



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Irradiação com feixe de elétrons proposta como tratamento oxidativo
avançado para a degradação e redução de toxicidade para misturas de
medicamentos**

FLAVIO KIYOSHI TOMINAGA

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Sueli Ivone Borrely**

**São Paulo
2022**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Irradiação com feixe de elétrons proposta como tratamento oxidativo
avançado para a degradação e redução de toxicidade para misturas de
medicamentos**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

FLAVIO KIYOSHI TOMINAGA

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Sueli Ivone Borrely**

**São Paulo
2022**

1.1 Fonte de Financiamento: CNPq

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

1.2 Como citar:

KIYOSHI TOMINAGA, F. ***Irradiação com feixe de elétrons proposta como tratamento oxidativo avançado para a degradação e redução de toxicidade para misturas de medicamentos.*** 2022. 166 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares,

IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato:dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Kiyoshi Tominaga, Flavio

Irradiação com feixe de elétrons proposta como tratamento oxidativo avançado para a degradação e redução de toxicidade para misturas de medicamentos / Flavio Kiyoshi Tominaga; orientador Sueli Ivone Borrely. -- São Paulo, 2022.

166 f.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.

1. acelerador de elétrons. 2. ecotoxicidade. 3. fármacos. 4. toxicidade de mistura. 5. radiação ionizante. I. Ivone Borrely, Sueli, orient. II. Título.

A todos que em algum momento me apoiaram durante esse caminho,
em especial aos meus pais, irmã e amigos

Agradecimentos

À Dra Sueli Ivone Borrely pela orientação, ensinamentos, dedicação, confiança e simplicidade. Por ter me concebido a oportunidade de realização deste trabalho e por sempre ter me auxiliado nos momentos difíceis ao longo dessa trajetória.

À Dra Patricia Leo pela coorientação e pelos ensinamentos, oportunidades e contribuições que me foram confiadas neste trabalho.

A todos do Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais do IPEN, em especial à Nathalia, Thalita, Vanessa e Reginaldo. Muito obrigado pela parceria e amizade.

Aos meus queridos pais, Milton e Marli, e irmã Andressa pela paciência compreensão e amor. Agradeço o apoio, confiança e esforços para auxiliar meus sonhos a se tornarem realidade.

Aos colegas do CETER, POLI e IPT, Raynara, Jaqueline, Amanda, Bianca, Bruna, Juliana, Roberta, Rubia, Daniela pelo incentivo e pelos momentos compartilhados, sempre auxiliando nos momentos de dificuldades.

À Elizabeth e Samir pela ajuda com as irradiações e pelo aprendizado.

A todos os professores, funcionários da biblioteca, da segurança e da limpeza e do Ensino do IPEN por terem sido prestativos e ter contribuído com meus conhecimentos.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Ao Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares (IPEN) por todo o suporte ao longo deste trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) pela oportunidade de parceria e suporte neste trabalho.

Ao Dr Antônio Carlos Do Departamento de Engenharia da Escola Politécnica (EPUSP) pela ajuda com as análises cromatográficas.

Ao Msc. Daniel Lebre do Centro de Espectrometria de Massas Aplicada (CEMSA) pela ajuda com as análises cromatográficas.

Ao Dr Fábio Campos do Depto. de Engenharia Hidráulica e Ambiental (PHA) da EPUSP pela ajuda com os ensaios de biodegradabilidade.

Ao Técnico Antonio Fernando Montemor do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) pela ajuda com os ensaios, pelo suporte e aprendizado.

E a todos que deram a sua contribuição. Muito obrigado!

“Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da Criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante.”

Albert Schweitzer

RESUMO

TOMINAGA, Flavio K. **Irradiação com feixe de elétrons proposta como tratamento oxidativo avançado para a degradação e redução de toxicidade para misturas de medicamentos.** 2022. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN – CNEN/SP. São Paulo.

Os medicamentos são essenciais para a saúde pública e para a manutenção da qualidade de vida, visto que são aplicados tanto para o tratamento ou prevenção de doenças humanas quanto dos animais. Em contrapartida, o elevado uso dos fármacos tem gerado a contaminação em diversos ambientes aquáticos, com potencial para impactar ecossistemas. A irradiação por feixe de elétrons é um Processo Oxidativo Avançado que vem sendo aplicado como uma tecnologia alternativa para a degradação e detoxificação de diversos poluentes orgânicos. Os principais objetivos do presente estudo foram: avaliar a toxicidade e o risco ecológico de quatro fármacos; avaliar as possíveis interações das misturas de fármacos; aplicar a radiação ionizante como uma possível tecnologia para o tratamento de misturas de fármacos. Os ensaios de toxicidade foram realizados com a bactéria *Vibrio fischeri*, o microcrustáceo *Daphnia similis* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As soluções aquosas contendo os fármacos foram submetidas a irradiação em um acelerador de elétrons com variação de doses de 1,0 a 5,0 kGy. Os ensaios de toxicidade aguda indicaram que *D. similis* foi a mais sensível à maioria dos fármacos ao passo que a levedura foi a menos sensível. A avaliação de risco dos medicamentos deste estudo indicou possível risco, exceto para a ciprofloxacina que demonstrou baixo risco para a biota aquática. Os ensaios de toxicidade de misturas com o antidepressivo indicaram tanto efeitos sinérgicos quanto efeitos antagônicos, dependendo da proporção ou concentração dos fármacos. Os ensaios de toxicidade com *V. fischeri* indicaram que houve aumento de toxicidade em 2,5 kGy para as amostras irradiadas de ciprofloxacina e ácido acetilsalicílico, ao passo que não houve alteração da toxicidade para metformina. Em contrapartida, os ensaios com as misturas binárias, indicaram apenas aumento de toxicidade para a mistura do

antidepressivo e antibiótico. Para *D. similis*, a irradiação dos fármacos individualmente levou ao aumento da toxicidade, entretanto, na presença das misturas foi verificado uma redução de toxicidade na mistura de fluoxetina e ácido acetilsalicílico, e para as demais misturas não houve aumento de toxicidade. Por fim, as análises cromatográficas para a mistura quaternária indicaram que a irradiação por feixe de elétrons foi eficiente para a degradação, com remoção superior a 80%.

Palavras-chave: acelerador de elétrons, ecotoxicidade, fármacos, toxicidade de mistura, radiação ionizante.

ABSTRACT

TOMINAGA, Flavio K. **Electron beam irradiation proposed as advanced oxidative process for degradation and toxicity reduction for pharmaceutical mixtures**. 2022. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN – CNEN/SP. São Paulo.

Pharmaceuticals are essential for human and animal health, as they are used for therapeutic options such as diagnosis, treatment, and prevention of disease. On the other hand, the high use of pharmaceuticals has generated contamination in several aquatic environments with the potential to impact ecosystems. Electron beam irradiation is an Advanced Oxidative Process which has been applied as an alternative technology for the degradation and detoxification of various organic pollutants. The main objectives of the present study were: to evaluate the toxicity and ecological risk of four pharmaceuticals; evaluate their possible interactions in aqueous mixtures; and the application of ionizing radiation as a possible technology for the treatment of the pharmaceuticals mixtures. Toxicity assays were performed with the bacterium *Vibrio fischeri*, the microcrustacean *Daphnia similis* and the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The aqueous solutions containing the pharmaceuticals were submitted to irradiation in an electron accelerator with doses ranging from 1.0 to 5.0 kGy. Acute toxicity tests indicated that *D. similis* was the most sensitive to most drugs while yeast was the least sensitive. Risk assessment analysis indicated possible risk, except for ciprofloxacin which demonstrated a low risk to aquatic biota. Toxicity assays of mixtures with the antidepressant indicated both synergistic and antagonistic effects depending on the proportion or concentration of pharmaceuticals. Toxicity assays with *V. fischeri* indicated that there was an increase in toxicity by 2.5 kGy for the irradiated samples of ciprofloxacin and acetylsalicylic acid, whereas there was no change in toxicity for metformin. On the other hand, experiments with binary mixtures increased toxicity for the mixed antidepressant and antibiotic. For *D. similis* assays, irradiation of individual pharmaceutical led to increased toxicity, however, a reduction in toxicity was observed in the mixture of fluoxetine and acetylsalicylic acid, and for the other mixtures there was no increase in

toxicity. Finally, chromatographic analyzes for the quaternary mixture indicated that electron beam irradiation was effective for the degradation of pharmaceuticals with removal greater than 80%.

Keywords: electron accelerator, pharmaceuticals, mixture toxicity, ionizing radiation, ecotoxicity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Detecção de ácido acetilsalicílico e seus metabolitos em diferentes regiões e matrizes ambientais.....	30
Tabela 2 – Toxicidade do AAS para diferentes organismos aquáticos	31
Tabela 3 - Detecção da fluoxetina em diferentes matrizes ambientais	33
Tabela 4 – Toxicidade da FXT para diferentes organismos aquáticos.....	34
Tabela 5 - Detecção da metformina em diferentes matrizes ambientais.....	37
Tabela 6 – Toxicidade da MET para diferentes organismos aquáticos.....	38
Tabela 7 - Detecção da ciprofloxacina em diferentes matrizes ambientais.....	40
Tabela 8 – Toxicidade da CIP para diferentes organismos aquáticos	41
Tabela 9 - Aplicações de Ensaio com Leveduras.....	49
Tabela 10 - propriedades físico-químicas dos fármacos em estudo	58
Tabela 11 - Condições dos ensaios de ecotoxicidade crônica com <i>D. similis</i>	65
Tabela 12 - Fatores de avaliações aplicados aos dados de ecotoxicidade para a avaliação de risco	70
Tabela 13 - Valores de P(%) e médias obtidas após a exposição de <i>S. cerevisiae</i> aos fármacos AAS, MET e FXT	77
Tabela 14 - Toxicidade dos fármacos AAS, FXT, CIP e MET expressa em CE50% _{15min} para a bactéria bioluminescente <i>V. fischeri</i>	80
Tabela 15 - Valores de CE50% _{48h} das amostras de ácido acetilsalicílico, cloridrato de fluoxetina, cloridrato de metformina e ciprofloxacina para <i>D. similis</i>	82
Tabela 16 - Valores de CENO e CEO das amostras de ácido acetilsalicílico, cloridrato de fluoxetina, cloridrato de metformina e ciprofloxacina para <i>D. similis</i>	89
Tabela 17 - Toxicidade dos fármacos estudados (AAS, FXT, MET e CIP) para diferentes espécies	90
Tabela 18 - Estimativa do quociente de risco (QR) baseada em concentração ambiental (MEC) descritas na literatura para águas superficiais. A determinação do PNEC foi obtida pela relação entre o CENO e o fator da avaliação dos ensaios crônicos.....	93
Tabela 19 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de AAS e FXT para <i>D. similis</i> aplicando os modelos de CA e IA.....	96
Tabela 20 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de MET e FXT para <i>D. similis</i> aplicando os modelos de CA e IA.....	97

Tabela 21 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de CIP e FXT para <i>D. similis</i> aplicando os modelos de CA e IA.	99
Tabela 22 - Médias de neonatos produzidos por fêmeas de <i>D. similis</i> expostas a diferentes diluições da mistura quaternária (AAS, FXT, MET e CIP) após 14 dias de exposição.	100
Tabela 23 - Valores de concentração AAS, bem como eficiência de remoção após o tratamento com irradiação por feixe de elétrons	106
Tabela 24 - Toxicidade com <i>V. fischeri</i> e <i>D. similis</i> para amostras individuais de AAS, MET e CIP irradiadas em diferentes doses.....	114
Tabela 25 - Toxicidade com <i>Daphnia similis</i> e <i>Vibrio fischeri</i> para as misturas binárias irradiadas em diferentes doses.....	118
Tabela 26 – Eficiência de Degradação, toxicidade com <i>Vibrio fischeri</i> e <i>Daphnia similis</i> para as misturas quaternária irradiadas em 2,5 kGy.	122
Tabela 27 – Comparação do efeito da toxicidade das amostras de fármacos irradiadas em 2,5 kGy para <i>Daphnia similis</i> e <i>Vibrio fischeri</i>	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Possíveis rotas de contaminação por fármacos no ambiente	26
Figura 2 - Metabolismo da Aspirina.....	29
Figura 3 - Metabolismo da Fluoxetina	32
Figura 4 - Metabolismo da Ciprofloxacina	39
Figura 5 – Parâmetros de ecotoxicidade (CENO, CEO, CE50 ou CL50, etc.) derivados da curva de concentração-resposta.....	44
Figura 6 - Ciclo de vida de <i>Daphnia similis</i>	47
Figura 7 - Técnicas convencionais e avançadas usadas para águas residuais	50
Figura 8 - Princípios da radiação ionizante para a decomposição de poluentes orgânicos	52
Figura 9 – Principais reações que ocorrem durante a radiólise da água	53
Figura 10 - Diagramas esquemáticos de diferentes de instalações para a irradiação por feixe de elétrons para processamento de água e esgoto (a) “ <i>Weir</i> ” (b) Fluxo ascendente com mistura de bolhas (c) injeção de bico.....	56
Figura 11 - Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente estudo	57
Figura 12 - Amostras das soluções de fármacos, contidas em vidro Pirex®, passando sob o feixe de elétrons, durante o tratamento no acelerador industrial de elétrons.	59
Figura 13 - Adutora de Salto/SP	62
Figura 14 - Planejamento experimental utilizado para selecionar as combinações das concentrações dos fármacos individuais e das misturas de (a) FXT + AAS, (b) (FXT + MET) e (FXT + CIP)	71
Figura 15 – Carta controle de sensibilidade da bactéria <i>V. fischeri</i> em relação ao fenol	75
Figura 16 – Carta-controle de sensibilidade do organismo <i>D. similis</i> em relação ao cloreto de potássio	76
Figura 17 - Viabilidade celular com leveduras (60 minutos de exposição) utilizando o corante azul de metileno para AAS, FXT e MET.....	77
Figura 18 - Condutividades específicas relativas das amostras e do controle em função das concentrações de AAS, FXT e MET e CIP. Os * indicam a presença de diferenças significativas em relação ao controle.....	78
Figura 19 - (a) Variação da condutividade específica de diferentes concentrações de ácido acetilsalicílico em relação a diferentes tempos de exposição (b) Variação	

das condutividades específicas relativas (C_{ER}) de diferentes tempos em relação a diferentes concentrações de ácido acetilsalicílico.....	79
Figura 20 - Curva dose-resposta da bactéria <i>V. fischeri</i> exposta a diferentes fármacos (AAS, FXT, CIP e MET) por 15 minutos.....	80
Figura 21 - Porcentual de imobilidade do microcrustáceo <i>D. similis</i> exposto a diferentes fármacos, por 48h.....	82
Figura 22 - Sobrevivência e produção acumulada de neonatos de <i>D. similis</i> exposta a diferentes fármacos durante 21 dias.....	84
Figura 23 - Médias de neonatos produzidos por fêmea e crescimento corpóreo de <i>D. similis</i> após 21 dias de exposição de diferentes concentrações de AAS. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles.....	84
Figura 24 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) crescimento corpóreo de <i>D. similis</i> exposta de diferentes concentrações de FXT após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas da reprodução e crescimento das 10 réplicas em relação aos controles.....	86
Figura 25 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) crescimento corpóreo de <i>D. similis</i> exposta de diferentes concentrações de MET após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas da reprodução e do crescimento de 10 réplicas em relação aos controles.....	87
Figura 26 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) o crescimento corpóreo de <i>D. similis</i> exposta de diferentes concentrações de CIP após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas na reprodução e crescimento das 10 réplicas em relação aos controles.....	88
Figura 27 - Comparação entre as médias de neonatos produzidos após 14 e 21 dias de exposição individual de quatro fármacos: (a) AAS, (b) FXT, (c) MET e (d) CIP. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles.....	89
Figura 28 - Isobogramas dos efeitos das misturas binárias de ácido acetilsalicílico e fluoxetina para <i>D. similis</i> , demonstrando os desvios dependentes	

da concentração (DL), apresentando sinergismo em baixas concentrações e antagonismo em doses mais elevadas.	96
Figura 29 - Isobologramas dos efeitos das misturas binárias de metformina e fluoxetina para <i>D. similis</i> , demonstrando os desvios dependentes da razão das doses (DR).....	98
Figura 30 - Isobologramas dos efeitos das misturas binárias de ciprofloxacina e fluoxetina para <i>D. similis</i> , demonstrando os desvios dependentes da concentração (DL), apresentando antagonismo em baixas concentrações e sinergismo em doses mais elevadas.....	99
Figura 31 – Médias de neonatos produzidos por fêmeas de <i>D. similis</i> a diferentes diluições da mistura quaternária (AAS, FXT, MET e CIP) após 14 dias de exposição. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles	100
Figura 32 - Espectro UV-vis do AAS irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L ⁻¹	105
Figura 33 - Espectro UV-vis do antibiótico ciprofloxacina irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L ⁻¹	108
Figura 34 - Espectro UV-vis do antidiabético metformina irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L ⁻¹	109
Figura 35 - Rota de degradação proposta para salicilatos tratados por radiação ionizante.....	110
Figura 36 - Rota de degradação proposta para metformina tratados por radiação ionizante. MTF: Metformina; 4,2,1-AIMT: 4-amino-2-imino-1-metil-1,2-dihidro-1,3,5-triazina; MBG: 1-Metilbiguanida; MTFOO•: hidroperóxido de metformina; diMTF: dímero de metformina	111
Figura 35 - Produtos de degradação propostos de CIP após irradiação por feixe de elétrons	111
Figura 37 - (a) pH e (b) condutividade de amostras de AAS, MET e CIP irradiadas em 1,0, 2,5 e 5,0 kGy.....	112
Figura 38 - Toxicidade de amostras irradiadas de AAS, MET e CIP para (a) <i>V. fischeri</i> e (b) <i>D. similis</i>	113
Figura 39 – Toxicidade das amostras de AAS, MET e CIP irradiadas e das amostras irradiadas tratadas com catalase para <i>D. similis</i>	116

Figura 40 - (a) pH e (b) condutividade de misturas binárias contendo FXT irradiadas em 1,0 e 2,5 kGy	117
Figura 41 - Toxicidade das misturas binárias irradiadas para (a) <i>V. fischeri</i> e (b) <i>D. similis</i> . Letras diferentes (a,b,c) e indicam diferenças significativas (teste de Tukey, $p < 0,05$). Os índices 1, 2, 3 são referentes amostras de AAS + FXT; MET + FXT e CIP + FXT, respectivamente	118
Figura 42 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias de FXT + AAS tratadas por irradiação com feixe de elétrons para <i>D. similis</i>	119
Figura 43 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias FXT + MET tratadas por irradiação com feixe de elétrons para <i>D. similis</i>	120
Figura 44 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias FXT + CIP tratadas por irradiação com feixe de elétrons para <i>D. similis</i>	121

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVOS	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Fármacos e meio ambiente	21
2.1.1 Consumo de medicamentos no Brasil.....	21
2.1.2 Rotas de Contaminação, Ocorrência de Fármacos Ambientes Aquáticos e Toxicidade em Organismos Aquáticos	25
2.1.3 Ácido acetilsalicílico	28
2.1.4 Fluoxetina.....	31
2.1.5 Metformina	35
2.1.6 Ciprofloxacina	38
2.1.7 Legislação	41
2.2 Ecotoxicologia	42
2.2.1 <i>Daphnia similis</i>	45
2.2.2 <i>Vibrio fischeri</i>	47
2.2.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	48
2.3 Tecnologias aplicadas para o tratamento de águas residuais	49
2.3.1 Processos oxidativos avançados	50
2.3.2 Radiação Ionizante e meio ambiente	52
2.3.4 Aceleradores industriais de elétrons	54
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
3.1 Fármacos.....	57
3.2 Irradiação das amostras por feixe de elétrons.....	58
3.3 Ensaio de toxicidade.....	59
3.3.1 Ensaio com bactérias <i>Vibrio fischeri</i>	60
3.3.2 Ensaio com microcrustáceo <i>Daphnia similis</i>	61
3.3.3 Carta controle de sensibilidade	66

3.3.4	Ensaio com leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	67
3.3.4.3	Análises estatísticas.....	69
3.4	Avaliação de risco ambiental	69
3.5	Ensaio de toxicidade aguda de mistura com <i>D. similis</i>	71
3.6	Unidades tóxicas (UT) e eficiência de remoção de toxicidade	72
3.7	Espectroscopia UV-Vis	73
3.8	Cromatografia líquida	73
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4.1	Carta controle e sensibilidade	75
4.2	Toxicidade de fármacos.....	76
4.1.1	Ensaio de toxicidade com leveduras <i>S. cerevisiae</i>	76
4.1.1.1	Viabilidade celular	76
4.1.1.2	Ensaio condutométrico	77
4.1.2	Ensaio ecotoxicológico com bactérias <i>Vibrio fischeri</i>	79
4.1.3	Ensaio ecotoxicológico com microcrustáceo <i>D. similis</i>	81
4.1.3.1	Toxicidade aguda	81
4.1.3.2	Toxicidade crônica	83
4.3	Comparação da sensibilidade dos fármacos para diferentes organismos aquáticos.....	90
4.4	Avaliação de risco ecológico	92
4.5	Toxicidade de mistura.....	95
4.4.1	Ácido acetilsalicílico e fluoxetina	95
4.5.2	Metformina e fluoxetina	97
4.5.3	Ciprofloxacina e fluoxetina	98
4.5.4	Mistura quaternária.....	100
4.5.5	Mecanismo de ação dos fármacos	101
4.6	Efeito da irradiação na degradação e na toxicidade de soluções aquosas de fármacos	104
4.5.1	Degradação das soluções de fármacos irradiadas	105
4.5.2	Efeito da irradiação em parâmetros físico-químicos	112
4.5.3	Efeito da irradiação na toxicidade das soluções de fármacos irradiadas ...	113
4.5.4	Efeito da irradiação em misturas de fármacos	116

4.5.4.1. Efeito da irradiação em misturas binárias.....	116
4.5.5.2 Efeito da irradiação na toxicidade de misturas quaternárias	121
4.7 Comparação do efeito da irradiação na toxicidade.....	122
5 CONCLUSÕES	125
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
APÊNDICES	164
Apêndice A: Monitoramento da concentração dos fármacos por UV-Vis durante os ensaios de toxicidade.....	164

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos são importantes bens conquistados pela sociedade e que possuem um papel central na terapêutica contemporânea, sendo essenciais para a saúde pública e manutenção da qualidade de vida. Atualmente, inúmeros princípios ativos são utilizados em larga escala para o tratamento ou prevenção de doenças humanas e animais (GRENNI et al., 2017). Por outro lado, o constante crescimento da produção, da prescrição e uso de medicamentos tem levado à contaminação de diversos ecossistemas por resíduos de produtos farmacêuticos.

Os fármacos são compostos biologicamente ativos (principal substância da formulação do medicamento e responsável pelo efeito terapêutico), que vêm sendo continuamente introduzidos no meio ambiente em baixas concentrações (ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$), com potencial para afetar tanto a qualidade dos corpos hídricos quanto para causar impactos em ecossistemas e na saúde humana. Parte considerável destes compostos apresenta metabolização incompleta, são excretados parcialmente na forma inalterada e não são completamente removidos por processos convencionais em estações de tratamento de esgoto (GODOY e KUMMROW, 2017).

Com relação aos possíveis danos causados pelos medicamentos ao ambiente aquático, diversos organismos têm sido estudados para a avaliação dos efeitos tóxicos destes contaminantes. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é considerada como um organismo bastante interessante para estudos de toxicidade e genotoxicidade de vários agentes químicos (ROOHVAND et al., 2020).

A levedura *S. cerevisiae* consiste em um modelo eucariótico simples, com rápido crescimento, baixo custo e a acessibilidade genética (SUVARNA et al., 2017). Este organismo detecta e responde a uma variedade de condições ambientais, tais como: a falta de nutrientes, variações de temperatura, estresse osmótico e oxidativo (HOSINER et al., 2014), além de apresentar sensibilidade a diferentes contaminantes químicos como metais (HOSINER et al., 2014), pesticidas (ESTÈVE et al., 2009) e efluentes industriais (HRENOVIC et al., 2005).

A toxicidade de misturas de fármacos se apresenta como um desafio complexo, visto que ainda há a falta de legislação uniforme para a avaliação de risco dos efeitos conjuntos dessas substâncias (GODOY e KUMMROW, 2017). Há ampla discussão em relação ao risco toxicológico da soma das concentrações em misturas complexas no meio ambiente, visto que a presença de amplas faixas de concentrações dificulta a avaliação de efeitos tóxicos (MARX et al., 2015). De acordo com alguns autores o risco de misturas de fármacos no meio ambiente pode aumentar os riscos individuais de cada componente, indicando que as misturas podem ser mais tóxicas e assim afetar a biota aquática (BACKHAUS 2016).

Entre as diversas ações necessárias para a gestão adequada desse tipo de contaminantes, cabe a adequação e desenvolvimento de tecnologias de tratamento de efluentes. A irradiação com feixe de elétrons é um processo alternativo e sustentável que se baseia na transformação química de poluentes, induzido por meio da radiação ionizante. Esta tecnologia tem sido desenvolvida e pode ser promissora para o tratamento de diversos micropoluentes (BOIANI et al., 2021, 2019; TOMINAGA et al., 2021, 2018; SILVA et al., 2016) e efluentes complexos (CHANGOTRA et al., 2019), com importante eficiência na degradação, mineralização e detoxificação de efluentes. Contudo, ainda é crescente o número de trabalhos que avaliem a toxicidade de misturas de fármacos pertencentes a classes distintas (BOIANI et al., 2021, 2019; TOMINAGA et al., 2021, 2018). Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo propor a radiação ionizante com feixe de elétrons como uma tecnologia alternativa para o tratamento de misturas de fármacos para a redução de impactos em ecossistemas aquáticos, avaliando a eficiência de degradação, toxicidade e os possíveis efeitos sinérgicos entre os contaminantes.

1.1 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi a avaliação da toxicidade de misturas de fármacos de classes distintas antes e após o tratamento com irradiação por feixe de elétrons. Além disso, o trabalho apresentou outros objetivos como:

- Avaliar a toxicidade e o risco ambiental dos fármacos ácido acetilsalicílico, fluoxetina, metformina e ciprofloxacina para *Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Saccharomyces cerevisiae*.
- Avaliar as possíveis interações das misturas de fármacos, sendo estudadas misturas binárias compostas por fluoxetina e fármacos pertencentes a outras classes (ácido acetilsalicílico, metformina e ciprofloxacina);
- Avaliar o efeito da irradiação com feixe de elétrons na toxicidade dos fármacos individuais e em misturas em solução aquosa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fármacos e meio ambiente

2.1.1 Consumo de medicamentos no Brasil

Os medicamentos são bens sociais importantes e possuem um papel central na terapêutica contemporânea. Inúmeros princípios ativos são utilizados com a finalidade profilática, curativa, paliativa e/ou para fins de diagnósticos, apresentando função relevante na prestação de cuidados e no impacto à saúde (LIMA, 2019).

O uso de medicamentos e de insumos para a saúde é influenciado por fatores como o aumento da expectativa de vida da população e o crescimento populacional; conseqüentemente de doenças crônicas e transtornos de humor; o surgimento de doenças transmissíveis; as doenças resultantes da degradação do meio ambiente, incluindo a poluição ambiental e as mudanças climáticas (QUADRA et al., 2017, ARRAIS et al., 2016).

Em 2008, o Brasil obteve o primeiro lugar em consumo de medicamentos da América Latina, assumindo a quinta posição na listagem mundial e o nono lugar no mercado mundial em volume financeiro (SOUSA et al., 2008). Em 2017, estimativas indicam que o país arrecadou US\$ 33,1 bilhões em vendas de medicamento, subindo duas posições no ranking global, e tornando-se o sexto maior mercado farmacêutico do mundo, após os Estados Unidos, China, Japão, Alemanha e França (IQVIA, 2018). Além disso, somente no ano de 2019, estima-se que o mercado farmacêutico brasileiro tenha vendido R\$ 215,6 bilhões em medicamentos (ANALYTICA, 2020).

Os medicamentos mais vendidos em 2018, em farmácias e drogarias, foram os analgésicos e os relaxantes musculares, os anticoagulantes, as vitaminas, os antidiabéticos, os anti-inflamatórios e os antirreumáticos, além dos anti-hipertensivos (LIMA, 2019). ARAGÃO et al., (2020) verificaram que aproximadamente 85% dos medicamentos vendidos na Região Metropolitana de São Paulo durante o período de abril/2016 até abril/2017 são referentes a 10

substâncias reportando que a classe terapêutica com a maior venda, em massa, correspondia aos anti-inflamatórios não esteroides (44,3%), seguidos dos antidiabéticos (20,8%), eletrólitos/nutrição (6,7%) e anti-hipertensivos (4,5%).

Os analgésicos e os anti-inflamatórios estão entre os grupos mais amplamente consumidos, visto que podem ser adquiridos sem prescrição médica (ZIYLAN e INCE, 2011). Os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) reduzem a inflamação por meio da atuação na inibição na enzima ciclooxigenase (COX), enzima chave que catalisa a conversão de ácido araquidônico em prostaglandinas (MICALLEF et al., 2020, ROBB et al., 2020).

A aspirina (AAS) é um dos medicamentos mais consumidos no mundo, utilizado como analgésico, antipirético e anti-inflamatório, e também tem sido administrado na prevenção de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares devido às suas propriedades antiplaquetárias (MONTINARI et al., 2019). Este fármaco permaneceu por mais de 90 anos como um dos analgésicos mais prescritos na assistência médica humana em todo o mundo (PAROLINI, 2020, KATZUNG e TREVOR, 2015).

Os antidiabéticos e os anti-hipertensivos também apresentam elevado consumo (ARAGÃO et al., 2020; LIMA, 2019), tendo em vista que a diabetes *mellitus* e a hipertensão arterial são consideradas doenças prioritárias, representando a causa principal da morbimortalidade entre adultos no país (MONTEIRO et al., 2019). Estima-se que a prevalência global da diabetes tenha aumentado de 4,6% em 2000 para 9,3%, o que representou 463 milhões de pessoas e que poderá atingir até 700 milhões em 2045 (LEITÃO et al., 2021). Além disso, o Brasil é um dos 10 maiores países do mundo com maior número de pessoas com diabetes *mellitus*, ocupando a 5ª posição (CORRER et al., 2020). De acordo com uma pesquisa realizada pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), em 2019, estima-se que a frequência de diagnóstico médico de diabetes tenha sido de 7,4% em 27 cidades do país (BRASIL, 2020).

A metformina é um antidiabético da família biguanidas, amplamente utilizado para o tratamento de diabetes do tipo 2 (VIAL et al., 2019), que possui a capacidade de reduzir a hipoglicemia por meio da redução da produção da glicose

hepática por meio da supressão da glicogênese (FORETZ et al., 2014). O mecanismo de ação da metformina consiste na inibição do complexo I na cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria, levando ao esgotamento da adenosina trifosfato (ATP) e aumentando os níveis de adenosina monofosfato (AMP) (FORETZ et al., 2014). Em 2012, este medicamento dominou o mercado de hipoglicemiantes orais com uma quota no mercado de 57,5% (LU et al., 2015).

A diabetes é uma doença crônica e progressiva, geralmente associada a diferentes comorbidades neuropsiquiátricas como a depressão (BRIGANTI et al., 2019). Estima-se que a prevalência da depressão é cerca de duas a três vezes maiores em pacientes com diabetes, comparadas a população geral (MENEZES-ZANOVELI et al., 2016).

De acordo com o relatório publicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), transtornos de ansiedade e depressão são as doenças psiquiátricas mais comuns que afetam a população mundial, sendo que o Brasil lidera o mundo na prevalência de transtorno de ansiedade e ocupa o 5º lugar nas taxas de depressão (de SOUZA e MACHADO-DE-SOUSA, 2017).

A recente pandemia tem impactado na saúde mental da população e levado a um aumento do número de episódios depressivos (CASTILLO-ZACARÍAS et al., 2021, DIAS et al 2021, NABUCO et al., 2020). Entre os transtornos psicológicos associados à pandemia de Covid-19 constam o estresse pós-traumático (PTSD), insônia e ansiedade entre os profissionais de saúde e a população em geral, e em diferentes países (CHOI et al., 2020; HOLMES et al., 2020; LIU et al., 2020; MELCHOR-MARTÍNEZ et al., 2021; PAPPA et al., 2020; STANTON et al., 2020). Até o presente momento o impacto do consumo de antidepressivos em escala global não foi estimado (MELCHOR-MARTÍNEZ et al., 2021), contudo, espera-se um aumento no consumo destes medicamentos.

A fluoxetina (FXT) é um medicamento amplamente vendido no Brasil. Estima-se que o consumo no Brasil foi de aproximadamente 3,5 toneladas em 2009 (FULONE et al., 2015). Ademais, diversos estudos têm demonstrado que este psicoativo tem sido frequentemente prescrito no país (LIMA et al., 2020; BREMM e BANDEIRA, 2020; BARBI et al 2019; BORGES et al., 2015). A fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptção da serotonina (ISRS), amplamente

utilizado para o tratamento de depressão, transtornos de ansiedade e transtornos obsessivo-compulsivos (SILVA et al., 2014). Este medicamento apresenta um perfil mais seguro, com menos efeitos colaterais e maior tolerabilidade, apresentando funções importantes para o sistema nervoso central como neuroproteção; propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antiapoptóticas (CAIAFFO et al., 2016).

Por outro lado, os antibióticos são consumidos em larga escala até 2010 (MATTOS et al., 2017; SANTA-ANA-TELLEZ et al., 2013), quando foi aprovada a lei que restringe a venda de antibióticos sem receita. Isso gerou um impacto nas vendas em diferentes áreas geográficas do país, principalmente relacionado com o perfil socioeconômico (MOURA et al., 2015). De acordo com CASTRO et al., (2020), esse consumo total foi maior nas regiões Sul e Sudeste do país. Entre 2008 e 2012, em uma cidade do interior do estado de São Paulo, foi reportado um aumento em vendas de 216,8% para as cefalosporina, 170,9% para as quinolonas, 140,9% para as aminopenicilinas (MATTOS et al., 2017).

O elevado consumo de antibióticos no país também se deve ao uso na agropecuária, tendo em vista que o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de alimentos de origem animal (RABELLO et al., 2020). O consumo global de agentes antimicrobianos na produção animal em 2010 foi estimado em 63.151 toneladas, sendo que o Brasil apresentou um consumo total de cerca de 9% (5683 toneladas) (CARDOSO, 2019).

Apesar dos esforços das sociedades médicas e do governo, a prescrição excessiva de antimicrobianos ainda é frequente, e contribui para que pacientes sejam expostos a efeitos adversos desnecessários, aumentando custos e a carga da resistência bacterina (BOSZCZOWSK et al., 2021). A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a resistência microbiana aos antibióticos como um problema global com impacto na saúde global, meios de subsistências e desenvolvimento sustentável devido ao crescente número de doenças infecciosas (pneumonia, tuberculose, gonorreia e Salmonelose) que estão ficando cada vez mais difíceis de tratar devido à redução da eficácia destes medicamentos (WHO, 2021). Conseqüentemente, a OMS elaborou uma lista de antimicrobianos essenciais para a medicina humana como referência para a formulação e

priorização das análises de risco e estratégias de manejo para conter a resistência microbiana (RABELLO et al., 2020).

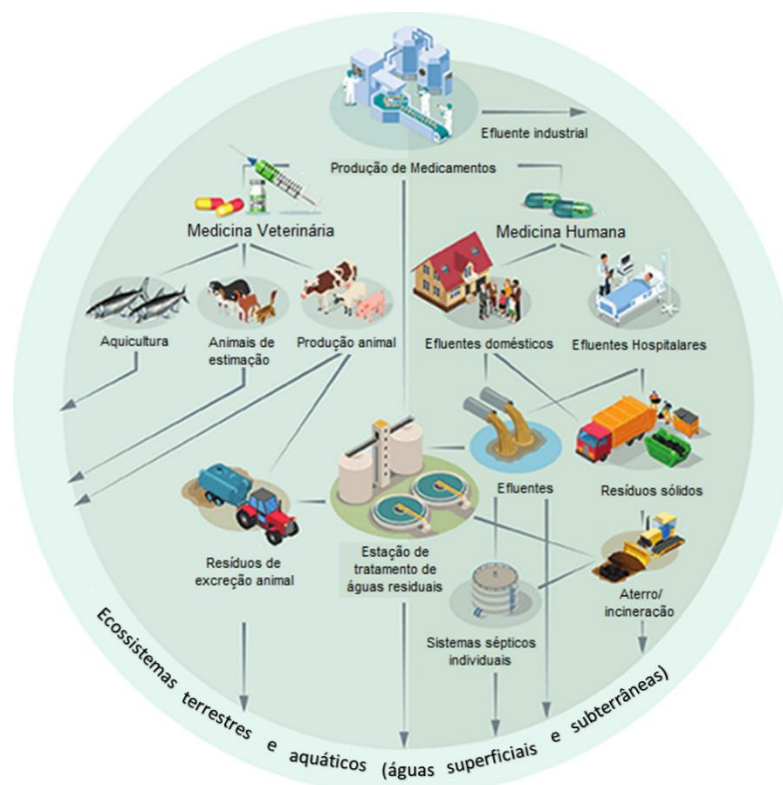
A ciprofloxacina é um representante importante das quinolonas, sendo amplamente consumida na medicina humana e veterinária para o tratamento contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (KELLY e BROOKS, 2018, WHO, 2017). Diante desse panorama, é imprescindível considerar os medicamentos entre os poluentes emergentes.

