,0**	**2,5**	**5,0**	**7,5**	**10,0**
1	7,69	5,10	4,40	4,08	3,76
2	8,60	5,65	4,68	4,06	4,17
3	6,01	4,68	4,41	4,58	4,19
X ± S	**7,43 ± 0,94**	**5,14 ± 0,33**	**4,49 ± 0,12**	**4,24 ± 0,22**	**4,04 ± 0,18**

Para ambas as soluções-teste utilizadas para os ensaios ecotoxicológicos, ocorreu uma redução do pH em função do aumento da dose de radiação aplicada.

A irradiação de substâncias orgânicas gera a formação de ácidos orgânicos, proveniente da degradação dos fármacos. A redução do pH após a irradiação pode estar relacionada a formação de substâncias ácidas decorrentes dos compostos expostos a irradiação por feixe de elétrons (DUARTE, 1999). A diminuição do pH devido a formação desses ácidos orgânicos provenientes da degradação dos compostos orgânicos já fora verificada por diversos autores (BORRELY, 2001; ROMANELLI, 2004; HIGA, 2008; SANTOS, 2012; SILVA, 2014).

Ao comparar as médias dos valores de pH, obtidos para as soluções de propranolol, e de sua mistura com o cloridrato de fluoxetina, pode-se observar

a faixa de pH de 7,0 antes da irradiação, e entre 6 e 4, após serem submetidas ao tratamento por radiação ionizante (Figura 15).

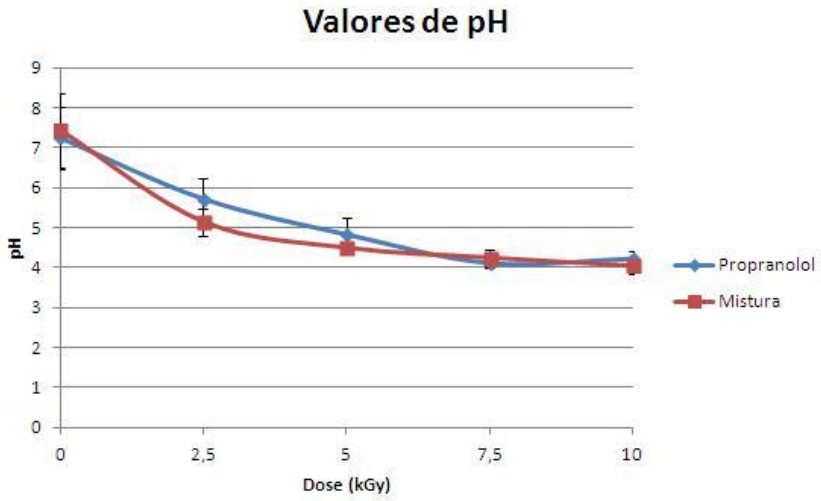

Figura 15 – Valores de pH das amostras analisadas em relação as doses de radiação aplicadas.

No trabalho de Silva (2014), após o tratamento por meio da irradiação, foi realizada a correção do pH, a fim de, melhorar a eficiência na remoção da toxicidade, uma vez que os organismos mostram-se sensíveis a valores de pH ácidos. Porém mesmo após a correção do pH para valores próximos a 6,0, a eficiência de remoção do compostos continuou abaixo de 30%, o que indica que não foi apenas o pH que influenciou na toxicidade da amostra irradiada.

5.2.3 Condutividade

A condutividade é a expressão numérica da capacidade da água em conduzir corrente elétrica, dando indícios da quantidade de sais existentes na coluna d´água, representando uma medida indireta da concentração de poluentes (CETESB, 2011).

Os valores de condutividade obtidos nos ensaios com propranolol, e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina, antes e após a irradiação, foram apresentados nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Condutividade das soluções de propranolol (80 mg.L^{-1}).

Condutividade					
	Dose (kGy)				
Ensaio	**0,0**	**2,5**	**5,0**	**7,5**	**10,0**
1	52,3	63,7	80	108,3	130,9
2	82,6	92,5	102,2	142,0	131,2
3	86,9	99,9	106,0	119,1	124,1
X ± S	**73,9 ± 14,4**	**85,3 ± 14,4**	**96,0 ± 10,7**	**123,1 ± 12,5**	**128,7 ± 3,0**

Tabela 14 – Condutividade das soluções da mistura de fármacos (1:1).

Condutividade					
	Dose (kGy)				
Ensaio	**0,0**	**2,5**	**5,0**	**7,5**	**10,0**
1	48,5	60,2	77,7	97,0	114,4
2	48,1	68,7	80,0	79,1	88,4
3	63,2	60,9	67,0	122,9	133,8
X ± S	**53,2 ± 6,6**	**63,2 ± 3,6**	**74,9 ± 5,2**	**99,6 ± 15,4**	**112,2 ± 15,8**

Na Figura 16 constam as médias dos valores de condutividade obtidos para as soluções de propranolol, e de sua mistura com o cloridrato de fluoxetina, antes e após a irradiação com diferentes doses. É possível notar um aumento dos valores proporcional ao aumento das doses de radiação ionizante aplicadas. Fato que pode ser explicado devido ao aumento do número de moléculas ionizadas formadas a partir da irradiação, aumentando a condutividade da solução.

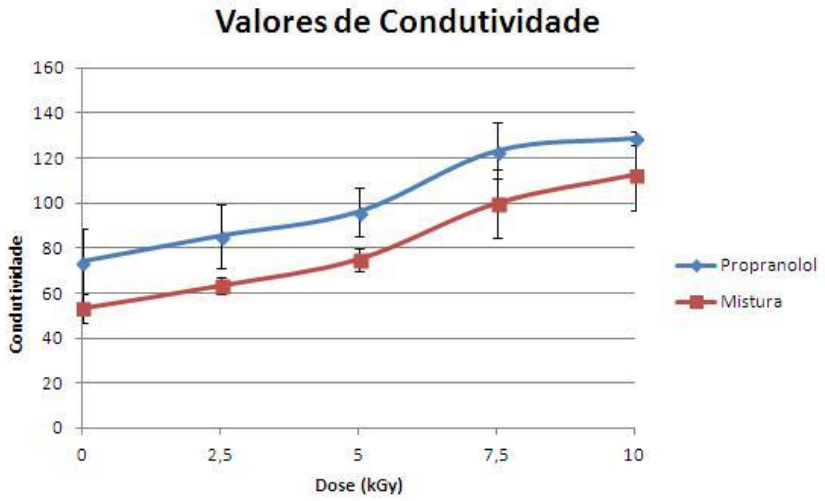

Figura 16 – Condutividade das amostras analisadas versus dose de radiação.

5.2.4 Oxigênio Dissolvido

Em relação ao oxigênio dissolvido na solução, não foram evidenciadas variações relevantes. A sua concentração nas amostras variou entre 6,07 e 9,02 $mg.L^{-1}$ (Figura 17), sendo esses valores adequados para ensaios ecotoxicológicos exigidos pelas normas de cultivos de organismos, que recomenda valores acima de 5,0 mg L^{-1}, valores inferiores podem interferir nos resultados dos ensaios (ABNT 12713/2009).

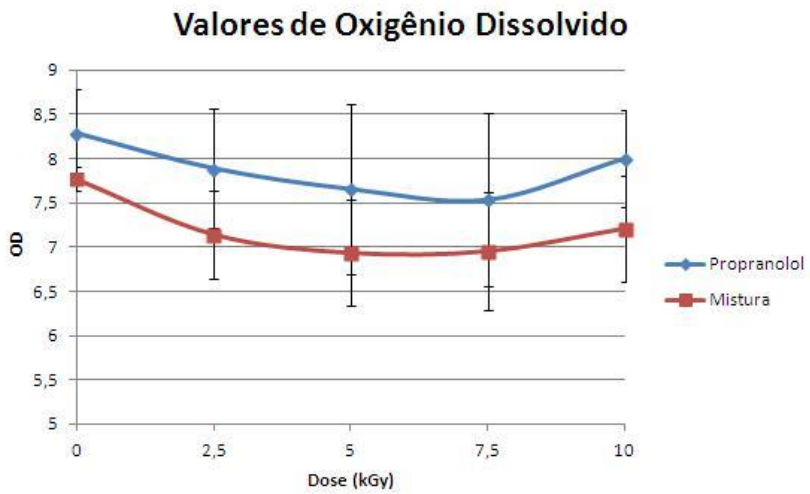

Figura 17 – Valores de oxigênio dissolvido das amostras analisadas em relação às doses de radiação aplicadas.

5.3 Ensaios com Fármacos Manipulados

5.3.1 *Daphnia similis*

A fim de verificar o potencial tóxico dos excipientes farmacêuticos, foram realizados ensaios de toxicidade aguda com os princípios ativos farmacêuticos. Adquiridos em farmácias de manipulação, com 99,9% de grau de pureza, contendo apenas o princípio ativo do fármaco, sem excipientes. Foram observadas e comparadas as diferenças de toxicidade (CE50%) entre os fármacos manipulados e os medicamentos de uso comercial, e também, a eficiência de remoção da toxicidade para o tratamento com feixe de elétrons na dose de 5,0 kGy.

Os ensaios realizados com o fármaco propranolol manipulado, e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina, também manipulado, não irradiados, e irradiados na dose de 5,0 kGy, com o organismo-teste *Daphnia similis*, estão representados quanto à concentração de efeito (CE50%), calculada pelo método Trimmed Spearman Karber (TSK) com os valores de médias (X) e desvio padrão (S), os intervalos de confianças entre parênteses, unidade tóxica (UT) e eficiência do processo de remoção (%), nas Tabelas 15 e 16.

Tabela 15 – CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra do fármaco propranolol para *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	4,51 (3,59 – 5,68)	22,17	-
0,0	2	3,75 (3.11 – 4,51)	26,66	-
	3	4,46 (3,42 – 5,83)	22,42	-
	X ± S	**4,46 ± 0,32**	**22,42 ± 1,94**	**-**
	1	46,87 (41,12 – 53,41)	2,13	90,49
5,0	2	40,56 (36,47 – 45,11)	2,46	89,02
	3	39,75 (35,99 – 43,89)	2,51	88,80
	X ± S	**42,39 ± 2,98**	**2,36 ± 0,15**	**89,02 ± 0,70**

Tabela 16 - CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra da mistura dos fármacos para *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	6,70 (4,66 – 9,62)	14,92	-
0,0	2	7,47 (5,11 – 10,94)	13,38	-
	3	7,84 (6,07 – 10,11)	12,75	-
	X ± S	**7,33 ± 0,42**	**13,68 ± 0,82**	**-**
	1	55,99 (50,66 – 61,88)	1,78	86,98
5,0	2	65,01 (59,86 – 70,60)	1,53	88,23
	3	47,34 (39,82 – 55,55)	2,11	84,57
	X ± S	**53,24 ± 3,93**	**1,78 ± 0,20**	**86,98 ± 1,51**

Ao comparar as diferenças entre as CE50% dos fármacos manipulados com os de uso comercial, para o propranolol isolado, podemos notar nos ensaios brutos (não irradiados), que o propranolol manipulado apresentou maior toxicidade, com a CE50% de 4,46 quando comparado ao fármaco de uso comercial, onde a CE50% foi de 7,45.

Porém ao analisar a eficiência do tratamento na dose de 5,0 kGy, para o fármaco manipulado onde a CE50% de 42,39, mostra-se superior, ao fármaco de uso comercial, CE50% de 36,85. Mesmo o fármaco manipulado apresentando uma toxicidade maior, sua eficiência de remoção foi superior quando comparada ao tratamento submetido ao propranolol de uso comercial.