2.1.2 Rotas de Contaminação, Ocorrência de Fármacos Ambientes Aquáticos e Toxicidade em Organismos Aquáticos

O constante crescimento na produção, na prescrição e no uso de medicamentos tem levado à contaminação em diferentes ecossistemas aquáticos. O desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis (v.g. Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS), Espectrometria de Massas em Tandem (MS/MS)), associado ao monitoramento aquático, possibilitou a detecção de diversos contaminantes em baixas concentrações (μg e ng L^{-1}), em diferentes matrizes ambientais complexas como águas superficiais, subterrâneas (GOGOI et al., 2018), residuais (COUTO et al., 2019), e água potável (REIS et al., 2019).

A ocorrência de contaminantes emergentes em águas depende de diversos fatores como padrão de uso, consumo de água per capita, características de captação (por exemplo, densidade populacional, uso da terra), investimento em saneamento, persistência ambiental etc. (PARIDA et al., 2021). As possíveis rotas de contaminação por fármacos no meio ambiente estão representadas na Figura 1.

Figura 1 - Possíveis rotas de contaminação por fármacos no ambiente



Fonte: adaptado de OECD (2019).

A contaminação por produtos farmacêuticos e seus metabólitos pode ocorrer indiretamente por meio de descartes inapropriados de efluentes não tratados (COURTIER et al., 2018) ou diretamente por meio da excreção (g.v. efluentes hospitalares) (BECKER et al., 2020; FRÉDÉRI e YVES, 2014; BRENNER et al., 2011); das atividades industriais (vg efluentes farmacêuticos) (KLEYWEGT et al. 2019, CARDOSO et al., 2014) e das atividades agropecuárias (v.g. contaminação por resíduos de medicamentos veterinários) (OLIVEIRA et al., 2020; DALLA ROSA et al., 2019).

Após a absorção pelo organismo, os fármacos podem ser excretados como uma mistura de metabólitos, podendo estar na forma inalterada ou conjugada (HALLING-SØRENSEN et al., 1998). Estima-se que a excreção de uma dose de fármaco pode ocorrer, de modo geral, entre 50 e 90% na forma inalterada (MULROY, 2001). Após seu uso, os fármacos e seus metabólitos são excretados e lançados em estações de tratamento de águas municipais (ETA) e

em estações de tratamento de esgoto (ETEs) (TEIXEIRA e ELISE, 2017; ARCHER et al., 2017).

Atualmente, o Brasil ainda enfrenta problemas relacionados ao saneamento básico e ao crescimento da população urbana, decorrente a deficiência de políticas adequadas (QUADRA et al., 2017). De acordo com o relatório publicado pelo do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), estima-se que o índice de tratamento seja de 49,1% para esgoto gerado e 78,5% para esgoto coletado 2019 (SNIS, 2019). Além disso, diversos estudos têm demonstrado as ETEs não promovem a remoção completa que fármacos e seus metabólitos (VIGARANI, 2021, PIVETTA et al., 2020, WAGNER, 2016, JANK et al., 2014), atingindo, assim o ambiente.

De modo geral, o destino dos produtos farmacêuticos no meio ambiente depende de uma série de fatores tais como as propriedades físico-químicas e processos ambientais (PATEL et al., 2019; YING et al., 2013). Desta forma, fármacos pertencentes a classes distintas irão apresentar diferentes propriedades físico-químicas (solubilidade em água, hidrofobicidade, volatilidade etc.), podendo, assim, demonstrar comportamentos diferentes (PATEL et al., 2019). Vale ressaltar que, embora alguns desses contaminantes possuam meia-vida relativamente curta, alguns compostos são considerados “pseudo-persistentes” devido ao consumo e liberação contínuos para o meio ambiente, e assim, apresentam maior potencial para a persistência ambiental maior que outros contaminantes (EBELE et al. 2017).

A maioria dos fármacos não são moléculas novas, mas são substâncias que têm sido recentemente detectadas pelo desenvolvimento da instrumentação analítica que permite medir baixas concentrações destes compostos em diferentes matrizes aquosas (águas superficiais, subterrâneas e potável) (MONTAGNER et al., 2019). Ao contrário de muitos poluentes, os fármacos são moléculas desenvolvidas para interagir com vias fisiológicas específicas em organismos vivos (GODOY e KUMMROW 2017), e quando presentes no meio ambiente podem afetar a biota destes ecossistemas. Diversas revisões bibliográficas têm demonstrado os efeitos tóxicos que produtos farmacêuticos podem causar em organismos aquáticos em concentrações

ambientalmente relevantes (KOVALAKOVA et al., 2020, ŚWIACKA et al., 2020; CUNHA et al., 2017).

A qualidade e a quantidade de dados disponíveis sobre a ocorrência e os efeitos dos contaminantes permitem tanto a elucidação de cenários de contaminação quanto o desenvolvimento de lista de prioridades sobre contaminantes de acordo com a toxicidade, concentração e frequência de detecção em cada região (MONTAGNER et al., 2019). Desta forma, a seguir serão discutidos a ocorrência, destino ambiental, propriedades e toxicidade dos fármacos do presente estudo (ácido acetilsalicílico, fluoxetina, metformina e ciprofloxacina).

2.1.3 Ácido acetilsalicílico

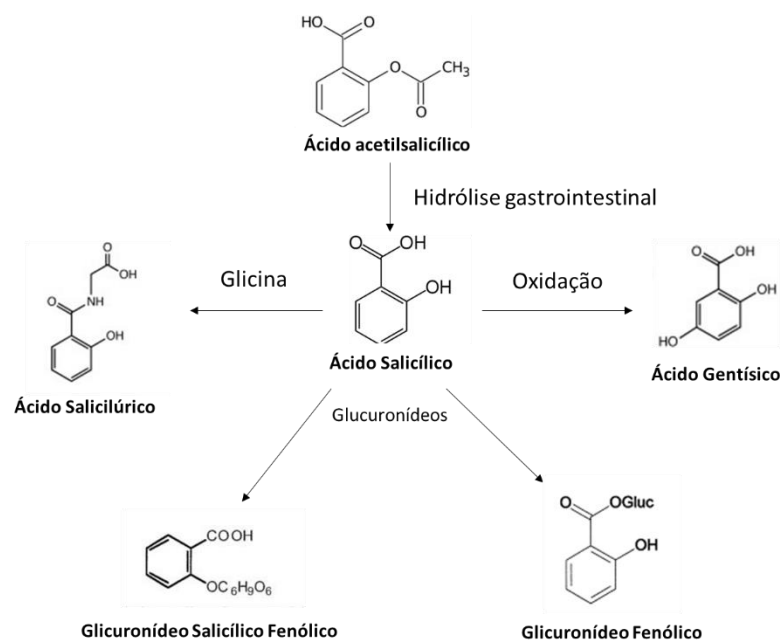
Originalmente o ácido acetilsalicílico foi utilizado como medicamento antipirético e anti-inflamatório, porém devido às propriedades antiplaquetárias, a aspirina passou a ser utilizada na prevenção de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (MONTINARI et al., 2019). Ainda com potencial uso para a quimioprevenção de câncer colorretal (MARTINS et al., 2019; MONTINARI et al., 2019, DOVIZIO et al., 2013).

Após a administração oral, a absorção de salicilados ocorre rapidamente por difusão passiva das moléculas lipofílicas e não ionizadas no estômago. Após a absorção, a aspirina é rapidamente convertida em ácido salicílico com uma meia vida entre 15 e 20 minutos, sendo parcialmente excretada na forma inalterada e parcialmente metabolizada (NEEDS e BROOKS, 1985).

O ácido acetilsalicílico é hidrolisado em ácido salicílico na parede intestinal, fígado e glóbulos vermelhos, e é conjugado com ácido glucurônico e glicina, enquanto uma pequena porcentagem é oxidada (CIEJKA et al, 2016). Vale ressaltar também, que em mamíferos o AAS é biotransformado em ácido salicílico e então conjugado a diversas moléculas como ácido salicilúrico, ácido 2,5-dihidróxibenzóico e 2,3- dihidróxibenzóico por meio da CYP2E1 e CYP 3A4

(GÓMEZ-OLIVÁN et al., 2014). Na Figura 2 foram mostrados os produtos do metabolismo da aspirina.

Figura 2 - Metabolismo da Aspirina



Fonte: adaptado de CIEJKA et al, (2016).

Diversos estudos demonstram a ocorrência do AAS e de seus metabólitos em várias matrizes ambientais, conforme consta na Tabela 1. Além disso, a ocorrência de resíduos do ácido salicílico no ambiente aquático também pode ser originada a partir de queratolíticos, conservantes de alimentos ou pela formação natural (HEBERER, 2002).

Tabela 1 - Detecção de ácido acetilsalicílico e seus metabolitos em diferentes regiões e matrizes ambientais

Fármaco	Local	Matriz	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Ácido acetilsalicílico	República da Coreia	Águas superficiais	0,015 – 1,17	NA et al., (2019)
			0,054	SIM et al., (2010)
	Tailândia		0,023 – 1,100	TEWARI et al., (2013)
	Brasil		0,476 – 20,96	MONTAGNER e JARDIM (2011)
			$\leq 5,17$	IDE et al., (2017)
	Tailândia	Afluentes de ETE	0,075 - 16	TEWARI et al., (2013)
	República da Coreia		6,29	SIM et al., (2010)
	Alemanha	Efluente ETE	0,22	TERNES (1998)
	Tailândia		0,040 – 0,553	TEWARI et al., (2013)
	República da Coreia		0,018	SIM et al., (2010)
	Colômbia		3,9 – 4,8	ARRUBLA et al., (2016)
	Portugal	Efluentes Hospitalares	n.d. - 63	De JESUS GAFFNEY et al (2017)
	República da Coreia		0,078	SIM et al., (2010)
	-	Efluentes Industrial	290 – 650	NAPOLEÃO et al., 2018
Ácido salicílico	China	Águas superficiais	n.d – 0,295	WANG et al., (2010)
	Brasil		1,65 – 4,81	LOPES et al., (2016)
	Costa Rica		$\leq 0,274$	SPONGBERG et a. (2011)
	Austrália		0,153	SCOTT et al., (2014)
	México		0,029 – 0,309	FÉLIX-CANEDO et al., (2013)
	Portugal	Água subterrânea	0,001 – 0,464	
			0,0337 – 0,071	PAÍGA e DELERUEMATOS (2016)
	Espanha	Efluentes Industrial	n.d - 3295	CAMACHO-MUÑOZ et al., (2014)
	Grécia	Efluentes Hospitalares	32,065	KOSMA et al., (2014)
		Afluentes de ETE	n.d. – 11,92	PAPAGEORGIU et al., (2016)
		34,0 – 164,4	KOSMA et al., (2010)	

n.d – abaixo do limite de detecção

Fonte: autor da tese.

O AAS é biodegradável com a remoção ETEs variando entre 80 e 98% (MOHAN et al., 2021; SZYMONIK et al., 2017; ZIYLAN e INCE, 2011). No meio ambiente, espera-se que o AAS seja hidrolisado, levando à formação de ácido

salicílico e ácido acético (MUKHERJEE et al., 2016), e, contudo, estima-se que tempo de meia-vida do AAS seja de 40 dias (EBERLEIN, 2008).

Alguns estudos têm reportado que salicilatos podem induzir estresse oxidativo em peixes (*Salmo trutta fario*) (NUNES et al. 2015) e em caracóis marinhos *Gibbula umbilicalis* (GIMÉNEZ e NUNES, 2019) em concentrações ecologicamente relevantes. De modo geral, baixa toxicidade aguda tem sido reportada para o AAS, contudo é possível verificar que a exposição crônica pode levar a um aumento da toxicidade para o microcrustáceo *Daphnia* spp, conforme indica a Tabela 2.

Tabela 2 – Toxicidade do AAS para diferentes organismos aquáticos

Espécies	Parâmetro	Efeitos	Valor (mg L⁻¹)	Referências
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (alga)	CE50 _{48h}	Inibição do crescimento	241,0	KUSK et al., (2018)
<i>Desmodesmus subspicatus</i> (alga)	CE50	Inibição do crescimento	106,7	CLEUVERS (2004)
<i>Vibrio fischeri</i> (bactéria)	CE50 _{15min}	Inibição bioluminescência	267,6	DI NICA et al. (2017)
<i>Daphnia magna</i> (crustáceo)	CL50 _{48h}	Imobilidade	88,33	GÓMEZ-OLIVÁN et al. (2014)
<i>Daphnia longispina</i> (crustáceo)	CE50 _{48h}	Imobilidade	647,3	MARQUES et al., (2004)
<i>Daphnia magna</i> (crustáceo)	NOEC _{21d}	Inibição reprodução	1,00	
<i>Daphnia longispina</i> (crustáceo)	NOEC _{21d}	Inibição reprodução	1,00	MARQUES et al., (2004)
<i>Artemia SP</i> (crustáceo)	CL50 _{48h}	Imobilidade	305,1	DA SILVA E ABESSA (2019)
<i>Mysidopsis juniae</i> (crustáceo)	CL50 _{96h}	Letalidade	190,2	
<i>Danio rerio</i> embriões (peixe)	CL50	Letalidade	274,6	PRÁŠKOVÁ et al., (2012)
<i>Danio rerio juvenis</i> (peixe)	CL50	Letalidade	567,7	

Fonte: autor da tese.

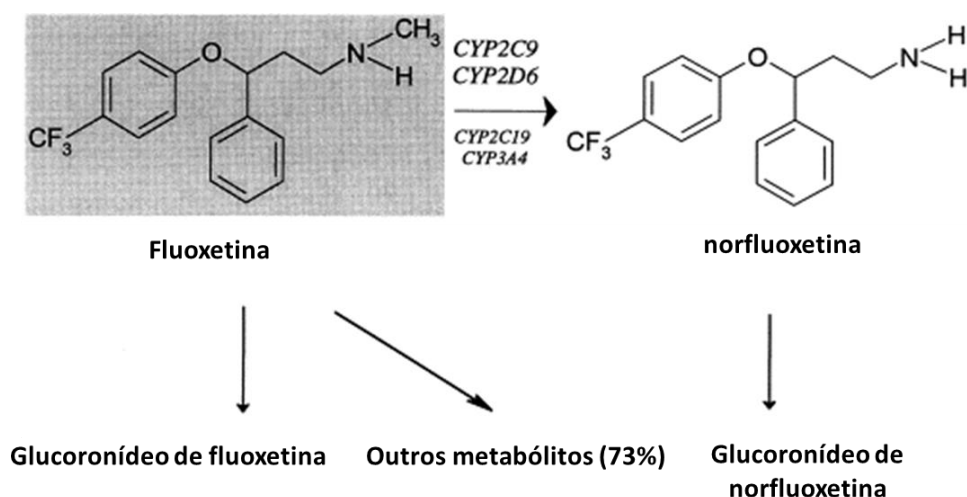
2.1.4 Fluoxetina

A fluoxetina é um antidepressivo derivado da propilamina, pertencente à classe dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), amplamente

prescrita para transtornos depressivos em adultos e adolescentes; transtornos obsessivo-compulsivos e ansiedade, além do tratamento para bulimia nervosa (NOVITSKY et al, 2021). A FXT é um inibidor potente e específico da recaptação da serotonina nas terminações pré-sinápticas (SOMMI et al., 1987). Sua atuação consiste principalmente no sistema nervoso central, onde inibe forte e seletivamente uma proteína transportadora para a recaptação da serotonina na membrana pré-sináptica, produzindo um aumento nas concentrações de serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT]) nos locais dos receptores pós-sinápticos (OAKES et al., 2010).

Após a administração oral, a fluoxetina é praticamente absorvida, e cerca de 90% são metabolizados após a passagem pelo fígado (HIEMKE e HÄRTTER, 2000). A biotransformação é catalisada pelas isoformas do citocromo P450 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 e CYP3A5 (NOVITSKY et al, 2021). O principal produto do metabolismo é a norfluoxetina (metabólito desmetilado) (MANDRIOLI et al, 2006). A fluoxetina é excretada principalmente pela urina, sendo que menos de 10% são excretados na forma inalterada ou como N-glucoronídeo de fluoxetina (HIEMKE e HÄRTTER, 2000).

Figura 3 - Metabolismo da Fluoxetina



Fonte: adaptado de HIEMKE e HÄRTTER (2000).

Diversos estudos têm demonstrado a presença da FXT em ambientes aquáticos, conforme Tabela 3. Segundo KWON e ARMBRUST (2006), a FXT é estável à degradação por hidrólise e fotólise por um período de 30 dias em solução de pH neutro. Além disso, os autores verificaram que a FXT não apresenta rápida biodegradação em estações de tratamento de efluentes, além

de notar que este composto se dissipa rapidamente da fase aquosa em sistema água/sedimento.

Tabela 3 - Detecção da fluoxetina em diferentes matrizes ambientais

Local	Matriz	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Espanha	Água superficial	0,006 – 0,066	FERNÁNDEZ et al., (2010)
		< 0,0145	LÓPEZ-SERNA et al., (2012)
Australia		< 0,022	SCOTT et al (2014)
Brasil		n.d – 0,0035	DE SOUZA et al., (2021)
		0,060	PIVETTA et al., (2020)
Sri Lanka		0,00015	GURUGE et al., (2019)
Portugal	Água subterrânea	0,00197	PAÍGA e DELERUE-MATOS (2016)
		0,0180	ANDREWS et al., (2012)
Estados Unidos	Água Potável	0,019	PADHYE et al., (2014)
		< 0,003	BENOTTI et al., (2009)
Colômbia		0,03 – 0,07	BEDOYA-RÍOS et al., (2018)
Brasil	Afluentes de ETE	0,025 – 0,173	PIVETTA et al., (2020)
		0,07	GARDNER et al., (2013)
Reino Unido		0,0049 – 0,1759	BAKER et al (2013)
	0,0056 – 0,0449		
Estados Unidos	Efluentes de ETE	n.d – 0,096	BLAIR et al., (2013a)
		0,0087	KOSTICH et al., (2014)
Reino Unido		0,0265	PETRIE et al. (2016)
China	Efluentes hospitalares	0,021	YUAN et al. (2013)
Estados Unidos		0,038 – 0,215	NAGARNAIK et al., (2011)
Taiwan	Efluentes Industrial	0,154	LIN et al., (2008)
-		17400	DOLAR et al., (2012)

n.d – abaixo do limite de detecção

Fonte: autor da tese.

Os antidepressivos têm recebido grande atenção devido aos elevados riscos que representam para a biota aquática (DE SOUZA et al., 2021; PAÍGA et al., 2019, 2016; RAMÍREZ-MORALES et al., 2020). De modo geral, a fluoxetina apresenta elevada toxicidade para organismos aquáticos (Tabela 4) tendo em vista que os efeitos podem ocorrer em concentrações de ng a $\mu\text{g L}^{-1}$. Por exemplo, a fluoxetina pode causar alterações fisiológicas e comportamentais em organismos aquáticos em concentrações ecologicamente relevantes (BOSSUS et al., 2014; CHEN et al., 2015; DE FARIAS et al., 2019; DZIEWECZYNSKI e

HEBERT, 2012; GULER e FORD, 2010; LISTER et al., 2009; SCHULTZ et al., 2011; SEHONOVA et al., 2018). Por exemplo, PETERS e GRANEK (2016) observaram que baixas concentrações de fluoxetina (0,3 - 300 ng L⁻¹) podem reduzir o crescimento, a filtração de algas e o potencial reprodutivo do mexilhão *Mytilus californianus*, após exposição de longo prazo (107 dias). SAARISTO et al. (2017) verificaram que a exposição em longo prazo (28 dias) a baixos níveis do antidepressivo (4 e 16 ng L⁻¹) alterou o comportamento anti-predador do peixe de água doce *Poecilia reticulata*. SCHULTZ et al. (2011) verificaram alterações anatômicas em peixes expostos à fluoxetina e notaram que 28 ng L⁻¹ FXT induziram vitelogenina em peixes machos após 21 dias de exposição, o que indica desregulação endócrina estrogênica.

Tabela 4 – Toxicidade da FXT para diferentes organismos aquáticos

Espécies	Parâmetro	Efeitos	Valor (µg L⁻¹)	Referências
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (alga)	CI50 _{96h}	Inibição do crescimento	45,0	JOHNSON et al., (2007)
<i>Skeletonema marinoi</i> (alga)	CI50 _{72h}	Inibição do crescimento	48,2	MINGUEZ et al., (2014)
<i>Chlorella Pyrenoidosa</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	6,2	Bl et al., (2018)
<i>Chlorella ellipsoidea</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	18,6	
<i>Chlorella vulgaris</i> (alga)	IC50 _{96h}	Inibição do crescimento	4339	JOHNSON et al., (2007)
<i>Scenedesmus obliquus</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	40,2	Bl et al., (2018)
<i>Scenedesmus acutus</i> (alga)	IC50 _{96h}	Inibição do crescimento	91,2	JOHNSON et al., (2007)
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (alga)	IC50 _{96h}	Inibição do crescimento	213	
<i>Dunaliella salina</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	40,2	Bl et al., (2018)
<i>Dunaliella parva</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	6,2	
<i>Chlamydomonas microspheara</i> (alga)	NOEC _{96h}	Inibição do crescimento	18,6	
<i>Vibrio fischeri</i> (bactéria)	CE50 _{15 min}	Inibição da bioluminescência	1230	SILVA et al., (2016)
<i>Spirostomum ambiguum</i> (protozoário)	CL50 _{24h}	Letalidade	550	NAŁECZ-JAWECKI, (2007)
<i>Daphnia pulex</i> (crustáceo)	CE50 _{96h}	Imobilidade	200	DAIGLE (2010)

<i>Daphnia magna</i> (crustáceo)	CE50 _{48h}	Imobilidade	6400	CHRISTENSEN et al., (2007)
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (crustáceo)	CE50 _{48h}	Imobilidade	234	BROOKS et al., (2003a)
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (crustáceo)	NOEC _{7d}	Reprodução	89	HENRY et al., (2004)
<i>Mysidopsis bahia</i> (crustáceo)	CE50 _{96h}	Sobrevivência	500	DAIGLE (2010)
<i>Thamnocephalus platyurus</i> (crustáceo)	CL50 _{24h}	Letalidade	760	NAŁECZ-JAWECKI (2007)
<i>Hyalella azteca</i> (crustáceo)	NOEC _{28d}	Inibição do crescimento	33	PÉRY et al., (2008)
<i>Danio rerio</i> embryos (peixe)	CL50 _{7d}	Letalidade	1180	DE FARIAS et al., (2019)
<i>Danio rerio</i> larvae (peixe)	CL50 _{96h}	Letalidade	250	ALSOP e WOOD (2013)
<i>Gambusia affinis</i> adult (peixe)	CL50 _{7d}	Letalidade	546	HENRY e BLACK (2008)
<i>Menidia beryllina</i> adult (peixe)	CL50 _{48h}	Letalidade	500	DAIGLE (2010)
<i>Oryzias latipes</i> juvenile (peixe)	CL50 _{96h}	Letalidade	5500 (pH 7) 1300 (pH 8) 200 (pH 9)	NAKAMURA et al., (2008)
<i>Pimephales promelas</i> juvenile (peixe)	CL50 _{48h}	Letalidade	705	BROOKS et al., (2003a)
<i>Pimephales promelas</i> juvenile (peixe)	CL50 _{48h}	Letalidade	198	STANLEY et al., (2007)
<i>Pimephales promelas</i> juvenile (peixe)	NOEC _{7d}	Letalidade	106	
<i>Potamopyrgus Antipodarum</i> embryo (gastrópode)	NEC _{6semanas}	Letalidade	13	PÉRY et al., (2008)
<i>Potamopyrgus Antipodarum</i> embryo (gastrópode)	NOEC _{6semanas}	Reprodução	0,47	NENTWIG (2007)

Fonte: autor da tese.

2.1.5 Metformina

A metformina pertence à família biguanida e é amplamente utilizada para o tratamento da diabetes do tipo 2 (SANCHEZ-RANGEL e INZUCCHI, 2017). Atualmente, alguns estudos indicam que este fármaco apresenta um perfil terapêutico interessante, podendo ser empregado para diferentes tratamentos como síndrome metabólica, síndrome do ovário policístico, hirsutismo (NETO et

al., 2015), além de câncer, obesidade, doenças hepáticas, cardiovasculares e renais (LV e GUO, 2020), tendo em vista os efeitos antitumorais, antienvhecimento, protetores cardiovasculares e neuroprotetores deste composto (WANG et al., 2017).

O mecanismo de ação da MET ainda é bastante discutido, porém sabe-se que este composto atua na redução da produção de glicose hepática, melhorando a sensibilidade à insulina, reduzindo os riscos vasculares associadas à diabetes *mellitus* (SANCHEZ-RANGEL e INZUCCHI, 2017). A metformina atua na inibição mitocondrial do complexo 1 da cadeia de transporte de elétrons, impactando no balanço celular de energia (AMBROSIO-ALBUQUERQUE et al., 2021). Como resultado, há uma redução da produção de adenosina trifosfato (ATP), aumentando a relação monofosfato de adenosina: trifosfato de adenosina (AMP: ATP), que consequentemente ativa a proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) (LV e GUO, 2020; NIEMUTH et al, 2015; FORETZ et al., 2014). Atuando como um sensor de energia celular, a AMPK fosforila enzimas metabólicas e fatores de transcrição causam inibição da gliconeogênese e ativação da glucoquinase e, assim, promovem oxidação de ácidos graxos (NIEMUTH et al, 2015).

A metformina não é metabolizada e possui uma biodisponibilidade oral entre 50 e 60% (NETO et al., 2015). Além disso, a MET é excretada praticamente na forma inalterada na urina (BAILEY e TURNER, 1996). Em ETEs, a MET pode ser transformada em guanilureia por meio de processos biológicos (TRAUTWEIN e KÜMMERER, 2011). Contudo, este composto não é completamente removido, e lançado ao meio ambiente, conforme Tabela 5. Ademais, a MET é estável a hidrólise, apresentando perdas menores que 1,3% em pH 5,7 e 9 a 50°C, por 5 dias, além de apresentar fotodegradação indireta lenta demonstrando um tempo de meia vida calculado em 28,3 dias (STRAUB et al., 2019).

Tabela 5 - Detecção da metformina em diferentes matrizes ambientais

Local	Matriz	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência	
Alemanha	Água superficial	0,035 – 0,150	TRAUTWEIN et al., (2014)	
		< 0,234	TISLER e ZWIENER (2018)	
Reino Unido		2,32	PETRIE et al. (2016)	
Estados Unidos		0,110	KOLPIN et al., (2002)	
		< 9,2	BLAIR et al., (2013b)	
		33,60	ELLIOTT et al., (2017)	
Alemanha		0,06 – 3,1	SCHEURER et al, (2012)	
		0,13 - 1,7	SCHEURER et al, (2009)	
França		Água subterrânea	0,100	VULLIET e CRENOLIVÉ (2011)
			0,010	
Alemanha	Água Potável	0,034	TISLER e ZWIENER (2018)	
		0,02 – 0,06	TRAUTWEIN et al., (2014)	
	Afluentes de ETE	86 - 142		TISLER e ZWIENER (2018)
14 - 95		OOSTERHUIS et al. (2013)		
64 - 98		BLAIR et al., (2013)		
3,2 – 100		BLAIR et al., (2013)		
Estados Unidos	Efluente de ETE	40,70 – 94,60	ESTRADA-ARRIAGA et al., (2016)	
México		3,10 - 3,77		
Malásia		34,23	AL-ODAINI et al., (2014)	
Alemanha		28 - 67	TRAUTWEIN et al., (2014)	
		0,7 – 6,5	TISLER e ZWIENER (2018)	
		2,2 - 11	SCHEURER et al, (2009)	
Estados Unidos	0,64 – 47	BLAIR et al., (2013)		
Reino Unido	19,784	PETRIE et al. (2016)		
Grécia	Efluentes hospitalares	1,17	KOSMA et al., (2015)	
		1,16 – 9,81	PAPAGEORGIU et al., (2019)	

Fonte: autor da tese.

Os efeitos tóxicos da MET para diferentes organismos aquáticos estão representados na Tabela 6. De modo geral, a metformina tem apresentados baixa toxicidade. Entretanto, embora a MET não possua uma estrutura semelhante a um hormônio, este composto pode afetar os sistemas endócrinos de vertebrados (AMBROSIO-ALBUQUERQUE et al., 2021, CRAGO et al., 2016, NIEMUTH e KLAPER, 2015). Estudos anteriores mostraram que a metformina induziu a expressão da proteína do ovo vitelogenina (normalmente produzida por fêmeas) em peixes machos de *Pimephales promelas* expostos cronicamente (28 dias) a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ (NIEMUTH et al., 2015). Posteriormente, os autores notaram que, após um ano de exposição, a metformina afetou a expressão gênica, que foi

correlacionada com a ocorrência de intersexo em peixes machos expostos à metformina (NIEMUTH e KLAPER, 2018). Além disso, MACLAREN et al., (2018) verificaram que 40 µg L⁻¹ de MET pode afetar o comportamento agressivo de adultos machos de *Betta splendens*.

Tabela 6 – Toxicidade da MET para diferentes organismos aquáticos

Espécies	Parâmetro	Efeitos	Valor (mg L⁻¹)	Referências
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (algae)	CE50 _{72h}	Inibição do crescimento	> 77,24	MOERMOND e SMIT (2016)
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	CE50 _{72h}	Inibição do crescimento	> 320	CLEUVERS (2003)
<i>Vibrio fischeri</i> (bactéria)	CE10 _{30min}	Inibição bioluminescência	870,79	JACOB et al., (2020)
<i>Lemna minor</i> (macrófita)	CE50 _{7d}	Inibição do crescimento	53,7	GODOY et al. (2018)
<i>Daphnia magna</i> (crustáceo)	CE50 _{48h}	Imobilidade	64	CLEUVERS (2003)
<i>Hydra attenuata</i> (cnidário)	LC50 ₉₆	Letalidade	2709	GODOY et al. (2018)
<i>Danio rerio</i> (peixe)	CL50 _{96h}	Letalidade	1315,5	

Fonte: autor da tese.

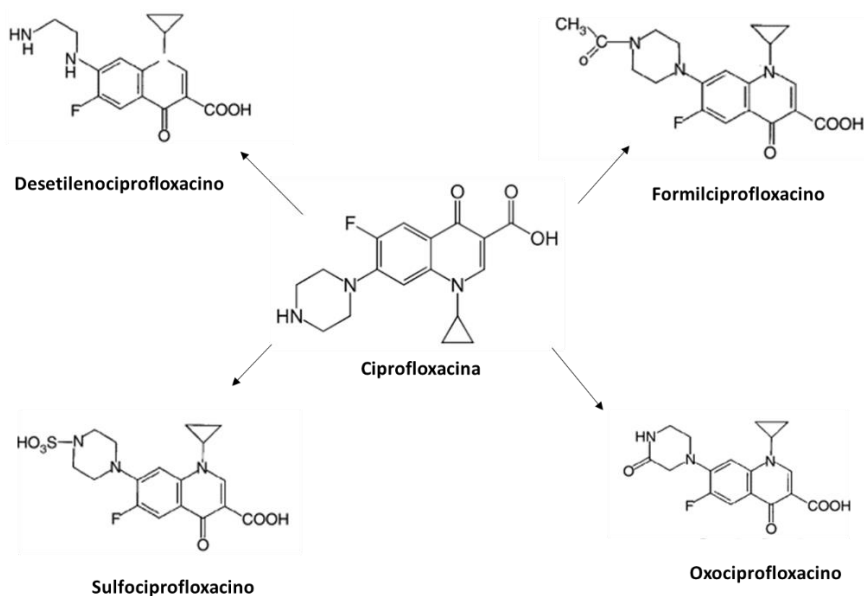
2.1.6 Ciprofloxacina

A ciprofloxacina é um antibiótico pertencente à classe das fluoroquinolonas, que atuam na inibição da replicação de DNA por meio da inibição da topoisomerase de DNA bacteriana e DNA-girase, e tem sido utilizado para o tratamento de infecções do trato urinário, infecções sexualmente transmissíveis (gonorréia e cancroide), infecções de pele, ossos e articulações, prostatite, febre tifóide, infecções gastrointestinais, infecções do trato respiratório inferior, antraz, peste e salmonelose (THAI et al., 2020).

A absorção da ciprofloxacina é rápida após a administração e estima-se que a biodisponibilidade oral esteja entre 50 e 85% (AL-OMAR, 2005; VANCE-BRYAN et al., 1990). Quatro metabólitos ativos já foram identificados, conforme demonstrado na Figura 4. Ademais, estima-se que cerca de 40 a 50% de uma dose administrada por via oral são excretados na forma inalterada na urina e 15%

forma de metabólitos (AL-OMAR, 2005). Além disso, diversos estudos indicaram que a ciprofloxacina é o metabolito ativo da enrofloxacin, antibiótico amplamente utilizado na medicina veterinária (AGIUS et al., 2020; SALVADORI et al., 2015, CESTER e TOUTAIN, 1997, ANADON et al., 1995)

Figura 4 - Metabolismo da Ciprofloxacina



Fonte: adaptado de AL-OMAR (2005).

A ocorrência de ciprofloxacina em diferentes matrizes ambientais consta na Tabela 7. Alguns estudos verificaram que o antibiótico não é completamente removido em ETEs, podendo assim ser lançados no meio ambiente (RODRIGUES-SILVA et al 2019; CAMACHO-MUÑOZ et al., 2014; JANK et al., 2014). GIRARDI et al., (2011) verificaram que a ciprofloxacina é recalcitrante a biodegradação e a transformação em sistemas aquosos. Estima-se que este antibiótico não sofra degradação por hidrólise (SAHLIN et al., 2018), entretanto, este composto pode sofrer fotodegradação (HOM-DIAZ, et al., 2017, CHALLIS et al., 2014, LIN et al., 2010).

Tabela 7 - Detecção da ciprofloxacina em diferentes matrizes ambientais

Local	Matriz	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Brasil	Água superficial	n.d – 0,119	LOCATELLI et al., (2011)
		n.d – 0,113	DE JESUS et al. (2019)
		n.d – 0,066	JANK et al., (2014)
		n.d. – 0,329	ARSAND et al, (2020)
Turquia	Água subterrânea	n.d – 13,576	AYDIN e TALINLI (2013)
Espanha		0,014 - 0,324	CABEZA et al., (2012)
Iraque	Água Potável	1,344	MAHMOOD et al., (2019)
Grécia	Afluentes de ETE	n.d – 0,541	PAPAGEORGIU et al., (2016)
Portugal		n.d – 3,627	PEREIRA et al., (2015)
Brasil		0,043 – 0,350	JANK et al., (2014)
Estados Unidos		n.d – 0,087	BLAIR et al., (2013b)
México	Efluentes de ETE	0,478 – 1,860	ESTRADA-ARRIAGA et al., (2016)
		0,203 – 0,379	
Espanha	Efluentes de ETE	1,72	CAMACHO-MUÑOZ et al., (2014)
Brasil		n.d – 0,158	JANK et al., (2014)
Canada		0,118	MIAO et al., (2004)
		0,022 – 0,620	GUERRA et al (2014)
Estados Unidos		0,067	KOSTICH et al., (2014)
Itália		0,046 – 0,499	AL AUKIDY et al., (2012)
Colômbia	Efluentes hospitalares	< 20,2	BOTERO-COY et al (2018)
República da Coreia		45	SIM et al., (2010)
Brasil		19 - 155	MARTINS et al (2008)
		0,5 – 5,6	RODRIGUES-SILVA et al (2019)
Taiwan	Efluentes Industrial	0,751	LIN et al., (2008)
		0,326	
Espanha		0,23	CAMACHO-MUÑOZ et al., (2014)

Fonte: autor da tese.

Os efeitos tóxicos da CIP para diferentes organismos aquáticos estão representados na Tabela 8. De modo geral, foi possível verificar que as algas, cianobactérias e macrófitas foram mais sensíveis ao antibiótico comparados aos demais organismos aquáticos. A ciprofloxacina pode inibir o crescimento de microrganismos, fazendo assim com que apresente riscos para o meio ambiente, especialmente para serviços de ecossistemas microbianos (KIM et al., 2020, STUCKEY e OH, 2018, CUI et al, 2014, GIRARDI et al., 2011, MAUL et a., 2006). Por exemplo, JOHANSSON et al. (2014) demonstram que a ciprofloxacina pode

causar um rearranjo na utilização da fonte de carbono em biofilmes marinhos naturais (perifíton), indicando uma mudança na biodiversidade e/ou função da comunidade.

Tabela 8 – Toxicidade da CIP para diferentes organismos aquáticos

Espécies	Parâmetro	Efeitos	Valor (mg L⁻¹)	Referências
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (alga)	CE50 _{72h}	Inibição do crescimento	11,3	MAGDALENO et al. (2015)
<i>Chlorella vulgaris</i> (alga)	CE50 _{96h}	Inibição do crescimento	20,6	NIE et al., (2008)
<i>Desmodesmus subspicatus</i> (alga)	CE50 _{72h}	Inibição do crescimento	8,04	EBERT et al., (2011)
<i>Anabaena flos-aquae</i> (cianobactéria)	CE50 _{72h}	Inibição do crescimento	0,0102	
<i>Microcystis aeruginosa</i> (cianobactéria)	CE50 _{120h}	Inibição do crescimento	0,017	ROBINSON et al., (2005)
<i>Lemna minor</i> (macrófita)	CE50 _{7dias}	Inibição do crescimento	3,75	MARTINS et al. (2012)
<i>Lemna gibba</i> (macrófita)	CE50 _{7dias}	Inibição do crescimento	0,697	BRAIN et al., (2004)
<i>Vibrio fischeri</i> (bactéria)	CE50 _{15min}	Perda bioluminescência	41,0	PARENTE et al (2018)
<i>Tetrahymena thermophila</i> (protozoário)	CE50 _{24h}	Inibição do crescimento	> 100	ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ Et Al., (2011)
<i>Artemia salina</i> (crustáceo)	CE50 _{24h}	Imobilidade	> 100	
<i>Daphnia magna</i> (crustáceo)	CE50 _{48h}	Imobilidade	65,3	MARTINS et al. (2012)
<i>Gambusia holbrooki</i> (peixe)	CL _{96h}	Letalidade	> 60	
<i>Danio rerio</i> (peixe)	CL _{96h}	Letalidade	> 100	ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ Et Al., (2011)
<i>Lebistes reticulatus</i> (peixe)	CL _{96h}	Letalidade	> 100	

Fonte: autor da tese.

2.1.7 Legislação

A crescente preocupação com as possíveis ameaças à biota aquática e à saúde humana tem levado alguns órgãos internacionais reguladores na atuação do desenvolvimento de listas de poluentes prioritários. Por exemplo, a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) possui uma lista de substâncias prioritárias

de contaminantes não regulamentados que devem ser monitorados (EPA, 2016). A União Europeia iniciou ações para levantar os compostos prioritários para serem legisladas desde 1999 (MONTAGNER et al, 2017). Em 2015, foi lançada uma lista de observação (“*Watch list*”) na decisão 2015/495¹ para o monitoramento de alguns contaminantes emergentes. A Austrália possui um guia com diretrizes sobre água potável (*Australian Drinking Water Guidelines, ADWG*) que fornece diretrizes legislativas para contaminantes emergentes no esgoto tratado (NHMRC, 2008). No Brasil ainda não há legislação que determine quantidades seguras desses contaminantes na água.

Diversos países ainda não realizam o programa de monitoramento contínuo de medicamentos em água potável devido ao alto custo, baixa disponibilidade de tecnologias e métodos analíticos, além da falta de infraestrutura laboratorial (ARAGÃO et al., 2020).

2.2 Ecotoxicologia

A Ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que permite a interação da ecologia (ocupa-se das relações entre os seres vivos e o ambiente) com a toxicologia (avalia os efeitos adversos de determinada substância num dado organismo, procurando identificar o mecanismo de ação tóxica), possibilitando, assim, o estudo dos efeitos das substâncias químicas sobre sistemas biológicos e a interação com seu habitat (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Esta ciência é relativamente nova quando comparada às demais ciências tendo em vista que foi reconhecida mundialmente a partir dos anos 1960 (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). A Ecotoxicologia foi inicialmente definida por TRUHAUT em 1977, e posteriormente por BUTLER (1978) passou a ser definida como:

“ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre organismos vivos, populações, comunidade, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que consistem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado” (Rand, 1995).

¹ <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015D0495&from=EN>

A Ecotoxicologia possui uma visão abrangente com o objetivo de explicar e prever efeitos ou fenômenos de exposição em diferentes níveis de organização biológica (KLAASSEN et al., 2019). Os efeitos adversos ocorrem como resultado de uma cadeia de eventos que começam no nível molecular, propagando para níveis mais elevados (celular, tecidos, órgãos), podendo se tornar aparentes *in vivo* como uma toxicidade sistêmica ou específica de órgãos, sendo que estas alterações podem afetar a viabilidade da população, estrutura e processos de comunidades e ecossistemas (FILIP et al., 2020).

Os ensaios de toxicidade consistem na exposição de organismos-teste a uma série de concentrações de um componente químico, junto com um controle negativo (branco) em paralelo, sendo que ao final do experimento, os critérios de avaliação de interesse (“*endpoints*”, e.g: crescimento, letalidade, número de descendentes) são determinados, obtendo uma curva dose-resposta a partir dos parâmetros avaliados (FILIP et al., 2020).

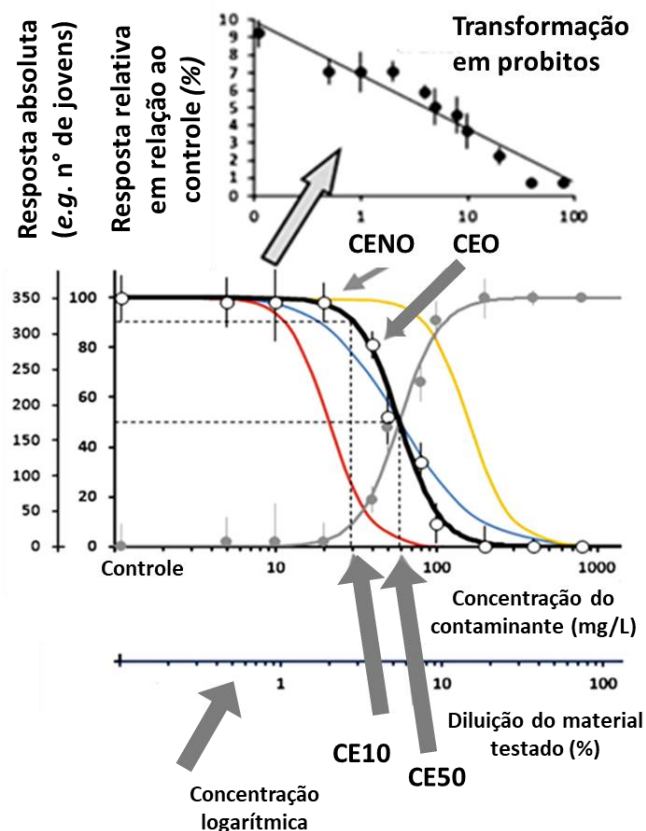
Os ensaios de toxicidade para medir efeito agudo e crônico dos contaminantes são amplamente aplicados para a avaliação dos efeitos das substâncias sobre os organismos do ambiente aquático (SOUZA et al., 2020). Os ensaios de toxicidade aguda se baseiam na avaliação de efeitos, em geral severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao agente químico em um curto período (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Os critérios de avaliação mais comuns são a mortalidade, embora comportamentos anormais ou diferentes efeitos possam ser comumente observados (efeitos não letais) (KLAASSEN et al., 2019). Ademais, ensaios de toxicidade aguda são úteis para a triagem rápida, fornecem informações sobre os limites para efeito e toxicidade seletiva e comparativa e ainda podem ser utilizadas para a determinação de faixas de concentrações para estudos posteriores (KLAASSEN et al., 2019).

Por sua vez, os ensaios de toxicidade crônica determinam os efeitos das substâncias aos organismos durante longos períodos e/ou gerações posteriores (toxicidade crônica, ciclo de vida, reprodução) (KLAASSEN et al., 2019). Basicamente, os ensaios apresentam três variações: ensaios com todo o ciclo de vida de uma espécie, com parte do ciclo de vida em que se utiliza o estágio mais sensível ou crítico, e testes funcionais cujos efeitos das substâncias

são avaliados sobre várias funções fisiológicas dos organismos (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Os resultados normalmente são expressos em concentrações que causam efeito a 50% dos organismos como CL₅₀ (Concentração Letal Mediana), CE₅₀ (Concentração Efetiva Mediana), CI₅₀ (Concentração de Inibição Mediana) (BLÁHA e HOFMAN, 2020). Os resultados também podem ser expressos na forma de Concentração de Efeito Não Observado (CENO), que é a maior concentração em que não houve a presença de efeitos, e na forma de Concentração de Efeito Observado (CEO), que representa a menor concentração em que foi observado efeito (Figura 5) (KLAASSEN et al., 2019).

Figura 5 – Parâmetros de ecotoxicidade (CENO, CEO, CE50 ou CL50, etc.) derivados da curva de concentração-resposta



Fonte: adaptado de BLÁHA e HOFMAN (2020).

Os ensaios ecotoxicológicos também podem ser classificados de acordo com a renovação das amostras, podendo ser classificado em teste estático (não há renovação do meio), semi-estático (teste com renovação periódica – com intervalos definidos) ou sistema de fluxo contínuo, sendo que as

características das amostras (volatilidade, solubilidade, bioacumulação) e o tipo de ensaio (toxicidade aguda ou crônica) influenciam na escolha do ensaio aplicado (NEWMAN, 2015).

Os organismos aquáticos são reconhecidos como bioindicadores de contaminação ambiental, pois apresentam repostas comportamentais, fisiológicas e bioquímicas de importante relevância, visto que fornecem os possíveis potenciais de perigo de novos compostos químicos e a possibilidade de contaminação ambiental (HAUSER-DAVIS e PARENTE, 2018).

Os ensaios ecotoxicológicos utilizam uma variedade de espécies aquáticas como algas, invertebrados, girinos, bivalves, camarões e peixes (FILIP et al., 2020). Em princípio, a abordagem de escolha leva em consideração os principais pilares estruturais da comunidade biológica, ou seja, as espécies são selecionadas com base não apenas no uso tradicional do laboratório, mas também baseado a relevância ecológica (KLAASSEN et al., 2019). As espécies representativas de diferentes grupos como produtores (organismos autotróficos como algas e plantas), consumidores (invertebrados e vertebrados) e decompositores (microrganismos) são utilizadas como modelos para os testes de toxicidade (FILIP et al., 2020).

Atualmente, vários ensaios de toxicidade se encontram estabelecidos por meio de normas elaboradas por associações ou organizações como Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Association Française de Normalisation (AFNOR), American Water Work Association (AWWA), American Society for Testing and Materials (ASTM), Deutches Institut fur Normung (DIN), International Organization for Standardization (ISO) e Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Nos itens a seguir serão discutidos os organismos utilizados no presente estudo.

2.2.1 *Daphnia similis*

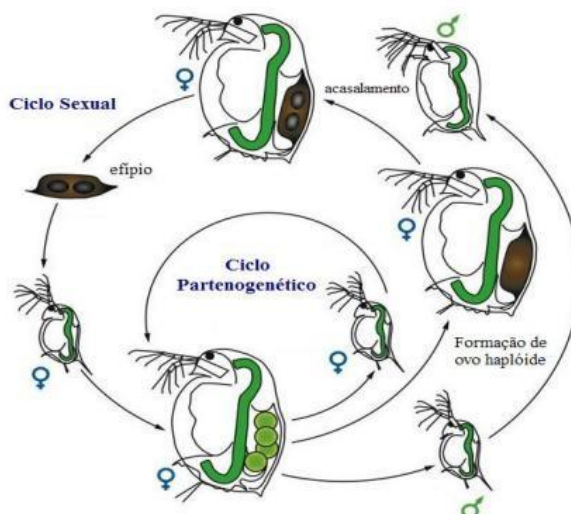
O microcrustáceo *Daphnia* é uma das espécies amplamente estudadas, com história de vida e evolutiva relativamente bem conhecida (CHIN e CRISTESCU, 2021). Estes organismos são amplamente utilizados em ensaios ecotoxicológicos para a avaliação da toxicidade aguda e crônica de diversos

agentes químicos e efluentes devido à boa sensibilidade a diversos contaminantes aquáticos, à facilidade de cultivo em laboratório e à reprodução por partenogênese que permite a constante sensibilidade do organismo (BURATINI et al., 2004)

A *Daphnia similis*, também conhecida popularmente como pulga d'água, é um microcrustáceo filtrador pertencente à Ordem Cladocera, e faz parte do zooplâncton de água doce (RUPPERT e BARNES, 1996). Este organismo é facilmente encontrado em lagos e represas de águas continentais, sendo que a distribuição geográfica de *D. similis* ocorre em diversos locais como Europa, Oriente Médio, ao norte das montanhas Pamir e Himalaia, Mongólia, Norte da China, e norte do Japão (HUDEC, 1991).

As espécies *Daphnia* medem cerca de 0,5 a 5,0 mm, possuem uma carapaça bivalve transparente que recobre todo o corpo, exceto a cabeça e antenas e alimentam-se basicamente de algas, bactérias, protozoários e detritos orgânicos, os quais são capturados por filtração (ARAÚJO e BURATINI, 2007). Sua reprodução em condições normais ocorre por partenogênese, ou seja, de forma assexuada, em que as fêmeas produzem células diploides que originam descendentes com o mesmo genótipo, resultando em uma população composto apenas por fêmeas. A *Daphnia* torna-se reprodutiva de cinco a dez dias após o nascimento. Em condições favoráveis as crias possuem de 4 a 65 jovens, dependendo da idade dos organismos. No entanto, quando as condições se tornam desfavoráveis (superpopulação, falta de alimento, mudanças de temperatura) pode ocorrer o aparecimento de machos e fêmeas com dois ovos haploides, os quais são fecundados pelos machos. Esses ovos, envoltos em uma casca única, de cor escura e rígida são altamente resistentes às condições ambientais adversas e são denominadas de efípios. Quando essas condições se tornam favoráveis, os efípios eclodem dando origem a novas fêmeas e reinicia um novo ciclo partenogênico (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008, RUPPERT e BARNES, 1996) (Figura 6).

Figura 6 - Ciclo de vida de *Daphnia similis*



Fonte: <http://www.evolution.unibas.ch/eibert/publications/parasitismdaphnia/ch2f9.htm>.

2.2.2 *Vibrio fischeri*

A *Vibrio fischeri* é uma bactéria marinha, gram-negativa, flagelada, com formato de bastonete, não patogênica, que é amplamente distribuída em diversos ambientes marinhos subtropicais e temperados (ABBAS et al., 2018). Esta bactéria pode ser encontrada tanto como um organismo de vida livre (planctônico), ou vivendo em colônias, em órgãos produtores de luz em certas espécies de peixes e lulas, estabelecendo, assim, relações de simbiose (TISCHLER et al., 2019; RUBY e NEALSON, 1976). A luminescência emitida pela bactéria que vive em simbiose com organismos marinhos apresenta diversas vantagens para peixes, uma vez que esse sistema pode atuar na comunicação, defesa e/ou atração, e em troca, o hospedeiro por sua vez, fornece uma fonte estável de nutrientes (MEIGHEN, 1993). Além disso, as bactérias bioluminescentes também podem ser encontradas associadas a organismos marinhos vivendo como patógeno ou saprófito (LAKSHMI e ARUNAGIRINATHAN, 2014; ENGBRECHT et al., 1983).

Os ensaios de inibição de bioluminescência com a bactéria *Vibrio fischeri* têm sido aplicados frequentemente como um método de triagem primário em razão do custo e velocidade de análise, visto que estes testes são caracterizados pela facilidade de aplicação, confiabilidade, reprodutibilidade e alta

sensibilidade (ABBAS et al., 2018). Os testes fornecem respostas subletais, em que a produção de luz é diretamente proporcional a atividade metabólica da população de bactérias e a inibição da atividade enzima causa uma diminuição da bioluminescência (PARVEZ et al., 2006).

A base bioquímica e genética da bioluminescência bactéria, bem como o mecanismo regulatório, já foi elucidada (MEIGHEN, 1993). O mononucleótido de flavina reduzido (FMNH₂) apresenta um papel importante na reação de bioluminescência, sendo que FMN é reduzido a FMNH₂ após a reação com a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NAD(P)H). O FMNH₂ resultante reage com O₂ na presença do aldeído e da enzima luciferase, produzindo uma substância intermediária estável que se decompõe lentamente enquanto emite uma luz azul-esverdeada com sua maior intensidade em 490 nm (ABBAS et al., 2018; PARVEZ et al., 2006; INOUYE, 1994).

A bioluminescência está diretamente associada à respiração, por meio do transporte na cadeia de elétrons, que sofre interferência na produção de energia durante a exposição às substâncias tóxicas e acarreta a redução da intensidade da luz, sendo que a intensidade da luz é afetada pelo ritmo circadiano, portanto, a luminescência se torna mais forte durante o dia e se difunde à noite (ABBAS et al., 2018).

2.2.3 *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras são fungos unicelulares, amplamente distribuídos, que têm atraído a atenção devido ao rápido crescimento e alta eficiência metabólica (WANG, Y. et al., 2018). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um modelo eucariótico que tem sido amplamente utilizado, devido à disponibilidade do mapeamento genético, baixo custo e rápido crescimento das cepas, podendo ser utilizadas como modelos em avaliação de risco de medicamentos por meio da biotransformação pelo citocromo P450, cujo metabolismo é um dos principais responsáveis pela toxicidade de drogas (VAN LEEUWEN, 2012). Esta levedura consiste em um modelo eucariótico estudado em campos da genética, bioquímica e biologia celular e molecular (MIRISOLA et al., 2014).

Na literatura, ainda há poucos ensaios relacionados ao uso de leveduras para a determinação dos efeitos tóxicos sobre fármacos e suas respectivas misturas. Ressaltando, assim, a necessidade do desenvolvimento de novos estudos. Na Tabela 9 consta um levantamento sobre as principais aplicações de levedura em ensaios de toxicidade.

Tabela 9 - Aplicações de Ensaios com Leveduras

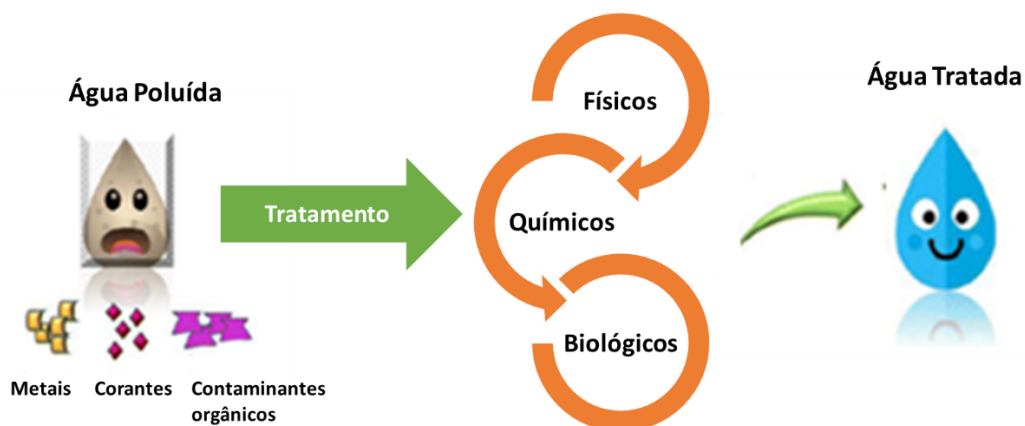
<i>Tipo de ensaio</i>	<i>Condições do ensaio</i>	<i>Substâncias avaliadas</i>	<i>Referência</i>
<i>Ensaio de toxicidade com levedura (YTT)</i>	Avalia a produção de gás durante o processo de fermentação/16h	Efluentes de industriais farmacêuticas	HRENOVIC et al., (2005)
<i>Ensaio de toxicidade</i>	Inibição na Síntese (ATP)/ 30 min	Azoxistrobina, Cymoxanil e Diuron	ESTÈVE et al., (2009)
<i>Ensaio de toxicidade</i>	Viabilidade celular/ 60 minutos	Atropina, fenitrotiona, cianeto de potássio, cloridrato de mercúrio e nitrato de chumbo	RUMLOVA e DOLEZALOVA (2012)
<i>Teste condutométrico</i>	Alterações na condutividade do meio/ 30 min	Acotina, trióxido de arsênio, atropina, fenitrotion, cloreto de mercúrio, nitrato de chumbo, cianeto de potássio, fenol, etc	DOLEZALOVA e RUMLOVA (2014)
<i>Ensaios de genotoxicidade</i>	Ensaio Cometa	Nanopartículas de ouro	SUVARNA et al., (2017)

Fonte: autor da tese.

2.3 Tecnologias aplicadas para o tratamento de águas residuais

O problema relacionado à presença de fármacos no meio ambiente necessita de uma abordagem multidisciplinar, tendo em vista a demanda de abordagens práticas e métodos efetivos para a remoção destas substâncias utilizando diferentes processos de tratamento (GWOREK et al., 2019). Devido ao aumento da concentração de contaminantes e da complexidade dos efluentes municipais e industriais, a demanda por tecnologias mais eficientes torna-se cada vez mais necessária. Desta forma, diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas, conforme demonstrado pela Figura 7.

Figura 7 - Técnicas convencionais e avançadas usadas para águas residuais



Fonte: Adaptado de RASHID et al (2021).

Os métodos de remoção de fármacos podem ser classificados em três categorias: métodos físicos, químicos e biológicos (WANG e WANG, 2016). Os processos físicos se baseiam na transferência de massa para a remoção dos poluentes (RASHID et al, 2021), ao passo que processos biológicos envolvem a degradação/digestão aeróbia e anaeróbia de nutrientes e compostos orgânicos, ou seja, a biodegradação (OLUWOLE et al., 2020).

Os métodos químicos envolvem processos de oxidação avançada, que têm se demonstrado como uma tecnologia promissora para os desafios associados ao tratamento convencional em ETEs, que incluem a degradação incompleta de poluentes orgânicos, formação de lodo, formação de poluentes secundários e o alto custo (OLUWOLE et al., 2020). De modo geral, os métodos químicos são simples, rápidos, eficientes e apresentam diversas abordagens em relação aos oxidantes (RASHID et al, 2021). Estes processos serão detalhados no item a seguir.

2.3.1 Processos oxidativos avançados

Processos oxidativos avançados (POAs) têm sido considerados como uma técnica importante para o tratamento de águas residuais devido à remoção efetiva dos contaminantes (RASHID et al, 2021, OLUWOLE et al., 2020). Esses

processos têm sido comumente aplicados como uma alternativa interessante para a remoção de poluentes perigosos (OLUWOLE et al., 2020).

Os POAs envolvem a formação “*in situ*” de espécies altamente reativas de oxigênio (ROS) com baixa seletividade como radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e superperóxidos (O_2^\bullet), H_2O_2 , O_3 e sulfatos, possibilitando a mineralização completa para CO_2 , H_2O e íons e ácidos inorgânicos (MA et al., 2021, KANAKARAJU et al., 2018). Dentre os diversos radicais oxidantes, o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) tem uma forte capacidade de oxidação, com um potencial padrão de redução de 2,8 eV (MA et al., 2021). Como exemplos de POAs destacam-se processos como fotocatalise (JALLOULI et al., 2018), foto-Fenton (BANSAL et al., 2018); ozonização (ASHRAF et al., 2016), radiação ionizante (CHANGOTRA et al., 2019), dentre outros.

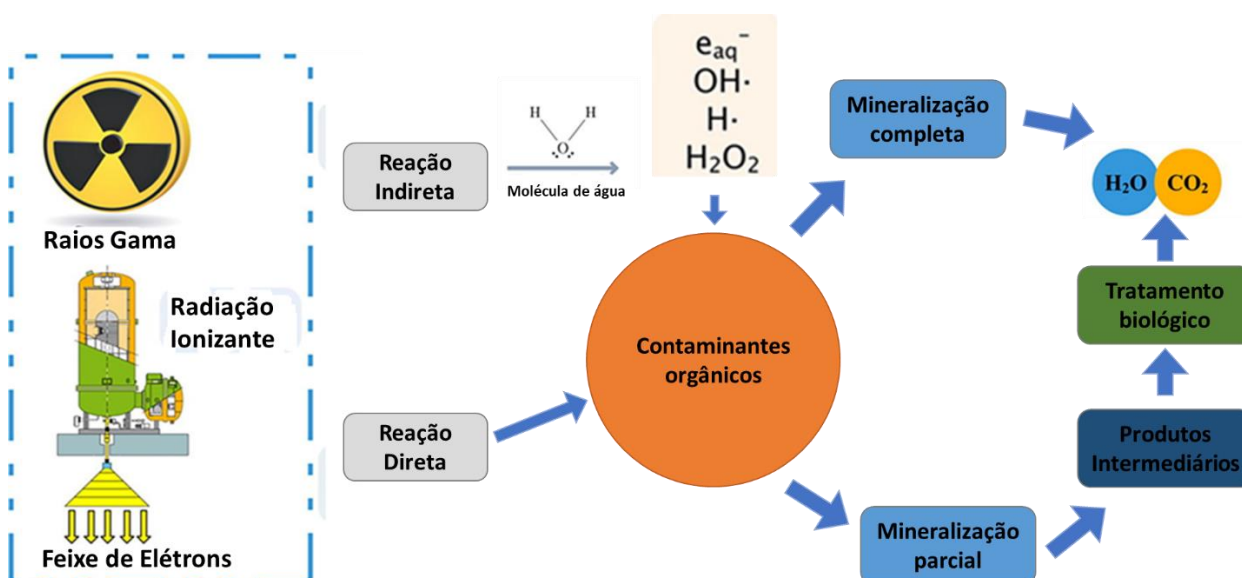
Embora os Processos Oxidativos Avançados sejam considerados como uma tecnologia capaz de degradar vários poluentes persistentes (corantes, fenóis, pesticidas, fármacos, polímeros), muitos POAs ainda apresentam limitações relacionadas à viabilidade comercial (BANSAL et al., 2018). Normalmente, esses métodos químicos ocorrem em escala de bancada e são economicamente inviáveis para pequenas indústrias (RASHID et al., 2021). Entretanto, os processos baseados em radiações ionizantes de alta energia são mais econômicos e eficazes em larga escala comparada a outras técnicas utilizadas para remover micropoluentes persistentes (RIVERA-UTRILLA et al., 2013).

De modo geral, a sustentabilidade da indústria nuclear é administrada por seu desempenho técnico competitivo, viabilidade econômica e práticas operacionais seguras (ABDEL-RAHMAN e HUNG, 2020). Estima-se que o custo total (incluindo operação, capacidade e descarga de água) para o tratamento por feixe de elétrons seja de 0,29 US\$/ m^3 para 10,000 m^3/dia e que o valor de custo reduza com o aumento do volume tratado (0,041 US \$/ m^3 para o tratamento de 200,000 m^3/dia) (HOSSAIN et al., 2018).

2.3.2 Radiação Ionizante e meio ambiente

As aplicações da radiação ionizante se estendem para as mais diversas áreas como saúde, energia, indústria, agricultura e meio ambiente (IAEA, 2020, 2008, 2003). Na área ambiental, esta tecnologia pode ser aplicada para o tratamento de gases tóxicos e a decomposição de componentes orgânicos em efluentes líquidos (KUDO, 2018, CHMIELEWSKI, 2011). Em relação aos tratamentos de águas residuais, a radiação ionizante tem sido aplicada para a remoção de agrotóxicos, herbicidas e fungicidas, tratamento de corantes, produtos farmacêuticos, petroquímicos, além de ser aplicada para a desinfecção de águas residuais e lodo (ABDEL-RAHMAN e HUNG, 2020).

Figura 8 - Princípios da radiação ionizante para a decomposição de poluentes orgânicos



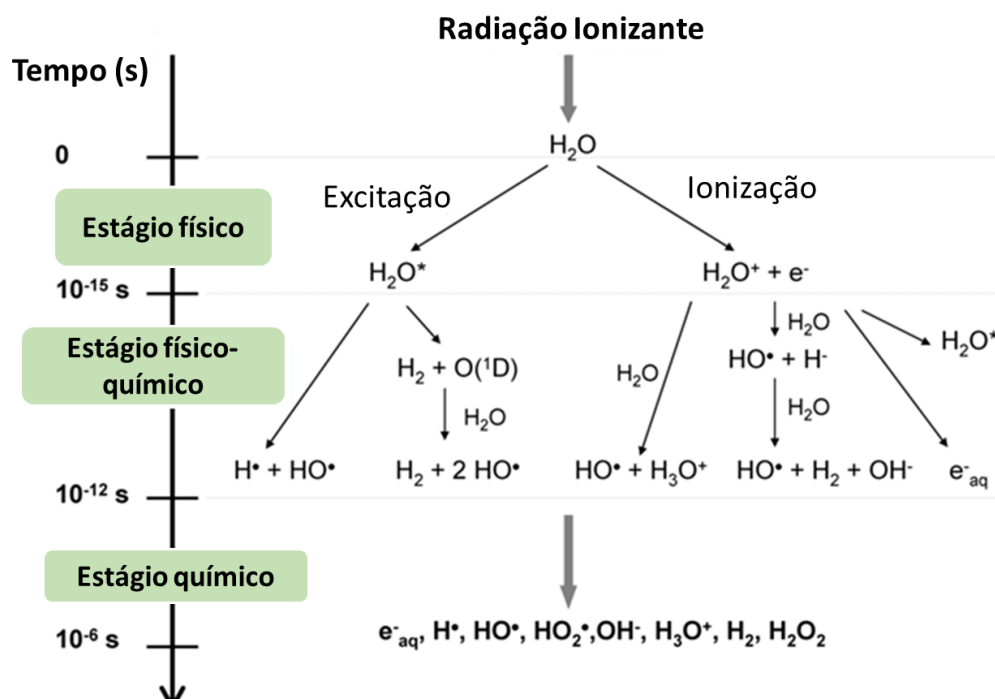
Fonte: adaptado de WANG e ZUAN (2020).

A radiólise é definida como a dissociação de moléculas por radiação nuclear, resultando na clivagem de uma ou várias ligações químicas a um fluxo de alta energia (TROJANOWICZ et al., 2017).

Os mecanismos primários dos processos na radiólise de água que incluem a excitação e ionização de moléculas por radiação ionizante, formação e subsequente reação dos produtos da radiólise estão bem estabelecidos quantitativa e qualitativamente (ABDEL-RAHMAN e HUNG, 2020).

Conforme descrito pela literatura, a radiólise da água pode ser dividida em três etapas (Figura 9):

Figura 9 – Principais reações que ocorrem durante a radiólise da água



Fonte: adaptado de LE CAËR (2011).

Na primeira etapa do processo (estágio físico), que ocorre na cerca de $1 \cdot 10^{-15}$ s, há a formação de moléculas ionizadas/excitadas. No segundo estágio (físico-químico), que ocorre entre 10^{-15} e 10^{-12} s, ocorrem diversos processos que levam à quebra das ligações químicas das moléculas que sofreram ionização. Por fim, durante o estágio químico (10^{-12} a 10^{-6} s), as espécies reativas podem reagir entre si ou com as moléculas circundantes no soluto (LE CAËR, 2011, SPINKS e WOODS, 1990, BUXTON, 1987).

A degradação dos poluentes ocorre por meio de reações com espécies altamente reativas, como elétron hidratado, radicais $\bullet OH$ e H^\bullet , formados pela radiólise da água (BUXTON et al., 1988). O radical hidroxila ($\bullet OH$) é um intermediário altamente oxidante com alto potencial de redução padrão e é indicado como o principal intermediário que induz a degradação de moléculas orgânicas, enquanto o e^-_{aq} e o H^\bullet apresentam propriedades redutoras (WOJNÁROVITS e TAKÁCS, 2017).

A quantidade de energia que é transferida da radiação ionizante para a matéria é definida como dose absorvida, sendo a unidade definida pelo Sistema Internacional de Unidade para dose absorvida como Joule por quilograma ($\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}$), a qual é dada o nome especial de Gray (Gy), previamente chamado de rad. A relação entre essas unidades por ser definida por $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1} = 100 \text{ rad}$ (INMETRO, 2007).

2.3.4 Aceleradores industriais de elétrons

Diversos países têm conduzido estudos para avaliação da viabilidade do uso da radiação ionizantes para o tratamento de águas residuais tanto na forma de irradiação gama (γ) ou pela irradiação por feixe de elétrons (e^-) (ABDELRAHMAN e HUNG, 2020, HOSSAIN et al., 2018, IAEA, 2008).

Os aceleradores de elétrons fazem parte da categoria dos aceleradores de partículas, ou seja, são dispositivos capazes de acelerar partículas subatômicas de valores muito baixos até alguns milhões e vários bilhões de elétrons-volt (eV) e altas energias cinética por meio da combinação entre campos elétricos e magnéticos (ROMANELLI, 2004). Todos os acelerados de elétrons incluem uma fonte de elétrons, uma câmara de aceleração evacuada e um sistema para a extração do vácuo e distribuição sobre a superfície do produto (SOMESSARI et al., 2007).

Apesar de toda a quantidade energia envolvida, o aparato é conceitualmente bastante semelhante a um aparelho de tubo catódico (CAPODAGLIO, 2019). O funcionamento constitui-se devido à formação de um potencial de alta voltagem que é estabelecido entre o cátodo e o ânodo no vácuo, sendo que por meio da alteração da variação do potencial aplicado à aceleração de elétrons é possível variar a energia cinética e conseqüentemente o poder de penetração (ROMANELLI, 2004). A tensão e a corrente podem ser ajustadas para controlar a profundidade de penetração do feixe no meio exposto (proporcional à energia) e a taxa de dose (proporcional a corrente) (CAPODAGLIO, 2019, VAN DYK e MACDONALD, 1972).

O processo de irradiação por feixe de elétrons é uma tecnologia altamente econômica, visto que não é necessária a adição de produtos químicos

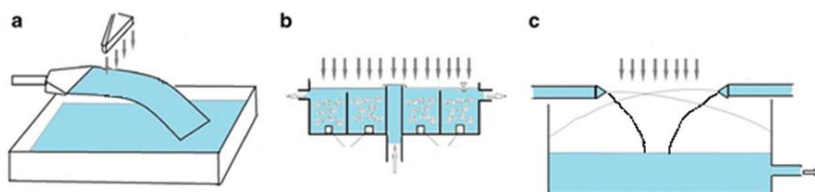
nem de catalisadores (IAEA, 2003). Ademais, a irradiação por feixe de elétrons possui vantagens como a capacidade de direcionar a radiação ao ponto de ação, facilidade para combinar os requisitos de processamento, implementação de altas taxas de dosagem, controle e desconexão da fonte de radiação a qualquer momento e a disponibilidade de altas potências do feixe (HOSSAIN et al., 2018). Além disso, esperam-se também vantagens como o uso de pequenas áreas de instalações, não formação de poluentes secundários, segurança, operação contínua, controle automático (IAEA, 2003).

Os aceleradores industriais de elétrons vêm sendo utilizados em escala industrial por mais de 50 anos e apresentam crescente aumento em termos de escala econômica e aplicações (MACHI, 2011). O mercado de aceleradores industriais tem crescido e se tornado significativo nas últimas décadas (DOYLE et al., 2019).

Segundo HAN et al (2011), o fator mais importante na economia é o custo do uso do acelerador, visto que os fabricantes de aceleradores produzem diferentes tipos de aceleradores de elétrons, com faixa de energia variando de 0,5 a 10 MeV, e faixa de potência do feixe variando entre 50 e 600 kW. De acordo com os autores, o feixe de elétrons com energia deve ser maior que 1,0 MeV para o tratamento de águas residuais e lodo de esgotos, sendo que para viabilizar a competição econômica com outros processos na avaliação econômica, o sistema deve ser operado com baixas doses.

Uma limitação prática do processo de irradiação por feixe de elétrons a ser superado consiste na penetração do elétron na água. Segundo MEHNERT (1996), para penetrar em camadas de água de pelo menos alguns milímetros, são necessárias energias acima de 500 keV. Contudo, a penetração pode variar dependendo da energia do tipo de feixe (TROJANOWICZ et al., 2017). Logo, diferentes tipos de designs têm sido desenvolvidos para permitir a irradiação de fluxo contínuo (Figura 10).

Figura 10 - Diagramas esquemáticos de diferentes de instalações para a irradiação por feixe de elétrons para processamento de água e esgoto (a) “Weir” (b) Fluxo ascendente com mistura de bolhas (c) injeção de bico



Fonte: adaptado de TROJANOWICZ et al., (2017).

No Brasil, o Centro de Tecnologia das Radiações (CETER), localizado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) um acelerador industrial de elétrons que vem sendo utilizado tanto em fins comerciais (fios e cabos elétricos, semicondutores, esterilização de dispositivos médicos e farmacêuticos, folhas de espuma de polietileno) quanto para pesquisa e desenvolvimento (tratamento de águas residuais, modificação de polímeros, cura de superfície, irradiação de alimentos) (CALVO et al., 2012).

Atualmente, o IPEN² está terminando a fabricação de uma unidade móvel com Acelerador Industrial de Elétrons que visa o uso para o tratamento de efluentes industriais para possível reuso ou descarte. Além disso, o caminhão tem capacidade de tratar até 1000 m³ de líquido por dia. O “Projeto da Unidade Móvel com Acelerador Industrial de Elétrons” foi apresentado em parceria com SENAI-SP Truckvan Indústria e Comércio e a empresa coreana EB-Tech Co Ltd com o apoio da Agência Internacional de Energia Atômica³.