Levando em conta a mistura dos fármacos (propranolol + cloridrato de fluoxetina), nos ensaios realizados com os compostos manipulados, foi observada a CE50% de 7,33, novamente mais tóxica quando comparada a mistura dos fármacos de uso comercial, onde a CE50% foi de 9,38. Ao analisar a eficiência do tratamento na dose de 5,0 kGy, para a mistura dos fármacos manipulados, os valores encontrados foram próximos aos ensaios com o fármaco comercial, sendo de 53,24 e 51,15, respectivamente.

A dose de 5,0 kGy, foi evidenciada como a melhor dose para o tratamento por irradiação com feixe de elétrons, para os fármacos de uso comercial, discutidos nesse trabalho. Esta dose foi empregada a fim de avaliar o mesmo potencial de redução da toxicidade para o estudo com os fármacos manipulados, apresentando uma eficiência de remoção de 89,02% para o

propranolol, e de 86,98% para a mistura desse fármaco com o cloridrato de fluoxetina.

Dados esses que se mostraram melhores do que os encontrados para as análises dos fármacos de uso comercial, onde a eficiência de remoção foi de 79,94% e 81,59%, para propranolol e mistura, respectivamente (Figura 18).

(a) (b)

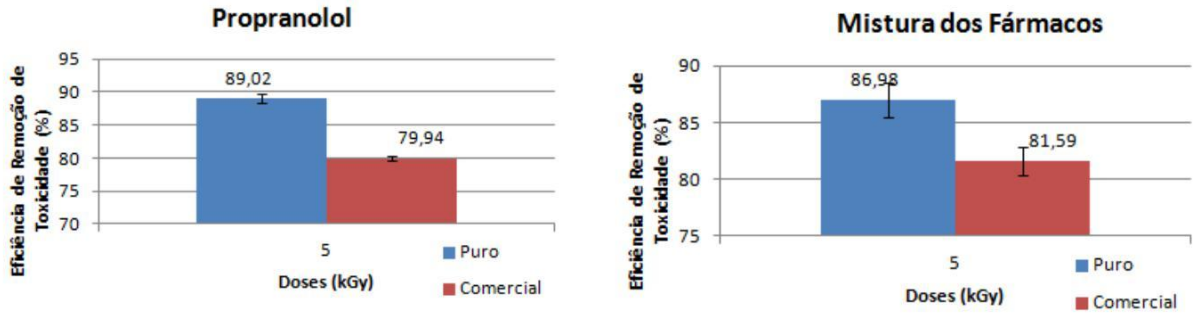

Figura 18 – (a) e (b) Eficiência de remoção dos fármacos manipulados e comerciais, para o organismo *D. similis.*

5.3.2 *Vibrio fischeri*

Neste estudo, também foram realizados ensaios ecotoxicológicos com a bactéria *Vibrio fischeri,* com o fármaco propranolol manipulado, e com a mistura dos fármacos propranolol e cloridrato de fluoxetina, também manipulados, em amostras não irradiadas e irradiadas na dose de 5,0 kGy.

Os valores de $CE50_{15min}$ determinados neste estudo, bem como as médias, desvios-padrão, unidades tóxicas e eficiência de remoção constam na Tabelas 17 e 18.

Tabela 17 – CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra do fármaco propranolol para *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	35,21 (32,15 – 38,56)	2,84	-
0,0	2	37,82 (25,31 – 56,49)	2,64	-
	3	39,49 (33,90 – 46,01)	2,53	-
	X ± S	**37,50 ± 1,53**	**2,67 ± 0,11**	**-**
	1	63,73 (49,94 – 81,31)	1,56	41,57
5,0	2	63,20 (47,42 – 84,24)	1,58	40,82
	3	63,95 (54,65 – 74,83)	1,56	41,57
	X ± S	**63,62 ± 0,28**	**1,56 ± 0,00**	**41,32 ± 0,33**

Tabela 18 - CE5015min (%), UT e eficiência de remoção (%) da amostra da mistura dos fármacos para *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	$CE50_{15min}$ (%)	UT	Eficiência (%)
	1	40,16 (30,81 – 52,34)	2,49	-
0,0	2	42,75 (27,40 – 66,69)	2,33	-
	3	42,32 (27,50 – 65,14)	2,36	-
	X ± S	**41,74 ± 1,05**	**2,39 ± 0,06**	**-**
	1	51,57 (38,42 – 69,21)	1,93	19,24
5,0	2	49,82 (28,96 – 85,72)	2,00	16,31
	3	48,03 (27,55 – 88,71)	2,08	12,97
	X ± S	**49,80 ± 1,18**	**2,00 ± 0,05**	**16,17 ± 2,13**

Comparando os valores de CE50% dos fármacos manipulados com os de uso comercial, notamos que o propranolol manipulado apresenta-se novamente mais tóxico para *V. fischeri*, CE50% de 37,50, quando comparado ao fármaco de uso comercial, CE50% de 55,20. Todavia a eficiência do tratamento na dose de 5,0 kGy foi praticamente igual, para o fármaco manipulado, onde CE50%: 63,62, e para o fármaco comercial, onde CE50%: 65,30. Porém deve-se levar em conta que ao analisar a CE50% dos fármacos não irradiados, o propranolol manipulado mostrou-se mais tóxico.

Analisando a mistura dos fármacos (propranolol + cloridrato de fluoxetina), nos ensaios realizados com as substâncias manipuladas (CE50%: 41,74), os valores mostraram-se próximos aos ensaios com a mistura dos fármacos de uso comercial (CE50%: 45,65). Porém, desta vez, a eficiência do tratamento na dose de 5,0 kGy, mostrou-se melhor no tratamento para a mistura dos fármacos de uso comercial.

A eficiência de remoção do propranolol foi superior nos ensaios realizados com o fármaco manipulado (41,32%). Porém para os ensaios com a mistura de fármacos, a eficiência de remoção da toxicidade do composto mostrou-se maior nos ensaios realizados com o fármaco comercial (26,93%) (Figura 19).

(a) (b)

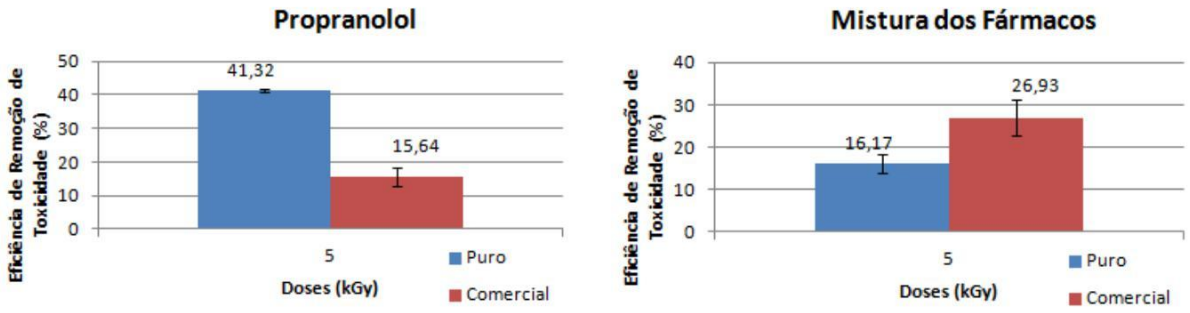

Figura 19 – (a) e (b) Eficiência de remoção dos fármacos manipulados e comerciais, para o organismo *V. fischeri.*

As medidas de redução do impacto ambiental causado pelos fármacos também devem se basear no conhecimento sobre os efeitos tóxicos de todos os ingredientes farmacêuticos ativos, bem como os excipientes (CARSLON, et al., 2006).

A probabilidade desses excipientes exercerem um potencial efeito tóxico no ambiente raramente é discutida, mas as concentrações dos compostos utilizados para essas diversas aplicações, por vezes, são medidos em conjunto com os ingredientes ativos farmacêuticos (DAUGHTON & TERNES, 1999; KOLPIN et al., 2002).

Existem 1300 compostos utilizados como excipientes em cerca de 7600 fármacos na Suécia. Dentre eles encontramos a água, o açúcar, o amido, celulose, proteínas, citrato, glucose e glicerol, que podem ser consideradas como ambientalmente seguras. Outros compostos tais como os conservantes, podem ser mais relevantes do ponto de vista dos riscos ambientais. Conservantes são compostos biologicamente ativos usados como biocidas, a fim de inibir o crescimento de microrganismo, podendo afetar também outros organismos. Outros compostos, como os tensoativos podem apresentar atividade biológica considerável, sendo assim, seu impacto ambiental pode ser adverso ou benéfico (ALVERSON & COHEN, 2004 *apud* CARSLON et al., 2006).

No trabalho de Carslon e colaboradores (2006), foram selecionados cinco excipientes farmacêuticos para a avaliação dos riscos ambientais. Somente o Docusato de sódio, um surfactante aniônico tipo emoliente, foi identificado como um potencial de risco, para organismos que vivem em sedimentos.

Pode-se argumentar que o montante de excipientes utilizados em produtos farmacêuticos são pequenos. Assim, a utilização de excipientes em produtos farmacêuticos não apresenta um risco significativo ao ambiente. Porém, ainda existem muitas lacunas de conhecimento a respeito dos riscos ambientais decorrentes dos excipientes farmacêuticos (CARSLON et al., 2006).

Neste trabalho ficou claro que existe diferença entre a toxicidade das substâncias. O fármaco manipulado foi mais tóxico quando comparado ao fármaco comercial, que contêm os excipientes, que por sua vez podem proteger de alguma maneira os organismos expostos. Quanto à eficiência de remoção, esta também é melhor para os fármacos manipulados, mesmo se apresentando mais tóxicos, ao ser aplicado o tratamento com radiação ionizante, a eficiência de remoção foi maior, comparada aos fármacos comerciais, tal fato só não foi observado na mistura dos fármacos para o organismo *Vibrio fischeri*. Novamente pode-se dizer que os excipientes farmacêuticos interferem neste processo.

5.4 Carta Controle

Nas Figuras 20 e 21, foram apresentados os resultados da carta controle para os organismos *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, respectivamente.

Para a *Daphnia similis* o valor referente ao coeficiente de variação (CV), foi de 6,58%, e para a bactéria *Vibrio fischeri* foi de 11,72%. Desta forma, como os valores encontrados foram inferiores a 30%, os dados são considerados válidos para os testes. Observa-se também que todos os resultados se encontram dentro da faixa de sensibilidade.

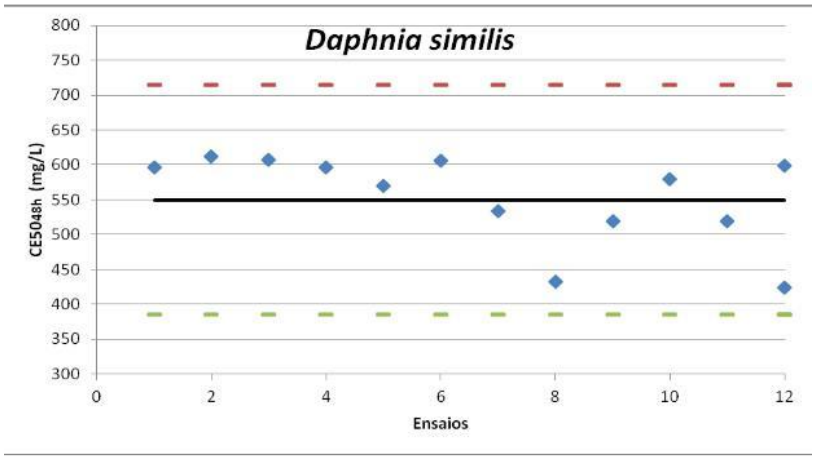

Figura 20 – Carta controle dos ensaios de sensibilidade com cloreto de potássio para *D. similis*.

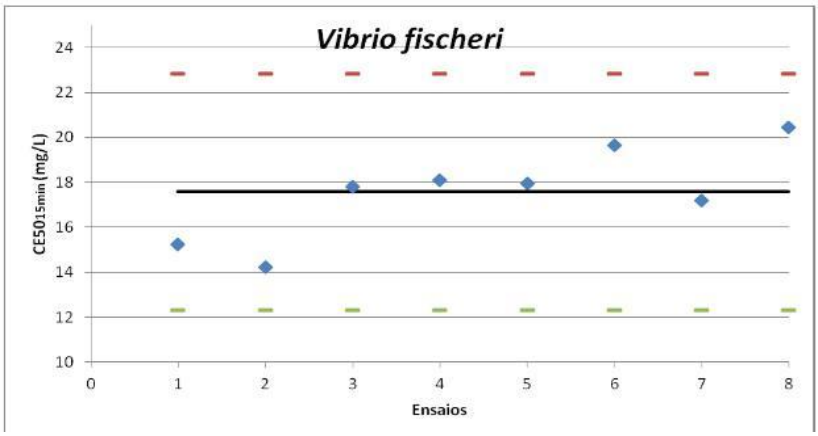

Figura 21 – Carta controle dos ensaios de sensibilidade com cloreto de potássio para *V. fischeri*.

5.5 Análise Estatística

Pelo método ANOVA, foi possível verificar as análises estatísticas para os ensaios ecotoxicológicos realizados com os organismos-teste *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri.*

Na Tabela 19, foram apresentados os valores de p-valor pelo Teste de Turkey, onde valores menores que 0,05 indicam que há variação significativa entre as médias.

Tabela 19 – Dados calculados pelo Teste de Turkey para verificar a variação significativa entre as médias de CE50.

Organismo	Amostra	Níveis	Estat. F	P valor	Variação significativa
Daphnia similis	Propranolol	0-2,5 kGy	201,073	0,000	Sim
		0-5,0 kGy		0,000	Sim
		0-7,5 kGy		0,000	Sim
		0-10,0 kGy		0,000	Sim
	Mistura	0-2,5 kGy	31,483	0,000	Sim
		0-5,0 kGy		0,000	Sim
		0-7,5 kGy		0,000	Sim
		0-10,0 kGy		0,000	Sim
Vibrio fischeri	Propranolol	0-2,5 kGy	214,427	0,000	Sim
		0-5,0 kGy		0,001	Sim
		0-7,5 kGy		0,000	Sim
		0-10,0 kGy		0,000	Sim
	Mistura	0-2,5 kGy	67,086	0,001	Sim
		0-5,0 kGy		0,000	Sim
		0-7,5 kGy		0,000	Sim
		0-10,0 kGy		0,000	Sim

Em relação às analises estatísticas, os dados obtidos com *D. similis* resultaram em variação significativa entre as médias das amostras do fármaco propranolol, e de sua mistura com o fármaco cloridrato de fluoxetina, obtendo assim, uma redução significativa de toxicidade para todas as doses de radiação ionizante aplicada como tratamento.

Para o organismo *V. fischeri*, também ocorreu a variação significativa entre as médias das amostras. Ainda assim, vale ressaltar que a redução da toxicidade só foi observada na dose de 5,0kGy, para amostras do fármaco propranolol, e nas doses de 2,5 e 5,0kGy para as amostras da mistura dos fármacos.

Como já relatado neste trabalho, a presença de excipientes farmacêuticos interfere na toxicidade das amostras. Podemos notar isso, mais uma vez, ao analisar estatisticamente os dados encontrados para as amostras do fármaco propranolol. Ao realizar a ANOVA, foi encontrada variação significativa ($P<0,05$), ao comparar os dados de toxicidade do fármaco manipulado com o de uso comercial (Tabela 20).

Tabela 20 – Dados calculados pelo Teste de Turkey para verificar a variação significativa entre as amostras do fármaco propranolol manipulado, versus propranolol de uso comercial.

Organismo	Amostra	Níveis	Estat. F	P valor	Variação significativa
Daphnia similis	Propranolol	Manipulado X Comercial	43,035	0,003	Sim
Vibrio fischeri	Propranolol	Manipulado X Comercial	138,937	0,000	Sim

Cabe destacar que a abordagem de tratamento com irradiação em mistura foi a inovação deste estudo pois a grande maioria deles emprega uma única substância e sabe-se que na natureza ocorre a combinação dos contaminantes e que os efluentes, em geral, representam centenas de produtos químicos associados à água e cuja mistura pode oferecer risco tanto ao tratamento quanto aos recursos hídricos. Na lista de contaminantes prioritários encontram-se defensivos agrícolas, surfactantes, corantes, medicamentos e produtos com função biocida, entre outros.

6. CONCLUSÕES

- O microcrustáceo *Daphnia similis* foi mais sensível quando comparado à bactéria *Vibrio fischeri* tanto para o fármaco propranolol, quanto para a sua mistura ao cloridrato de fluoxetina.

- A dose 5,0 kGy mostrou maior eficiência na remoção da toxidade para o fármaco propranolol, apresentando uma taxa de redução de 79,94% para *D. similis*, e 15,64% para *V. fischeri*.

- Quanto a mistura dos fármacos (propranolol + cloridrato de fluoxetina), não houve diferença significativa de eficiência de remoção para as doses de 2,5 e 5,0 kGy, com 80,65% e 81,59%, respectivamente, para *D. similis,* evidenciando que as doses menores foram as mais eficientes.

- Empregando os ensaios ao organismo *V. fischeri* a mistura dos fármacos apresentou eficiência de remoção da toxicidade somente nas doses de 2,5 e 5,0 kGy, com 20,84% e 26,93%, respectivamente.

- Nos estudos realizados com os fármacos manipulados, esses apresentaram-se relativamente mais tóxicos quando comparados aos fármacos de uso comercial, porém a sua eficiencia da irradiação foi superior na redução da toxicidade.

7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Continuidade aos estudos sobre a radiação ionizante como tratamento na redução da toxicidade de fármacos, a fim de torná-la uma prática comercial, e possibilitar o reuso de efluentes.

Sugerem-se trabalhos que enfatizem o uso e o descarte correto dos medicamentos, bem como gerenciamento industrial destes resíduos, tentando minimizar e evitar a contamiação do ambiente aquático.

Realização de trabalhos a cerca dos excipientes farmacêuticos, a fim de averiguar os riscos ambientes que os mesmos podem causar.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Fichas controle dos ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Ensaios com Propranolol - 0,0kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 15/10/2014						Amostra: Propranolol					
Término: 17/10/2014						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	X	X	X	X	X	X
6,25	1	3	2	1	7	X	X	X	X	X	X
12,50	4	4	3	3	14	X	X	X	X	X	X
25,00	5	5	5	5	20	X	X	X	X	X	X
50,00	5	5	5	5	20	X	X	X	X	X	X
75,00	5	5	5	5	20	X	X	X	X	X	X
100,00	5	5	5	5	20	X	X	X	X	X	X
CE50 $_{48h}$: 8,41 (6,25 - 10,33)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 21/10/2014						Amostra: Propranolol					
Término: 23/10/2014						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,22	7,48	7,67	7,76	225	237
6,25	2	1	2	1	6	7,69	7,61	7,64	7,73	225	234
12,50	5	4	3	4	16	7,77	7,67	7,64	7,76	222	227
25,00	5	5	5	5	20	7,81	7,74	7,63	7,77	222	228
50,00	5	5	5	5	20	7,84	7,85	7,63	7,77	224	229
75,00	5	5	5	5	20	7,86	7,70	7,60	7,72	228	232
100,00	5	5	5	5	20	7,89	7,72	7,59	7,73	230	232
CE50 $_{48h}$: 8,25 (6,77 - 10,04)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 05/11/2014						Amostra: Propranolol					
Término: 07/11/2014						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,50	7,38	7,58	224	226
1,56	0	0	1	0	1	7,89	7,29	7,36	7,65	215,4	220
3,12	0	2	0	1	3	7,88	7,38	7,36	7,75	215,4	215,4
6,25	1	2	3	1	7	7,86	7,45	7,37	7,70	216,6	218
12,50	4	5	4	3	16	7,86	7,46	7,40	7,68	218,1	218,9
25,00	5	4	5	5	19	7,82	7,48	7,51	7,67	219,8	221
50,00	5	5	5	5	20	7,83	7,53	7,66	7,74	223	224
100,00	5	5	5	5	20	7,89	7,72	7,59	7,73	230	232
CE50 $_{48h}$: 7,29 (5,66 – 9,39)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 05/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 07/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	8,02	7,91	7,61	210,9	213,2
3,12	0	0	0	2	2	7,44	7,88	7,85	7,52	200,7	215,7
6,25	2	2	3	1	8	7,52	7,89	7,91	7,57	192,5	207,7
12,50	5	4	5	4	18	7,58	7,87	7,90	7,64	188,3	206,5
25,00	5	5	5	5	20	7,60	7,89	7,99	7,70	173,0	194,1
50,00	5	5	5	5	20	7,65	7,90	8,13	7,77	142,0	167,6
100,00	5	5	5	5	20	7,69	7,92	7,59	7,78	130	132
CE50 $_{48h}$: 6,81 (5,54 – 8,38)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 12/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 14/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,25	6,99	7,80	7,87	208,7	231
3,12	1	0	0	2	3	7,60	6,86	7,78	7,78	196,4	193,8
6,25	3	0	0	2	8	7,74	7,02	7,73	7,74	197,4	200,4
12,50	5	5	5	5	20	7,80	7,17	7,72	7,80	191,0	194,0
25,00	5	5	5	5	20	7,83	7,21	7,71	7,83	175,5	179,0
50,00	5	5	5	5	20	7,84	7,25	7,69	7,73	147,1	151,2
CE50 $_{48h}$: 6,52 (5,21 – 8,17)											

Ensaios com Propranolol - 2,5kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 2,5 kGy		
Inicio: 10/12/2014						Amostra: Propranolol					
Término: 12/12/2014						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,46	6,50	7,20	7,61	215,3	216,5
1,56	0	0	0	0	0	6,70	6,98	7,16	7,57	213	206,6
3,12	0	0	0	0	0	7,03	7,26	7,11	7,82	210,5	208,8
6,25	0	0	0	0	0	7,23	7,38	7,12	7,85	205	204,2
12,50	1	0	1	0	2	7,32	7,46	7,07	7,82	193,9	194
25,00	5	5	5	5	20	7,36	7,44	6,98	7,71	172,7	174
50,00	5	5	5	5	20	7,33	7,50	6,83	7,58	129,2	130,9
75,00	5	5	5	5	20	7,03	7,55	6,61	7,92	85	86,4
100,00	5	5	5	5	20	4,75	6,11	6,27	7,87	58,3	61,1
CE50 $_{48h}$: 16,49 (15,03 – 18,10)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 2,5 kGy		
Inicio: 14/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 16/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,01	8,07	7,75	7,95	201,8	238
3,12	0	0	0	0	0	7,21	8,12	7,71	7,88	196,1	201,1
6,25	0	0	0	0	0	7,30	8,12	7,72	7,90	191	195,0
12,50	1	1	0	1	3	7,35	8,10	7,69	7,91	183,2	186,7
25,00	2	0	2	2	6	7,32	8,08	7,60	7,87	167,3	171,1
50,00	5	4	5	5	19	7,21	8,06	7,40	7,57	36,5	139,6
$CE50_{48h}$: 27,35 (22,40 – 33,39)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 2,5 kGy		
Inicio: 29/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 31/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,67	7,56	8,32	7,99	198,3	239
6,25	0	0	0	0	0	7,48	7,57	8,31	7,76	190,6	195,8
12,50	0	1	0	0	1	7,57	7,62	8,35	7,73	184,5	187,6
25,00	1	0	2	2	5	7,60	7,65	8,45	7,68	168,9	171,5
50,00	5	5	5	5	20	7,62	7,65	8,61	7,55	137,4	140,9
100,00	5	5	5	5	20	5,73	5,53	9,26	7,84	92,5	96,7
Observações: $CE50_{48h}$: 28,52 (24,71 – 33,37)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 2,5 kGy		
Inicio: 05/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 07/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	8,02	7,91	7,61	210,9	213,2
6,25	0	0	0	0	0	7,54	7,82	7,90	7,56	192,4	206,5
12,50	0	2	0	0	2	7,55	7,82	7,94	7,62	187,0	199,2
25,00	2	0	0	3	5	7,51	7,86	7,99	7,65	173,3	185,2
50,00	5	5	5	3	17	7,52	7,89	8,13	7,62	141,3	152,3
75,00	5	5	5	5	20	7,30	7,87	8,35	7,59	107,1	121,0
100,00	5	5	5	5	20	6,02	6,20	8,74	7,85	93,9	109,6
$CE50_{48h}$: 30,12 (25,03 – 36,26)											