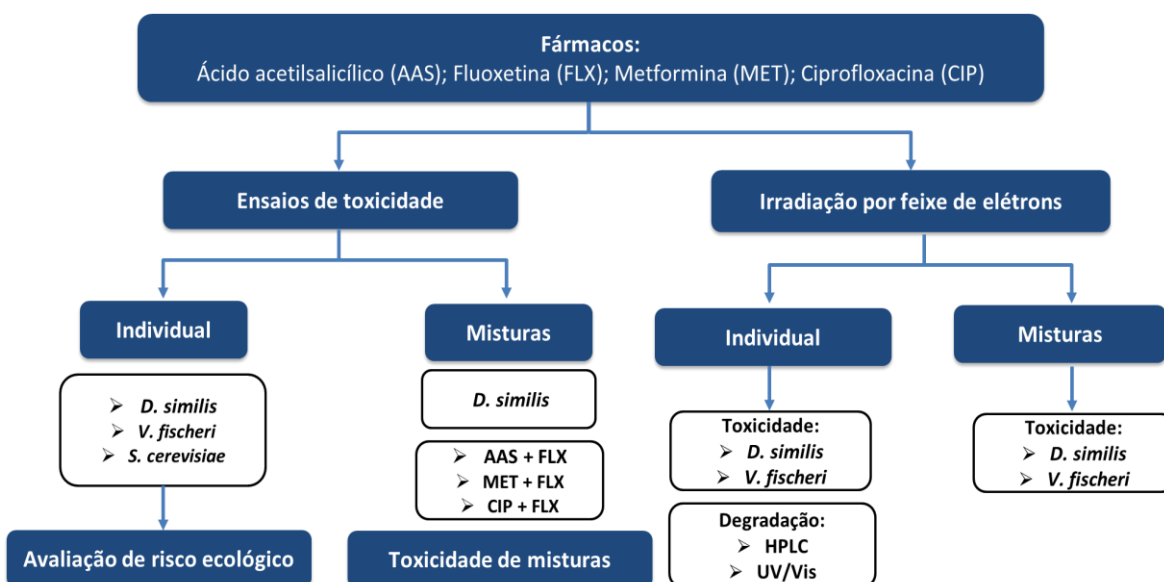
² https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=39&campo=16170

³ https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=38&campo=5123

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia do presente trabalho consistiu na avaliação da toxicidade de quatro fármacos (antidepressivo, anti-inflamatório, antidiabético e antibiótico) e de suas misturas, todas em solução aquosa. Uma segunda etapa do estudo consistiu no emprego da radiação ionizante como uma tecnologia para auxiliar na degradação e remoção de toxicidade de fármacos. O fluxograma, representado na Figura 11, mostra o esquema dos experimentos realizados ao longo do trabalho.

Figura 11 - Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente estudo

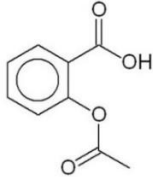
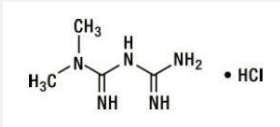
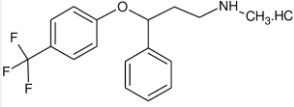
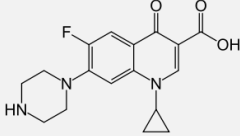


Fonte: autor da tese.

3.1 Fármacos

O ácido acetilsalicílico foi obtido da Labsynth; o cloridrato de fluoxetina foi adquirido da Divis Pharmaceuticals Pvt. Ltd; o cloridrato de metformina e o ciprofloxacino foram obtidos da Sigma-Aldrich. As propriedades referentes aos fármacos utilizados durante o estudo estão representadas na Tabela 10.

Tabela 10 - propriedades físico-químicas dos fármacos em estudo

	Ácido acetilsalicílico	Metformina	Fluoxetina	Ciprofloxacino
CAS	50-78-2	1115-70-4	54910-89-3	85721-33-1
IUPAC	Ácido 2-acetoxibenzóico	N,N-dimetilbiguanida	N-metil-γ-[4-(trifluorometil)fenoxi]-benzenopropanamina	Ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ilquinolina-3-carboxílico
Pureza	>99,5%	97%	98,8%	≥ 98%
Fórmula molecular	C ₉ H ₈ O ₄	C ₄ H ₁₁ N ₅	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO·HCl	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃
Fórmula estrutural				
Massa Molar (g.mol ⁻¹)	180,16	165,62	309,33	331,34
Solubilidade (mg L ⁻¹)	4600 ^a	300,000 ^b	60,3 ^c	30,000 ^d
pKa (20°C)	3,5 ^a	12,4 ^b	10,6 ^c	6,1 ^d
Log Kow	1,2 ^a	-4,9 ^b	1,22 – 4,67 ^c	0,28 ^d

a (ZIYLAN e INCE, 2011); b (BRIONES et al., 2016); c (OAKES et al., 2010), d (SAHLIN et al., 2018)

Fonte: autor da tese.

3.2 Irradiação das amostras por feixe de elétrons

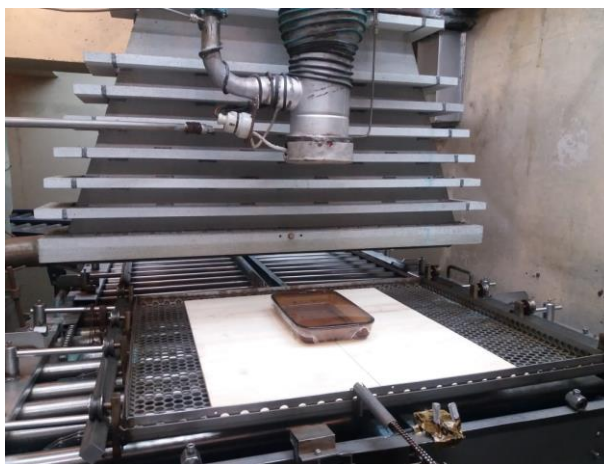
As amostras líquidas, contendo as soluções aquosas de fármacos, foram irradiadas em batelada em um Acelerador Industrial de Elétrons do tipo Dynamitron® com potência de 37,5 kW, localizado no Centro de Tecnologia das Radiações (CETER) no IPEN.

A energia do feixe de elétrons pode variar entre 0,5 a 1,5 MeV e a corrente elétrica de 0,3 até 25,0 mA, entretanto, durante os experimentos, a energia da máquina foi fixada em 1,4 MeV, variando apenas a corrente elétrica. As doses foram confirmadas com dosímetro Perspex, Harwell Red, Batch KZ tipo 4034, com variação menor que 5%. Com base em estudos anteriores (SILVA et 2016, TOMINAGA et 2018, BOIANI et al., 2019), foram aplicadas baixas doses (1,0 a 5,0 kGy) para as soluções de fármacos e com o intuito de viabilizar o custo operacional e minimizar a energia do processo.

Durante a irradiação, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente, em recipiente de vidro retangular (Pyrex®), com um volume de 246 mL,

de modo a assegurar 4 mm de espessura, e assim, garantir a máxima penetrabilidade dos elétrons. Os recipientes passaram sob o feixe de elétrons em uma esteira automática com a velocidade de $6,72 \text{ m min}^{-1}$. Metade da dose de radiação foi aplicada em cada passada da amostra (Figura 12). Para evitar possíveis contaminações e perdas de amostras, os recipientes foram recobertos com filme plástico durante o processo.

Figura 12 - Amostras das soluções de fármacos, contidas em vidro Pirex®, passando sob o feixe de elétrons, durante o tratamento no acelerador industrial de elétrons.



Fonte: autor da tese.

3.3 Ensaios de toxicidade

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados no Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais (LEBA), localizado no IPEN, ao passo que os ensaios com leveduras foram realizados em parceria com o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT). O cultivo e manutenção dos organismos-teste, bem como os ensaios de toxicidade aguda empregados para *D. similis* e *V. fischeri* seguiram as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT-NBR). A validação dos ensaios ocorreu com base em resultados obtidos com substâncias de referências, sendo utilizado o fenol para a *V. fischeri* e o cloreto de potássio para *D. similis*. Os ensaios crônicos com *D. similis* e os testes com leveduras foram realizados conforme metodologias previamente descritas na literatura.

3.3.1 Ensaio com bactérias *Vibrio fischeri*

Os ensaios de toxicidade aguda com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* seguiram as recomendações da normativa ABNT NBR 15411/2021. Os testes consistiram na exposição da bactéria por 15 minutos a uma amostra ou de uma série de diluições, verificando a inibição da emissão da bioluminescência. Foram utilizadas bactérias liofilizadas, adquiridas do mercado nacional, da marca Biolux®. Os lotes ficaram estocados sob refrigeração em freezer. O equipamento empregado foi o analisador de fotoluminescência Microbics® (M500 Toxicity Analyzer).

Inicialmente, foi realizada a reativação das bactérias com 1000 µL solução de tampão de reativação. De acordo com a norma, amostras com salinidade < 20 necessitam ser ajustadas, assim, a salinidade das amostras foram corrigidas utilizando-se o ajuste osmótico. Em seguida, foram preparados o controle e a devida série de diluição das amostras, utilizando a solução diluente (solução de 20 mg L⁻¹ de cloreto de sódio). As concentrações utilizadas foram equivalentes a 10,23%; 20,47%; 40,95% e 81,90%. Em alguns casos, não foi preparada a diluição seriada devido à baixa toxicidade da amostra. Duas sequências de cubetas foram dispostas no analisador Microbics®: a primeira com as amostras contendo o ajuste osmótico adequado e a segunda fileira de cubetas com 100 µL das bactérias reativadas. A partir da segunda sequência foram obtidos os valores de luminescência, a fim de calibrar o analisador. Posteriormente, foram obtidas as medidas de I₀ (luminescência inicial, sem a amostra). Em seguida, foram transferidas as respectivas amostras para as cubetas de leitura e após 15 minutos de exposição dos valores de I₁₅ foram registrados.

Os valores de oxigênio dissolvido, pH e condutividade de cada amostra foram registrados. Para as soluções-estoque de fármacos, o valor do pH inicial foi corrigido para 7,0 quando necessário, enquanto para as amostras irradiadas não foram realizadas alterações nas amostras.

Os resultados dos ensaios com *V. fischeri* foram baseados no valor do efeito gama (relação entre a luz perdida e a luz remanescente) para uma

determinada concentração da amostra. Aplicando-se uma análise de regressão linear com esses valores foram determinadas as CE50, com base na perda da bioluminescência da bactéria *V.fischeri*.

Nas amostras em que não foi possível calcular a CE50, os resultados foram expressos como fator de toxicidade (FT). O valor de FT não é calculável e foi expresso pelo valor do fator de diluição correspondente à maior concentração da amostra na qual não se observa inibição superior a 20 % dos organismos-teste.

A porcentagem de inibição (%) foi calculada por meio da equação 1 conforme descrito na ISO 11348-3:

$$INH\% = 100 - 100 \times \frac{IT_{15} \times IC_0}{IT_0 \times IC_{15}} \quad (1)$$

onde:

IC₀ - leituras iniciais das intensidades de bioluminescência do controle,

IT₀ - leituras iniciais das intensidades de bioluminescência das amostras,

IC₁₅ - leituras das intensidades de bioluminescência do controle após 15 minutos de exposição

IT₁₅ - leituras das intensidades de bioluminescência das amostras após 15 minutos de exposição

3.3.2 Ensaio com microcrustáceo *Daphnia similis*

O cultivo e a manutenção, bem como os ensaios de toxicidade aguda e crônica serão descritos nos itens a seguir:

3.3.2.1 Água de cultivo e de diluição

A água utilizada para a manutenção do cultivo da *D. similis* e para a diluição das soluções-estoque de fármacos e efluentes foi procedente de uma adutora no município de Salto/SP (Figura 13). Após a coleta de cada lote de água, a qualidade da água foi verificada por meio de ensaios de viabilidade, que consistiram na exposição de 10 organismos por 24h sem adição de alimento. O

critério de aceitação da qualidade para o uso consistiu em uma imobilidade dos organismos inferior a 10%.

Figura 13 - Adutora de Salto/SP



Fonte: autor da tese.

O lote de água coletado foi filtrado para a remoção de material particulado e organismos. Os parâmetros físico-químicos, como o pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade e a dureza da água, também foram avaliados após as coletas. As medições de pH foram efetuadas em um pHmetro de bancada da marca Micronal®, modelo B474 e as análises de OD e condutividade foram realizadas pelo analisador multiparâmetros medidor da marca HACH®, modelo HQ40d. A medição da dureza foi realizada pelo método titulométrico do EDTA de acordo com norma técnica da CETESB L5.124. Conforme a norma ABNT 12713/2016, os valores de dureza foram corrigidos, quando necessário, para aproximadamente $45 \pm 2 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. A fim de garantir uma saturação de oxigênio adequada e uma solubilização total dos sais utilizados para a correção da dureza, foi mantida aeração constante da água por um período de no mínimo 24 horas para a realização dos ensaios e trocas de água dos cultivos. Embora a norma recomende que o cultivo do pH seja mantido entre 7,0 e 7,6, por práticas e procedimentos do laboratório, não foi realizado o ajuste de pH em água natural.

3.3.2.2 Manutenção do cultivo

Os cultivos dos organismos foram mantidos em uma câmara de germinação em temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas luz e 8

horas escuro. As culturas foram mantidas em cristalizadores com capacidade de aproximadamente 2 litros, em que foram mantidos entre 30 a 40 organismos.

A renovação de água de cultivo ocorreu uma vez por semana, entretanto, a manutenção do cultivo foi realizada diariamente por meio da alimentação dos organismos e da remoção tanto dos organismos jovens (neonatos) e quanto das carapaças liberadas durante as mudas. Cada cultivo foi mantido por um período de 28 dias. A alimentação foi feita com microalga *Raphidocelis subcapitata* na concentração de 1 a 5×10^6 células por organismo e complementada com a ração líquida (RL).

A microalga foi cultivada no laboratório LEBA, durante uma semana no meio de cultura L. C. Oligo, que foi preparado conforme a ABNT 12648/2018, sob aeração e iluminação constante. Para atingir a concentração ideal da microalga, a suspensão algacea foi centrifugada por 5 minutos em uma centrífuga da marca Quimis®, modelo Q222T. A ração líquida foi preparada por meio da fermentação da ração para peixes em flocos da marca Alcon Basic® MEP Complex, realizada em um balão de destilação contendo 5,0 g de ração em 1,0 litro de água destilada, mantida sob forte aeração constante durante uma semana. No final do período, deixou-se a mistura decantar por 2 horas, e filtrou-se em rede de zooplâncton. Posteriormente, 50 mL da ração fermentada foi misturada a 0,5 g de fermento biológico e 75 mL de água destilada.

3.3.2.3 Ensaio de toxicidade aguda

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados conforme a norma ABNT NBR 12713/2016. Os testes foram do tipo estático e consistiram na exposição de neonatos (idade entre 6 a 24h) a diferentes diluições das amostras por um período de 48h, utilizando-se, no mínimo, de cinco diluições por amostra. Todos os testes foram acompanhados de um controle, que consistiu em um grupo de organismos expostos as mesmas condições do ensaio, entretanto, mantidos em água de cultivo.

Cada concentração foi distribuída em quatro tubos de ensaios contendo 10,0 mL da amostra. Os tubos foram levados para a aclimação, e

posteriormente, foram adicionados 5 organismos por tubo, totalizando 20 por concentração. Após esses procedimentos, os tubos de ensaio foram protegidos com filme plástico escuro, 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 20°C. Após 48h, foram registados o número de organismos imóveis.

Para as soluções-estoque de ácido acetilsalicílico, o valor do pH inicial foi corrigido para 7,0, enquanto para as amostras irradiadas não foram realizadas alterações nas amostras.

Os critérios de aceitação dos resultados consistiram em uma imobilidade no controle inferior ou igual a 10%. Os resultados foram expressos em CE50%, calculado por meio da análise de dados brutos da imobilidade da dafnia (%) em função das concentrações, obtidos pelo método Trimmed Spearman-Kärber com auxílio de programa computacional (HAMILTON et al, 1977). Este é um método não paramétrico com boas propriedades estatísticas, válido para curvas doses-respostas simétricas e assimétricas, fácil de utilizar e é recomendado para cálculos precisos de CE₅₀ e CL₅₀ com intervalo de confiança de 95% (COSTA et al., 2008).

Em alguns casos, os resultados foram expressos como fator de toxicidade (FT), que corresponde à maior concentração da amostra na qual não se observa imobilidade superior a 10 % dos organismos-teste.

3.3.2.4 Ensaio de toxicidade crônica

Os ensaios de toxicidade crônica com *D. similis* foram realizados conforme a norma OECD 211 (OECD, 2012). Os testes foram do tipo semi-estático e consistiram na exposição de neonatos (entre 6-24 horas obtidas a partir da terceira postura) a diferentes concentrações das soluções-teste. Foram utilizadas no mínimo de cinco diluições por amostra e a renovação das amostras ocorreu a cada 2-3 dias, sendo realizadas no mínimo 3 trocas durante a semana.

Todos os ensaios foram acompanhados de um controle, mantido nas condições dos ensaios mantidos em água de cultivo. Em cada recipiente

contendo 25,0 mL de amostra foi adicionado 1 neonato, totalizando-se de 10 réplicas. Os testes foram mantidos a 20 °C em uma incubadora com fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro. A alimentação foi realizada com microalga *R. subcaptata* na concentração de 1×10^5 células mL⁻¹.

O tempo de exposição foi de 21 dias, entretanto, também foi avaliado o tempo de 14 dias, baseado no estudo de LAMEIRA (2008). Ao final dos ensaios foram avaliadas a inibição da reprodução, baseada no número total de neonatos produzidos por fêmea, bem como sobrevivência dos organismos. Os critérios de aceitação dos resultados consistiram em uma mortalidade no controle inferior ou igual a 20%, sendo que durante o início e o final de cada ensaio, foram medidos os valores de oxigênio dissolvido, pH e condutividade das soluções-teste e do controle. As condições dos ensaios estão representadas na Tabela 11.

Tabela 11 - Condições dos ensaios de ecotoxicidade crônica com *D. similis*

Parâmetros	<i>D. similis</i>
Tipo de teste	Semi-estático
Diluições	Controle e cinco concentrações
Temperatura	20 °C
Fotoperíodo	16/08 horas/luz
Câmara-teste	Béqueres de 30 mL
Volume da solução-teste	25 mL
N° de neonatas/câmara	1
N° de réplicas/tratamento	10
Troca de soluções	2 a 3 dias com no mínimo 3 trocas/ semana
Alimentação	Algas (1×10^5 células mL ⁻¹)
Água de diluição	Natural
Duração dos ensaios	14 dias ou 21 dias, até 60% das fêmeas do controle apresentarem 3 posturas e média de neonatas por fêmeas ≥ 23 (14 dias) ou ≥ 60 (21 dias)
Efeito observado	Sobrevivência e reprodução de fêmeas adultas

Fonte: autor da tese.

A partir do número médio de organismos jovens produzidos por cada fêmea em cada concentração, foram calculadas a Concentração De Efeito Não Observado (CENO), que correspondem a maior concentração que não causa efeito deletério na sobrevivência e reprodução; e a Concentração De Efeito Observado (CEO), menor concentração que causa efeito deletério na sobrevivência e reprodução dos organismos. Os cálculos de CENO e CEO foram

obtidos por meio da análise de variância (ANOVA), seguido do teste estatístico de Dunnett.

A análise de variância é um procedimento aplicado para comparar a distribuição de três ou mais grupos independentes (KING, 2010). A ANOVA tem sido uma importante ferramenta estatística utilizada para pesquisa em múltiplos grupos experimentais e em um ou mais grupos controles, entretanto, esta análise não fornece informações detalhadas sobre as diferenças entre os vários grupos de estudo ou combinações complexas de grupos (MCHUGH, 2011).

Para compreender as diferenças entre os grupos, testes sobre as diferenças dos pares particulares de grupos experimentais e controles devem ser realizados (*Testes Post hoc*) (MCHUGH, 2011). O teste de Dunnet é um teste estatístico que requer a normalidade e a homogeneidade das variâncias, além de um número igual de réplicas para a sua aplicação (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Este método é bastante útil para avaliar dois um ou mais grupos experimentais em relação a um grupo controle (MCHUGH, 2011). O teste estabelece um valor de erro global (α), ajustando a região de rejeição de modo que a probabilidade de detectar uma diferença significativamente estatística entre uma concentração experimental e o controle é inferior a 0,05 (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

3.3.3 Carta controle de sensibilidade

O uso de substâncias de referência em laboratórios de Ecotoxicologia é um procedimento rotineiro que garante a qualidade analítica dos ensaios de toxicidade aguda e crônica, uma vez que os ensaios de toxicidade, como assim qualquer outro método, podem apresentar variabilidade nos resultados obtidos (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). O controle da sensibilidade dos organismos por meio de substâncias de referência é um procedimento que permite maior precisão e confiabilidade nos resultados.

De acordo com os procedimentos descritos nas Normas NBR 12713/2016 e 15411/2021, os ensaios com as substâncias de referência foram realizados periodicamente, nas mesmas condições dos ensaios definitivos. Os

ensaios com *Vibrio fischeri* utilizaram o fenol como substância de referência, enquanto os testes com *D. similis* empregaram o cloreto de potássio (realizados mensalmente).

Para que a garantia da qualidade analítica do estudo seja aprovada, os valores de CE50 obtidos para a substância referência devem estar dentro de um intervalo de confiança, com uma variabilidade inferior ou igual a 30%, expressa por meio do coeficiente de variação (CV), dado pela equação 2:

$$CV = \frac{S}{X} * 100 \quad (2)$$

Sendo:

S = desvio padrão, X= média dos resultados

3.3.4 Ensaios com leveduras *Saccharomyces cerevisiae*

Os ensaios de toxicidade com as leveduras *S. cerevisiae* foram realizados em parceria com o Laboratório de Biotecnologia Industrial - Núcleo de Bionanomanufatura do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT). As leveduras utilizadas nos experimentos foram obtidas de marca comercial desidratada FLEISCHMANN®.

3.3.4.1 Ensaios baseados na condutividade

Os ensaios de condutividade foram realizados de acordo com a metodologia adaptada descrita por DOLEZALOVA e RUMLOVA (2014), que se baseia no monitoramento das alterações da condutividade específica de suspensões de *Saccharomyces cerevisiae* devido à inibição da fermentação das leveduras em condições tóxicas.

Inicialmente, 20 mL contendo as amostras de fármacos foram pipetadas em tubos de ensaio contendo 2,0 g de açúcar. O controle foi realizado com soluções de sacarose sem a presença de substâncias químicas. Após a diluição, foi medida a condutividade específica das amostras contendo a sacarose. Em seguida, foi adicionado 1,0 g de leveduras em cada tudo e após 30

min foi medida novamente a condutividade específica. Os ensaios foram realizados em triplicata a 25°C.

De acordo com os autores, é necessário ajustar os valores de condutividade específica, obtidos pela diferença entre a condutividade específica da solução de açúcar e a condutividade específica da suspensão de levedura.

Em seguida, foram calculadas as condutividades específicas médias corrigidas da suspensão e das suspensões-controle. Caso a diferença entre as médias corrigidas entre as suspensões das amostras e do controle forem superiores a 10%, é assumido que as amostras apresentam toxicidade. Os valores de $CE_{50_{30min}}$ foram obtidos por regressão linear, e este valor representa a concentração do agente tóxico que causa uma alteração de 50% da condutividade específica média corrigida em comparação com o controle (Condutividade Específica Relativa - C_{ER}).

3.3.4.2 Ensaio de viabilidade celular (azul de metileno)

Os ensaios de viabilidade celular foram realizados conforme RUMLOVA e DOLEZALOVA (2012). Esta metodologia de coloração foi aplicada para determinar o número de células viáveis presentes em uma suspensão celular por meio da contagem de células não viáveis que retêm o corante (azul) e das células viáveis (sem coloração).

Foram suspensas em 10 mL da solução contendo o contaminante 0,1 g de leveduras. Os controles foram preparados paralelamente com apenas água. Após 60 minutos de exposição, a suspensão foi diluída 10x e, em seguida, 50 µL da suspensão de células diluídas foram misturadas com 50 µL da solução de azul de metileno (0,01% em tampão fosfato pH 4.6). A observação e contagem foram realizadas em câmara de Neubauer. A contagem foi realizada em no mínimo 15 campos visuais, com uma quantidade de células correspondentes de 50 a 150 células no campo visual do microscópio, tendo em vista que um número elevado de células dificulta a contagem nos campos visuais, e um número pequeno de células pode gerar uma imprecisão nos resultados.

A percentagem de células viáveis foi obtida pela relação entre o número de células viáveis pelo número total de células contadas. A partir dos resultados obtidos, os valores foram corrigidos em percentagem (%P), considerando o controle como $P = 100\%$, tendo em vista que as leveduras desidratadas contêm um certo número de células mortas.

3.3.4.3 Análises estatísticas

Para ambos os ensaios foram utilizados o teste F e o teste t, com nível de confiança de 0,05, sendo constatado que uma diminuição de cerca de 10% da condutividade específica média corrigida é estatisticamente significativa e representa a menor concentração confiável detectada do agente tóxico por este ensaio.

O teste F é sensível a dados não distribuídos normalmente, enquanto o teste t é aplicado para dados que apresentam uma distribuição normal e variâncias homogêneas, sendo que ambos são utilizados quando há uma única concentração a ser comparada com o controle (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

3.4 Avaliação de risco ambiental

A avaliação de risco consiste na probabilidade de um composto causar efeitos indesejáveis no meio ambiente, e é realizada por meio de metodologias (*guidelines*) que contém procedimentos e métodos validados e sistematizados com o objetivo de produzir dados confiáveis sobre os efeitos adversos para a proteção da saúde humana e do meio ambiente (GWOREK et al., 2019).

A avaliação dos possíveis riscos ambientais foi realizada com base nos protocolos da União Europeia – Technical Guidance Document on Risk Assessment (European Commission 2003) e Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards (TGD EQS), de acordo com a Diretiva 2000/60/EC (COMISSÃO EUROPEIA, 2011), feita por meio da compilação entre os dados de MEC (do inglês *Measured Environmental Concentrations*) ou PEC

(do inglês Predicted Environmental Concentration) e PNEC (do inglês, *Predicted Non Effect Concentration*). De acordo com a diretiva europeia (COMISSÃO EUROPEIA, 2011), PNEC é um limite mínimo de concentração abaixo do qual um efeito adverso provavelmente não ocorrerá. Esse valor pode ser obtido por meio da relação entre os dados de toxicidade dos organismos pertencentes a repartição ambiental que se deseja estudar (solo, sedimento, água) e fator de avaliação (FA). Nos ensaios de toxicidade aguda são considerados a CL50 ou CE50, enquanto nos ensaios de toxicidade crônica são utilizados os dados de CENO.

$$PNEC = \frac{(CL50 \text{ ou } CE50) \text{ ou } CENO}{FA} \quad (3)$$

Os fatores de avaliação são aplicados devidos às incertezas quanto a extrapolação dos resultados para o ambiente natural e da variação da sensibilidade intra e interespecies. Esses valores variam entre 10 a 1000 e devem ser determinados levando em consideração o nível de confiança (quanto menor a confiabilidade maior o FA) dos dados toxicológicos (quantidade de organismos avaliados, teste agudos ou crônicos, análise dos níveis tróficos). A Tabela 12 apresenta os critérios para a obtenção dos valores de FA.

Tabela 12 - Fatores de avaliações aplicados aos dados de ecotoxicidade para a avaliação de risco

Dados disponíveis	Fator de Avaliação
Pelo menos um CL50/CE50 agudo para cada nível trófico (peixes, invertebrados (preferencialmente dafnia) e alga)	1000
CE10 ou CENO obtido de um ensaio crônico (peixe ou Daphnia)	100
Dois ensaios crônicos (CE10 ou CENO) de duas espécies representativas de dois níveis tróficos (peixe e/ou Daphnia e/ou alga)	50
Ensaio crônico (CE10 ou CENO) obtidos de pelo menos três espécies representativas (normalmente peixe, Daphnia e alga), representando três níveis tróficos	10
Método de distribuição de sensibilidade de espécies (SSD)	5-1 (Justificado caso a caso)
Dados de campo ou ecossistemas modelo	Revisado caso a caso

Fonte: adaptado de COMISSÃO EUROPEIA (2011).

A avaliação do impacto de cada fármaco foi calculada com base no Quociente de Risco (QR), baseada na relação entre os efeitos obtidos com as concentrações ambientais aferidas (MEC) ou preditas (PEC) pelos valores de PNEC obtidos pela seguinte equação:

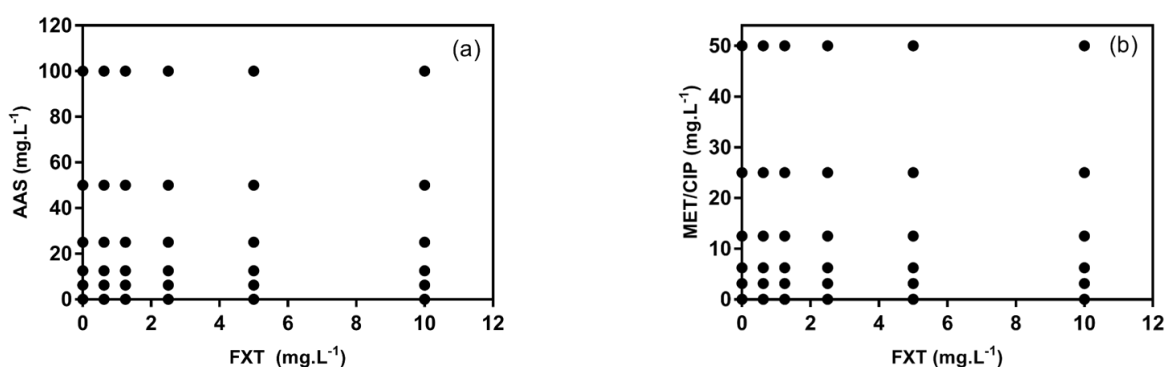
$$QR = \frac{MEC \text{ ou } PEC}{PNEC} \quad (3)$$

Este quociente estabelece que se quando QR está entre 0,01 e 0,1, não há risco para a biota; QR entre 0,1 e 1, há um médio risco; QR > 1, há um alto risco para a biota.

3.5 Ensaios de toxicidade aguda de mistura com *D. similis*

Devido à maior sensibilidade do microcrustáceo ao cloridrato de fluoxetina, foram realizados ensaios com misturas binárias com ácido acetilsalicílico (FXT + AAS), cloridrato de metformina (FXT + MET) e ciprofloxacina (FXT + CIP). Os ensaios foram realizados conforme a norma ABNT 12713/2016 (descrito no item 3.3.2.3), em que foram utilizados 20 organismos por concentração (5 organismos/réplica) e, ao final dos ensaios, foi avaliada a imobilidade dos organismos após a exposição por 48h. Os ensaios de toxicidade aguda com as misturas binárias conduzidos por meio de um planejamento experimental fatorial completo utilizando 36 combinações possíveis (Figura 14).

Figura 14 - Planejamento experimental utilizado para selecionar as combinações das concentrações dos fármacos individuais e das misturas de (a) FXT + AAS, (b) (FXT + MET) e (FXT + CIP)



Fonte: autor da tese.

As análises foram conduzidas de acordo com o modelo Mixtox proposto por JONKER et al., (2005), conforme implementado para misturas binárias em uma planilha do Microsoft Excel®.

Dois modelos clássicos têm sido normalmente utilizados para a previsão/avaliação dos riscos de misturas (GODOY e KUMMROW, 2017). O modelo de adição da concentração (CA) assume que os fármacos em uma mistura que possuem o mesmo mecanismo de ação para uma resposta específica, em que atuam no mesmo local de ação (o efeito da mistura é definido como um somatório das toxicidades relativas dos componentes individuais), enquanto o modelo de ação independente (IA) assume que os fármacos afetam os organismos por diferentes mecanismos de ação, assim, seus efeitos são estatisticamente independentes um do outro (KAR e LESZCZYNSKI, 2019). Desta forma, foram analisados os modelos de ação independente (IA) e concentração de adição (CA), bem como os desvios de cada modelo (sinergismo/antagonismo, desvio dependente do nível da dose (DL) ou desvio dependente da razão das doses (DR).

3.6 Unidades tóxicas (UT) e eficiência de remoção de toxicidade

A Concentração Efetiva Mediana (CE50) pode ser definida como a concentração que causa efeitos agudos a 50% dos organismos expostos, em um determinado período de exposição, nas condições de ensaio (KLAASSEN et al., 2019). Esses valores apresentam uma relação inversamente proporcional de concentração-efeito, ou seja, quanto menor o valor de CE50 maior a toxicidade. Assim, para trabalhar com grandezas diretamente proporcionais, estes valores podem ser transformados em Unidades Tóxicas, seguindo a Equação abaixo:

$$UT = \frac{CE50\%}{100} \quad (4)$$

A avaliação estatística de significância entre os dados coletados foi realizada por meio do método estatístico Análise de Variância (ANOVA). Quando os dados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), foi realizado o Teste de Tukey. Este método é utilizado para comparar cada grupo com todos os outros, comparando a diferença entre cada par de médias, com ajuste apropriado ao teste múltiplo (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Além disso, a partir dos dados de UT, foi possível obter os valores de eficiência de remoção de toxicidade, calculados conforme a seguinte equação:

$$\text{Eficiência de Remoção de Toxicidade} = \frac{UT_{bruto} - UT_{amostra\ irradiada}}{UT_{bruto}} \times 100 \quad (5)$$

Sendo:

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

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

3.7 Espectroscopia UV-Vis

O monitoramento do efeito da irradiação por feixe de elétrons na degradação individual dos fármacos foi realizado por espectrometria. A leitura de absorbância foi realizada na faixa de 200 a 800 nm em um espectrofotômetro UV-Vis 1800 (Shimadzu) e software UV-Prove Vers 2.7.

3.8 Cromatografia líquida

Os experimentos com o ácido acetilsalicílico foram realizados em cromatografia líquida ultrarrápida (ultra-fast liquid chromatography, UFLC), em parceria com a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (CESQ/PQI-EPUSP). Foi utilizado um cromatógrafo líquido (Shimadzu, UFLC 20AD) acoplado a quatro detectores UV (Shimadzu, SPD 20A), índice de refração (Shimadzu, RID 10A), fluorescência (Shimadzu, RF-10Axi) e condutividade (Shimadzu, CDD-10Avp). Para a detecção do ácido acetilsalicílico foi utilizado o detector UV/vis (SPD 20A). Os limites de detecção e quantificação foram de 70,4 e 211 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A coluna empregada foi a C18 ACE 5 (250 mmx 2,0 mmx 2,5 μm) a uma temperatura de 40 °C e vazão de 1,0 mL min^{-1} . A leitura do AAS foi realizada no comprimento de onda de 230 nm. O tempo de retenção para a identificação do fármaco foi de 5,5 min. O volume de injeção foi de 50 μL . Foi utilizada a eluição isocrática utilizando (A) 0,2 % ácido trifluoroacético e (B) acetonitrila na proporção de 65:35.

As curvas analíticas foram obtidas com os compostos farmacológicos puros. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados com bases nas respectivas equações a seguir (SHRIVASTAVA e GUPTA, 2011):

$$LD = 3,3 \times \frac{ERRO\ DO\ SLOPE}{SLOPE\ ESTIMADO} \quad (6)$$

$$LQ = 10 \times \frac{ERRO\ DO\ SLOPE}{SLOPE\ ESTIMADO} \quad (7)$$

As análises cromatográficas para a mistura quaternária foram realizadas em parceria com Centro de Espectrometria de Massas Aplicada (CEMSA). Os experimentos foram conduzidos em um equipamento da HPLC da Agilent, modelo 1290. A detecção e a quantificação dos analitos foram realizadas no espectrômetro de massas triploquadropolo híbrido ION TRAP 3200 QTRAP, ABSciex (Sciex). A coluna empregada foi a Restek Ultra Aqueous (150 x 2,1 mm x 3,0 µm). As condições empregadas foram: (A) água + 0,1% de ácido fórmico e (B) acetonitrila + 0,1% de ácido fórmico. O volume de injeção foi de 5,0 µL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

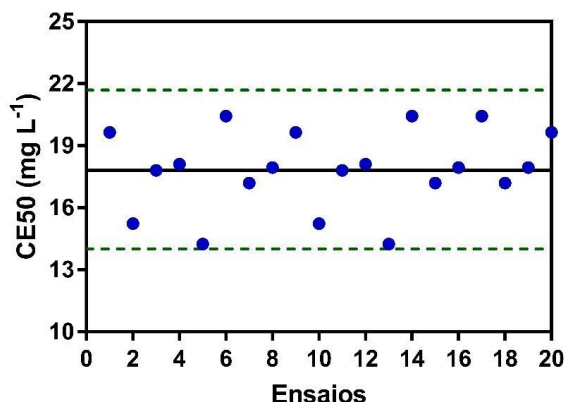
Neste capítulo foram apresentados os resultados dos ensaios de toxicidade para quatro fármacos e suas respectivas misturas, bem como foram demonstrados os efeitos da irradiação por feixe de elétrons na degradação e na toxicidade das amostras tratadas.

4.1 Carta controle e sensibilidade

O controle da sensibilidade dos organismos-teste é um procedimento realizado em laboratórios de Ecotoxicologia, que garante a qualidade analítica dos estudos que utilizam de ensaios de toxicidade aguda e crônica, além de permitir maior confiabilidade e precisão nos resultados obtidos, sendo realizado por meio de ensaios periódicos com substâncias referências (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Nas Figuras 15 e 16 foram apresentados os resultados das cartas controle dos organismos *V. fischeri* e *D. similis*, respectivamente.

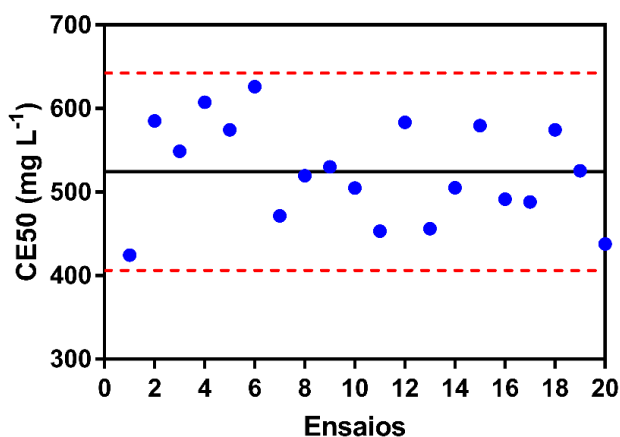
Com relação à sensibilidade da bactéria, o valor médio da CE50 (mg L^{-1}) foi de $17,82 \pm 1,93$ e o coeficiente de variação foi de 10,83%. Para *D. similis*, o valor médio da CE50 (mg L^{-1}) foi de $524,38 \pm 59,05$ e o coeficiente de variação foi de 11,27%. Portanto, os valores determinados para ambos os organismos são inferiores a 30% e estão dentro da faixa de sensibilidade, garantindo, assim a confiabilidade dos ensaios com as amostras avaliadas.