Ensaios com Propranolol - 5,0kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 11/03/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 13/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,20	7,35	7,67	275	267
1,56	0	0	0	0	0	7,92	8,14	7,32	7,44	229	235
3,12	0	1	2	0	0	7,96	8,15	7,32	7,56	222	226
6,25	0	0	1	1	0	7,94	8,10	7,32	7,52	217,3	221
12,50	0	0	0	0	0	7,83	8,06	7,33	7,54	205,9	209,1
25,00	1	0	1	0	2	7,94	8,08	7,35	7,61	182,5	185,3
50,00	5	5	5	5	20	7,90	6,74	7,35	7,53	136,4	145,7
75,00	5	5	5	5	20	6,69	6,65	7,38	7,20	86,2	90,3
100,00	5	5	5	5	20	6,36	5,36	7,43	7,71	72,8	78,4
$CE50_{48h}$: 32,99 (30,06 – 36,20)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 18/03/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 20/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,12	8,36	7,65	7,65	250	273
1,56	0	0	0	0	0	7,74	8,20	7,95	7,95	235	239
3,12	0	0	0	0	0	7,85	8,25	7,93	7,93	233	234
6,25	0	0	0	0	0	7,83	8,26	7,80	7,80	226	228
12,50	0	0	0	1	1	7,72	8,30	7,77	7,77	195,2	197
25,00	0	0	0	2	2	7,70	8,26	7,78	7,78	189,6	190,9
50,00	5	3	5	4	17	7,48	8,01	7,62	7,62	138,6	142,6
$CE50_{48h}$: 36,18 (32,81 – 39,89)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 14/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 16/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,01	8,07	7,75	7,95	201,8	238
3,12	0	0	0	0	0	7,44	8,10	7,72	7,88	193,4	200,1
6,25	0	0	0	0	0	7,46	8,08	7,65	7,87	188,7	193,3
12,50	0	0	0	0	0	7,40	8,05	7,56	7,85	181,5	186,1
25,00	0	0	1	0	1	7,38	8,03	7,53	7,83	166,1	172,3
50,00	3	2	2	5	12	7,32	8,06	7,41	7,77	135,3	139,1
$CE50_{48h}$: 44,03 (35,13 – 55,31)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 5,0 kGy
Inicio: 21/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 23/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,07	261	315
6,25	0	0	0	0	0	7,94	8,07	7,57	7,93	193,6	206,5
12,50	0	0	0	0	0	7,93	8,00	7,62	7,88	185,2	190,8
25,00	0	0	0	2	2	7,86	7,93	7,60	7,86	169,4	174,8
50,00	3	5	5	5	18	7,72	7,83	7,57	7,80	138,5	143,8
100,00	5	5	5	5	20	5,80	5,75	7,28	7,91	98,1	106,5
$CE50_{48h}$: 35,36 (31,00 – 40,32)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 5,0 kGy
Inicio: 29/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 31/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,67	7,56	8,32	7,99	198,3	239
6,25	0	0	0	0	0	7,04	7,18	8,31	7,81	191,4	200
12,50	0	0	0	0	0	7,10	7,33	8,26	7,76	183,2	186,5
25,00	0	0	1	0	1	7,12	7,37	8,24	7,72	167,8	172,5
50,00	5	4	5	3	17	7,08	7,41	8,21	7,69	134,2	137,8
100,00		5	5	5	20	5,80	5,75	7,28	7,80	94,1	106,5
$CE50_{48h}$: 37,89 (33,28 – 43,12)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 5,0 kGy
Inicio: 05/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 07/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	8,02	7,91	7,61	210,9	213,2
6,25	0	0	0	0	0	7,34	7,37	7,89	7,49	190,2	199,3
12,50	0	0	0	0	0	7,21	7,45	7,93	7,55	189,1	197,9
25,00	0	0	0	1	1	7,28	7,51	8,00	7,59	171,5	178,4
50,00	5	4	5	4	18	7,22	7,53	8,16	7,54	141,6	145,9
100,00	5	5	5	5	20	4,59	5,02	8,79	7,51	105,9	109,4
$CE50_{48h}$: 36,60 (32,63 – 41,06)											

Ensaios com Propranolol - 7,5kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 7,5 kGy	
Inicio: 21/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 23/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,07	261	315
12,50	1	0	0	0	1	7,19	7,47	7,60	7,86	183,8	186,8
25,00	2	2	2	3	9	7,21	7,52	7,52	7,79	167,8	170,5
50,00	5	5	5	5	20	7,07	7,37	7,41	7,82	135,4	138,2
100,00	5	5	5	5	20	5,10	5,11	7,06	7,92	111,9	121,7
CE50 $_{48h}$: 25,00 (21,13 – 29,58)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 7,5 kGy	
Inicio: 05/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 07/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	8,02	7,91	7,61	210,9	213,2
6,25	0	0	0	0	0	7,22	7,32	8,07	7,59	191,6	196,7
12,50	1	1	0	0	2	7,50	7,40	7,92	7,60	188,3	192,1
25,00	3	2	3	3	11	7,51	7,42	7,97	7,58	174,3	177,8
50,00	5	5	5	5	20	7,57	7,47	8,10	7,57	145,4	148,1
75,00	5	5	5	5	20	6,07	6,92	8,30	7,57	117,9	122,2
100,00	5	5	5	5	20	4,28	4,52	8,47	7,70	126,9	134,5
CE50 $_{48h}$: 22,53 (18,82 – 26,98)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 7,5 kGy	
Inicio: 12/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 14/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,24	6,99	7,80	7,87	208,7	231
6,25	0	0	0	0	0	7,60	7,34	7,74	7,80	192,5	202,1
12,50	0	0	0	0	0	7,66	7,41	7,81	7,81	188,1	193,3
25,00	4	0	2	3	9	7,56	7,45	7,97	7,78	169,7	174,9
50,00	5	5	4	5	20	7,44	7,45	8,30	7,70	138,5	142,3
100,00	5	5	5	5	20	4,75	5,40	9,05	7,76	109,5	106,6
CE50 $_{48h}$: 26,79 (22,64 – 31,71)											

Ensaio com Propranolol - 10,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 10,0 kGy	
Inicio: 11/03/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 13/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,20	7,35	7,67	275	267
1,56	0	0	0	0	0	7,43	7,26	7,28	7,53	225	229
3,12	0	1	0	0	1	7,52	7,39	7,27	7,61	223	225
6,25	0	0	0	0	0	7,58	7,46	7,27	7,60	216,5	217,5
12,50	0	0	0	0	0	7,67	7,52	7,26	7,57	204,7	206
25,00	0	0	3	3	6	7,88	7,58	7,23	7,53	180,1	181,3
50,00	5	5	5	5	20	7,59	7,56	7,24	7,50	131,9	133,2
75,00	5	5	5	5	20	6,82	6,10	7,25	7,65	95,1	100,6
100,00	5	5	5	5	20	5,32	4,98	7,31	7,72	100	104,6
$CE50_{48h}$: 27,74 (23,69 – 32,40)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 10,0 kGy	
Inicio: 21/07/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 23/07/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,07	261	315
6,25	0	0	0	0	0	7,04	7,45	7,57	7,97	190,4	207,3
12,50	0	0	0	1	1	6,99	7,54	7,59	7,93	184,5	190,8
25,00	5	5	4	4	18	7,04	7,56	7,55	7,90	168,1	172,4
50,00	5	5	5	5	20	6,85	7,42	7,45	7,79	136	144,9
100,00	5	5	5	5	20	4,50	4,74	6,86	7,94	123,2	128,4
$CE50_{48h}$: 18,30 (16,31 – 20,53)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 10,0 kGy	
Inicio: 05/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 07/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	8,02	7,91	7,61	210,9	213,2
6,25	0	0	0	0	0	6,40	7,10	7,94	7,55	191,4	195,8
12,50	0	0	0	1	1	6,76	7,25	7,92	7,55	186,1	189,5
25,00	2	0	0	3	5	6,85	7,27	7,99	7,57	170,4	173,6
50,00	5	5	5	5	20	6,62	7,33	8,12	7,53	137,4	139,0
75,00	5	5	5	5	20	5,49	5,35	8,26	1,62	112,2	118,2
100,00	5	5	5		20	4,11	4,04	8,47	1,69	126,5	130,8
$CE50_{48h}$: 28,72 (24,71 – 33,37)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 10,0 kGy		
Inicio: 12/08/2015						Amostra: Propranolol					
Término: 14/08/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,24	6,99	7,80	7,87	208,7	231
6,25	0	0	0	0	0	7,07	6,94	7,88	7,73	191,4	190,5
12,50	0	0	0	1	1	7,06	6,95	7,92	7,72	186,5	188,3
25,00	4	0	1	2	7	7,01	6,93	7,97	7,72	170,3	173,2
50,00	5	5	5	5	20	6,85	6,94	8,15	7,62	137,2	141,3
100,00	5	5	5	5	20	4,23	4,31	8,89	7,74	124,1	124,3
$CE50_{48h}$: 26,79 (22,77 – 31,52)											

Ensaios com Mistura (Prop + CF) - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 18/03/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 20/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,12	8,33	7,45	7,65	250	273
0,78	0	0	0	0	0	8,12	8,39	7,45	7,76	235	233
1,56	0	0	0	0	0	8,09	8,38	7,45	7,91	233	233
3,12	1	0	0	0	1	8,08	8,43	7,40	7,93	231	232
6,25	1	2	2	2	7	8,08	8,42	7,41	7,94	225	225
12,50	4	4	5	4	17	8,06	8,36	7,42	7,95	213,1	214,1
25,00	5	5	5	5	20	8,02	8,38	7,42	7,89	189,6	192,7
50,00	5	5	5	5	20	7,98	8,46	7,50	7,91	142,7	91,6
75,00	5	5	5	5	20	7,94	8,50	7,54	7,94	86,8	77,8
100,00	5	5	5	5	20	7,90	8,67	7,63	7,96	34,0	37,3

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*
$CE50_{48h}$: 7,43 (6,10 – 9,05)

									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 24/03/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 26/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,78	7,11	7,67	7,63	254	263
1,56	0	0	0	0	0	7,85	7,22	7,57	7,71	226	271
3,12	0	0	0	0	0	7,87	7,28	7,56	7,70	224	275
6,25	3	1	2	1	7	7,90	7,30	7,57	7,73	222	226
12,50	4	2	2	2	10	7,93	7,38	7,57	7,69	206,5	210,4
25,00	5	5	5	5	20	7,92	7,41	7,62	7,68	184,6	188,5
50,00	5	5	5	5	20	8,00	7,49	7,82	7,88	138,4	142,3

CE50 $_{48h}$: 9,80 (7,91 – 12,15)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 0,0 kGy
Inicio: 24/03/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 26/03/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,78	7,11	7,67	7,63	254	263
1,56	0	0	0	0	0	7,85	7,22	7,57	7,71	226	271
3,12	0	0	0	0	0	7,87	7,28	7,56	7,70	224	275
6,25	2	1	0	1	4	7,90	7,30	7,57	7,73	222	226
12,50	2	4	3	5	14	7,93	7,38	7,57	7,69	206,5	210,4
25,00	5	5	4	5	19	7,92	7,41	7,62	7,68	184,6	188,5
50,00	5	5	5	5	20	8,00	7,49	7,82	7,88	138,4	142,3
$CE50_{48h}$: 9,81 (8,03 – 11,98)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 0,0 kGy
Inicio: 28/04/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 30/04/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,16	8,52	7,43	7,88	231	244
1,56	0	0	0	0	0	7,59	8,25	7,32	7,90	224	229
3,12	0	2	0	0	2	7,61	8,20	7,36	7,83	225	228
6,25	2	1	0	2	5	7,65	8,21	7,39	7,76	218,4	221
12,50	3	3	4	4	14	7,67	8,18	7,41	7,81	206,8	211,3
25,00	5	5	5	5	20	7,72	8,23	7,44	7,81	184,5	186,9
50,00	5	5	5	5	20	7,70	8,26	7,52	7,78	147,1	149,5

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*

$CE50_{48h}$: 8,55 (6,89 – 10,61)

											Dose de radiação: 0,0 kGy
Inicio: 27/05/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 29/05/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,22	7,39	7,46	7,91	181,1	190,5
1,56	0	0	0	0	0	7,70	7,46	7,37	7,79	176,8	182,0
3,12	0	1	0	1	2	7,73	7,49	7,38	7,84	173,6	177,4
6,25	2	3	2	1	8	7,76	7,52	7,41	7,86	169,0	171,7
12,50	5	4	4	3	16	7,81	7,56	7,45	7,85	161,6	164,1
25,00	5	5	5	5	20	7,84	7,60	7,53	7,86	144,3	146,8
50,00	5	5	5	5	20	7,92	7,65	7,73	7,89	111,6	115,1
$CE50_{48h}$: 7,18 (5,78 – 8,92)											

Ensaios com Mistura (Prop + CF) - 2,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 2,5 kGy	
Inicio: 26/05/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 28/05/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,95	7,31	7,52	7,70	201,8	181,8
1,56	0	0	0	0	0	8,02	7,40	7,45	7,74	178,0	182,6
3,12	0	1	0	0	1	7,98	7,45	7,42	7,80	175,2	177,8
6,25	0	0	0	0	0	7,95	7,48	7,40	7,82	171,1	173,4
12,50	0	0	0	0	0	7,92	7,49	7,37	7,77	162,9	165,8
25,00	1	1	0	0	2	7,85	7,53	7,32	7,81	146,9	152,0
50,00	5	4	5	5	19	7,82	7,59	7,06	7,77	116,2	119,8
CE50 $_{48h}$: 34,28 (30,47 – 38,58)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 2,5 kGy	
Inicio: 08/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 10/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,23	7,40	7,48	197,6	203,5
6,25	0	0	0	0	0	7,88	6,50	7,40	7,42	172,5	181,4
12,50	0	0	0	0	0	7,79	6,67	7,45	7,37	167,8	170,8
25,00	0	1	0	0	1	7,72	6,81	7,59	7,46	155,3	157,5
50,00	1	2	4	3	10	7,66	6,84	7,83	7,48	132,3	135,2
100,00	5	5	5	5	20	6,09	5,35	8,60	7,57	102,7	109,4
CE50 $_{48h}$: 48,30 (40,78 – 57,19)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 2,5 kGy	
Inicio: 15/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 17/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
12,50	0	0	1	0	1	6,76	7,64	6,96	7,30	168,0	175,1
25,00	0	0	0	1	1	6,96	7,66	6,90	7,33	155,1	157,1
50,00	1	1	3	2	7	7,04	7,66	6,83	7,37	132,6	134,7
75,00	3	3	2	3	11	7,03	7,59	6,75	7,43	107,1	110,8
100,00	5	5	5	5	20	6,12	5,78	6,78	7,35	98,8	105,6
CE50 $_{48h}$: 49,06 (40,33 –69,31)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 2,5 kGy	
Inicio: 03/02/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 05/02/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,90	6,88	7,15	7,17	203,9	216,2
12,50	0	0	0	0	0	7,72	7,12	7,13	7,37	178,5	201,9
25,00	0	0	0	0	0	7,68	7,37	7,12	7,26	162,0	163,6
50,00	2	4	2	1	9	7,52	7,39	7,29	7,30	133,3	137,1
75,00	5	5	5	5	20	7,17	7,33	7,29	7,09	103,8	110,7
100,00	5	5	5	5	20	5,16	5,12	7,42	7,37	110,5	101,9
$CE50_{48h}$: 47,83 (42,32 - 54,04)											

Ensaios com Mistura (Prop + CF) - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 27/05/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 29/05/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,22	7,39	7,46	7,91	181,1	190,5
1,56	0	0	0	0	0	8,19	7,57	7,31	7,79	176,6	178,1
3,12	0	0	0	0	0	8,13	7,60	7,39	7,80	174,5	176,5
6,25	0	0	0	0	0	8,09	7,62	7,40	7,84	170,2	171,8
12,50	2	0	0	0	2	8,04	7,66	7,43	7,80	161,2	163,3
25,00	0	0	2	0	2	8,01	7,69	7,45	7,85	144,7	146,3
50,00	3	5	4	5	17	8,03	7,75	7,56	7,86	109,0	111,0
$CE50_{48h}$: 36,18 (32,81 – 39,89)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 08/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 10/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,23	7,40	7,48	197,6	203,5
6,25	0	0	0	0	0	6,90	6,70	7,47	7,39	169,7	168,6
12,50	0	0	1	0	1	7,03	6,91	7,47	7,25	171,5	173,5
25,00	0	1	0	0	1	7,14	7,07	7,56	7,32	155,9	156,8
50,00	3	3	1	4	11	7,11	7,10	7,80	7,46	131,0	132,3
100,00	5	5	5	5	20	5,67	5,18	8,60	7,59	114,8	119,4
$CE50_{48h}$: 45,06 (37,59 – 54,03)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 15/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 17/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
12,50	0	0	0	0	0	6,75	6,71	6,91	7,30	164,2	16,9
25,00	0	0	1	0	1	6,90	6,87	6,81	7,30	151,5	150,6
50,00	2	2	2	3	9	6,82	6,96	6,79	7,32	130,7	142,3
75,00	5	5	5	5	20	6,40	5,10	6,66	7,31	108,0	109,9
100,00	5	5	5	5	20	4,86	4,52	6,52	7,31	124,9	126,3
$CE50_{48h}$: 46,20 (40,18 – 53,12)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 03/02/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 05/02/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,90	6,88	7,15	7,17	203,9	216,2
12,50	0	0	0	0	0	7,04	6,78	7,06	7,38	176,1	182,4
25,00	0	0	0	0	0	7,13	6,95	7,09	7,38	159,6	163,9
50,00	0	2	4	0	6	7,11	7,01	7,16	7,40	134,9	134,4
75,00	3	2	1	4	20	7,00	6,72	7,22	7,32	106,4	106,4
100,00	5	5	5	5	20	4,84	4,82	7,45	7,50	95,7	114,4
$CE50_{48h}$: 51,76 (43,87 – 60,80)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 03/02/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 05/02/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,90	6,88	7,15	7,17	203,9	216,2
12,50	0	0	0	0	0	7,04	6,78	7,06	7,38	176,1	182,4
25,00	0	0	0	0	0	7,13	6,95	7,09	7,38	159,6	163,9
50,00	0	3	4	1	8	7,11	7,01	7,16	7,40	134,9	134,4
75,00	4	5	2	2	13	7,00	6,72	7,22	7,32	106,4	106,4
100,00	5	5	5	5	20	4,84	4,82	7,45	7,50	95,7	114,4
$CE50_{48h}$: 55,50 (48,19 – 63,92)											

Ensaios com Mistura (Prop + CF) - 7,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 7,5 kGy		
Inicio: 27/05/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 29/05/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,22	7,39	7,46	7,91	181,1	190,5
1,56	0	0	1	0	1	7,92	7,57	7,29	7,83	176,2	177,2
3,12	0	1	0	0	1	7,89	7,59	7,35	7,86	173,2	175,2
6,25	0	0	0	0	0	7,91	7,63	7,38	7,86	169,0	171,5
12,50	0	0	0	1	1	7,88	7,65	7,40	7,88	160,2	162,9
25,00	2	4	3	1	10	7,86	7,66	7,40	7,85	142,9	145,5
50,00	5	5	5	4	19	7,80	7,73	7,47	7,84	107,2	109,6
CE50 $_{48h}$: 25,00 (20,88 – 29,94)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 7,5 kGy		
Inicio: 08/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 10/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,23	7,40	7,48	197,6	203,5
6,25	0	0	0	1	1	6,53	6,74	7,51	7,44	167,7	167,8
12,50	0	0	0	0	0	6,86	6,80	7,52	7,46	164,1	165,1
25,00	1	0	0	1	2	6,90	6,89	7,63	7,43	151,7	153,8
50,00	4	4	5	3	17	6,82	6,95	7,87	7,51	128,6	131,7
75,00	5	5	5	5	19	6,18	6,30	7,87	7,52	126,6	129,2
100,00	5	5	5	5	20	4,73	4,61	7,87	7,67	123,7	129,0
CE50 $_{48h}$: 36,39 (31,23 – 42,41)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 7,5 kGy		
Inicio: 15/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 17/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
25,00	1	2	1	0	4	6,66	6,64	6,87	7,30	153,9	153,7
50,00	4	3	3	2	12	6,53	6,74	6,78	7,34	130,6	130,6
75,00	3	5	5	5	17	6,18	6,30	6,67	7,32	106,6	109,2
100,00	5	5	5	5	20	4,58	4,33	6,52	7,40	122,9	123,7
CE50 $_{48h}$: 40,47 (32,13 – 50,97)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 7,5 kGy		
Inicio: 15/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 17/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
12,50	0	1	0	0	1	6,45	6,50	6,89	7,31	163,3	164,5
25,00	0	1	1	0	2	6,66	6,64	6,87	7,30	153,9	153,7
50,00	3	3	4	4	14	6,53	6,74	6,78	7,34	130,6	130,6
75,00	5	5	5	5	19	6,18	6,30	6,67	7,32	106,6	109,2
100,00	5	5	5	5	20	4,58	4,33	6,52	7,40	122,9	123,7
$CE50_{48h}$: 39,63 (33,50 – 46,88)											

Ensaios com Mistura (Prop + CF) - 10,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 10,0 kGy		
Inicio: 08/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 10/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,23	7,40	7,48	197,6	203,5
6,25	0	0	0	1	1	6,33	6,38	7,49	7,43	166,6	166,9
12,50	4	0	1	1	6	6,60	6,56	7,53	7,45	162,3	163,9
25,00	1	3	1	2	7	6,75	6,64	7,62	7,50	150,4	152,2
50,00	5	5	5	5	20	6,68	6,70	7,82	7,48	127,3	129,4
100,00	5	5	5	5	20	4,50	4,31	8,66	7,63	131,5	136,0
$CE50_{48h}$: 22,74 (18,06 – 28,63)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 10,0 kGy		
Inicio: 08/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 10/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,23	7,40	7,48	197,6	203,5
6,25	2	0	0	0	0	6,33	6,38	7,49	7,43	166,6	166,9
12,50	3	2	2	0	7	6,60	6,56	7,53	7,45	162,3	163,9
25,00	2	2	2	3	9	6,75	6,64	7,62	7,50	150,4	152,2
50,00	5	5	5	5	20	6,68	6,70	7,82	7,48	127,3	129,4
100,00	5	5	5	5	20	4,50	4,31	8,66	7,63	131,5	136,0
$CE50_{48h}$: 20,29 (15,47 –26,61)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 10,0 kGy	
Inicio: 15/12/2015						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 17/12/2015						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
12,50	2	0	2	1	5	6,31	6,51	6,86	7,26	163,0	163,5
25,00	2	3	2	2	9	6,49	6,68	6,79	7,27	151,3	150,6
50,00	4	3	4	4	16	6,45	6,77	6,71	7,32	128,4	127,9
75,00	5	5	5	5	20	5,48	5,84	6,40	7,32	110,1	111,2
100,00	5	5	5	5	20	4,19	4,25	6,03	7,37	133,8	135,9
$CE50_{48h}$: 26,01 (18,41 –36,75)											