Figura 15 – Carta controle de sensibilidade da bactéria *V. fischeri* em relação ao fenol



Fonte: autor da tese.

Figura 16 – Carta-control de sensibilidade do organismo *D. similis* em relação ao cloreto de potássio



Fonte: autor da tese.

4.2 Toxicidade de fármacos

Neste item foram apresentados os resultados de toxicidade de fármacos de classes distintas (anti-inflamatório, antidepressivo, antidiabético e antibiótico) empregando diferentes organismos teste (*S. cerevisiae*, *V. fischeri* e *D. similis*).

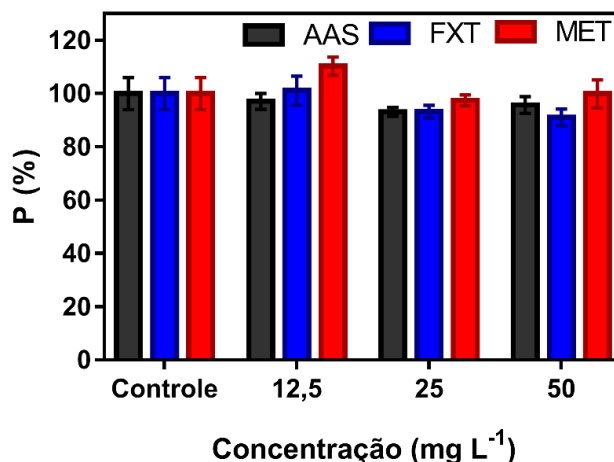
4.1.1 Ensaios de toxicidade com leveduras *S. cerevisiae*

4.1.1.1 Viabilidade celular

Os ensaios preliminares de toxicidade com *S. cerevisiae* foram realizados com soluções-estoque de 50 mg L⁻¹ de AAS, FXT e MET, a partir destes ensaios foram estabelecidas as concentrações empregadas neste estudo.

A viabilidade celular obtida após a exposição das leveduras às soluções fármacos durante 60 minutos foi representada na Figura 17. Foi possível observar que não houve redução significativa da viabilidade celular, mantendo-se os valores de P (%) superiores a 90% em todas as concentrações avaliadas (Tabela 13), indicando assim, baixo efeito tóxico dos fármacos.

Figura 17 - Viabilidade celular com leveduras (60 minutos de exposição) utilizando o corante azul de metileno para AAS, FXT e MET



*P (%) expressa a relação entre a viabilidade da amostra e do controle

Fonte: autor da tese.

Tabela 13 - Valores de P(%) e médias obtidas após a exposição de *S. cerevisiae* aos fármacos AAS, MET e FXT

Fármacos	Ensaio	Concentração (mg L ⁻¹)			
		Controle	12,5	25	50
AAS	1	99,47	95,45	94,09	95,06
	2	106,2	100,51	94,21	99,17
	3	94,25	95,28	91,19	92,92
	X ± S	100 ± 6,03	97,08 ± 2,97	93,17 ± 1,71	95,72 ± 3,18
FXT	1	99,47	107,41	93,61	94,85
	2	106,2	97,45	95,34	99,57
	3	94,25	98,56	90,70	105,25
	X ± S	100 ± 6,03	101,14 ± 5,46	93,22 ± 2,34	99,89 ± 5,20
MET	1	99,47	107,74	99,68	94,52
	2	106,2	114,18	95,50	90,26
	3	94,25	135,54	97,18	88,39
	X ± S	100 ± 6,03	110,3 ± 3,41	97,45 ± 2,10	91,06 ± 3,14

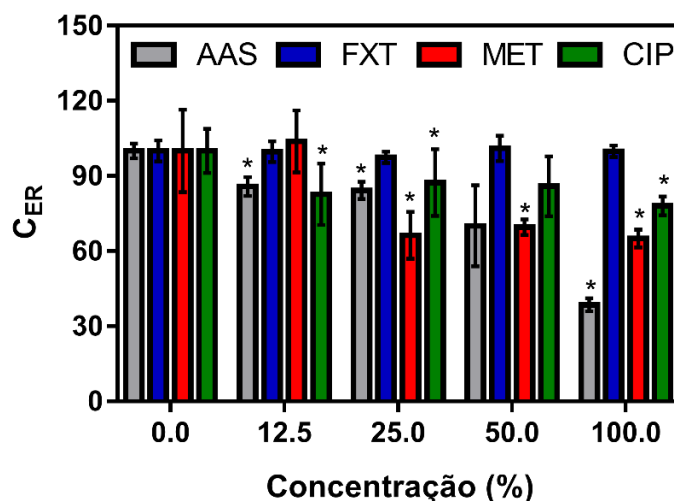
Fonte: autor da tese.

4.1.1.2 Ensaio condutométrico

Os ensaios de toxicidade com *S. cerevisiae* foram realizados com as respectivas soluções-estoque de AAS, FXT, MET, e CIP nas concentrações de 1000 mg L⁻¹, 500 mg L⁻¹, 250 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹.

Na Figura 18 foram apresentados os valores e as relações das condutividades específicas relativas (C_{ER}) em função das concentrações dos fármacos.

Figura 18 - Condutividades específicas relativas das amostras e do controle em função das concentrações de AAS, FXT e MET e CIP. Os * indicam a presença de diferenças significativas em relação ao controle



Fonte: autor da tese.

Os resultados obtidos para o ácido acetilsalicílico indicaram que houve efeitos tóxicos em todas as concentrações avaliadas, com valores de condutividade específica relativas (C_{ER}) inferiores a 90% e estatisticamente diferentes em relação ao controle. Foi observado um decaimento da C_{ER} com o aumento da concentração, sendo observada redução de até 40% em 1 g L^{-1} . A partir dos dados, foi possível calcular os valores de $CE_{50_{30\text{min}}} = 814,9 \pm 119,6 \text{ mg L}^{-1}$, indicando, assim, baixa toxicidade do fármaco para as leveduras.

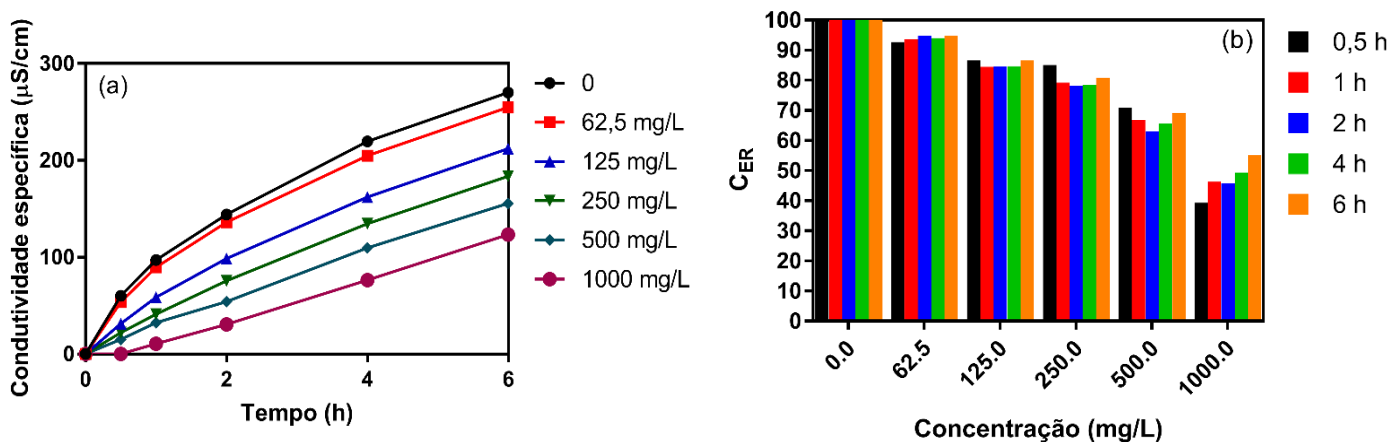
Estudos anteriores demonstraram que o ácido acetilsalicílico pode inibir o crescimento em algumas cepas selvagens da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (EG103, EG110 e EG 118) dependendo da fonte de carbono disponível, ocorrendo principalmente em meio contendo glicose (BALZAN et al., 2004). Isto se deve ao fato de que o ácido acetilsalicílico prejudica a síntese e o transporte da acetilcoenzima A para dentro da mitocôndria, e assim, afeta a produção de energia (FARRUGIA et al., 2019).

Para os demais fármacos não foi possível estimar a CE_{50} . Os resultados com FXT não indicaram alterações significativas em relação ao controle nas concentrações avaliadas, não indicando efeitos tóxicos relacionados ao antidepressivo para a levedura *S. cerevisiae*.

Em relação aos resultados dos fármacos metformina e ciprofloxacina os resultados demonstraram baixa sensibilidade aos fármacos testados, contudo, foram observadas alterações significativas da C_{ER} e inferiores a 90% a partir de 62,5 e 12,5 mg L⁻¹, respectivamente, indicando, assim, indícios de toxicidade.

Devido à linearidade dos resultados obtidos com o AAS, diferentes tempos de exposição (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0h) foram avaliados, conforme apresentado na Figura 19. Foi possível observar um aumento da condutividade específica média em relação ao tempo (Figura 19a). No entanto, os valores de CE_{50} calculados foram de 814,9 mg L⁻¹ (0,5h); 863,9 mg L⁻¹ (1h); 833,1 mg L⁻¹ (2h); 896,7 mg L⁻¹ (4h) e 1025,7 mg L⁻¹ (6h), demonstrando, assim, que não houve aumento da sensibilidade deste método em relação aos tempos de exposição (Figura 19b).

Figura 19 - (a) Variação da condutividade específica de diferentes concentrações de ácido acetilsalicílico em relação a diferentes tempos de exposição (b) Variação das condutividades específicas relativas (C_{ER}) de diferentes tempos em relação a diferentes concentrações de ácido acetilsalicílico



Fonte: autor da tese.

4.1.2 Ensaios ecotoxicológicos com bactérias *Vibrio fischeri*

Os ensaios de toxicidade com *V. fischeri* para AAS e MET foram realizados com soluções-estoque de 100 mg L⁻¹, enquanto para FXT e CIP foram utilizadas soluções-estoque de 10 e 20 mg L⁻¹, respectivamente.

Os valores de $CE_{50_{15min}}$ dos fármacos foram apresentados na Tabela 14. A partir dos resultados obtidos, foi possível demonstrar que as bactérias

apresentaram maior sensibilidade ao antidepressivo FXT, seguido do anti-inflamatório AAS (Figura 20). Para o antidiabético MET e o antibiótico CIP foi verificada baixa toxicidade nas concentrações testadas, uma vez que foram obtidas as respectivas inibições luminosas de aproximadamente 20 % e 5 % nas maiores concentrações avaliadas (Figura 20). Os respectivos valores de $CE_{50_{15min}}$ para AAS e FXT foram de $38,48 \pm 4,48$ e $3,18 \pm 0,72$ mg L⁻¹, enquanto para MET e CIP, os valores foram maiores que 100 e 20 mg L⁻¹.

Tabela 14 - Toxicidade dos fármacos AAS, FXT, CIP e MET expressa em $CE_{50\%_{15min}}$ para a bactéria bioluminescente *V. fischeri*.

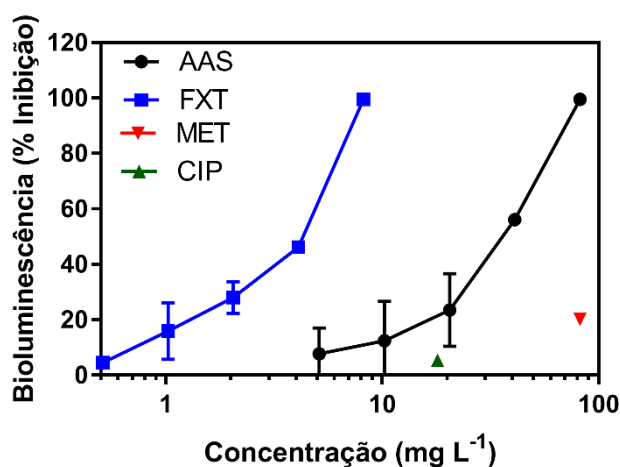
Ensaios

$CE_{50_{15min}}$ (mg L⁻¹)

	Ácido acetilsalicílico	Fluoxetina	Metformina	Ciprofloxacina
1	35,31 (29,60 – 42,12)	3,69 (2,06 – 6,58)	> 100	> 20
2	41,64 (26,10 – 66,44)	2,67 (3,46 – 6,37)	> 100	> 20
$X \pm S$	$38,48 \pm 4,48$	$3,18 \pm 0,72$	> 100	> 20

Fonte: autor da tese.

Figura 20 - Curva dose-resposta da bactéria *V. fischeri* exposta a diferentes fármacos (AAS, FXT, CIP e MET) por 15 minutos.



Fonte: autor da tese.

Os resultados de $CE_{50_{15min}}$ do AAS obtidos corroboram com CALLEJA et al (1994), que demonstraram valores de $26,12$ mg L⁻¹ para *V. fischeri*. No entanto, De DI NICA et al. (2017) reportaram menor toxicidade do ácido acetilsalicílico, demonstrando $CE_{50_{15min}}$ de $267,6$ mg L⁻¹. De acordo com os autores, este fato pode ser explicado ao não tamponamento das soluções utilizadas durante os ensaios. Segundo RENDAL et al (2011), a alteração da toxicidade e a bioacumulação dos compostos orgânicos ionizantes podem ser

explicadas pela alteração da lipofilicidade quando um composto neutro se torna ionizado, pelas atrações elétricas e pelo *ion trap*.

De acordo com os autores, a toxicidade e a bioacumulação de compostos orgânicos ácidos são maiores em valores de pH abaixo do pKa, uma vez que o composto se encontra menos ionizado. DIONÍSIO et al. (2020a) avaliaram os efeitos do pH na toxicidade em biomarcadores de gastrópodes marinhos *Gibbula umbilicalis* expostos ao ácido salicílico em concentrações ambientais (5, 25 and 125 $\mu\text{g L}^{-1}$) e reportaram aumento da atividade enzimática (relacionados a catalase e glutathione S-transferase) e da peroxidação lipídica com a acidificação da água.

Em relação aos demais fármacos, os dados obtidos corroboraram com a literatura. SILVA et al (2016) reportaram elevada toxicidade para FXT, observando $\text{CE}_{50_{15\text{min}}}$ de 1,23 mg L^{-1} . JACOB et al., (2020) notaram baixa toxicidade da MET, demonstrando $\text{CE}_{10_{30\text{min}}}$ de 870,79 mg L^{-1} . HERNANDO et al., (2007) reportaram $\text{CE}_{50_{15\text{min}}} > 5,9 \text{ mg L}^{-1}$ para CIP, enquanto PARENTE et al (2018) estimaram $\text{CE}_{50_{15\text{min}}}$ correspondente a 41 mg L^{-1} , indicando assim, que a baixa toxicidade ocorreu devido ao uso de concentrações abaixo das concentrações que podem causar efeito tóxico.

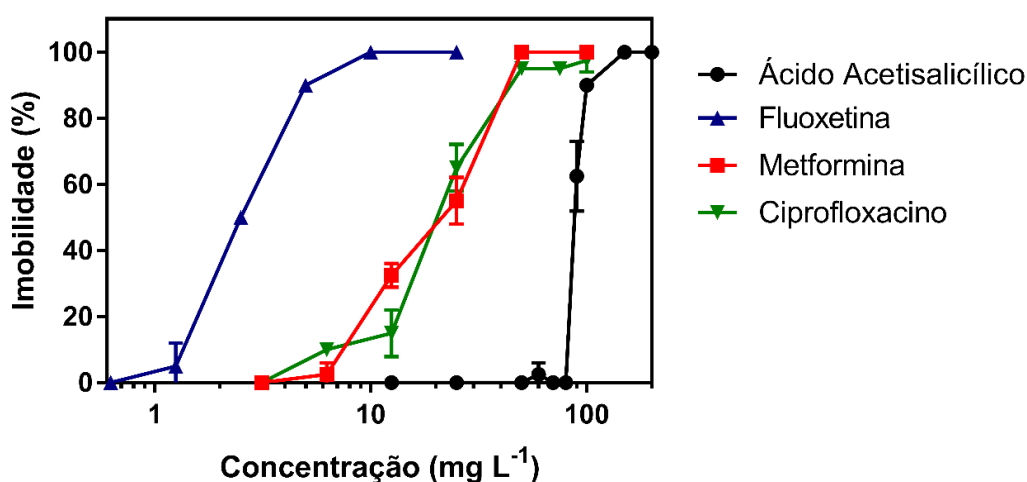
4.1.3 Ensaios ecotoxicológicos com microcrustáceo *D. similis*

4.1.3.1 Toxicidade aguda

Os ensaios de toxicidade aguda com *D. similis* foram realizados com soluções-estoque na concentração de 100 mg L^{-1} para AAS, MET e CIP. Para FXT, a solução-estoque foi preparada na concentração de 10 mg L^{-1} devido à maior sensibilidade do organismo ao fármaco. O pH da solução de ácido acetilsalicílico foi corrigido para na faixa de 7. No apêndice A foram apresentados os espectros UV-Vis dos fármacos estudados (AAS, FXT, MET e CIP), demonstrando as variações das concentrações iniciais e finais dos fármacos, apenas na maior concentração. Os resultados foram considerados satisfatórios, com variações menores que 20% durante os ensaios.

Na Figura 21 foram apresentadas as porcentagens de efeito observado (imobilidade, %) em função das concentrações dos fármacos estudados e na Tabela 15 foram expressos os valores de $CE_{50\%_{48h}}$. Os resultados de toxicidade indicaram maior sensibilidade do organismo ao antidepressivo FXT ($CE_{50\%_{48h}} = 1,45 \pm 0,37 \text{ mg L}^{-1}$) e menor sensibilidade ao anti-inflamatório AAS ($CE_{50\%_{48h}} = 86,05 \pm 4,63 \text{ mg L}^{-1}$), enquanto a MET e CIP apresentaram os respectivos valores de $CE_{50\%_{48h}}$ $20,44 \pm 2,83$ e $23,18 \pm 2,14 \text{ mg L}^{-1}$.

Figura 21 - Porcentual de imobilidade do microcrustáceo *D. similis* exposto a diferentes fármacos, por 48h.



Fonte: autor da tese.

Tabela 15 - Valores de $CE_{50\%_{48h}}$ das amostras de ácido acetilsalicílico, cloridrato de fluoxetina, cloridrato de metformina e ciprofloxacina para *D. similis*.

ENSAIOS	$CE_{50\%_{48H}}$			
	Ácido acetilsalicílico	Fluoxetina	Metformina	Ciprofloxacina
1	80,81 (74,66 – 87,47)	17,68 (12,66 – 24,68)	23,33 (19,47 – 27,95)	25,63 (19,84 – 33,10)
2	89,56 (86,67 – 92,54)	10,48 (8,77 – 12,51)	17,68 (14,15 – 22,08)	21,68 (18,29 – 25,69)
3	87,79 (85,53 – 90,11)	15,38 (12,36 – 19,13)	20,31 (16,46 – 25,06)	22,22 (17,63 – 28,00)
X ± S	86,05 ± 4,63	14,51 ± 3,68	20,44 ± 2,83	23,18 ± 2,14

Fonte: autor da tese.

Os valores obtidos para AAS, FXT e MET corroboram trabalhos anteriores descritos na literatura. $CL_{50\%_{48h}}$ de $88,31 \text{ mg L}^{-1}$ e $88,33 \text{ mg L}^{-1}$ foram

reportados para *D. magna* após a exposição ao AAS (CLEUVERS, 2004; GÓMEZ-OLIVÁN et al. 2014), enquanto valores de CE50_{48h} de 1,32 mg L⁻¹ e 14,3 mg L⁻¹ para *D. similis* foram determinados para o FXT e MET, respectivamente (SILVA et al., 2016, GODOY et al., 2018). Em relação ao CIP, MARTINS et al. (2012) reportaram CE50_{48h} de 65,3 mg L⁻¹ para *D. magna*, indicando, assim, que *D. similis* foi mais sensível ao antibiótico.

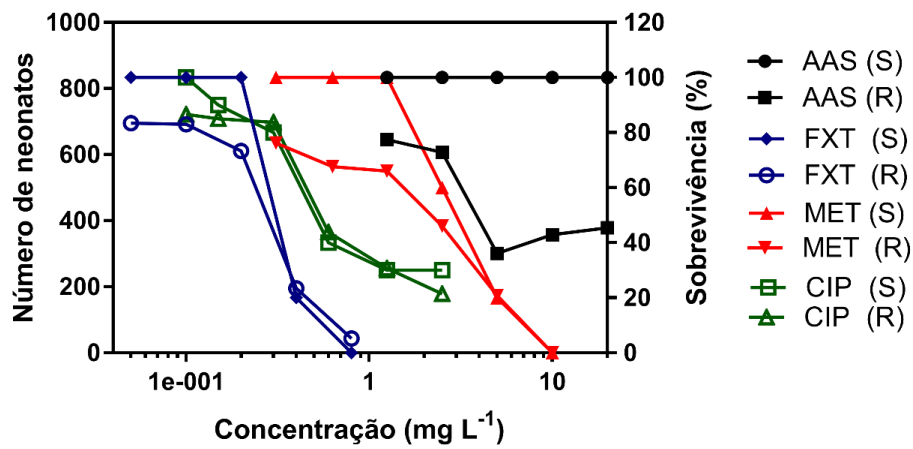
De acordo com a classificação proposta pelo Sistema de Classificação Integrado Harmonizado para Saúde Humana e Riscos Ambientais de Substâncias Químicas e Misturas (OECD, 2002), a fluoxetina se classifica como perigosa para o ambiente aquático na categoria de toxicidade aguda II (tóxico para organismos aquáticos), enquanto os demais fármacos se classificam na categoria de toxicidade aguda III (nocivo para organismos aquáticos). Desta forma, tornam-se necessários avaliar os efeitos sub-letais por meio de ensaios crônicos adicionais.

4.1.3.2 Toxicidade crônica

Os ensaios de toxicidade crônica com *D. similis* foram realizados com amostras de AAS, MET, FXT e CIP, preparadas nas concentrações iniciais de 20; 10; 0,8 e 2,5 mg L⁻¹, respectivamente. No apêndice A foram demonstradas as variações das concentrações iniciais e finais dos fármacos estudados (AAS, FXT, MET e CIP) apenas na maior concentração. Os resultados se demonstraram satisfatórios, com variações menores que 20% durante os ensaios.

Na Figura 22 foram apresentadas as porcentagens de sobrevivência, bem como a produção acumulada de neonatos de *D. similis*, em função das concentrações dos fármacos estudados, após 21 dias de exposição. Os resultados obtidos demonstraram que o AAS se apresentou menos tóxico comparado aos demais fármacos, enquanto a FXT e CIP apresentaram maior toxicidade, sendo observados efeitos em concentrações inferiores a 1,0 mg L⁻¹.

Figura 22 - Sobrevivência e produção acumulada de neonatos de *D. similis* exposta a diferentes fármacos durante 21 dias



Legenda:

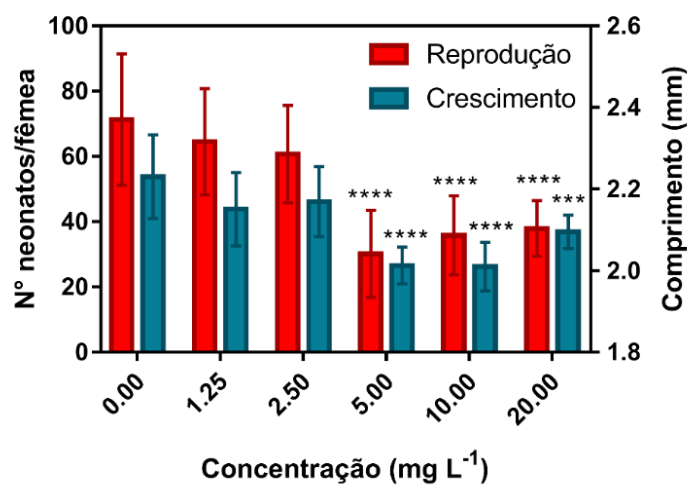
(S) – Sobrevivência

(R) - Reprodução

Fonte: autor da tese.

Para AAS, não foi observada mortalidade dos organismos nas concentrações avaliadas, entretanto, foi possível verificar a presença de efeitos subletais. Reduções significativas tanto no número de neonatos produzidos por fêmea ($p < 0,001$), quanto no crescimento corpóreo do organismo ($p = 0,0428$) foram notados a partir de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 23).

Figura 23 - Médias de neonatos produzidos por fêmea e crescimento corpóreo de *D. similis* após 21 dias de exposição de diferentes concentrações de AAS. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles



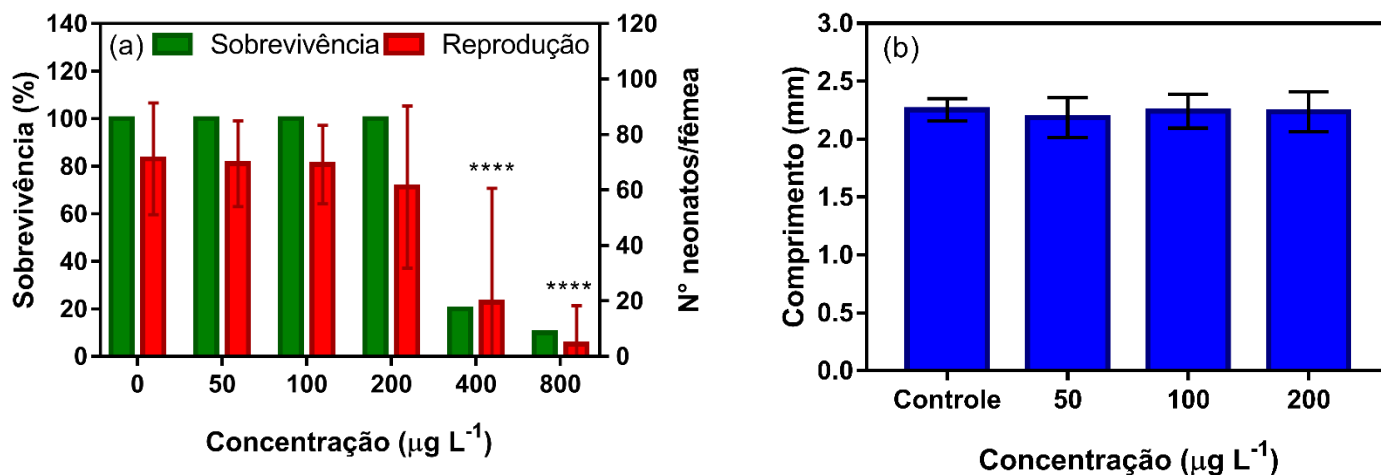
Fonte: autor da tese.

A exposição crônica ao AAS, normalmente, pode induzir tanto a redução na reprodução quanto no crescimento (MARQUES et al., 2004). Segundo TRUBETSKOVA e LAMPERT (2002), uma toxina pode afetar a demanda energética e causar o retardamento no crescimento e redução na fecundidade dos organismos, ou seja, as fêmeas permanecem menores e precisam de um tempo maior para gerar a primeira ninhada.

Além disso, alguns estudos demonstraram alterações fisiológicas e/ou comportamentais para *Daphnia* spp causadas pela exposição a salicilatos. GÓMEZ-OLIVÁN et al., (2014) reportaram danos no DNA e alterações significativas em biomarcadores bioquímicos (aumento da peroxidação lipídica e atividade da superóxido dismutase, além da redução da atividade da catalase) para *D. magna* exposta durante 48h à 8,83 mg L⁻¹ de AAS. SZABELAK e BOWNIK (2021) verificaram redução da velocidade de natação, dos batimentos cardíacos e dos movimentos mandibulares de *D. magna* expostas durante 24 h a soluções de 5 mg L⁻¹ de ácido salicílico.

Na Figura 24 estão representados os efeitos da mortalidade, fecundidade e crescimento do microcrustáceo exposto a diferentes concentrações de FXT. Foi possível verificar um aumento da mortalidade acompanhado de uma diminuição do número de neonatos produzidos por fêmea com o aumento da concentração dos fármacos (Figura 24a). Este comportamento também foi verificado por STANLEY et al., (2007), que reportaram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos relacionados a inibição da reprodução e o aumento da imobilização para *D. magna* exposta a FXT durante 21 dias. Os resultados obtidos indicaram também que houve alterações significativas na reprodução dos organismos a partir de 400 µg L⁻¹, indicando, assim, efeitos tóxicos em baixas concentrações.

Figura 24 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) crescimento corpóreo de *D. similis* exposta de diferentes concentrações de FXT após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas da reprodução e crescimento das 10 réplicas em relação aos controles.



Fonte: autor da tese.

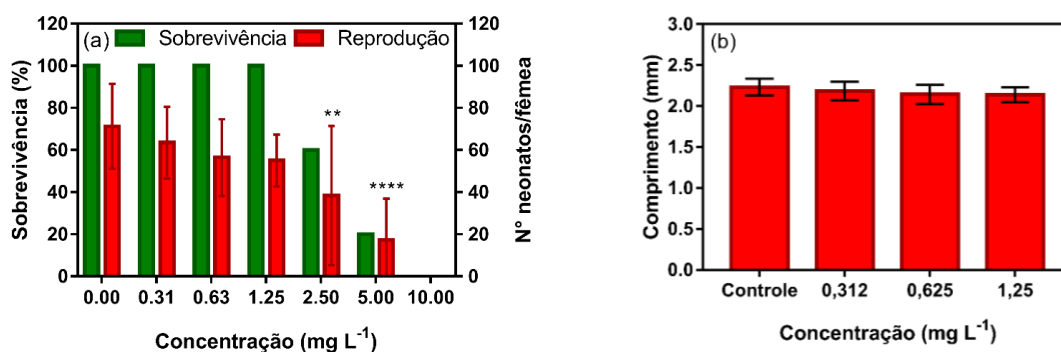
Em relação ao crescimento das dafnias expostas aos medicamentos, a Figura 24b demonstra que não houve alterações significativas dos tratamentos estatísticos em relação ao controle ($p > 0,05$). FLAHERTY e DODSON (2005) também não observaram alterações significativas na sobrevivência, morfologia dos adultos e neonatos, produção de efípios, fecundidade e na razão sexual de *D. magna* expostas a $36 \mu\text{g L}^{-1}$ de fluoxetina. Contudo, foi reportado aumento significativo do número total de neonatos produzidos pela exposição crônica (30 dias) ao antidepressivo. De acordo com os autores, o aumento da fecundidade e perturbação na homeostase seguido da exposição crônica podem estar relacionados ao fenômeno de sobrecompensação conhecido como hormese, que consiste em uma resposta adaptativa a baixos níveis de estresse que resultam em uma melhor aptidão do organismo em um período finito.

Diversos estudos têm demonstrado que a fluoxetina pode estimular a reprodução em invertebrados em concentrações ambientalmente relevantes. BROOKS et al., (2003a) verificaram aumento significativo na produção de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* expostas a $56 \mu\text{g L}^{-1}$ de fluoxetina. FONG (1998) reportaram indução na desova de mexilhões-zebra machos (*Dreissena polymorpha*) em concentrações de $155 \mu\text{g L}^{-1}$. Ademais, diferentes tipos de alterações comportamentais também têm sido reportados na literatura para a

Daphnia spp. HEYLAND et al., (2020) verificaram reduções significativas na taxa de batimento cardíaco e na velocidade de natação de *D. magna* exposta a 5,4 ng L⁻¹ de fluoxetina.

Na Figura 25 estão representados os efeitos da mortalidade, fecundidade e crescimento do microcrustáceo exposto a diferentes concentrações de MET. Foi possível verificar um aumento da mortalidade acompanhado de uma diminuição do número de neonatos produzidos por fêmea com o aumento da concentração (Figura 25a). Os resultados indicaram que houve alterações significativas na reprodução dos organismos a partir de 2,5 mg L⁻¹, indicando a presença de efeitos tóxicos em baixas concentrações. Em relação ao crescimento, a Figura 25b demonstra que não houve alterações significativas dos tratamentos em relação ao controle ($p > 0,05$).

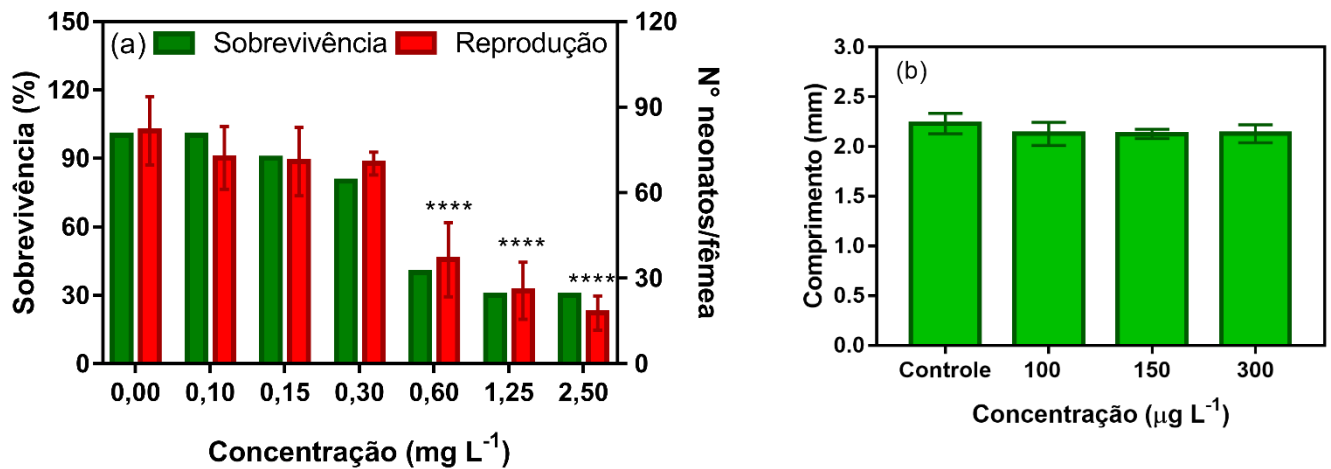
Figura 25 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) crescimento corpóreo de *D. similis* exposta de diferentes concentrações de MET após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas da reprodução e do crescimento de 10 réplicas em relação aos controles



Fonte: autor da tese.

Na Figura 26 estão demonstrados os efeitos da mortalidade, fecundidade e crescimento do microcrustáceo exposto a diferentes concentrações de CIP. Foi possível verificar um aumento da mortalidade acompanhado de uma diminuição do número de neonatos produzidos por fêmea com o aumento da concentração (Figura 26a). Os resultados indicaram que houve alterações significativas na reprodução dos organismos a partir de 600 µg L⁻¹, indicando a presença de efeitos tóxicos em baixas concentrações. Em relação ao crescimento, a Figura 26b demonstra que não houve alterações significativas dos tratamentos em relação ao controle ($p > 0,05$).

Figura 26 - (a) Sobrevivência, médias de neonatos produzidos por fêmea e (b) o crescimento corpóreo de *D. similis* exposta de diferentes concentrações de CIP após 21 dias. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas na reprodução e crescimento das 10 réplicas em relação aos controles



Fonte: autor da tese.

NUNES et al., (2018) verificaram a presença de danos no DNA de *D. magna* em concentrações a partir de 13 μg L⁻¹. DIONÍSIO et al., (2020b) reportaram alterações em biomarcadores bioquímicos de *D. magna* exposta a CIP após 21 dias de exposição, constatando efeitos como aumento da atividade de Glutathione S-Transferase (GST) e da peroxidação lipídica e inibição na atividade de colinesterase.