Ensaios com Propranolol Manipulado - 0,0kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 0,0 kGy	
Inicio: 24/11/2014						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 26/11/2014						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,45	7,79	7,24	7,57	216,1	216,6
1,56	0	0	1	0	1	7,64	7,87	7,20	7,65	215,6	216,4
3,12	0	2	2	2	6	7,72	7,97	7,19	7,74	215	215,1
6,25	4	2	3	4	13	7,74	7,88	7,19	7,70	215,6	216,2
12,50	5	5	5	5	20	7,78	7,80	7,18	7,71	217,2	218,5
25,00	5	5	5	5	20	7,90	7,81	7,18	7,72	220	221
50,00	5	5	5	5	20	7,96	7,84	7,18	7,72	229	231
75,00	5	5	5	5	20	7,99	7,88	7,16	7,66	234	233
100,00	5	5	5	5	20	8,02	7,91	7,16	7,80	241	241
$CE50_{48h}$: 4,51 (3,59 – 5,68)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 0,0 kGy	
Inicio: 04/02/2015						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 06/02/2015						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µScm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	7,32	6,89	X	X	X	X
1,56	0	1	0	0	1	7,75	7,25	X	X	X	X
3,12	1	2	2	1	6	7,77	7,52	X	X	X	X
6,25	4	5	5	4	18	7,65	7,89	X	X	X	X
12,50	5	5	5	5	20	7,84	7,98	X	X	X	X
25,00	5	5	5	5	20	7,86	7,95	X	X	X	X
50,00	5	5	5	5	20	7,94	7,81	X	X	X	X
$CE50_{48h}$: 3,75 (3,11 – 4,51)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 0,0 kGy
Inicio: 08/04/2015						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 10/04/2015						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,25	8,23	7,75	7,85	244	258
1,56	1	0	1	0	2	7,89	7,67	7,72	7,78	227	230
3,12	2	2	2	1	7	7,92	7,79	7,68	7,85	229	231
6,25	2	4	2	4	12	7,95	7,84	7,66	7,85	223	225
12,50	5	5	5	5	20	7,98	7,89	7,71	7,93	210,7	214
25,00	5	5	5	5	20	8,01	7,92	7,70	7,95	189,1	191,6
50,00	5	5	5	5	20	8,14	8,01	7,71	7,98	142,2	146,5
$CE50_{48h}$: 4,46 (3,42 - 5,83)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 0,0 kGy
Inicio: 28/04/2015						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 30/04/2015						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,16	8,52	7,48	7,88	231	244
1,56	0	0	1	0	1	6,24	8,43	7,40	7,78	227	230
3,12	1	0	0	1	2	6,40	8,36	7,40	7,73	225	231
6,25	3	4	4	3	14	6,57	8,37	7,40	7,77	220	223
12,50	5	5	5	5	20	7,00	8,30	7,40	7,81	215,7	218,6
25,00	5	5	5	5	20	7,56	8,33	7,41	7,80	189,7	192,6
50,00	5	5	5	5	20	7,63	8,36	7,41	7,80	147,6	150,2
$CE50_{48h}$: 5,07 (4,19 - 6,14)											

Ensaios com Propranolol Manipulado - 5,0kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*											Dose de radiação: 5,0 kGy
Inicio: 11/05/2016						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 13/05/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,58	7,74	7,72	194,3	221
12,50	0	0	0	0	0	7,40	6,83	7,63	7,79	166,1	167,4
25,00	0	0	0	0	0	7,45	7,04	7,60	7,79	155,4	157,3
50,00	2	2	3	4	11	7,44	7,17	7,54	7,80	134,2	136,8
75,00	5	4	4	5	18	7,31	7,20	7,47	7,79	110,3	113,2
100,00	5	5	5	5	20	5,53	6,30	7,65	7,84	101,7	97,9
$CE50_{48h}$: 46,87 (41,12 – 53,41)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 5,0 kGy		
Inicio: 04/05/2016						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 06/05/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,70	6,74	7,67	7,65	179,7	221
12,50	0	0	0	0	0	6,95	6,77	7,61	7,68	166,9	182,8
25,00	0	0	0	0	0	7,07	7,08	7,66	7,73	154,9	166
50,00	5	3	5	2	15	7,09	7,18	7,59	7,74	133,0	141,1
75,00	5	5	5	5	20	6,92	7,04	7,55	7,70	110,8	118,3
100,00	5	5	5	5	20	5,25	5,10	7,79	7,77	105,5	114,9
$CE50_{48h}$: 40,56 (36,47 – 45,11)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 5,0 kGy		
Inicio: 04/05/2016						Amostra: Propranolol Manipulado					
Término: 06/05/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,70	6,74	7,67	7,65	179,7	221
12,50	0	0	0	0	0	6,95	6,77	7,61	7,68	166,9	182,8
25,00	0	0	0	0	0	7,07	7,08	7,66	7,73	154,9	166
50,00	4	5	5	3	17	7,09	7,18	7,59	7,74	133,0	141,1
75,00	5	5	5	3	18	6,92	7,04	7,55	7,70	110,8	118,3
100,00	5	5	5	5	20	5,25	5,10	7,79	7,77	105,5	114,9
$CE50_{48h}$: 39,75 (35,99 – 43,89)											

Ensaios com Mistura Manipulada (Prop + CF) - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*									Dose de radiação: 0,0 kGy		
Inicio: 09/03/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 11/03/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,27	6,80	7,08	7,31	188,8	207,0
3,12	2	1	1	1	5	8,22	7,18	7,03	7,33	175,8	183,5
6,25	2	3	2	2	9	8,22	7,23	7,04	7,24	173,1	179,6
12,50	4	5	3	3	15	8,25	7,16	7,06	7,24	166,9	172,6
25,00	5	5	5	5	20	8,28	7,20	7,08	7,31	157,9	165,2
50,00	5	5	5	5	20	8,34	7,26	7,14	7,36	125,6	133,9
$CE50_{48h}$: 6,70 (4,66 – 9,62)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 0,0 kGy	
Inicio: 09/03/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 11/03/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,27	6,80	7,08	7,31	188,8	207,0
3,12	0	1	1	3	5	8,22	7,18	7,03	7,33	175,8	183,5
6,25	3	2	2	1	8	8,22	7,23	7,04	7,24	173,1	179,6
12,50	3	3	4	4	14	8,25	7,16	7,06	7,24	166,9	172,6
25,00	5	5	5	5	20	8,28	7,20	7,08	7,31	157,9	165,2
50,00	5	5	5	5	20	8,34	7,26	7,14	7,36	125,6	133,9
$CE50_{48h}$: 7,47 (5,11 – 10,94)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 0,0 kGy	
Inicio: 16/03/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 18/03/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,22	6,48	7,22	7,41	192,2	202,6
3,12	0	1	1	1	3	6,35	6,58	7,29	7,35	173,4	178,7
6,25	3	2	1	2	8	6,57	6,74	7,28	7,43	171,3	173,7
12,50	3	4	5	4	15	6,59	6,86	7,31	7,46	166,1	167,9
25,0	5	5	5	5	20	6,64	6,95	7,34	7,52	154,7	156,1
50,00	5	5	5	5	20	6,69	7,02	7,50	7,53	131,6	133,5
100,00	5	5	5	5	20	6,56	6,67	8,05	7,57	84,1	88,3
$CE50_{48h}$: 7,84 (6,07 – 10,11)											

Ensaios com Mistura Manipulada (Prop + CF) - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 04/05/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 06/05/2016						Análise Físico - Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,70	6,74	7,67	7,65	179,7	221
12,50	1	1	1	0	3	6,88	7,04	7,84	7,75	164,4	176,9
25,00	0	0	0	0	0	7,05	7,14	7,79	7,72	153,9	159,8
50,00	3	1	4	3	11	7,07	7,22	7,77	7,70	131,9	135,9
75,00	5	1	5	5	16	7,04	7,11	7,67	7,72	106,5	111,7
100,00	5	5	5	5	20	4,88	5,25	7,59	7,79	98,2	107,1
$CE50_{48h}$: 47,34 (39,82 – 55,55)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 04/05/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 06/05/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	6,70	6,74	7,67	7,65	179,7	221
12,50	1	1	1	0	3	6,88	7,04	7,84	7,75	164,4	176,9
25,00	1	0	0	0	1	7,05	7,14	7,79	7,72	153,9	159,8
50,00	1	0	0	0	1	7,07	7,22	7,77	7,70	131,9	135,9
75,00	1	4	5	5	15	7,04	7,11	7,67	7,72	106,5	111,7
100,00	5	5	5	5	20	4,88	5,25	7,59	7,79	98,2	107,1
CE50 $_{48h}$: 65,01 (59,86 – 70,60)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 11/05/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 13/05/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,58	7,74	7,72	194,3	221
12,50	0	0	0	0	0	8,04	7,88	7,67	7,73	169,4	173,0
25,00	1	0	0	0	1	8,01	7,85	7,66	7,73	155,7	159,2
50,00	2	0	0	0	2	7,88	7,81	7,65	7,75	132,1	136,0
75,00	5	5	5	5	20	7,53	7,40	7,59	7,74	108,6	114,1
100,00	5	5	5	5	20	5,17	5,57	7,55	7,81	103,3	106,7
CE50 $_{48h}$: 55,99 (50,66 – 61,88)											

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA – *Daphnia similis*										Dose de radiação: 5,0 kGy	
Inicio: 11/05/2016						Amostra: Propranolol / Fluoxetina					
Término: 13/05/2016						Análise Físico – Química					
Concentração (%)	Mortalidade				Total	pH_i	pH_f	OD_i (mg L^{-1})	OD_f (mg L^{-1})	$Cond_i$ (µS cm^{-1})	$Cond_f$ (µS cm^{-1})
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,58	7,74	7,72	194,3	221
12,50	0	0	0	0	0	8,04	7,88	7,67	7,73	169,4	173,0
25,00	0	0	0	0	0	8,01	7,85	7,66	7,73	155,7	159,2
50,00	2	3	5	5	15	7,88	7,81	7,65	7,75	132,1	136,0
75,00	5	5	5	5	20	7,53	7,40	7,59	7,74	108,6	114,1
100,00	5	5	5	5	20	5,17	5,57	7,55	7,81	103,3	106,7
CE50 $_{48h}$: 56,40 (46,47 –65,11)											

APÊNDICE B: Fichas controle para ensaios de toxicidade aguda com *Vibrio Fischeri*

Amostras de Propranolol - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 08/12/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	92	94	94	92	88	X	X	X
I 15	132	126	121	103	73			
CE50 15 min: 56,87 (47,16 – 68,58)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 14/04/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	92	92	89	86	100	7,69	7,52	52,3
I 15	105	96	87	75	62			
CE50 15 min: 54,53 (46,48 – 63,97)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 29/04/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	110	115	114	99	6,01	7,76	63,2
I 15	139	134	127	111	68			
CE50 15 min: 43,32 (38,27 – 49,05)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	98	98	96	135	118	6,10	9,02	122,6
I 15	119	104	99	121	78			
CE50 15 min: 59,74 (47,19 – 75,62)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	107	103	102	103	94	7,95	8,30	86,9
I 15	124	112	111	91	61			
CE50 15 min: 54,21 (33,42 – 87,94)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol Bruto (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	86	83	95	91	100	X	X	X
I 15	118	111	121	100	89			
CE50 15 min: 57,85 (50,68 – 66,03)								

Amostras de Propranolol - 2,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	100	99	102	96	99	4,93	8,92	92,5
I 15	122	117	116	93	61			
CE50 15 min: 44,28 (36,47 – 53,76)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	110	109	112	106	109	4,93	8,92	92,5
I 15	130	124	116	99	68			
CE50 15 min: 45,58 (37,40 – 55,55)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	107	96	92	96	87	6,35	7,90	99,6
I 15	124	106	97	84	48			
CE50 15 min: 41,32 (33,81 – 50,49)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	91	89	95	84	79	X	X	X
I 15	110	96	95	75	45			
CE50 15 min: 43,74 (34,49 – 55,48)								

Amostras de Propranolol - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 14/04/2015		Amostra: Propranolol (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	80	98	89	102	98	4,66	6,22	80
I 15	104	103	97	94	67			
CE50 15 min: 63,87 (43,65 – 93,47)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	93	96	95	105	106	4,36	8,89	102,2
I 15	113	109	105	105	76			
CE50 15 min: 68,62 (51,25 – 91,88)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	110	106	105	105	96	4,36	8,89	102,2
I 15	130	120	115	105	65			
CE50 15 min: 60,13 (44,71 – 80,87)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	96	100	96	103	5,46	7,88	106,0
I 15	126	115	120	104	70			
CE50 15 min: 61,16 (34,05 – 109,87)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	91	92	82	88	93	X	X	X
I 15	110	103	87	87	63			
CE50 15 min: 63,42 (47,72 – 84,28)								

Amostras de Propranolol - 7,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 14/04/2015		Amostra: Propranolol (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	87	96	91	93	88	4,08	6,49	93,6
I 15	104	97	107	88	28			
CE50 15 min: 38,28 (5,75 – 254,84)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	93	94	103	102	101	4,12	8,67	142,0
I 15	113	113	117	110	61			
CE50 15 min: 44,67 (28,73 – 69,43)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 13/08/2015		Amostra: Propranolol (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	133	130	142	141	137	4,12	8,67	142,0
I 15	155	146	144	136	71			
CE50 15 min: 41,13 (26,97 – 62,71)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	96	96	116	90	4,20	7,88	119,1
I 15	126	120	115	89	59			
CE50 15 min: 35,11 (19,60 – 62,87)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	102	102	101	101	X	X	X
I 15	100	102	98	90	41			
CE50 15 min: 39,29 (25,40 – 60,77)								

Amostras de Propranolol - 10,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 14/04/2015		Amostra: Propranolol (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	123	112	131	114	110	3,92	6,07	108,3
I 15	168	138	146	106	3			
CE50 15 min: 15,24 (3,33 – 69,58)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	98	90	118	107	111	4,10	7,87	131,2
I 15	127	110	114	85	17			
CE50 15 min: 18,92 (11,05 – 32,39)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 25/08/2015		Amostra: Propranolol (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	98	120	108	110	114	4,10	7,87	131,2
I 15	127	121	106	93	18			
CE50 15 min: 17,28 (6,88 – 43,40)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	86	85	96	91	92	X	X	X
I 15	118	115	114	75	4			
CE50 15 min: 18,03 (8,69 – 37,39)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Propranolol (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	92	99	96	98	X	X	X
I 15	100	87	85	73	6			
CE50 15 min: 19,27 (5,97 – 62,17)								

Amostras da Mistura (Prop + CF) - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 29/04/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	93	87	92	84	93	5,50	8,07	46,1
I 15	133	112	107	85	63			
CE50 15 min: 40,46 (35,67 – 40,90)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 05/05/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	92	117	128	101	97	5,76	7,58	48,5
I 15	116	161	153	130	80			
CE50 15 min: 47,28 (32,14 – 69,54)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	91	89	91	82	87	8,60	7,99	48,1
I 15	93	90	84	67	53			
CE50 15 min: 44,05 (25,93 – 74,83)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		7,67	15,35	30,71	61,42			
I 0	91	93	87	87	85	8,60	7,99	48,1
I 15	93	88	72	56	25			
CE50 15 min: 37,87 (32,04 – 44,76)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		7,67	15,35	30,71	61,42			
I 0	97	90	91	99	92	8,60	7,99	48,1
I 15	119	104	96	78	31			
CE50 15 min: 38,94 (31,65 – 47,92)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura Bruta (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	99	95	98	96	99	8,20	8,95	50,2
I 15	117	108	100	86	65			
CE50 15 min: 45,62 (36,69 – 56,72)								

Amostras da Mistura (Prop + CF) - 2,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 29/04/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	105	106	100	98	101	4,68	6,47	60,9
I 15	124	118	110	96	66			
CE50 15 min: 60,02 (39,27 – 91,73)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 05/05/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	105	97	96	95	102	5,10	7,00	60,2
I 15	122	98	106	90	61			
CE50 15 min: 70,84 (26,96 – 186,15)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	97	94	92	97	100	5,65	7,86	68,7
I 15	119	110	106	96	69			
CE50 15 min: 55,21 (38,44 – 79,31)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	108	98	108	82	6,10	8,74	67,5
I 15	106	112	105	96	49			
CE50 15 min: 57,73 (23,17 – 143,83)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	86	85	84	74	93	6,10	8,74	67,5
I 15	99	90	92	67	55			
CE50 15 min: 53,80 (30,99 – 93,38)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Mistura (2,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	87	85	90	90	95	X	X	X
I 15	131	122	119	105	69			
CE50 15 min: 42,09 (35,63 – 49,72)								

Amostras da Mistura (Prop + CF) - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 29/04/2015		Amostra: Mistura (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	95	93	96	93	95	4,41	6,40	67,0
I 15	130	123	127	109	79			
CE50 15 min: 64,82 (37,02 – 113,50)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 05/05/2015		Amostra: Mistura (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	105	105	104	104	97	4,40	6,56	77,7
I 15	122	120	116	111	69			
CE50 15 min: 65,43 (42,54 – 100,63)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	81	94	97	96	4,68	7,85	80,0
I 15	107	88	100	86	67			
CE50 15 min: 55,22 (40,33 – 75,61)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	92	91	97	91	4,53	8,76	85,7
I 15	106	99	97	85	62			
CE50 15 min: 54,60 (33,78 – 88,27)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	86	89	85	95	80	4,53	8,76	85,7
I 15	99	95	88	81	54			
CE50 15 min: 57,29 (45,56 – 72,05)								

Amostras da Mistura (Prop + CF) - 7,5 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	79	100	102	99	101	4,08	7,96	97,0
I 15	96	103	100	83	32			
CE50 15 min: 25,46 (14,44 – 44,90)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	90	70	74	84	80	3,92	8,81	100,4
I 15	105	75	77	68	25			
CE50 15 min: 27,77 (16,16 – 47,62)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	97	97	95	96	3,92	8,81	100,4
I 15	106	102	102	70	25			
CE50 15 min: 27,58 (12,51 – 60,79)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Mistura (7,5 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	95	95	91	91	94	X	x	x
I 15	105	91	90	64	24			
CE50 15 min: 24,84 (11,55 – 53,43)								

Amostras da Mistura (Prop + CF) - 10,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 10/06/2015		Amostra: Mistura (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	96	104	96	107	3,76	7,95	114,4
I 15	112	107	105	89	5			
CE50 15 min: 19,13 (4,75 – 77,09)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	90	72	88	93	82	3,74	8,84	113,6
I 15	105	83	90	82	5			
CE50 15 min: 20,55 (8,00 – 52,79)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 16/06/2015		Amostra: Mistura (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	96	96	99	88	97	3,74	8,84	113,6
I 15	106	105	100	78	7			
CE50 15 min: 22,39 (8,74 – 57,31)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 22/10/2015		Amostra: Mistura (10,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	95	90	82	85	95	X	X	X
I 15	105	88	74	77	5			
CE50 15 min: 18,31 (3,63 – 92,28)								

Amostras de Propranolol Manipulado - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	97	101	95	84	103	6,37	8,29	90,1
I 15	130	115	106	80	57			
CE50 15 min: 37,82 (25,31 – 56,49)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	88	98	98	98	109	6,37	8,29	90,1
I 15	134	122	119	99	76			
CE50 15 min: 40,16 (30,81 – 52,34)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	94	92	105	99	102	6,37	8,29	90,1
I 15	50	46	47	37	24			
CE50 15 min: 35,21 (32,15 – 38,56)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	94	91	96	91	88	6,37	8,29	90,1
I 15	50	47	46	38	22			
CE50 15 min: 39,49 (33,90 – 46,01)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	93	89	99	90	80	6,37	8,29	90,1
I 15	50	47	48	41	22			
CE50 15 min: 43,82 (29,55 – 64,97)								

Amostras de Propranolol Manipulado - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	112	108	105	91	92	X	X	X
I 15	140	120	109	92	60			
CE50 15 min: 62,49 (42,05 – 92,87)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	104	91	101	118	94	X	X	X
I 15	116	95	101	99	66			
CE50 15 min: 63,95 (54,65 – 74,83)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	125	122	121	125	128	X	X	X
I 15	143	126	118	114	80			
CE50 15 min: 63,20 (47,42 – 84,24)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	125	122	123	128	131	X	X	X
I 15	143	127	124	116	82			
CE50 15 min: 61,08 (45,35 – 82,28)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	108	94	70	102	102	X	X	X
I 15	123	96	70	84	69			
CE50 15 min: 63,73 (49,94 – 81,31)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Propranolol Manipulado (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	108	128	93	93	103	X	X	X
I 15	123	130	95	85	61			
CE50 15 min: 61,59 (37,64 – 100,79)								

Amostras da Mistura Manipulada (Prop + CF) - 0,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	88	98	98	98	109	5,80	8,22	81,1
I 15	134	122	119	99	76			
CE50 15 min: 40,16 (30,81 – 52,34)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	97	94	93	92	96	5,80	8,22	81,1
I 15	130	125	122	98	72			
CE50 15 min: 42,75 (27,40 – 66,69)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	106	101	92	108	115	5,80	8,22	81,1
I 15	124	117	106	94	68			
CE50 15 min: 39,54 (18,18 – 85,98)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (0,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	106	101	112	112	119	5,80	8,22	81,1
I 15	124	106	102	102	62			
CE50 15 min: 42,32 (27,50 – 65,14)								

Amostras da Mistura Manipulada (Prop + CF) - 5,0 kGy

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	112	113	99	113	98	4,88	7,59	98,2
I 15	140	136	107	107	67			
CE50 15 min: 44,18 (35,71 – 54,67)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	120	121	107	106	120	4,88	7,59	98,2
I 15	161	137	114	109	79			
CE50 15 min: 55,99 (38,53 – 81,36)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 04/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	120	124	120	123	126	4,88	7,59	98,2
I 15	161	128	120	115	81			
CE50 15 min: 51,57 (38,42 – 69,21)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	118	112	113	119	99	4,88	7,59	98,2
I 15	74	66	65	63	29			
CE50 15 min: 49,82 (28,96 – 85,72)								

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - *Vibrio fischeri*								
Data do ensaio: 19/05/2016		Amostra: Mistura Manipulada (5,0 kGy)						
Bioluminescência emitida pela bactéria	Controle	Concentração (%)				pH	OD	Cond
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I 0	118	109	108	137	98	4,88	7,59	98,2
I 15	74	61	62	59	32			
CE50 15 min: 48,03 (27,55 – 83,71)								

8. REFERENCIAS

AL-KDASI, A.;SAED, A.I.K.; GUAN, C.T. Treatment of textile wastewater by advanced oxidation processes – a review. ***Global Nest***: the Int. J. Greece, v.6, n.3, p.222-239, 2004.

ALMEIDA, L.M. Crustacea. In: RIBEIRO-COSTA, C.S.; ROCHA, R.M. (Coord.). ***Invertebrados:*** manual de aulas práticas. Ribeirão Preto: Holos, 2002. p.148-151. (Série Manuais Práticos em Biologia, 3)

ANDRADE, R.V.; SILVA, A.F.; MOREIRA,F.N.; SANTOS, H.P.S.; DANTAS, H.F.; ALMEIDA, I.F.; LOBO, L.P.B.; NASCIMENTO, M.A. Atuação dos Neurotransmissores na Depressão. Revista das Ciências Farmacêuticas, n.1, v.1. 2004.