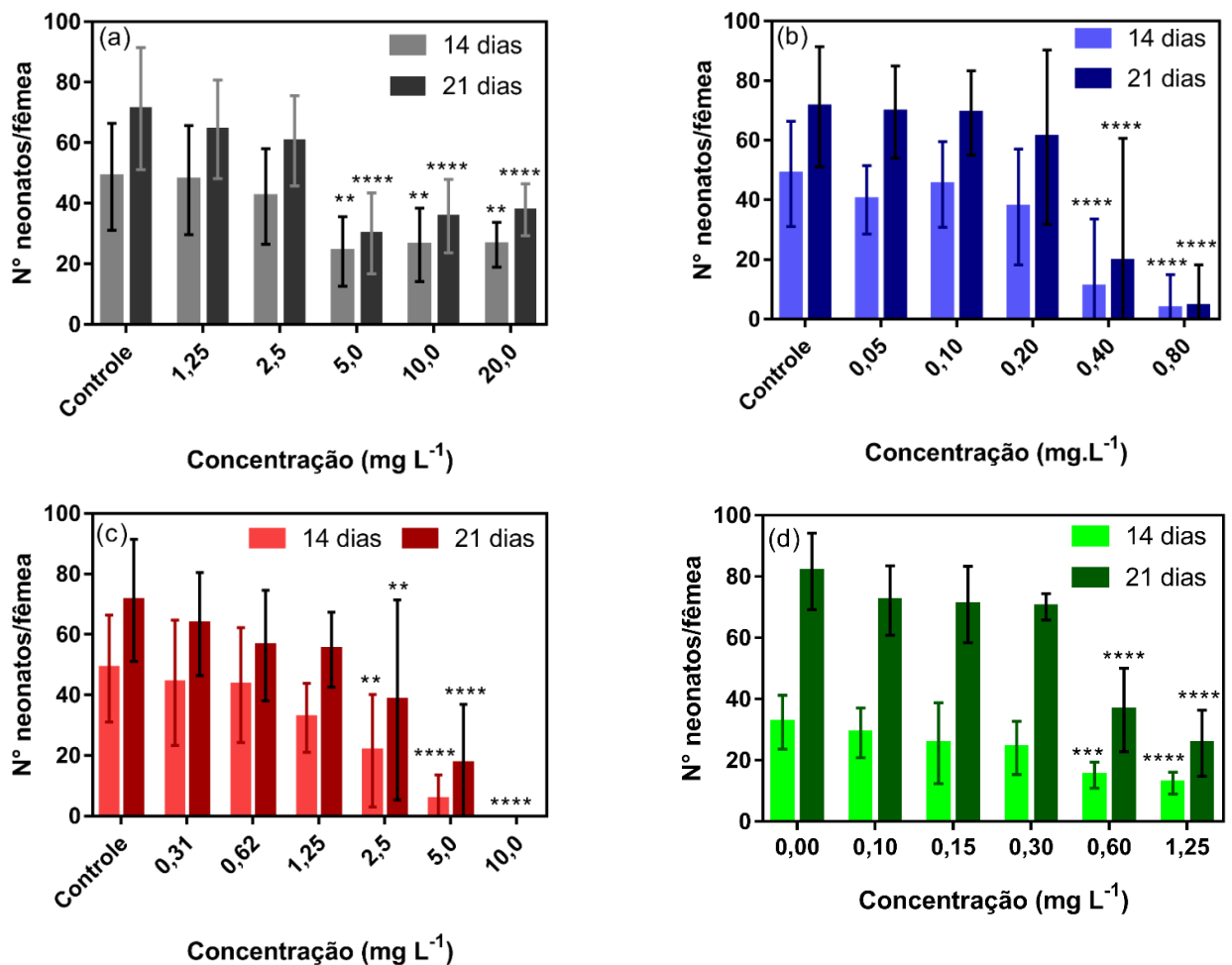
A Tabela 16 demonstra os valores de CENO e CEO e Figura 27 demonstra a comparação dos resultados de toxicidade crônica de 14 e 21 dias. Os resultados demonstraram que não houve aumento da sensibilidade dos organismos com o aumento de exposição de 14 para 21 dias. Os valores de CENO calculados foram de 2,5 mg L⁻¹ para AAS, 0,20 mg L⁻¹ para FXT, 1,25 mg L⁻¹ para MET e 0,30 mg L⁻¹ para CIP.

Tabela 16 - Valores de CENO e CEO das amostras de ácido acetilsalicílico, cloridrato de fluoxetina, cloridrato de metformina e ciprofloxacina para *D. similis*.

FÁRMACOS	CENO _{14d} /CENO _{21d} (mg L ⁻¹)	CEO _{14d} /CEO _{21d} (mg L ⁻¹)
AAS	2,50	5,00
FXT	0,20	0,40
MET	1,25	2,50
CIP	0,30	0,60

Fonte: autor da tese.

Figura 27 - Comparação entre as médias de neonatos produzidos após 14 e 21 dias de exposição individual de quatro fármacos: (a) AAS, (b) FXT, (c) MET e (d) CIP. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles



Fonte: autor da tese.

Os parâmetros determinados para AAS, FXT e MET corroboram com a literatura, com valores na mesma ordem de grandeza. MARQUES et al., (2004) determinaram para o AAS, CEO_{21d} e CENO_{21d} de 1,8 e 1,0 mg L⁻¹, respectivamente, para *D. magna* e *D. longispina*, demonstrando redução significativa na produção de neonatos. STANLEY et al., (2007) reportaram

CENO_{21d} e CEO_{21d} de 0,195 e 0,444 mg L⁻¹ para mistura racêmica de FXT. Para o MET, GODOY et al., (2018) determinaram CENO_{14d} de 4,4 mg L⁻¹ para *D. similis*. Em relação a CIP, MARTINS et al. (2012) demonstraram CENO_{21d} e CEO_{21d} de 5,19 e 8,82 mg L⁻¹ para *D. magna*, indicando, assim, que *D. similis* foi mais sensível.

4.3 Comparação da sensibilidade dos fármacos para diferentes organismos aquáticos

A comparação dos resultados de toxicidade dos fármacos estudados para *V. fischeri*, *D. similis* e *S. cerevisiae* foram apresentadas na Tabela 17. Com base nos dados de toxicidade aguda, foi verificada maior sensibilidade do microcrustáceo para fluoxetina, metformina e ciprofloxacina, e maior sensibilidade da bactéria para o ácido acetilsalicílico.

Tabela 17 - Toxicidade dos fármacos estudados (AAS, FXT, MET e CIP) para diferentes espécies

Espécie	Parâmetros (mg L ⁻¹)	Fármacos			
		AAS	FXT	MET	CIP
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CE50 _{30min}	814,9	>50	>250	>50
<i>Vibrio fischeri</i>	CE50 _{15min}	38,48	3,18	> 100	> 20
<i>Daphnia similis</i>	CE50 _{48h}	86,05	1,45	20,44	23,18
	CENO _{14d}	2,50	0,20	1,25	0,30

Fonte: autor da tese.

Os resultados de toxicidade aguda para AAS indicaram que a bactéria foi mais sensível ao anti-inflamatório, enquanto a levedura apresentou menor sensibilidade.

Os resultados obtidos corroboram com estudos com diferentes níveis tróficos. PRÁŠKOVÁ et al., (2012) estimaram valores de CL50 de 274,6 e 567,7 mg L⁻¹ para embriões e juvenis de peixe-zebra (*Danio rerio*). KUSK et al., (2018) reportaram CE50_{48h} de 241 mg L⁻¹ para a alga *Raphidocelis subcapitata* e CLEUVERS (2004) estimaram CE50 de 106,7 mg L⁻¹ para a alga *Scenedesmus subspicatus*.

De acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (2011), o ácido acetilsalicílico se classifica como nocivo para a vida aquática (Toxicidade aguda, categoria 3, $10 < CE50 < 100 \text{ mg L}^{-1}$, para crustáceos). Os resultados de toxicidade crônica demonstram que a CENO calculada foi aproximadamente 35 vezes menor que a valores de CE50.

Os resultados de toxicidade aguda para FXT demonstraram elevada toxicidade tanto para o microcrustáceo quanto para a bactéria. Já os resultados de toxicidade crônica demonstraram que a CENO foi 7 vezes menor que a CE50 para *D. similis*.

Elevada toxicidade da fluoxetina para organismos de diferentes níveis tróficos tem sido reportada. BROOKS et al. (2003b) reportaram CEO_{120h} de $13,6 \mu\text{g L}^{-1}$ para a alga *Raphidocelis subcapitata*; $CENO_{7d}$ de $56 \mu\text{g L}^{-1}$ para o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*; $CE50_{48h}$ de $820 \mu\text{g L}^{-1}$ para o microcrustáceo *D. magna* e $CL50_{48h}$ de $705 \mu\text{g L}^{-1}$ para o peixe *Pimephales promelas*. MINGUEZ et al., (2018) determinaram $IC50_{72h}$ de 202,9 e $48,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para as algas *Raphidocelis subcapitata* e *Skeletonema marinoi*, respectivamente. BI et al., (2018) avaliaram a toxicidade da fluoxetina para 7 espécies algas e demonstraram valores de $NOEC_{96h}$ variaram entre 6,2 e $40,2 \mu\text{g L}^{-1}$. DE FARIAS et al., (2019) reportaram $CL50_{168h}$ de $1,18 \text{ mg L}^{-1}$ para embriões de peixe-zebra.

De acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (2011), a fluoxetina se classifica como tóxica para a vida aquática (Toxicidade aguda, categoria 2, $1 < CE50 < 10 \text{ mg L}^{-1}$, para crustáceos).

Para MET, foi possível verificar maior sensibilidade da *D. similis* dentre os organismos avaliados, sendo observado que a CENO calculada foi aproximadamente 16 vezes menor que a CE50.

De modo geral, baixa toxicidade tem sido reportada para a metformina. GODOY et al. (2018) reportaram $CE50_{7d}$ $53,7 \text{ mg L}^{-1}$ para a macrófita *Lemna minor*; $CE50_{96h}$ de 2709 mg L^{-1} para o cnidário para *Hydra attenuata* e $CL50_{96h}$ $1315,5 \text{ mg L}^{-1}$ para o peixe *Danio rerio*. CLEUVERS (2003) reportaram $CE50_{48h}$ de 64 mg L^{-1} para *Daphnia magna* e $CE50_{72h} > 320 \text{ mg L}^{-1}$ para a alga

Desmodesmus subspicatus. MOERMOND e SMIT (2016) verificaram $CE_{50_{72h}} > 77,24 \text{ mg L}^{-1}$ para a alga *Raphidocelis subcapitata*.

De acordo com o GHS (2011), a metformina se classifica como nociva para a vida aquática (Toxicidade aguda, categoria 3, $10 < CE_{50} < 100 \text{ mg L}^{-1}$, para crustáceos).

Os resultados de toxicidade com CIP indicaram que o microcrustáceo *D. similis* foi o mais sensível dentre os três organismos avaliados. Foi possível verificar também que os resultados de toxicidade crônica foram 77 vezes menores que os valores de toxicidade aguda.

Na literatura, alguns estudos demonstram diferentes sensibilidades de organismos aquáticos ao antibiótico. MAGDALENO et al. (2015) reportaram $CE_{50_{72h}}$ de $11,3 \text{ mg L}^{-1}$ para a alga *Raphidocelis subcapitata*, enquanto ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ et al., (2011) reportaram $CL_{96h} > 100 \text{ mg L}^{-1}$ para os peixes *Danio rerio* e *Lebistes reticulatus*; $CE_{50_{24h}} > 100 \text{ mg L}^{-1}$ para o protozoário *Tetrahymena thermophila* e $CE_{50_{24h}} > 100 \text{ mg L}^{-1}$ para o crustáceo marinho *Artemia salina*.

Baseada na classificação do GHS (2011), a ciprofloxacina se classifica como nociva para a vida aquática (Toxicidade aguda, categoria 3, $10 < CE_{50} < 100 \text{ mg L}^{-1}$, para crustáceos).

4.4 Avaliação de risco ecológico

A avaliação do Quociente de risco para os fármacos do presente estudo foi representada na Tabela 18. Para garantir uma maior proteção foram utilizados dados de duas espécies (*Daphnia* e alga). Os dados de *Daphnia* foram obtidos do presente estudo enquanto os dados de alga foram obtidos da literatura. Os valores PNEC para AAS, FXT e CIP foram estimados pelos dados de toxicidade crônica divididos por um fator de avaliação (FA) 50 (duas espécies), enquanto para MET foi utilizado o FA de 100. Os valores de CE_{10} obtido para o ácido acetilsalicílico para a alga *Desmodesmus subspicatus* foram de $90,6 \text{ mg L}^{-1}$ (publicado em CLEUVERS, 2004), enquanto $CEN_{O_{96h}}$ da fluoxetina para a alga *Chlorella pyrenoidosa* foi de $6,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (publicado em BI et al., 2018). Para MET

foram utilizados apenas os dados de toxicidade crônica com *D. similis*, visto que ainda não há dados disponíveis de ensaio crônico com alga. Para CIP, MAGDALENO et al. (2015) reportaram um CE10 de 3,3 mg L⁻¹ para a alga *Raphidocelis subcapitata*.

O maior valor de concentração ambiental medida (MEC) dos fármacos AAS, FXT e CIP em águas superficiais brasileiras foi utilizado para a avaliação de risco, visando verificar o pior cenário real (Tabela 18). Para MET, ainda não há dados sobre as concentrações detectadas em águas superficiais do Brasil. Contudo, esse contaminante pode estar presente na maioria dos reservatórios, tendo em vista a relação entre quantidade prescrita do medicamento e a concentração do meio ambiente (BRIONES et al., 2016). O valor de MEC para MET foi obtido a partir do estudo de CHIARELLO et al (2016) que detectaram a presença do antidiabético em concentrações de 2 µg L⁻¹ em efluentes hospitalares no Brasil.

Tabela 18 - Estimativa do quociente de risco (QR) baseada em concentração ambiental (MEC) descritas na literatura para águas superficiais. A determinação do PNEC foi obtida pela relação entre o CENO e o fator da avaliação dos ensaios crônicos

Fármaco	MEC (µg L ⁻¹)	Referência	CENO (µg L ⁻¹)	Referência	AF	PNEC	Quociente de Risco (QR)
AAS	20,96	MONTAGNER et al., (2011)	2500	Presente estudo	50	50	0,42
FXT	0,06	PIVETTA et al., (2020)	6,2	Bl et al., (2018)	50	0,12	0,48
MET	2,00	CHIARELLO et al (2016)	1250	Presente estudo	100	12,5	0,16
CIP	0,35	SODRÉ et al, (2018)	300	Presente estudo	50	6	0,06

Fonte: autor da tese.

Para AAS, o QR estimado foi de 0,42, indicando, assim, um possível risco à biota ($0,1 < QR < 1$) (Tabela 18). De acordo com o levantamento realizado por SODRÉ et al (2018), as concentrações de detecção em águas superficiais brasileiras variam entre 12,21 e 20.960 ng L⁻¹. Embora o AAS seja um fármaco detectado em concentrações mais elevadas, alguns estudos indicam baixa frequência de quantificação em águas superficiais brasileiras (17-18%) (DOS SANTOS, 2017; SODRÉ et al, 2018, MONTAGNER et al., 2019).

Em relação à FXT, os resultados indicaram a presença de um possível risco à biota ($0,1 < QR < 1$) (Tabela 18). No Brasil, há poucos trabalhos que demonstram a presença de fluoxetina em águas superficiais. DE SOUZA et al., (2021) detectaram concentrações máximas de FXT de até $3,5 \text{ ng L}^{-1}$ no rio Cotia e $3,3 \text{ ng L}^{-1}$ no Reservatório Billings, enquanto PIVETTA et al., (2020) detectaram concentrações médias de 60 ng L^{-1} no Rio Atibaia. Além disso, embora os resultados obtidos de QR tenham indicado um possível risco à biota, alguns estudos demonstram um risco elevado para a FXT ($Q > 1$) (PIVETTA et al., 2020; DE SOUZA et al., 2021), visto que menores valores de PNEC foram aplicados (1 e 60 ng L^{-1}), reforçando, assim, a importância da avaliação de risco com diferentes espécies aquáticas.

Para MET, os resultados indicaram possível risco à biota ($0,1 < QR < 1$) (Tabela 18). No Brasil, ainda não há dados sobre o monitoramento destes fármacos no meio ambiente. Na literatura, alguns trabalhos descrevem riscos baixos associado ao fármaco (GODOY et al., 2018; CALDWELL et al., 2019). Entretanto, segundo AMBROSIO-ALBUQUERQUE et al (2021), ainda há dificuldade de compreender os efeitos da metformina no meio ambiente, uma vez que a detecção ainda se apresenta como um desafio. De acordo com os autores os estudos sobre o monitoramento da metformina têm se apresentados disponíveis recentemente, e, assim, ainda não há homogeneidade tanto para as concentrações quanto para as matrizes ambientais medidas em diferentes países. Além disso, ainda não há o consenso de risco dos produtos.

Finalmente, em relação à CIP, os resultados indicaram baixo risco à biota ($QR < 0,1$) (Tabela 18). De acordo com os estudos DE SANTOS (2017) e SODRÉ et al, (2018), a concentração de CIP em águas superficiais brasileiras varia entre $0,6$ e 350 ng L^{-1} , com 67% frequência de quantificação, sendo que 75% das amostras se apresentam acima dos limites de risco. MONTAGNER et al., (2019) também verificaram elevada frequência de detecção do antibiótico em diferentes matrizes ambientes no Estado de São Paulo (85 %), com concentrações variando entre $0,6$ e 12 ng L^{-1} e possível risco associado ao antibiótico ($QR = 0,2$).

4.5 Toxicidade de mistura

Os ensaios para misturas binárias foram realizados com *D. similis* devido à maior sensibilidade do microcrustáceo. Além disso, os ensaios foram realizados para as misturas binárias contendo fluoxetina (AAS + FXT; MET + FXT e CIP + FXT) tendo em vista a maior toxicidade obtida com o antidepressivo. Adicionalmente, também foi avaliado o efeito da toxicidade crônica para mistura quaternária (AAS, FXT, MET e CIP) preparada na concentração inicial de 1000 µg L⁻¹ de cada fármacos para a avaliação dos efeitos em baixas concentrações. Além disso, os resultados foram apresentados na forma nominal, tendo em vista que pela logística, não seria viável realizar um alto número de análises para confirmar efetivamente as concentrações devido ao planejamento experimental e à presença de várias substâncias. Contudo, no apêndice A foram apresentados os espectros UV-Vis dos fármacos estudados (AAS, FXT, MET e CIP), demonstrando as variações das concentrações iniciais e finais das soluções de fármacos individuais apenas na maior concentração. Os resultados foram considerados satisfatórios, com variações menores que 20% durante os ensaios.

4.4.1 Ácido acetilsalicílico e fluoxetina

Na Tabela 19 foram descritos os resultados obtidos das análises do MIXTOX conforme os modelos de adição da concentração (CA) e ação independente (IA) e dos seus respectivos desvios (S/A, DR, DL). Foi possível verificar que os todos os modelos foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) e que o modelo que melhor se ajustou aos dados (menor valor SS_{res} e maiores valores de r^2) foi o modelo de ação independente ($SS_{res} = 1,93$ e $r^2 = 0,62$) (Tabela 19). Após a adição dos parâmetros a e b_{DR}/b_{DL} ao modelo, as misturas revelaram um desvio dependente da concentração (DL) pelo modelo IA ($SS_{res} = 1,23$; $p < 0,001$; $r^2 = 0,76$; $a = -5,82$; $b_{DL} = 1,10$), que descreve sinergismo em doses baixas e antagonismo em doses mais altas da mistura ($a < 0$), com desvios em concentrações superiores a CL50 ($1 < b_{DL} < 2$).

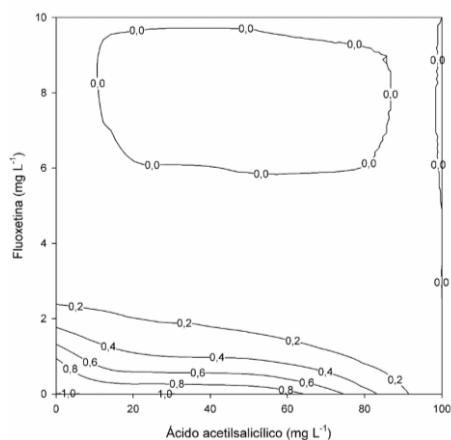
Tabela 19 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de AAS e FXT para *D. similis* aplicando os modelos de CA e IA

	<i>Modelos</i>							
	CA	CA-S/A	CA-DR	CA-DL	IA	IA-S/A	IA-DR	IA-DL
<i>max</i>	1	1	1	1	1	1	1	1
β_{aas}	20,02	20,02	20,02	20,02	20,02	20,02	20,02	20,02
β_{fxt}	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12
$EC50_{aas}$	57,92	57,92	57,92	57,92	57,92	57,92	57,92	57,92
$EC50_{fxt}$	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
<i>A</i>	-	-3,85	-5,03	-9,84	-	-4,48	-3,46	-5,82
$b_{DR/DL}$	-	-	-15,34	0,76	-	-	-5,72	1,10
SS_{res}	1,64	1,58	1,48	1,43	1,93	1,30	1,23	1,23
r^2	0,56	0,69	0,71	0,72	0,62	0,74	0,75	0,76
χ^2 ou Teste <i>F</i>	16,04	13,17	9,67	12,21	12,54	17,31	12,41	14,96
<i>df</i>	-	30,31	28,31	29,31	-	30,31	28,31	29,31
<i>p</i>	$3,2 \times 10^{-7}$	$7,9 \times 10^{-7}$	$5,0 \times 10^{-6}$	$7,0 \times 10^{-7}$	$3,5 \times 10^{-6}$	$4,7 \times 10^{-8}$	$4,1 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^{-7}$

Fonte: autor da tese.

A Figura 28 está representada a interação da toxicidade aguda da combinação do AAS e FXT com um desvio dependente da concentração, apresentando sinergismo em baixas concentrações e antagonismo em doses mais elevadas. Foi possível verificar também que a mudança de efeito sinérgico para antagônico ocorre a partir dos valores superiores à CE50 dos fármacos ($1 < b_{DL} < 2$; $EC50_{FXT} = 1,49 \text{ mg L}^{-1}$; $EC50_{AAS} = 57,92 \text{ mg L}^{-1}$).

Figura 28 - Isobologramas dos efeitos das misturas binárias de ácido acetilsalicílico e fluoxetina para *D. similis*, demonstrando os desvios dependentes da concentração (DL), apresentando sinergismo em baixas concentrações e antagonismo em doses mais elevadas.



Fonte: autor da tese.

4.5.2 Metformina e fluoxetina

Na Tabela 20 foram descritos os resultados obtidos conforme os modelos de adição da concentração (CA) e ação independente (IA) e dos seus respectivos desvios (S/A, DR, DL). Foi possível verificar que os todos os modelos foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) e que o modelo que melhor se ajustou aos dados (menor valor SS_{res} e maiores valores de r^2) foi o modelo de ação independente ($SS_{res} = 0,32$ e $r^2 = 0,93$) (Tabela 20). Após a adição dos parâmetros a e b_{DR}/b_{DL} ao modelo, as misturas revelaram um desvio dependente da razão das doses (DR) pelo modelo IA ($SS_{res} = 0,26$; $p < 0,001$; $r^2 = 0,95$; $a = 0,31$; $b_{DR} = -2,68$).

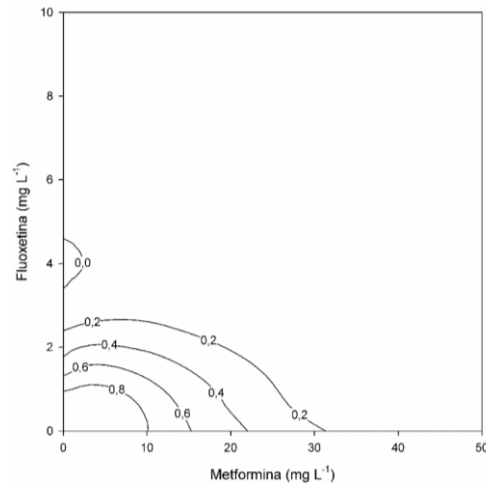
Tabela 20 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de MET e FXT para *D. similis* aplicando os modelos de CA e IA.

	Modelos							
	CA	CA-S/A	CA-DR	CA-DL	IA	IA-S/A	IA-DR	IA-DL
<i>max</i>	1	1	1	1	1	1	1	1
β_{met}	2,32	2,32	2,32	2,32	2,32	2,32	2,32	2,32
β_{fxt}	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12
$EC50_m$	18,24	18,24	18,24	18,24	18,24	18,24	18,24	18,24
<i>et</i>								
$EC50_{fxt}$	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
a	-	4,60	2,88	4,57	-	0,60	0,31	0,003
$b_{DR/DL}$	-	-	-3,15	-0,004	-	-	-2,68	-367,50
SS_{res}	0,63	0,28	0,23	0,28	0,32	0,30	0,26	0,30
r^2	0,87	0,94	0,95	0,94	0,93	0,94	0,95	0,94
χ^2 ou								
Teste	52,08	98,11	78,18	79,04	109	88,89	69,34	72,90
F								
df	-	30,31	28,31	29,31	-	30,31	28,31	29,31
p	$2,5 \times 10^{-13}$	$1,6 \times 10^{-8}$	$1,1 \times 10^{-16}$	$1,2 \times 10^{-16}$	$8,4 \times 10^{-18}$	$4,6 \times 10^{-17}$	$5,3 \times 10^{-16}$	$3,7 \times 10^{-16}$

Fonte: autor da tese.

Na Figura 29 está demonstrada a interação da toxicidade aguda da combinação do MET e FXT. De modo geral, foi possível verificar efeitos antagônicos ($a > 0$), no entanto, pode ocorrer efeitos sinérgicos causado pela MET ($b_{DR} < 0$).

Figura 29 - Isobogramas dos efeitos das misturas binárias de metformina e fluoxetina para *D. similis*, demonstrando os desvios dependentes da razão das doses (DR)



Fonte: autor da tese.

4.5.3 Ciprofloxacina e fluoxetina

Na Tabela 21 foram descritos os resultados obtidos das análises do MIXTOX conforme os modelos de adição da concentração (CA) e ação independente (IA) e dos seus respectivos desvios (S/A, DR, DL). Foi possível verificar que ambos os modelos de CA e IA apresentaram baixa correlação com os dados e não se apresentaram estatisticamente significativos para explicar os efeitos da toxicidade aguda para *D. similis*. Entretanto, após a adição dos parâmetros a e b_{DR}/b_{DL} , os modelos passaram a ter um ajuste melhor e, assim, as misturas revelaram um desvio dependente da concentração (DL) pelo modelo IA ($SS_{res} = 0,52$; $p < 0,001$; $r^2 = 0,92$; $a = 7244$; $b_{DL} = 1,01$), que descreve antagonismo em doses baixas e sinergismo em doses mais altas da mistura ($a > 0$) com desvios em concentrações superiores a CL50 ($1 < b_{DL} < 2$).

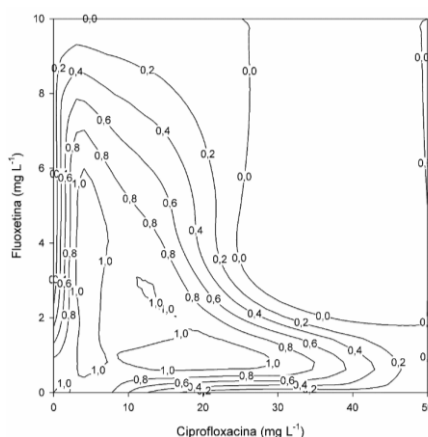
Tabela 21 - Resumo das análises dos ensaios de toxicidade aguda das misturas de CIP e FXT para *D. similis* aplicando os modelos de CA e IA.

	<i>Modelos</i>							
	CA	CA-S/A	CA-DR	CA-DL	IA	IA-S/A	IA-DR	IA-DL
<i>Max</i>	1	1	1	1	1	1	1	1
β_{cip}	3,76	3,76	3,76	3,76	3,76	3,76	3,76	3,76
β_{fxt}	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12
$EC50_{ci}$	11,23	11,23	11,23	11,23	11,23	11,23	11,23	11,23
$EC50_{fx}^p$	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
A^t	-	21,99	14,13	43,97	-	11,02	7,12	7244
$b_{DR/DL}$	-	-	-5,10	0,11	-	-	-2,76	1,01
SS_{res}	6,95	1,79	1,58	1,55	5,34	1,51	1,28	0,52
r^2	-	0,71	0,75	0,75	0,14	0,76	0,79	0,92
χ^2 ou Teste F	-	19,23	14,24	14,24	1,29	15,55	15,55	53,46
DF	-	-	-	-	-	30,31	28,31	29,31
P	-	$4,8 \times 10^{-8}$	$1,7 \times 10^{-7}$	$1,7 \times 10^{-7}$	0,29	$1,9 \times 10^{-8}$	$3,9 \times 10^{-8}$	$2,3 \times 10^{-14}$

Fonte: autor da tese.

A Figura 30 demonstra a interação da toxicidade aguda da combinação do CIP e FXT com um desvio dependente da concentração, apresentando antagonismo em baixas concentrações e sinergismo em doses mais elevadas. Foi possível verificar também que a mudança de efeito antagônico para sinérgico ocorre a partir dos valores superiores à CE50 dos fármacos ($1 < b_{DL} < 2$; $EC50_{FXT} = 1,49 \text{ mg L}^{-1}$; $EC50_{AAS} = 11,23 \text{ mg L}^{-1}$).

Figura 30 - Isobogramas dos efeitos das misturas binárias de ciprofloxacina e fluoxetina para *D. similis*, demonstrando os desvios dependentes da concentração (DL), apresentando antagonismo em baixas concentrações e sinergismo em doses mais elevadas.



Fonte: autor da tese.

4.5.4 Mistura quaternária

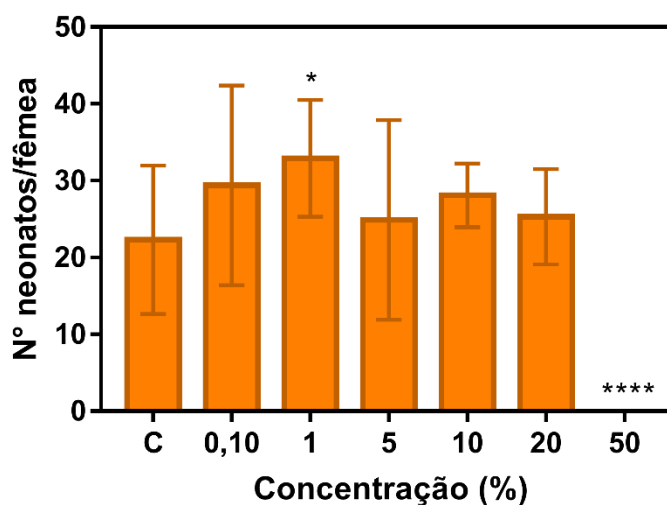
Na Figura 31 e na Tabela 22 foram apresentados os efeitos crônicos da mistura quaternária dos fármacos AAS, FXT, MET e CIP para *D. similis*. Os resultados indicaram que não houve mortalidade até a diluição de 20%, porém foi notado um aumento na produção média dos neonatos em relação aos controles e foram observadas diferenças significativas em relação ao controle apenas em 1% ($p = 0,0445$). Em contrapartida, a partir de 50% foi verificada diminuição significativa na sobrevivência e reprodução dos organismos.

Tabela 22 - Médias de neonatos produzidos por fêmeas de *D. similis* expostas a diferentes diluições da mistura quaternária (AAS, FXT, MET e CIP) após 14 dias de exposição.

Concentração (%)	Reprodução (Número médio de Neonatos por organismo)
Controle	22 ± 10
0,1	29 ± 13
1,0	16 ± 12
5,0	25 ± 13
10	28 ± 4
20	25 ± 6
50	0 ± 0

Fonte: autor da tese.

Figura 31 – Médias de neonatos produzidos por fêmeas de *D. similis* a diferentes diluições da mistura quaternária (AAS, FXT, MET e CIP) após 14 dias de exposição. Os asteriscos (*) representam a existência de diferenças estatisticamente significativas das 10 réplicas em relação aos controles



Fonte: autor da tese.

4.5.5 Mecanismo de ação dos fármacos

A preocupação com a contaminação ambiental por diferentes produtos farmacêuticos é uma questão crescente que ainda possui várias questões em aberto. Há a necessidade de avaliar os efeitos das misturas dos fármacos, uma vez que em cenários reais, estes contaminantes estão presentes em diversas combinações tanto em com compostos de mesmo modo de ação quanto com diferentes contaminantes (VARANO et al., 2017).

Fármacos são desenvolvidos para interagirem com sítios específicos em um organismo alvo (PATEL et al., 2019). Estes compostos normalmente atuam por meio de uma série de combinações de mecanismos (alterações dos níveis intracelulares de mensageiros secundários ou íons, expressão gênica ou metabolismo), entretanto, quando em misturas estas vias podem ser modificadas (VARANO et al., 2017).

SANDERSON e THOMSEN (2009) analisaram o modo de ação de 275 fármacos pertencentes a classes distintas e verificaram que o provável mecanismo que conduz os efeitos destes compostos para algas, daphnias e peixes é a narcose. Em 70% dos fármacos analisados, foi sugerido que o modo de ação ecotoxicológico agudo é narcótico não específico.

A fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptção da serotonina (ISRS) que pode perturbar o sistema endócrino de invertebrados e aumentar a fecundidade devido ao aumento da biodisponibilidade da serotonina (FLAHERTY e DODSON, 2005). A serotonina (5-HT) possui um papel de grande importância no sistema nervoso, uma vez que desempenha funções como a liberação de alguns hormônios, regulação do sono, temperatura corporal, apetite, humor, ritmo circadiano, funções neuroendócrinas, atividade sexual, atividade motora e funções cognitivas (FEIJÓ et al., 2011). Em invertebrados, a serotonina pode estimular ecdisteróides e hormônio juvenil em insetos, que são responsáveis por controlar a oogênese e vitelogênese (Nation, 2001).

CAMPOS et al., (2012) notaram que a FXT pode alterar a percepção do ambiente alimentar *D. magna* em condições de média e baixas alimentação: as fêmeas se reproduzem mais cedo, produzindo mais descendentes, porém menores. Ademais, CAMPOS et al., (2013) verificaram que a FXT desregula

algumas das vias metabólicas, o metabolismo da serotonina, e os genes-chaves do metabolismo de carboidratos e do ciclo de Krebs, causando uma redução das reservas de carboidratos e um aumento do metabolismo respiratório. Em estudos mais recentes, CAMPOS et al, (2016) observaram que a FXT aumenta a imunorreatividade da serotonina apenas em baixas condições de alimentação, aumentando a reprodução a condições similares as condições hipotéticas de alta alimentação. Em condições de alta alimentação, os organismos aparentemente já possuem níveis saturados da imunorreatividade da serotonina.

O ácido acetilsalicílico é um fármaco que promove a inibição irreversível da atividade da ciclooxigenase (COX), enzima chave que catalisa a conversão de ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos (CARVALHO e tal., 2004). Os eicosanóides atuam como sinalizadores em sistemas autócrinos e parácrinos em vertebrados e invertebrados, funcionando como importantes mediadores na reprodução, no sistema imunológico, no transporte de íons (HECKMANN et al., 2008; STANLEY, 2000), e na transmissão neural (ARKHIPOVA et al., 2005). SZABELAK e BOWNIK (2021) demonstraram alterações comportamentais e fisiológicas como velocidade de natação, distância percorrida, batimento cardíaco e movimento da mandíbula em *D. magna* exposta ao ácido salicílico. Vale destacar, que o AAS é biotransformado em ácido salicílico e então conjugado a diversas moléculas como ácido salicílico, ácido 2,5-dihidróxibenzóico (2,5-DHBA) e 2,3-DHBA por meio da CYP2E1 e CYP 3A4 (GÓMEZ-OLIVÁN et al., 2014) e que a *D. pulex* apresenta citocromo P450 (CYP) e as famílias, CYP2, CYP3 e CYP4 (BALDWIN et al., 2009)

A metformina é um antidiabético cuja atuação consiste na inibição do complexo I na cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria, levando ao esgotamento da adenosina trifosfato (ATP) e aumentando os níveis de adenosina monofosfato (AMP) (FORETZ et al., 2014). Até o presente momento, o modo de ação em organismos não-alvo permanece incerto e inexplorado (GODOY et al., 2019; MOERMOND e SMIT, 2016).

A ciprofloxacina é uma quinolona amplamente utilizada em tratamentos antimicrobianos, e atua na ligação ao DNA-girase bacteriano, comprometendo, assim, sua função, e conseqüentemente, impedindo a replicação celular e proliferação bacteriana (NUNES et al., 2018; RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

As fluoroquinolonas agem inibindo a topoisomerase IV de bactérias Gram-positivas, e em bactérias gram-negativas, o alvo é a topoisomerase II (DNA-girase), que apresenta as mesmas funções que a IV (GUIMARÃES et al., 2010). O DNA-girase é uma enzima que evita o emaranhamento da fita de DNA da bactéria durante e após a duplicação, assim, ao inibir a atuação dessa enzima, ocorre uma síntese descontrolada de RNA mensagem e de proteínas que determinam a morte da bactéria (RODRIGUES-SILVA et al., 2014). Na literatura, alguns estudos demonstram que a ciprofloxacina é genotóxica, causando danos no DNA de *D. magna* (NUNES et al., 2018). MOTIEI et al., (2020) verificaram que o antibiótico CIP alterou a microbiota do trato digestivo de *D. magna*, reduzindo a biodiversidade microbiana, e ao contrário das expectativas dos autores, foi reportado um efeito estimulatório no crescimento, na fecundidade e na capacidade antioxidante.

Embora os modelos de CA e IA venham sendo frequentemente utilizados para prever os efeitos das misturas de diversos contaminantes, vale ressaltar que a avaliação da toxicidade de mistura enfrenta o desafio complexo de descrever e modelar a ação conjunta de múltiplos componentes das mais diversas classes, que atuam em sistemas ecológicos com uma infinidade de espécies com diferentes ciclos de e composições bioquímica, fisiológicas e genéticas diversas (BACKHAUS, 2014). De acordo com BERTHOUD (2013), os modelos matemáticos de sinergismo são baseados em modelos puramente funcionais com abordagens simplistas, visto que não conseguem captar a complexidade biológica subjacente de determinados sistemas.

Os modelos de previsões aditivas dependem dos tipos ou dos formatos das curvas individuais de concentração-resposta, apresentando, assim, limitações quando as curvas concentração-resposta exibem formatos diferentes (GODOY et al., 2019; GODOY e KUMMROW, 2017), o que justifica as limitações de ambos os modelos em prever com precisão os efeitos observados para as misturas binárias do presente estudo. Por outro lado, os isobogramas são constituídos de curvas que envolvem a toxicidade de diversas proporções da mistura de contaminantes e indicam se a toxicidade da mistura possui caráter aditivo, sinérgico ou antagônico (KOUTSAFTIS e AOYAMA, 2007).

Os resultados de toxicidade aguda obtidos para todas as misturas contendo FXT (itens 4.4.1; 4.4.2; 4.4.3) apresentaram tanto caráter antagônico quanto sinérgico dependendo da concentração ou proporção avaliada, corroborando assim com a literatura (RODEA-PALOMARES et al, 2010). Segundo RODEA-PALOMARES et al (2010) o mecanismo de ação de uma toxina não é útil para prever quais tipos de interações a mistura irá exibir uma vez que a natureza da interação depende da concentração/proporção da mistura. Além disso, diferentes organismos irão apresentar diferentes repostas aos contaminantes da mistura. Além disso, de acordo com CEDERGREEN (2014), o sinérgismo se dá pelo resultado da interação de um ou mais processos que ocorrem como resultado da toxicidade de um químico: biodisponibilidade, captação, transporte interno, metabolização, ligação ao sítio e excreção, sendo que provavelmente a maioria das interações sinérgicas graves pode ocorrer devido às interações no metabolismo.

Os ensaios de toxicidade crônica indicaram que a interação da mistura quaternária em maiores concentrações induziu efeitos inibitórios na reprodução ao passo que para baixas concentrações induziu a um efeito estimulatório. A determinação dos efeitos horméticos de misturas tem se apresentado como um desafio, tendo em vista que os modelos de CA e IA tem se demonstrado ineficazes para prever os efeitos horméticos de dose-resposta das misturas (ZOU et al, 2013). A hormese é uma resposta adaptativa caracterizada por um comportamento bifásico de curva dose-reposta com dois tipos de repostas biológica, apresentando estimulação em baixas doses e inibição em altas doses (CALABRESE e BALDWIN, 2002). ZOU et al, (2013) demonstraram a presença de efeitos estimulatórios para misturas de antibióticos para *V. fischeri* em baixas concentrações. FENT et al. (2006) reportaram a presença de efeitos para a mistura de cimetidina, fenofibrato, furosemida e fenazona utilizando ensaios com leveduras recombinantes.

4.6 Efeito da irradiação na degradação e na toxicidade de soluções aquosas de fármacos

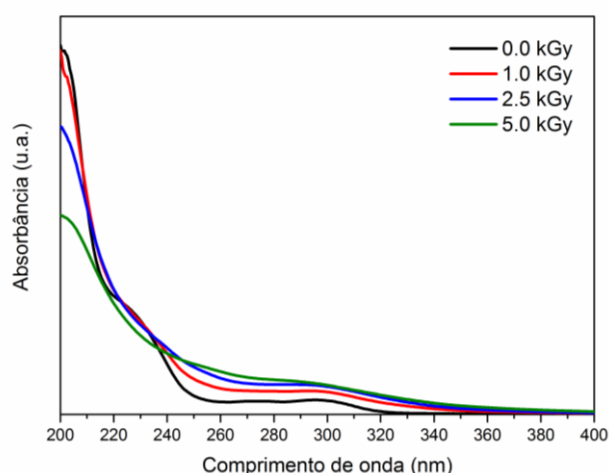
Neste item foram apresentados os resultados sobre o efeito da irradiação na degradação e na toxicidade dos fármacos. Além disso, foram

avaliadas as alterações em parâmetros físico-químicos (pH, Oxigênio Dissolvido na água e condutividade das soluções estudadas) das amostras individuais de fármacos tratadas por feixe de elétrons. Durante os experimentos, foram utilizadas as concentrações iniciais de 10,0 mg L⁻¹ de AAS, MET e CIP.

4.5.1 Degradação das soluções de fármacos irradiadas

Os resultados preliminares dos efeitos da irradiação com feixe de elétrons obtidos pelo espectro UV-Vis para o AAS estão representados na Figura 32. Foi possível observar a banda característica de excitação π - π^* aromática do AAS em 297 nm. Após a irradiação, as intensidades das bandas aumentaram, demonstrando, assim, mudanças na estrutura aromática. Logo, foram realizadas análises cromatográficas para a quantificação do fármaco nas amostras irradiadas, conforme Tabela 23. Foi possível verificar que a irradiação por feixe de elétrons demonstrou ser eficiente na remoção do AAS mesmo com o uso de baixas doses, visto que concentrações abaixo do limite de detecção foram obtidas em todas as doses avaliadas (LD = 70,4 μ g L⁻¹, degradação superior a 99,26%).

Figura 32 - Espectro UV-vis do AAS irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L⁻¹



Fonte: autor da tese.

Tabela 23 - Valores de concentração AAS, bem como eficiência de remoção após o tratamento com irradiação por feixe de elétrons

Doses (kGy)	Ensaio	AAS		
		Área	[AAS] (mg L ⁻¹)	ER (%)
0,0	1	82748	8,69	-
	2	97790	10,27	-
	X ± S		9,48 ± 1,12	-
1,0	1	< LD*	< LD*	> 99,26
	2	< LD*	< LD*	> 99,26
	X ± S			> 99,26
2,5	1	< LD*	< LD*	> 99,26
	2	< LD*	< LD*	> 99,26
	X ± S			> 99,26
5,0	1	< LD*	< LD*	> 99,26
	2	< LD*	< LD*	> 99,26
	X ± S			> 99,26

X ± S: Média com desvio-padrão

ER: Eficiência de Remoção

LD*: 70,4 µg L⁻¹

Fonte: autor da tese.

Processos oxidativos avançados têm sido considerados eficientes para a remoção do anti-inflamatório AAS. DAI et al., (2014) avaliaram a degradação do AAS utilizando ozonização catalítica com diferentes catalisadores e, após 60 minutos de tratamento, demonstraram as seguintes eficiências de remoção de 64,1% (sem catalisador), 66,1 % (Fe₃O₄), 67,3 % (Catalisador: Fe₃O₄@SiO₂) e 81,0 % (catalisador: Fe₃O₄@SiO₂CeO₂). NAPOLEÃO et al., (2018) demonstraram remoção de aproximadamente 71,90% de 0,65 mg L⁻¹ de AAS presente em um efluente farmacêutico pelo processo Foto-Fenton.

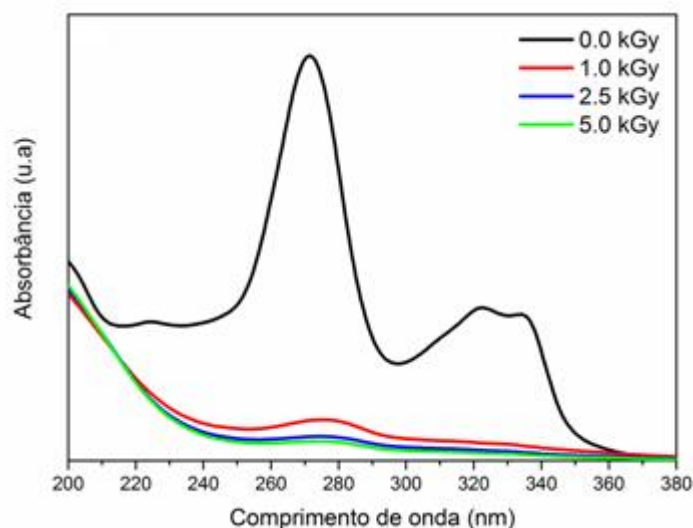
Os efeitos da irradiação por feixe de elétrons também foram monitorados por espectroscopia UV-Vis para CIP e MET, conforme Figura 33 e 34. Foi possível identificar as bandas de absorção características da CIP em 270, 322 e 334 nm nas amostras brutas. Após o processo de irradiação por feixe de elétrons, foi verificado o decaimento da absorbância em todos os comprimentos de onda característica do antibiótico, indicando assim, que o processo foi eficiente para a degradação mesmo em doses baixas (1,0 kGy).

De modo geral, a radiação ionizante tem sido apontada como eficiente para a remoção do antibiótico CIP com o uso de baixas doses (até 5,0 kGy). CHO et al. (2014) obtiveram eficiências de remoção de 38% em 1,0 kGy, 80% em 5,0

kGy e 97% em 10 kGy para soluções de 100 mg L⁻¹ de CIP irradiadas em um acelerador de elétrons. GUO et al (2015) estudaram a remoção do antibiótico por irradiação gama e demonstraram eficiência de remoção de 97,73% em 1,5 kGy para soluções com concentrações iniciais de 50 mg L⁻¹, enquanto eficiências de degradação de 99,44 e 88,36% foram reportadas para soluções iniciais de 5 e 20 mg L⁻¹ em doses de 0,4 kGy. TEGZE et al. (2018) obtiveram completa remoção de 0,1 mmol L⁻¹ antibiótico com 2 kGy após o tratamento com radiação gama. SAYED et al. (2016) demonstraram degradação quase completa de 4,6 mg L⁻¹ de ciprofloxacina na dose de 870 Gy por radiação gama. REINHOLDS et al. (2017) demonstraram remoção de 94% (5-7 kGy) e 97% (3-5 kGy) para amostras de águas residuais, de estações de tratamento de esgotos, contendo diferentes fármacos tratados pelo feixe de elétrons e radiação gama, respectivamente.

Além disso, trabalhos anteriores demonstraram que diferentes processos oxidativos avançados foram eficientes para a remoção do antibiótico CIP. Entre os melhores resultados obtidos por BOBU et al., (2013), para a otimização de diferentes processos de tratamento: remoção completa de CIP após 30 min com o tratamento utilizando foto-fenton ([CIP]₀=0,15 mM, 0,50 mM Fe (II), 10 mM H₂O₂, pH 3); remoção completa após 30 minutos de ozonização ([CIP]₀ = 0,15 mM, [O₃] = 8,5 mg L⁻¹, pH 11); remoção de 48% após 1h de tratamento por radiação UV; remoção de 96,11 % após 1h de tratamento UV/H₂O₂ [CIP]₀=0,15 mM, 10 mm H₂O₂). GIRI e SEKHAR (2019) reportaram máxima remoção de 93,1 % e 47,3% de 0,15 mM CIP pelos processos foto-fenton (1,25 mmol L⁻¹ Fe (II), 10 mmol L⁻¹ H₂O₂, pH 3,5) e UV/TiO₂ (1,25 g L⁻¹ TiO₂), respectivamente. GUPTA e GARG (2018) reportaram remoção de 70% de 100 mg L⁻¹ de CIP pelo processo Fenton ([H₂O₂]:[Fe²⁺] = 10, [H₂O₂]:[14,2 mM, pH = 3), enquanto ASEMAN-BASHIZ e MOUSSAV (2021) notaram remoção de 98,6% de CIP após o tratamento com Electro-Fenton.

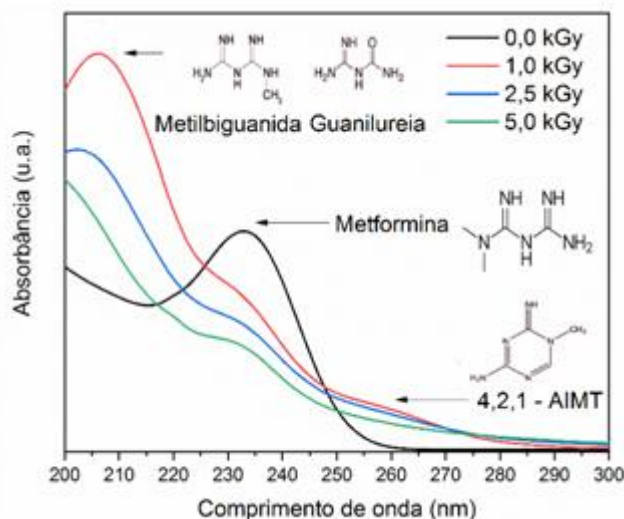
Figura 33 - Espectro UV-vis do antibiótico ciprofloxacina irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L⁻¹



Fonte: autor da tese.

Em relação à MET, foi possível observar a banda característica em 233 nm nas amostras brutas. Após o tratamento, houve o decaimento da absorbância em 233 nm acompanhado do aumento da absorbância em 207 e 258 nm, indicando a formação de intermediários (Figura 34). Segundo COLLIN et al. (2004), a absorção em 258 nm pode estar correlacionada com a formação de 4,2,1-AIMT (4-amino-2-imino-1-metil-1,2-di-hidro-1,3,5-triazina), tendo em vista que este composto absorve neste comprimento particular e que este é um comprimento de onda característico de compostos aromáticos (CARBULONI et al., 2020; KHOURI et al. 2004). A oxidação da MET parece levar a formação de quatro produtos de degradação finais da oxidação primária, obtidos a partir de diferentes reações: dimerização covalente, peroxidação, desmetilação e desidrogenação dupla (COLLIN et al., 2004). KHOURI et al. (2004) observaram o efeito da irradiação gama na oxidação da metformina e verificaram quatro produtos de oxidação obtidos a partir de diferentes condições experimentais: hidroperóxido de MET (produzido sob condições aeradas); dímeros de MET (condições não aeradas), e 1-metilbiguanida e 4,2,1-AIMT, ambos obtidos tanto em condições aeradas quanto não aeradas.

Figura 34 - Espectro UV-vis do antidiabético metformina irradiado em diferentes doses. Concentração inicial 10 mg L⁻¹



Fonte: autor da tese.

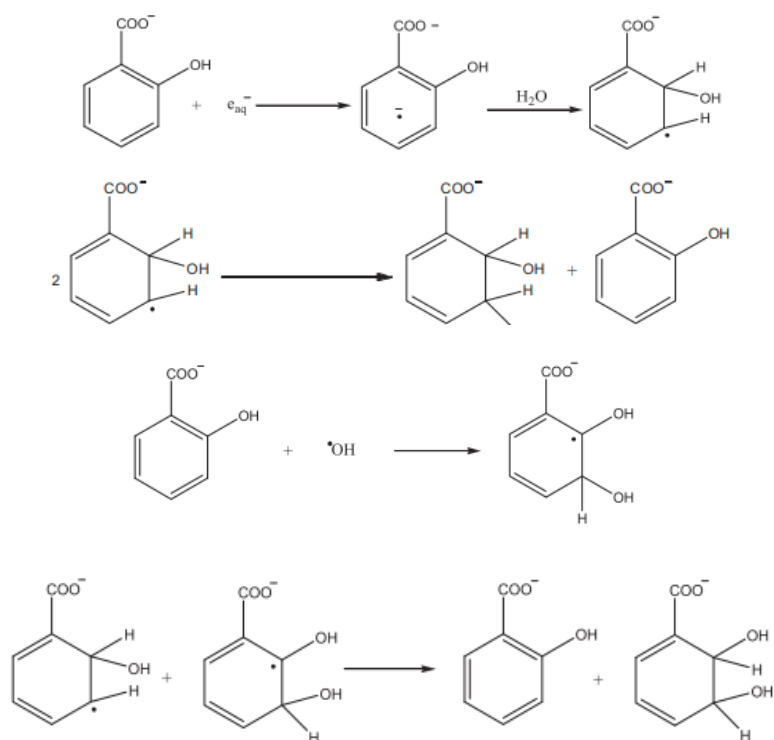
Estudos anteriores têm reportado baixa remoção do antidiabético MET por diferentes processos oxidativos avançados. GARTISER et al. (2012) reportaram baixa remoção (35%) de uma solução de 0,5 mg L⁻¹ MET tratada por ozonização. QUINTÃO et al., (2016) avaliaram a remoção de 10 mg L⁻¹ MET tratadas por diferentes processos. Durante o estudo, foram reportadas as seguintes eficiências de remoção: 60% após 30 minutos de ozonização; 9,2% após 30 min de fotólise UVC; 31 % após 30 minutos de fotocatalise (TiO₂/UVC), 60% após 5 minutos de cloração. Em contrapartida, a combinação de processos parece ser eficiente para a remoção deste contaminante. MACÉRAK et al., (2018) verificaram degradação de 50% de 10 mg L⁻¹ de MET após 3h de tratamento UV. Após combinação com o processo UV com 2,5 mM peróxido de hidrogênio levou a uma remoção completa após 3h de tratamento. ORATA et al., (2019) demonstraram remoção máxima de 99,57% de 0,2 mM de MET após 27 minutos de eletrólise (Electron-Fenton).

A irradiação por feixe de elétrons baseia-se na radiólise da água, envolvendo a produção de espécies de radicais altamente reativas, tais como o elétron aquoso (e⁻_{aq}), radicais hidroxilas (•OH) e os átomos de hidrogênio (H•), que são capazes de interagir e promover a oxidação, redução, dissociação ou degradação de vários poluentes orgânicos (CAPODAGLIO, 2017; BUXTON, 2008).

Por meio do controle da dose, a degradação de contaminantes orgânicos pode ser controlada a fim de obter uma decomposição parcial (gerar moléculas mais biodegradáveis e menores) ou decomposição completa (mineralização) (CAPODAGLIO, 2018). Na literatura baixa mineralização tem sido reportada para AAS e CIP em doses de 5,0 kGy (TOMINAGA et al., 2021, CHO et al., 2014), indicando que o processo de irradiação leva à formação de diversos subprodutos intermediários. SZABÓ et al. (2014) reportaram a formação de íons salicilatos e derivados dihidroxilados de salicilatos para amostras de ácido acetilsalicílico, enquanto KHOURI et al (2004) demonstraram a formação de quatro produtos finais de oxidação da metformina (hidroperóxido de MET, dímeros de MET, formação de 1-metilbiguanida e 4,2,1-AIMT), após o tratamento por irradiação com fonte gama. Para CIP, CHO et al., (2014) verificaram a formação de três subprodutos após a irradiação com pelo feixe de elétrons.

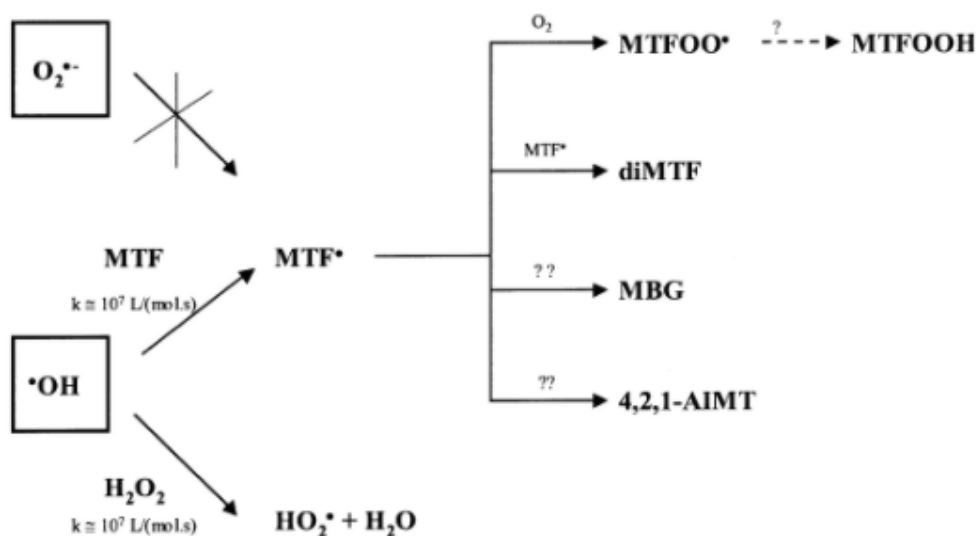
Um levantamento sobre os possíveis produtos de degradação dos fármacos estudados (AAS, MET e CIP) estão ilustrados nas Figura 35, 36 e 37.

Figura 35 - Rota de degradação proposta para salicilatos tratados por radiação ionizante



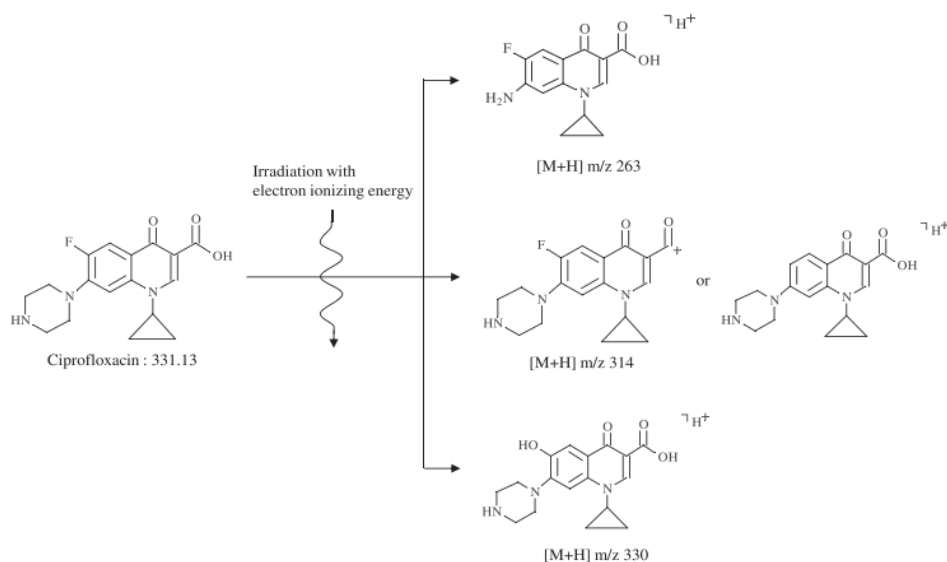
Fonte: SZABÓ et al. (2014).

Figura 36 - Rota de degradação proposta para metformina tratados por radiação ionizante. MTF: Metformina; 4,2,1-AIMT: 4-amino-2-imino-1-metil-1,2-dihidro-1,3,5-triazina; MBG: 1-Metilbiguanida; MTFOO•: hidroperóxido de metformina; diMTF: dímero de metformina



Fonte: KHOURI et al., (2004).

Figura 37 - Produtos de degradação propostos de CIP após irradiação por feixe de elétrons



Fonte: CHO et al., (2014).

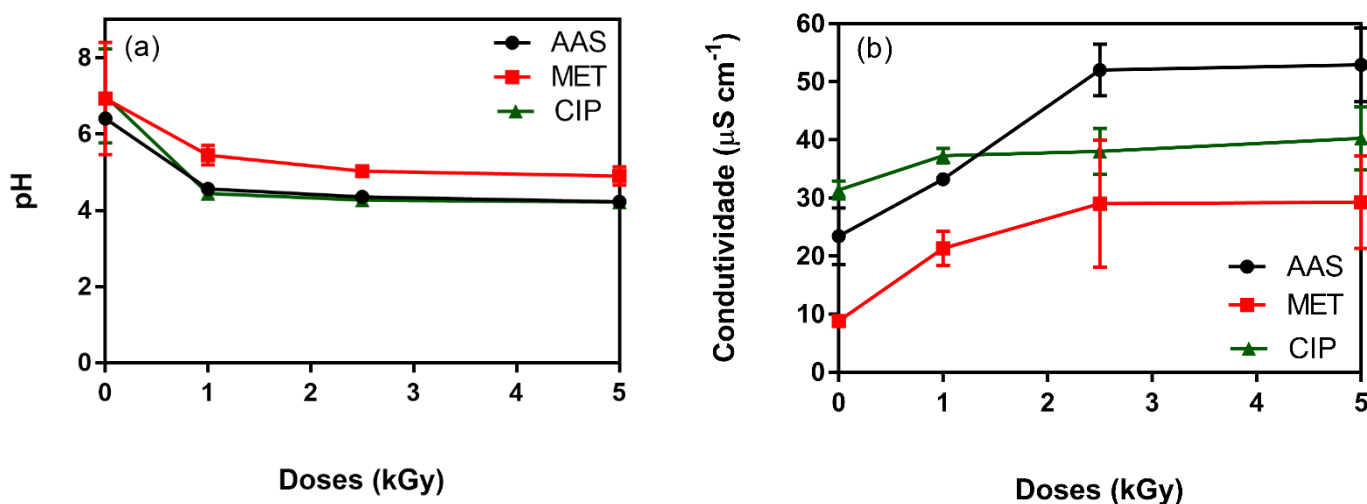
Em relação à fluoxetina, TOMINAGA et al. (2021) obtiveram concentrações abaixo do limite de detecção ($202 \mu\text{g L}^{-1}$) para soluções de 10 mg L^{-1} irradiadas em $1,0 \text{ kGy}$. SHAO et al., (2018) observaram degradação de 98%

em 1,0 kGy para soluções de 50 mg L⁻¹. SILVA et al., (2016) obtiveram degradação superior a 90% em 0,5 kGy para uma solução inicial de 20 mg L⁻¹ de FXT.

4.5.2 Efeito da irradiação em parâmetros físico-químicos

A Figura 38a demonstra um decaimento do pH de ambas as soluções de AAS, MET e CIP com o aumento da dose absorvida. O pH do AAS diminuiu de $6,41 \pm 0,18$ para $4,23 \pm 0,02$ em 5,0 kGy, enquanto o pH da MET decaiu de $6,93 \pm 1,5$ para $4,9 \pm 0,2$ e o da CIP foi de $7,00 \pm 1,23$ para $4,22 \pm 0,03$. Em contrapartida, foi observado um aumento da condutividade com o aumento da dose (Figura 38b). Os valores de condutividade do AAS aumentaram de $23,5 \pm 4,9$ para $52,9 \pm 6,4$ em 5,0 kGy, enquanto a condutividade da solução do cloridrato de metformina aumentou de $8,83 \pm 0,0$ para $29,3 \pm 7,99$ e o da CIP foi de $31,40 \pm 1,56$ para $40,25 \pm 5,44$.

Figura 38 - (a) pH e (b) condutividade de amostras de AAS, MET e CIP irradiadas em 1,0, 2,5 e 5,0 kGy



Fonte: autor da tese.

Estes fenômenos podem ser explicados devido à formação de ácidos orgânicos decorrentes do tratamento com radiação ionizante, conforme descrito no item anterior (4.5.1). Em relação aos valores de oxigênio dissolvido (OD), foi

observado que não houve alterações significativas após as irradiações. Os valores variaram entre 6,05 e 8,80 mg L⁻¹.

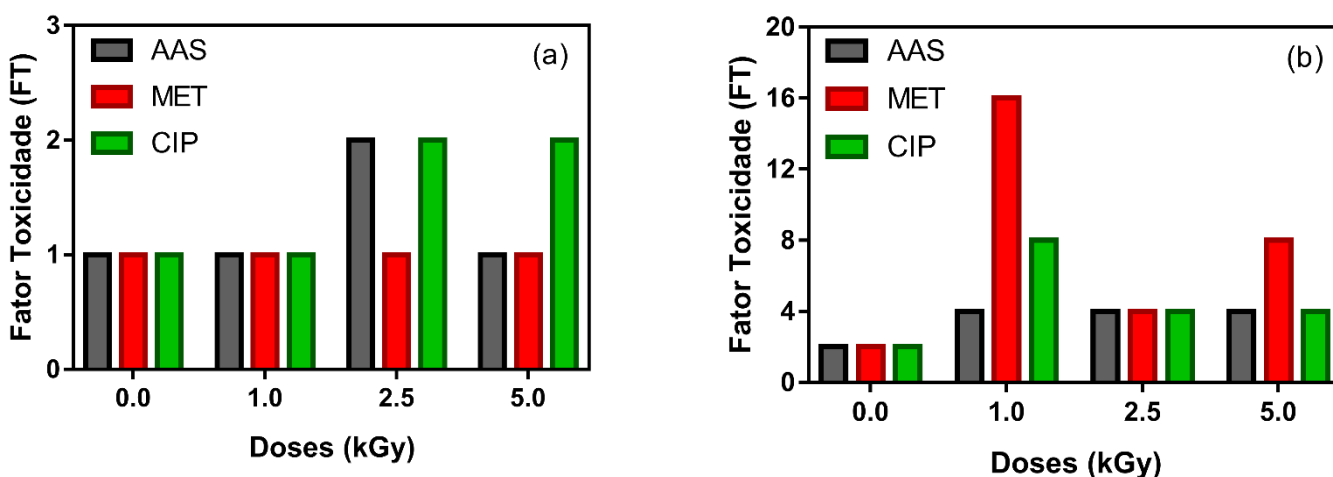
4.5.3 Efeito da irradiação na toxicidade das soluções de fármacos irradiadas

Na Figura 39 estão apresentados os resultados de toxicidade com *V. fischeri* e *D. similis* das soluções de fármacos irradiadas (AAS, MET e CIP) nas doses de 1,0 a 5,0 kGy.

Para as amostras de AAS irradiadas, os ensaios com *V. fischeri* demonstraram aumento da toxicidade apenas em 2,5 kGy, com aumento do Fator de Toxicidade para 2, indicando, assim, a formação de subprodutos mais tóxicos para a bactéria. Para MET não foi verificado aumento na toxicidade das amostras após o tratamento, enquanto para CIP, foi demonstrado aumento na toxicidade a partir de 2,5 kGy, com aumento do FT para 2, indicando a formação de subprodutos mais tóxicos a bactéria (Figura 39a).

Os ensaios de toxicidade com *D. similis* indicaram que após a irradiação, em todas as amostras, foi verificado aumento da toxicidade (Figura 39b). Para AAS foi verificado um aumento do Fator de Toxicidade 2 para 4 em todas as amostras irradiadas. Para MET e CIP, foi observado um aumento da toxicidade em 1,0 kGy, seguido de uma redução em 2,5 e 5,0 kGy.

Figura 39 - Toxicidade de amostras irradiadas de AAS, MET e CIP para (a) *V. fischeri* e (b) *D. similis*.



Fonte: autor da tese.

Tabela 24 - Toxicidade com *V. fischeri* e *D. similis* para amostras individuais de AAS, MET e CIP irradiadas em diferentes doses

Fármacos	Doses (kGy)	Ensaios	<i>V. fischeri</i>		<i>D. similis</i>		
			FT	CE50% _{48h}	UT	FT	
AAS	0,0	1	6,14	-	-		
		2	3,98	1	-	2	
		X ± S	5,06 ± 1,53	-	-		
	1,0	1	5,43		34,49	2,90	
		2	3,92	1	33,77	2,96	4
		X ± S	4,68 ± 1,07		34,13 ± 0,51	2,93 ± 0,04	
	2,5	1	19,10		35,99	2,78	
		2	26,40	2	34,94	2,86	4
		X ± S	22,75 ± 5,16		35,47 ± 0,74	2,82 ± 0,06	
	5,0	1	7,23		49,71	2,01	
		2	12,64	1	43,08	2,32	4
		X ± S	9,94 ± 3,8		46,40 ± 4,69	2,17 ± 0,22	
MET	0,0	1	13,4		73,84	1,35	
		2	15,4	1	73,84	1,35	2
		X ± S	14,4 ± 1,4		73,84 ± 0,0	1,35 ± 0,0	
	1,0	1	12,5		20,66	4,84	
		2	13,0	1	25,00	4,00	16
		X ± S	12,7 ± 0,3		22,83 ± 3,07	4,42 ± 0,59	
	2,5	1	2,9		32,99	3,03	
		2	3,2	1	34,15	2,93	4
		X ± S	3,1 ± 0,2		33,57 ± 0,82	2,98 ± 0,07	
	5,0	1	9,7		30,78	3,25	
		2	7,0	1	34,15	2,93	8
		X ± S	8,4 ± 1,8		32,47 ± 2,38	3,09 ± 0,23	
CIP	0,0	1	0,59		100	1,00	
		2	5,13	1	93,89	1,06	2
		X ± S	2,86 ± 3,21		96,95 ± 4,32	1,03 ± 0,46	
	1,0	1	2,80		19,61	5,01	
		2	4,23	1	18,30	5,46	8
		X ± S	3,52 ± 1,01		18,96 ± 0,93	5,28 ± 0,26	
	2,5	1	31,76		46,65	2,14	
		2	38,44	2	46,65	2,14	4
		X ± S	35,10 ± 4,72		46,65 ± 0,00	2,14 ± 0,00	
	5,0	1	23,23		39,23	2,55	
		2	23,65	2	40,61	2,46	4
		X ± S	22,94 ± 0,41		39,92 ± 0,98	2,51 ± 0,06	

Fonte: autor da tese.

De acordo com SZABÓ et al. (2014), o aumento da toxicidade pode estar relacionado com a formação de peróxido de hidrogênio após a irradiação. O peróxido de hidrogênio representa um parâmetro negativo para ensaios biológicos

(BORRELY et al. 2004), uma vez que a grande maioria dos organismos aquáticos são altamente sensíveis a este composto.

Na presença de oxigênio na amostra, quando ocorre aeração das amostras, por exemplo, o elétron hidratado (e^-_{aq}) e o átomo de hidrogênio ($H\bullet$) provenientes da radiólise da água são convertidos quase que completamente em $O_2^-/HO_2\bullet$ (BUXTON et al. 1988; ILLÉS et al. 2017). O peróxido de hidrogênio é formado na solução aerada principalmente por meio da reação com elétrons hidratados que também contribuem para a produção de radical hidroxila (BIELSKI et al. 1985). ILLÉS et al. (2017) avaliaram a formação de peróxido de hidrogênio durante a radiólise da água de soluções aquosas contendo diversas moléculas orgânicas aromáticas, sendo verificada a presença de H_2O_2 residual em concentrações de até 10^{-4} mol L^{-1} , quantidade de peróxido não degradada durante a radiólise. Estudos anteriores reportaram a formação de H_2O_2 para o AAS e CIP após o tratamento com radiação ionizante (SZABÓ et al. 2014, ILLÉS et al. 2017, TOMINAGA et al., 2021).

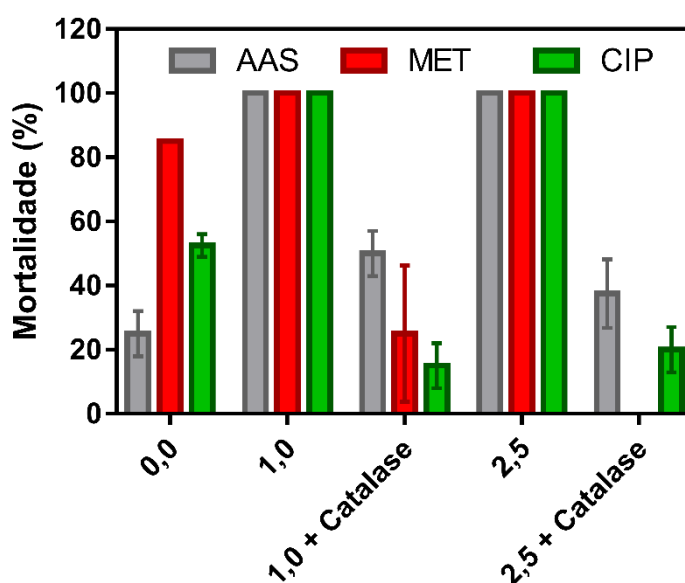
De acordo com SÁGI et al., (2018), normalmente a formação de peróxido de hidrogênio é negligenciada, embora possua uma forte interferência em métodos analíticos aplicados rotineiramente. Os autores avaliaram a ecotoxicidade de soluções de $0,1$ mmol dm^{-3} de sulfametazole tratadas por radiação gama e verificaram os efeitos do H_2O_2 para diferentes organismos aquáticos (*V. fischeri*, *D. magna* e *R. subcapitata*). Foi verificado que $0,5$ mmol dm^{-3} H_2O_2 pode causar efeitos notáveis na mortalidade/inibição dos organismos, sendo reportada inibição de ~96% para alga ~72% para bactéria e 100% de mortalidade para *D. magna*.

A Figura 40 demonstra a comparação dos resultados de toxicidade das soluções de AAS, MET e CIP irradiadas com 1,0 e 2,5 kGy e das respectivas amostras previamente tratadas com catalase para a remoção do H_2O_2 formado para *D. similis*. Foi possível verificar que, após o tratamento com a enzima, houve redução da toxicidade em todas as amostras, indicando assim, a baixa toxicidade residual dos subprodutos gerados pela degradação dos fármacos.

Para o AAS, foi possível verificar que houve um aumento da toxicidade das amostras brutas para as irradiadas tratadas com catalase com aumento

imobilidade de 30% para valores entre 40 e 50%. Em contrapartida, os resultados com MET e CIP indicaram redução de toxicidade das amostras irradiadas tratadas com catalase (imobilidade inferior a 25%) comparadas as amostras brutas (imobilidade de 85% para MET e aproximadamente 50% para CIP), indicando baixa toxicidade residual dos subprodutos gerados.

Figura 40 – Toxicidade das amostras de AAS, MET e CIP irradiadas e das amostras irradiadas tratadas com catalase para *D. similis*



Fonte: autor da tese.