ANDREOZZI R.; CAPRIO V.; ISOLA A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. ***Catalysis Today***, v. 53, p.51-59, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ***Ecotoxicologia Aquática – Preservação e preparo de amostras (ensaio de toxicidade).*** Rio de Janeiro: ABNT, 2007. (NBR 15469).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ***Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera).*** Rio de Janeiro: ABNT, 2009. (NBR 12713).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ***Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de aquosas sobre a emissão de luz de Vibrio fischeri (Ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas.*** Rio de Janeiro: ABNT, 2012. (NBR 15411-3).

BALBANI A.P.S.; BARDELLA, S.; MONTOVANT, J.C. Excipientes de medicamento e informações da bula. ***Revista Brasileira Otorrinolaringologia***. 2006;72(3):400-6. p.2.

BARACAT, M. M.; NERY, M. M. F.; GOUVEIA, E. de F.; MENEGUELLI, L.; HIZUKA, S. M.; MAMPRIM, C. M. Estudo comparativo de excipientes em diferentes técnicas de preparação de comprimidos de cloridrato de propranolol**. *Seminário: Ci. Biol. Saúde***, Londrina, v. 22, p. 19-24, jan./dez. 2001.

BARNES, R.D.; RUPPERT E.E. Zoologia dos invertebrados. 6°ed. Rio de Janeiro: Roca, 1996.

BILA D.M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. ***Química Nova***, v.26, n.4, p.523-530, 2003.

BILA D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. ***Química Nova***, v.30, n.3, p.651-666, 2007.

BORRELY, S.I., ***Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação com feixes de elétrons, avaliada com as espécies Vibrio fischeri, Daphnia similis e Poecilia reticulata.*** 2001. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BORRELY, S.I.; CAMINADA, S.M.L.; PONEZI, A.N.; SANTOS, D.R.; SILVA, V.H.O. Contaminação das águas por resíduos de medicamentos: ênfase ao cloridrato de fluoxetina. ***O mundo da saúde.*** São Paulo. v.36, n.4, p.556-563, 2012.

CARSLON, C.; JOHANSSON, A.K.; ALVAN, G.; BERGMAN, K.; KUHLER, T. Are pharmaceuticals potent envronmental pollutants? Par II: Environmental risk assessments of selected pharmaceutical excipients. ***Science of the Total Environment***. p.3-5, 2006.

CERON, L.P. Contaminação de água por descarte de fármacos. ***Revista Tratamento de Àgua & Efluentes****,* v.1, n.1, p.14-19, 2011.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Norma Técnica: Determinação da dureza total em águas – método titulometrico do EDTA: método de ensaio. Maio 1992. **CETESB**, São Paulo. Disponível em: <http:/www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/serviços/normas/pdf/L5124.pdf>. Acesso em: 02/03/2016.

COMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (CEC***). Technical Guidance Document in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Asessment for New Notified Substances and Commission Regulation (EC) nº 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances. Part II: Environmental Risk Assessment***. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. 1996.

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

DAUGHTON, C.G.; TERNES, T.A. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? ***Environmental Health Perspectives***. v.107, p. 19-22, 1999.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. ***International Journal of Hygiene and Environmental Health***, v.214, p.442-448. 2011.

DUARTE, C.L. ***Aplicação do Processo Avançado de Oxigenação por feixe de elétrons na degradação de compostos orgânicos presentes em efluentes industriais.*** Tese (doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.

DUARTE, C.L.; SAMPA, M.H.O.; RELA, P.R.; OIKAWA, H.; CHERBAKIAN, E.H.; SENA, H.C.; ABE, H. SCIANI, V. Aplication of electron beam irradiation combined to

conventional treatment to treat industrial effluents. ***Radiation Physics and Chemistry***, v.57, n.3-6, p.513-518, 2000.

ELI LILLY & COMPANY. Prozac. Disponível em: https://www.lilly.com.br/Inserts/Patients/Bula_Prozac_Pac_CDS22NOV10_v5.0_15JUN11.pdf. Acesso em: 27/07/2016.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. Fascículo 3. São Paulo: Atheneu, 2001.

FERNANDES, A.; BRAGA, A.; RUIZ, A.R. Fluoxetine monografia. Disponível em: http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g52_fluoxetina/FLUOXETINA/pag2.htm. UNIVERSIDADE DO PORTO. Acesso em: 20/04/2016.

FERRARI, B.; MONS, R.; VOLLAT, B.; FRAYSSE, B.; PAXEUS, N.; LO GIUDICE, R.; POLLIO, A.; GARRIC, J. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment***? Environmental Toxicology and Chemistry***. v.23, p.1344-1354, 2003.

GAFFNEY, V. de J.; CARDOSO, V. V.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; ALMEIDA, C. M. M. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS**.** ***Química Nova***. v.37, n.1, São Paulo, 2014.

GETOFF, N. Radiation-induced degradation of water pollutants – State of the art.

Radiation Physics and Chemistry. v.47, n.4, p.581-593,1996.

GIL, E.S.; MATHIAS, R.O. Classificação e riscos associados aos residuos químicos – farmacêuticos. ***Revista Eletrônica de Farmácia***, v.2, n.2, p.87-93, 2005.

HALLING-SORENSEN, B.; NORS-NIELSEN, S.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN-LUTZHOFT, H.C.; JOTGENSEN, S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. ***Chemosphere***, v.36, n.2, p.357-393, 1998.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman Karber Method for estimating median lethal concentrations on toxicity bioassays. ***Environmental Science & Technology****,* v.11, n.7,p.714-719, 1977.

HAN, B.; KIM, S.M.; SALIMOV, R.A.; KUKSANOV, N.K. High Power accelerator for environmental application. In: INTERNATIONAL TOPICAL MEETING IN NUCLEAR APPLICATIONS AND UTILIZATION OF ACCELERATORS (ACCAPP'07).8.,2007, Pocatello, Idaho, Jul.29 – Aug. 2. ***Anais***. LaGrande Park, Ilinois: American Nuclear Society, 2007. p.1038-1041.

HIGA, M. C. ***Aplicação de ensaios de toxicidade na avaliação da eficiência da radiação ionizante e da adsorção em zeólitas para o tratamento de efluentes coloridos.*** Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

HUGGETT, D. B.; BROOKS, B. W.; PETERSON, B.; FORAN, C. M.; SCHLENK, D. Toxicity of select b-adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (b-blockers) on aquatic organisms. ***Arcivesh Environmental Contamination and Toxicology.*** p.229-235. 2002.

JONES, O.A.H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J.N. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. ***Water research***. v.36. p.5013-5022, 2005.

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. ***Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações***. Florianópolis: FATMA/GTZ. p. 289, 2004.

KOLPIN, D.W.; FURLONG, E.T.; MEYER, M.T.; THURMAN, E.M.; ZAUGG, S.D.; BARBER, L.B.; BUXTON, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance. ***Environmental Science & Technology***, v.36, n.6, p.1202-1211. 2002.

LILIUS H.; HASTBACKA, T.; ISOMAA, B. A comparison of the toxicity of 30 reference chemicals to *Daphnia magna* and *Daphnia pules*. ***Environmental Toxicology and Chemistry*** v.14, p.2085-2088,1995.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO-FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. ***Oecologia Brasiliensis***, v.12, n.3, p.355-381, 2008.

MATOS, A. P. S. ***Estudos de Compatibilidade Fármaco-Excipientes e sua importância no desenvolvimento de formulações farmacêuticas***. Dissertação (Mestrado). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

MELO, S.A.S.; TROVÓ, A.G.; BAUTITZ, I.R.; NOGUEIRA, R.F.P.. Degradação de fármacos residuais por processo oxidativos avançados. ***Química Nova***, v.32, v.1, p.188-197, 2009.

MERCK. Cloridrato de fluoxetina. Disponível em: http://www2.merck.com.br/pdf/bulas/genericos/fluoxetina.pdf. Acesso em: 27/07/2016.

METCALFE, C.D.; MIAO X-S.; KOENIG, B.G.; STRUGER, J. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. ***Environmental Toxicology and Chemistry***. V.22, n.12, p.2881-2889, 2003.

MIRANDA, L. A.; CARDOSO, M. G.; MORAES, A. J. ***Proposta de formulações para excipientes-padrão de fármacos classificados pelo sistema de classificação biofarmacêutica.*** p. 8-12. 2013.

MORAIS, M.C.F. de. **Estudos dos efeitos da radiação ionizante na toxicidade aguda de efluentes que apresentam surfactantes aniônicos**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2004.

MORAIS, A. V. ***Avaliação da toxicidade e remoção da cor de um efluente têxtil tratado com feixe de elétrons***. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

ORLANDIN, L.; GOMES, P. Tendências atuais e desafios no mercado de excipientes. **3ª Jornada Interdisciplinar em Saúde**. Santa Maria, RS, p.1. 2010.

PONTES, A.V. ***Estudo de equivalência farmacêutica dos fármacos captopril e cloridrato de propranolol comercializados no programa farmácia popular do Brasil.*** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. ***Water Research***, v.45, p.4311-4340, 2011.

RODRIGUES, C.R.B. ***Aspectos legais e ambientais do descarte de resíduos de fármacos.*** Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2009.

ROMANELLI, M.F. ***Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos a irradiação com feixes de elétrons***. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

ROSA, G. A. B. ***Estudo dos efeitos do fármaco propranolol para Ceriodaphnia silvestrii (cladocera, crustácea) com ênfase em efeitos nas populações***. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SACHER, F.; LOCHOW, E.; BETHMANN, D.; BRAUCH, H.J., Occurrence of pharmaceutical active compounds in surface waters***. Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker.*** v. 90,p.233–243, 2001

SANTOS, D. R. A. ***Avaliação ecotoxicológica do fármaco cloridrato de fluoxetina e do surfactante dodecil sulfato de sódio quando submetidos a tratamento por radiação ionizante.*** Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SILVA, V. H. O. ***Avaliação da toxicidade e da degradação do fármaco cloridrato de fluoxetina, em solução aquosa e em mistura com esgoto doméstico, empregando irradiação com feixe de elétrons.*** Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, 2014.

SOARES, W.Â.A. ***Estudo da distribuição de metais em água, sedimento e organismos aquáticos de rios e reservatórios pertencentes a rede de monitoramento da qualidade dos sedimentos do Estado de São Paulo, Brasil.*** Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SILVA, V.H.O.; BATISTA, A.P.S.; TEIXEIRA, A.C.S.C.; BORRELY, S.I. Degradation and acute toxicity removal of the antidepressant Fluoxetine (Prozac) in aqueous systems by electron beam irradiation. ***Environmental Science and Pollution Research***. p.01, 2016**.**

SUCHARA, E.A. ***Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de fármacos em fluidos biológicos e amostras ambientais por cromatografia líquida e gasosa.*** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

TERNES, T.; HIRSCH, R.; MUELLER, J.; HABERER, K. Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and alpha2-sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. ***Fresenius' Journal of Analytical Chemistry.*** 362(3). P.329-340, 1998.

TERNES, T.A.; STUBER, J.; HERRMANN, N.; McDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? ***Water Research.*** v.37, p.1976-1982, 2003.

TOMINAGA, F.K. ***Efeito da irradiação na toxicidade de fármacos em solução aquosa: cloridrato de fluoxetina, diclofenaco de sódio e mistura de ambos.*** Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

UFPR, Universidade Federal do Paraná (Departamento de Estatística). ***Estatística II***. 2009. Disponível em: <http://www.est.ufpr.br/ce003/material/apostilace003.pdf>. Acesso em: 10/02/2014.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (org). ***Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações***. Ed. Rima: São Carlos, 2006.