4.5.4 Efeito da irradiação em misturas de fármacos

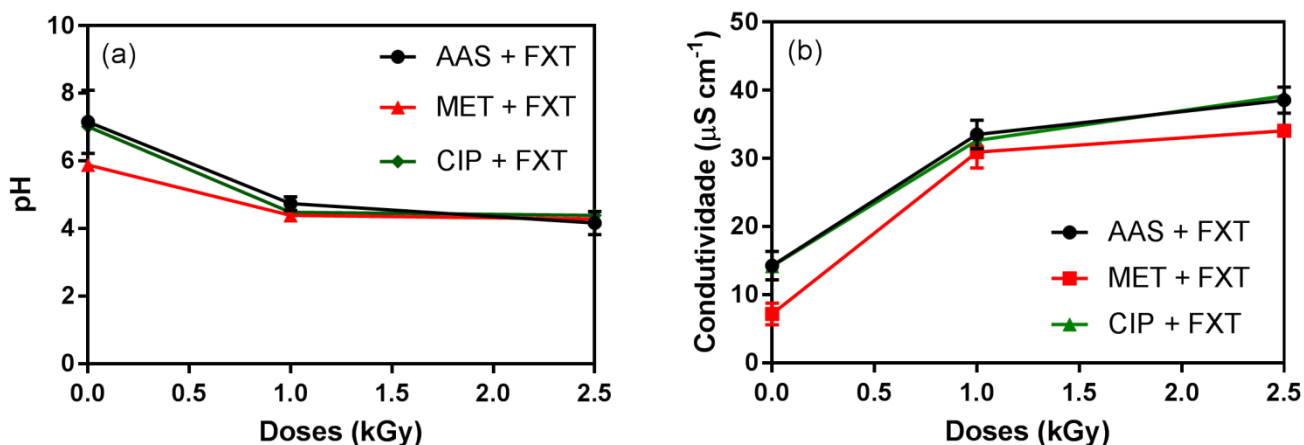
4.5.4.1. Efeito da irradiação em misturas binárias

Neste item foram apresentados os resultados da toxicidade das misturas irradiadas em 1,0 e 2,5 kGy. Devido à maior toxicidade obtida pela FXT, os experimentos foram realizados com as misturas binárias dos fármacos contendo o antidepressivo (AAS + FXT; MET + FXT; CIP + FXT). As misturas foram preparadas na proporção 1:1 de soluções com concentrações iniciais de 10,0 mg L⁻¹.

A Figura 41 demonstra os efeitos da irradiação nos parâmetros físico-químicos das misturas binárias. Foi observado o decaimento do pH de todas as misturas com o aumento da dose absorvida (Figura 41a). Em contrapartida, foi

verificado um aumento da condutividade com o aumento da dose (Figura 41b). Já em relação aos valores de oxigênio dissolvido (OD), foi observado que não houve alterações significativas após as irradiações com valores entre 7,0 e 8,80 mg L⁻¹.

Figura 41 - (a) pH e (b) condutividade de misturas binárias contendo FXT irradiadas em 1,0 e 2,5 kGy



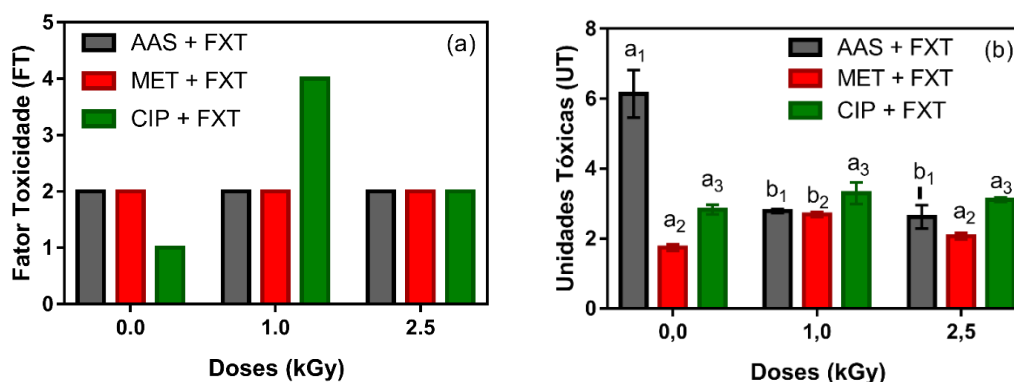
Fonte: autor da tese.

Para a mistura de AAS + FXT, os resultados com *V. fischeri* não indicaram alteração da toxicidade após o tratamento (Figura 42a), enquanto os resultados para *D. similis* demonstraram eficiência de remoção de toxicidade em todas as amostras tratadas ($54,64 \pm 0,81$ % e $57,24 \pm 5,66$ % em 1,0 e 2,5 kGy, respectivamente), indicando, assim, baixa toxicidade residual dos subprodutos gerados após o tratamento para o microcrustáceo (Tabela 25). O tratamento estatístico demonstrou diferenças significativas entre a amostra bruta e as irradiadas ($p < 0,05$), entretanto, não foram verificadas diferenças significativas entre as amostras de 1,0 e 2,5 kGy ($p = 0,9757$) (Figura 42b). indicando, assim, o uso de baixas doses.

Em relação às misturas de MET + FXT, os resultados de toxicidade com *V. fischeri* não indicaram alterações da toxicidade das amostras irradiadas, enquanto para *D. similis* foi observado aumento significativo da toxicidade apenas em 1,0 kGy ($p = 0,0031$).

Para a mistura de CIP + FXT, os resultados com *V. fischeri* indicaram aumento da toxicidade em todas as doses avaliadas, sendo observado um aumento em 1,0 kGy, (FT = 4), seguido de um decaimento (FT = 2). Para *D. similis*, não foram observadas alterações significativas na toxicidade das amostras após o tratamento ($p > 0,05$), indicando que não houve a formação de subprodutos mais tóxicos.

Figura 42 - Toxicidade das misturas binárias irradiadas para (a) *V. fischeri* e (b) *D. similis*. Letras diferentes (a,b,c) e indicam diferenças significativas (teste de Tukey, $p < 0,05$). Os índices 1, 2, 3 são referentes amostras de AAS + FXT; MET + FXT e CIP + FXT, respectivamente



Fonte: autor da tese.

Tabela 25 - Toxicidade com *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* para as misturas binárias irradiadas em diferentes doses

Doses (kGy)	Ensaio	<i>Daphnia similis</i>			<i>V. fischeri</i>	FT	
		CE50% _{48h}	UT	Eficiência de Remoção (%)	Inibição (%)		
AAS	0,0	1	17,68	5,66	-	21,17	2
		2	15,10	6,62	-	21,60	
	X ± S	16,39 ± 1,82	6,14 ± 0,68	-	21,38 ± 0,31		
+FXT	1,0	1	36,36	2,75	55,21	29,32	2
		2	35,36	2,82	54,07	25,78	
	X ± S	35,86 ± 0,71	2,79 ± 0,06	54,64 ± 0,81	27,55 ± 2,50		
FXT	2,5	1	42,05	2,38	61,24	33,61	2
		2	34,94	2,86	53,42	31,22	
	X ± S	38,50 ± 5,03	2,62 ± 0,34	57,24 ± 5,66	32,42 ± 1,69		
MET	0,0	1	55,48	1,80	-	23,59	2
		2	59,46	1,68	-	27,85	
	X ± S	57,47 ± 2,81	1,74 ± 0,09	-	25,72 ± 3,0		
+FXT	1,0	1	36,60	2,73	-	32,39	2
		2	37,89	2,64	-	32,75	
	X ± S	37,25 ± 0,91	2,69 ± 0,07	-	32,57 ± 0,26		
FXT	2,5	1	50,00	2,00	-	33,33	2
		2	46,65	2,14	-	32,51	
	X ± S	48,33 ± 2,37	2,07 ± 0,10	-	32,92 ± 0,58		
CIP	0,0	1	34,09	2,93	-	15,48	1
		2	36,63	2,73	-	10,50	
	X ± S	35,36 ± 1,80	2,83 ± 0,14	-	12,99 ± 3,52		

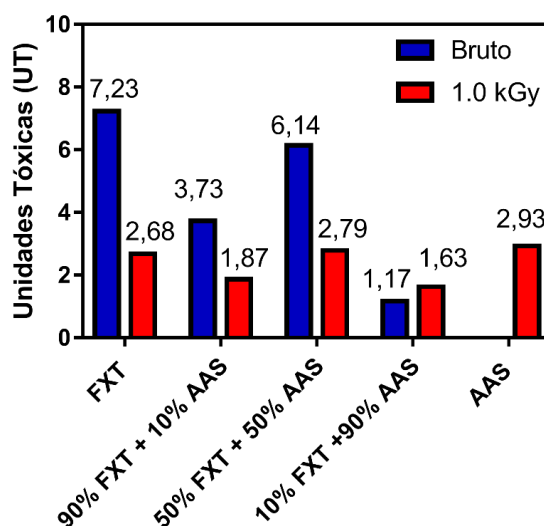
+	1,0	1	28,40	3,52	-	46,29	4
		2	32,42	3,08	-	37,48	
		X ± S	30,41 ± 2,84	3,30 ± 0,31	-	41,88 ± 6,23	
F	2,5	1	32,59	3,07	-	25,78	2
X		2	31,69	3,16	-	35,71	
T		X ± S	32,14 ± 0,64	3,11 ± 0,06	-	30,74 ± 7,02	

Fonte: autor da tese.

A partir dos resultados obtidos, foi avaliado o efeito da concentração inicial dos fármacos nas misturas binárias na toxicidade das amostras tratadas por irradiação. As Figura 43, 44 e 45 demonstram o efeito na toxicidade das diferentes combinações de misturas irradiadas em 1,0 kGy para *D. similis*.

Na mistura de AAS + FXT, foi possível observar que a toxicidade inicial das misturas depende da concentração inicial dos fármacos (Figura 43). Foi possível observar que houve uma remoção de toxicidade na mistura que contém maior proporção de FXT (90% FXT + 10% AAS) e na mistura 1:1, apresentando eficiências de remoção próximas a 50%. No entanto, com o aumento da concentração de AAS, há um aumento da toxicidade das amostras tratadas.

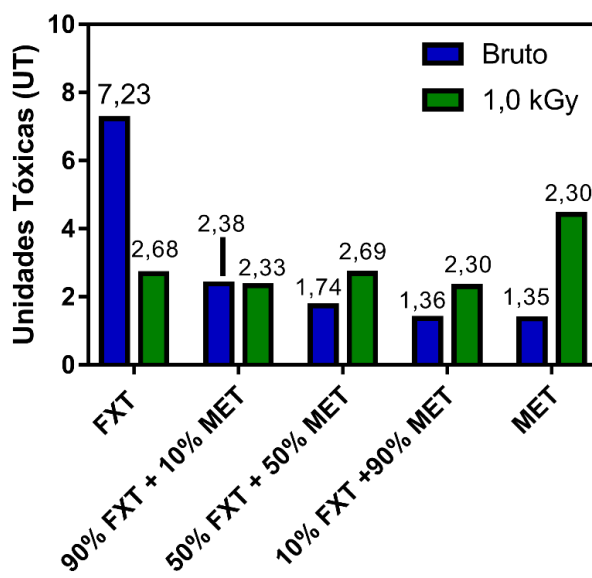
Figura 43 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias de FXT + AAS tratadas por irradiação com feixe de elétrons para *D. similis*



Fonte: autor da tese.

Para a mistura de MET + FXT, foi possível notar que apenas na maior proporção de FXT (90% FXT + 10% MET), foi observada uma baixa remoção de toxicidade (~2%). Porém para as outras proporções foram observadas um aumento da toxicidade em todas as amostras irradiadas.

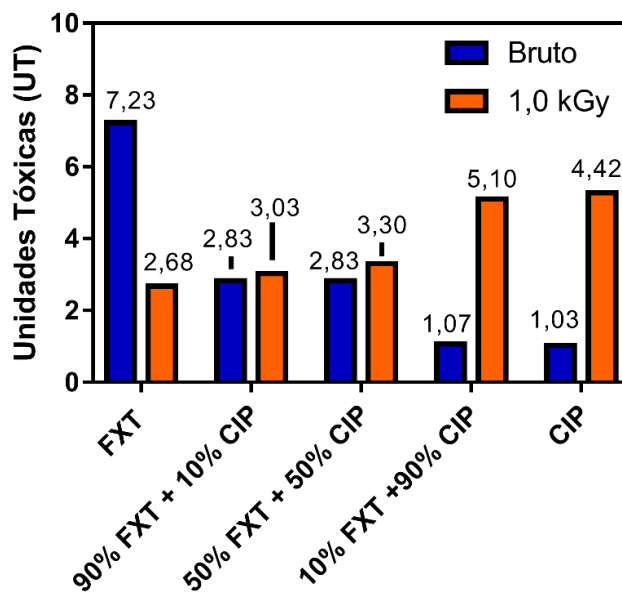
Figura 44 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias FXT + MET tratadas por irradiação com feixe de elétrons para *D. similis*



Fonte: autor da tese.

Finalmente, para as misturas de CIP + FXT, foi observado aumento de toxicidade em todas as misturas avaliadas, sendo verificado um maior aumento na maior concentração de CIP (10% FXT + 90% CIP). Desta forma, os resultados indicam diferentes interações entre os fármacos durante a irradiação.

Figura 45 - Efeito da concentração inicial dos fármacos na toxicidade das misturas binárias FXT + CIP tratadas por irradiação com feixe de elétrons para *D. similis*



Fonte: autor da tese.

4.5.5.2 Efeito da irradiação na toxicidade de misturas quaternárias

Neste item foram apresentados os resultados sobre o efeito da irradiação por feixe de elétrons na degradação e toxicidade da mistura quaternária dos fármacos. As soluções de fármacos foram preparadas utilizando água natural (água de cultivo) nas concentrações iniciais de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ para simular o efeito em matrizes reais.

Na Tabela 26 foram apresentados os resultados de degradação e toxicidade das amostras brutas e irradiadas em $2,5 \text{ kGy}$. Foi possível observar que a irradiação por feixe de elétrons se demonstrou eficiente na remoção dos fármacos (remoção superior a 80%). A FXT apresentou a menor remoção (~80%), enquanto os demais fármacos obtiveram remoção superior a 96%. Os resultados com a bactéria *V. fischeri* demonstraram que não houve aumento da toxicidade após o tratamento, enquanto foi possível verificar um aumento da toxicidade aguda para *D. similis*.

Tabela 26 – Eficiência de Degradação, toxicidade com *Vibrio fischeri* e *Daphnia similis* para as misturas quaternária irradiadas em 2,5 kGy.

Doses (kGy)	Eficiência de Remoção (%)				<i>V. fischeri</i>	<i>D. similis</i>
	AAS	FXT	MET	CIP	FT	FT
0	-	-	-	-	1	1
2,5	99,48	81,25	97,93	96,32	1	4

Fonte: autor da tese.

4.7 Comparação do efeito da irradiação na toxicidade

Processos oxidativos avançados têm se mostrado eficiente na remoção de toxicidade de efluentes contendo elevada toxicidade, entretanto, após o processo de degradação também pode ocorrer a formação de compostos mais tóxicos que o composto inicial, sendo assim necessária a avaliação da toxicidade (BABU et al., 2019). A Tabela 27 demonstra a comparação dos efeitos da toxicidade das amostras de fármacos irradiadas em 2,5 kGy para diferentes organismos.

Tabela 27 – Comparação do efeito da toxicidade das amostras de fármacos irradiadas em 2,5 kGy para *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*

Fármaco	<i>D. similis</i>	<i>V. fischeri</i>
AAS	+	+
FXT	- ^a	- ^b
MET	+	0
CIP	+	+
AAS + FXT (1:1)	-	0
MET + FXT (1:1)	0	0
CIP + FXT (1:1)	0	+
AAS + FXT + MET + CIP	+	0

Legenda:

+ Aumento da toxicidade

- Remoção de toxicidade

0 – Não foi verificada alteração de toxicidade na amostra

a – Tominaga et al., (2021)

b – Silva et al., (2016)

Fonte: autor da tese.

Os ensaios com AAS demonstraram que houve aumento de toxicidade para ambos os organismos, indicando a formação de subprodutos mais tóxicos.

Estudos anteriores também demonstraram aumento da toxicidade para *V. fischeri* após o tratamento por irradiação gama em baixas doses para o ácido acetilsalicílico (SZABÓ et al. 2014). Alguns trabalhos também demonstraram aumento da toxicidade para *V. fischeri* após o tratamento por radiação ionizante em baixas doses para diferentes anti-inflamatórios como paracetamol (SZABÓ et al. 2012) e ibuprofeno (ILLÉS et al. 2013), indicando também a formação de subprodutos mais tóxicos. De acordo com DAESCU et al., (2021), os compostos intermediários do AAS formados pelo processo de oxidação fotocatalítica ou diferentes mecanismos como hidrólise, adição eletrolítica, transferência de elétrons, reação de descarboxilação, abertura do anel aromático e reação radical, são mais tóxicos que o composto inicial.

Em relação à FXT, a irradiação por feixe de elétrons tem sido apontada como uma tecnologia eficiente para a degradação e remoção de toxicidade da fluoxetina em baixas doses. TOMINAGA et al. (2021) demonstraram remoção de aproximadamente 60% para *D. similis* a partir de solução inicial de 10 mg L⁻¹ de FXT nas doses de 1,0 e 5,0 kGy. SILVA et al (2016) demonstraram aproximadamente 10% de remoção de toxicidade para *V. fischeri* de soluções de 5 mg L⁻¹ de FXT irradiadas em 5,0 kGy.

WANG, C. et al., (2018) avaliaram a degradação eletroquímica da fluoxetina (20 mg L⁻¹) e verificaram um aumento da toxicidade de 41,2% de inibição para 100% após 5 min de eletrólise, entretanto, após 30 min foi verificada detoxificação das amostras com inibição menor que 2,2%; PARK et al., (2020) avaliaram a degradação catalítica da fluoxetina, e observaram que os valores previstos de EC50 pelo ECOSAR indicaram que houve uma redução da toxicidade após o tratamento para os organismos avaliados (peixe, daphnia, alga verde). No entanto, os resultados experimentais com *V. fischeri* indicaram que houve um aumento da toxicidade, seguido de uma remoção.

Os resultados com MET demonstraram que foi verificada aumento da toxicidade para *D. similis* enquanto para a bactéria não foi observado aumento da toxicidade. Estudos anteriores verificaram aumento da inibição da bioluminescência de *V. fischeri* após o tratamento por processos UV e UV/H₂O₂, indicando a formação de subprodutos mais tóxicos (MACÉRAK et al., 2018). Em contrapartida, QUINTÃO et al., (2016) verificaram que não houve aumento de

citotoxicidade para células HepG2 tanto nas amostras de MET brutas e tratadas pelos processos de ozonização, fotólise UVC, fotocatalise (TiO_2/UVC) e cloração.

Os resultados para o antibiótico CIP indicaram que para a bactéria e o microcrustáceo houve um aumento significativo da toxicidade. TEGZE et al., (2018) também reportaram aumento da toxicidade com *V. fischeri* a partir de 2 kGy para soluções de $0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$ CIP tratadas por radiação gama. Em contrapartida, os autores verificaram redução da atividade microbiana para a bactéria *Staphylococcus aureus* em doses a partir de 2 kGy.

Em relação as misturas binárias contendo fluoxetina, os resultados com *V. fischeri* não indicaram alteração da toxicidade após o tratamento com o feixe de elétrons, exceto para a mistura contendo ciprofloxacina, indicando assim, que os subprodutos formados pela degradação do antibiótico são mais tóxicos para a bactéria. Em contrapartida, os ensaios com *D. similis* indicaram que houve melhora significativa para a mistura de FXT com o AAS, e que para as demais misturas não houve alteração da toxicidade.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram apresentados os resultados de toxicidade de mistura binárias antes e após o tratamento com feixe de elétrons.

Inicialmente, o presente trabalho demonstrou efeitos agudos de quatro fármacos frequentemente detectados em matrizes ambientais para três organismos. Foi possível concluir que as leveduras apresentaram baixa sensibilidade aos fármacos estudados, embora tenha sido possível observar a presença de efeitos tóxicos. Em contrapartida o microcrustáceo *D. similis* o organismo modelo mais sensível à maioria dos fármacos estudados (antidepressivo, antidiabético e antibiótico).

Dentre os fármacos estudados, a fluoxetina demonstrou maior toxicidade tanto para a bactéria *V. fischeri* quanto para o microcrustáceo *D. similis*. Em relação a avaliação de risco, os resultados indicaram possível risco para o AAS, a FXT e MET. Embora os resultados tenham indicado baixo risco à ciprofloxacina, os resultados de toxicidade crônica com *D. similis* ressaltaram a importância de avaliar a toxicidade crônica, para elucidar o potencial de risco ambiental, e utilizar diferentes níveis tróficos, a fim de garantir maior proteção aos diferentes organismos não-alvo do ambiente aquático, além de reforçar a relevância de trabalhos relacionados ao monitoramento ambiental destes contaminantes.

O estudo também demonstrou a interação entre o antidepressivo e os demais fármacos, sendo possível notar tanto efeitos sinérgicos quanto antagonísticos, de acordo com a proporção ou concentração dos contaminantes na mistura. Assim, os resultados mostraram implicações relevantes para a avaliação de risco ambiental, indicando que os efeitos de medicamentos individuais podem subestimar o nível de risco desses contaminantes quando no meio ambiente. Portanto, existe a possibilidade de amplificação ou diminuição dos efeitos dos produtos farmacêuticos em organismos expostos a múltiplos contaminantes.

A irradiação por feixe de elétrons provou ser uma tecnologia eficaz para remover o AAS e a CIP em soluções aquosas, mesmo em baixas doses. Embora o processo por radiação foi menos eficiente para a metformina foi

possível verificar um aumento da degradação proporcional à dose de radiação. Adicionalmente, os resultados com a mistura quaternária demonstram remoção superior a 80% para todos os fármacos em matrizes reais (água natural). Em relação aos ensaios de toxicidade, os resultados indicaram que o microcrustáceo foi mais sensível aos subprodutos gerados após a irradiação (com um aumento significativo da toxicidade das amostras de ciprofloxacina e metformina individualmente em 1,0 kGy); ao passo que para a bactéria foi notado aumento da toxicidade das amostras de ácido acetilsalicílico e ciprofloxacina, individualmente, em 2,5 kGy, indicando que o uso de baixas doses foram eficientes.

Para os efeitos de misturas foi verificado que pode ocorrer aumento da toxicidade dependendo da proporção dos fármacos em mistura. Desta forma, os resultados obtidos reforçam a importância dos ensaios de toxicidade com organismos de diferentes níveis tróficos como uma importante ferramenta para o gerenciamento do descarte das amostras tratadas, a fim de reduzir o impacto em ecossistemas aquáticos. Ademais, a irradiação por feixe de elétrons pode ser um processo alternativo interessante e aplicado como uma tecnologia de pré-tratamento capaz de degradar e remover a toxicidade de produtos farmacêuticos das águas e de efluentes.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a toxicidade dos fármacos individualmente e em mistura para organismos de diferentes níveis tróficos;
- Identificação dos subprodutos formados para os compostos isolados e em mistura;
- Aplicar processos combinados para aumentar a eficiência de remoção e toxicidade das misturas;
- Estudar a presença de excipientes e a influência destes compostos na toxicidade e degradação de fármacos;
- Propor a irradiação com feixe de elétrons como tratamento de amostras reais: efluente de estação de tratamento de esgoto; indústrias farmacêuticas etc;
- Propor trabalhos que enfatizem o descarte racional dos medicamentos, bem como o gerenciamento industrial.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M.; ADIL, M.; EHTISHAM-UL-HAQUE, S.; MUNIR, B.; YAMEEN, M.; GHAFFAR, A.; SHAR, G. A.; TAHIR, M. A.; IQBAL, M. *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: a review. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 1295-1309, 2018.

ABDEL RAHMAN, R. O.; HUNG, Y. T. Application of ionizing radiation in wastewater treatment: An overview. **Water**, v. 12, n. 1, p. 19, 2020.

AL AUKIDY, M.; VERLICCHI, P.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÒ, D. Monitoring release of pharmaceutical compounds: occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. **Science of the Total Environment**, v. 438, p. 15-25, 2012.

AL ODAINI, N. A.; ZAKARIA, M. P.; YAZIZ, M. I.; SURIF, S.; ABDULGHANI, M. The occurrence of human pharmaceuticals in wastewater effluents and surface water of Langat River and its tributaries, Malaysia. **International journal of environmental analytical chemistry**, v. 93, n. 3, p. 245-264, 2013.

AL OMAR, M. A. Ciprofloxacin: drug metabolism and pharmacokinetic profile. In: Profiles of drug Substances, excipients and related methodology. **Academic Press**, p. 209-214, 2005.

AGIUS, J. E.; KIMBLE, B.; GOVENDIR, M.; ROSE, K.; POLLARD, C. L.; PHALEN, D. N. Pharmacokinetic profile of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in Asian house geckos (*Hemidactylus frenatus*) after single-dose oral administration of enrofloxacin. **Veterinary and Animal Science**, v. 9, p. 100116.

ALSOP, D.; WOOD, C. M. Metal and pharmaceutical mixtures: is ion loss the mechanism underlying acute toxicity and widespread additive toxicity in zebrafish?. **Aquatic toxicology**, v. 140, p. 257-267, 2013.

AMBROSIO-ALBUQUERQUE, E. P.; CUSIOLI, L.F.; BERGAMASCO, R.; SINÓPOLIS GIGLIOLLI, A.A.; LUPEPSA, L.; PAUPITZ, B. R.; BARBIERI, P. A.; BORIN-CARVALHO, L. A.; DE BRITO PORTELA-CASTRO; A. L., Metformin environmental exposure: A systematic review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, p. 103588, 2021.

ANADON, A.; MARTINEZ-LARRANAGA, M. R.; DIAZ, M. J.; BRINGAS, P.; MARTINEZ, M. A.; FERNANDEZ-CRUZ, M. L.; FERNANDEZ, M. C.; FERNANDEZ, R. Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. **American journal of veterinary research**, v. 56, n. 4, p. 501-506, 1995.

ANALYTICA. Principais tendências da indústria farmacêutica para 2020. **Revista analítica**, São Paulo, 2020. Disponível em: <
<https://revistaanalytica.com.br/principais-tendencias-da-industria-farmacautica-para-2020/>> Acesso em: 08 de setembro de 2021.

ANDREWS, W. J.; MASONER, J. R.; COZZARELLI, I. M. Emerging contaminants at a closed and an operating landfill in Oklahoma. **Groundwater Monitoring & Remediation**, v. 32, n. 1, p. 120-130, 2012.

ARAGÃO, R. B. D. A.; SEMENSATTO, D.; CALIXTO, L. A.; LABUTO, G. Pharmaceutical market, environmental public policies and water quality: the case of the São Paulo Metropolitan Region, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, e00192319, 2020.

ARAÚJO, R. P. de A.; BURATINI, S. V. Aspectos gerais: cultivo e testes de toxicidade com *Daphnia*. In: Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos. CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental), Cursos e Treinamentos. Volume 1, 2007.

ARCHER, E.; PETRIE, B.; KASPRZYK-HORDERN, B.; WOLFAARDT, G. M. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental Waters. **Chemosphere**, v. 174, p. 437-446, 2017.

ARKHIPOVA, O. V.; GRISHIN, S. N.; SITDIKOVA, G. F.; ZEFIROV, A. L. Presynaptic effects of arachidonic acid and prostaglandin E2 in the frog neuromuscular synapse. **Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni IM Sechenova**, v. 91, n. 3, p. 268-276, 2005.

ARRAIS, P. S. D.; FERNANDES, M. E. P.; DAL PIZZOL, T. D. S.; RAMOS, L. R.; MENGUE, S. S.; LUIZA, V. L.; TAVARES, N. U. L.; FARIAS, M. R.; OLIVEIRA, M. A.; BERTOLDI, A. D. Prevalência da automedicação no Brasil e fatores associados. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p. 1-13, 2016.

ARRUBLA, J. P.; CUBILLOS, J. A.; RAMÍREZ, C. A.; ARREDONDO, J. A.; ARIAS, C. A.; PAREDES, D. Pharmaceutical and personal care products in domestic wastewater and their removal in anaerobic treatment systems: septic tank-up flow anaerobic filter. **Ingeniería e Investigación**, v. 36, n. 1, p. 70-78, 2016.

ARSAND, J. B.; HOFF, R. B.; JANK, L.; BUSSAMARA, R.; DALLEGRAVE, A.; BENTO, F. M.; PIZZOLATO, T. M. Presence of antibiotic resistance genes and its association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in southern Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 738, p. 139781, 2020.

ASEMAN-BASHIZ, E.; REZAEI, A.; MOUSSAVI, G. Ciprofloxacin removal from aqueous solutions using modified electrochemical Fenton processes with iron green catalysts. **Journal of Molecular Liquids**, v. 324, p. 114694, 2021.

ASHRAF, M. I.; ATEEB, M.; KHAN, M. H.; AHMED, N.; MAHMOOD, Q. Integrated treatment of pharmaceutical effluents by chemical coagulation and ozonation. **Separation and Purification Techno**, v. 158, p. 383-386, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia aquática — Efeito Inibitório Sobre A Bioluminescência De *Vibrio fischeri* - Parte 3: Método Utilizando Bactérias Liofilizadas**. ABNT 15411-3, Rio de Janeiro, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera)**. ABNT 12713, Rio de Janeiro, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)**. ABNT 12648, Rio de Janeiro, 2018.

AYDIN, E.; TALINLI, I. Analysis, occurrence and fate of commonly used pharmaceuticals and hormones in the Buyukcekmece Watershed, Turkey. *Chemosphere*, 90(6), 2004-2012., I. (2013). Analysis, occurrence and fate of commonly used pharmaceuticals and hormones in the Buyukcekmece Watershed, Turkey. ***Chemosphere***, v. 90, n. 6, p. 2004-2012, 2013.

BABU, D. S.; SRIVASTAVA, V.; NIDHEESH, P. V.; KUMAR, M. S. Detoxification of water and wastewater by advanced oxidation processes. ***Science of the Total Environment***, v. 696, p. 133961, 2019.

BACKHAUS, T. Environmental risk assessment of pharmaceutical mixtures: demands, gaps, and possible bridges. ***The AAPS journal***, v. 18, n. 4, p. 804-813, 2016.,

BACKHAUS, T. Medicines, shaken and stirred: a critical review on the ecotoxicology of pharmaceutical mixtures. ***Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences***, v. 369. n. 1656, p. 20130585, 2014.

BAILEY, C. J.; TURNER, R. C. Metformin. ***New England Journal of Medicine***, v. 334, n. 9, p. 574-579, 1996.

BAKER, D. R., KASPRZYK-HORDERN, B. Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: new developments. ***Science of the Total Environment***, v. 454, p. 442-456, 2013.

BALDWIN, W. S.; MARKO, P. B.; NELSON, D. R. The cytochrome P450 (CYP) gene superfamily in *Daphnia pulex*. ***BMC genomics***, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2009.

BALZAN, R.; SAPIENZA, K.; GALEA, D. R.; VASSALLO, N.; FREY, H.; BANNISTER, W. H. Aspirin commits yeast cells to apoptosis depending on carbon source. ***Microbiology***, v. 150, n. 1, p. 109-115, 2004.

BANSAL, P.; VERMA, A.; TALWAR, S. Detoxification of real pharmaceutical wastewater by integrating photocatalysis and photo-Fenton in fixed-mode. ***Chemical Engineering Journal***, v. 349, p. 838-848, 2018.

BARBI, L.; CARVALHO, L.; SILVA, M.; LUZ, T. C. B. Antidepressivos, ansiolíticos, hipnóticos e sedativos: uma análise dos gastos em Minas Gerais. ***Physis: Revista de Saúde Coletiva***, v. 29, p. e290407, 2019.

BECKER, R. W.; IBÁÑEZ, M.; LUMBAQUE, E. C.; WILDE, M. L.; DA ROSA, T. F.; HERNÁNDEZ, F.; SIRTORI, C. Investigation of pharmaceuticals and their metabolites in Brazilian hospital wastewater by LC-QTOF MS screening combined

with a preliminary exposure and *in silico* risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 699, p. 134218, 2020.

BEDOYA-RÍOS, D. F.; LARA-BORRERO, J. A.; DUQUE-PARDO, V.; MADERA-PARRA, C. A.; JIMENEZ, E. M.; TORO, A. F. Study of the occurrence and ecosystem danger of selected endocrine disruptors in the urban water cycle of the city of Bogotá, Colombia. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 53, n. 4, p. 317-325, 2018.

BENOTTI, M. J.; TRENHOLM, R. A.; VANDERFORD, B. J.; HOLADY, J. C.; STANFORD, B. D.; SNYDER, S. A. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water. **Environmental science & technology**, v. 43, n. 3, p. 597-603, 2009.

BERTHOUD, H. R. Synergy: a concept in search of a definition. **Endocrinology**, v. 154, n. 11, p. 3974-3977, 2013.

BI, R.; ZENG, X.; MU, L.; HOU, L.; LIU, W.; LI, P.; CHEN, H.; LI, D.; BOUCHEZ, A.; TANG, J. XIE, L. Sensitivities of seven algal species to triclosan, fluoxetine and their mixtures. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.

BIELSKI, B. H.; CABELLI, D. E.; ARUDI, R. L.; ROSS, A. B. Reactivity of HO₂/O⁻² radicals in aqueous solution. **Journal of physical and chemical reference data**, v. 14, n. 4, p. 1041-1100, 1985.

BLÁHA, L.; HOFMAN, J. **Ecotoxicology of Environmental Pollutants. In Advanced Nano-Bio Technologies for Water and Soil Treatment**. Springer, Cham, 2020.

BLAIR, B. D.; CRAGO, J. P.; HEDMAN, C. J.; TREGUER, R. J.; MAGRUDER, C.; ROYER, L. S.; KLAPER, R. D. Evaluation of a model for the removal of pharmaceuticals, personal care products, and hormones from wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 444, p. 515-521, 2013a.

BLAIR, B. D.; CRAGO, J. P.; HEDMAN, C. J.; KLAPER, R. D. Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. **Chemosphere**, v. 93, n. 9, p. 2116-2123 2013b.

BOBU, M.; YEDILER, A.; SIMINICEANU, I.; ZHANG, F.; SCHULTE-HOSTEDE, S. Comparison of different advanced oxidation processes for the degradation of two fluoroquinolone antibiotics in aqueous solutions. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 48, n. 3, p. 251-262, 2013.

BOIANI, N. F.; GRANADEIRO, V. S. G.; BORRELY, S. I. Electron beam irradiation of combined pharmaceuticals: propranolol and fluoxetine and related ecotoxicity. **Brazilian Journal of Radiation Sciences**, v. 9, n. 1A, 2021.

BOIANI, N. F.; SILVA, V. H. O.; GARCIA, V. S. G.; DEL SOLE, S. V.; BORRELY, S. I. Electron beam irradiation of pharmaceuticals aiming at toxicity reduction: a binary mixture of fluoxetine and propranolol. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 14, n. 1, p. 53-58, 2019.

- BORRELY, S. I.; GONÇALVES, A. A.; OIKAWA, H.; DUARTE, C. L.; ROCHA, F. R. Electron beam accelerator for detoxification of effluents. When radiation processing can enhance the acute toxicity?. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 71, n. 1-2, p. 455-458, 2004.
- BORGES, T. L.; MIASSO, A. I.; VEDANA, K. G. G.; TELLES, P. C. P.; HEGADOREN, K. M. Prevalência do uso de psicotrópicos e fatores associados na atenção primária à saúde. ***Acta Paulista de Enfermagem***, v. 28, p. 344-349, 2015.
- BOSSUS, M. C.; GULER, Y. Z.; SHORT, S. J.; MORRISON, E. R.; FORD, A. T. Behavioural and transcriptional changes in the amphipod *Echinogammarus marinus* exposed to two antidepressants, fluoxetine and sertraline. ***Aquatic Toxicology***, v. 151, p. 46-56, 2014.
- BOSZCZOWSKI, Í.; CHIARAVALLIOTI, F.; BLANGIARDO, M.; BAQUERO, O. S.; MADALOSSO, G.; ASSIS, D. B. D.; OLITTA, T.; LEVIN, A. S. Total antibiotic use in a state-wide area and resistance patterns in Brazilian hospitals: an ecologic study. ***Brazilian Journal of Infectious Diseases***, v. 24, p. 479-488, 2021.
- BOTERO-COY, A. M.; MARTÍNEZ-PACHÓN, D.; BOIX, C.; RINCÓN, R. J.; CASTILLO, N.; ARIAS-MARÍN, L. P.; MANRIQUE-LOSADA, L.; TORRES-PALMA, R.; MONCAYO-LASSO, A.; HERNÁNDEZ, F. An investigation into the occurrence and removal of pharmaceuticals in Colombian wastewater. ***Science of the Total Environment***, v. 642, p. 842-853, 2018.
- BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; RICHARDS, S. M.; SANDERSON, H.; SIBLEY, P. K.; SOLOMON, K. R. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. ***Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal***, v. 23, n. 2, p. 371-382, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância De Fatores De Risco E Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico. Brasília, Distrito Federal, 2020. Disponível em: <
<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/27/vigitel-brasil-2019-vigilancia-fatores-risco.pdf>> Acessado em: 2 out. 2020.
- BREMM, E. A.; BANDEIRA, V. A. C. Consumo de Antidepressivos por Usuários de uma Farmácia Municipal do Noroeste do Rio Grande do Sul. ***Revista Contexto & Saúde***, v. 20, n. 38, p. 78-85, 2020.
- BRENNER, C.; MALLMANN, C.; ARSAND, D.; MAYER, F.; MARTINS, A. Determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim and their metabolites in hospital effluent. ***Clean- Soil, Air, Water***, v. 39, n. 1, p. 28-34, 2011.
- BRIGANTI, C. P.; SILVA, M. T.; ALMEIDA, J. V. D.; BERGAMASCHI, C. D. C. Association between diabetes mellitus and depressive symptoms in the Brazilian population. ***Revista de saúde pública***, v. 53, p. 05, 2019.
- BRIONES R. M.; SARMAH A. K.; PADHYE L. P. A global perspective on the use, occurrence, fate and effects of anti-diabetic drug metformin in natural and engineered ecosystems. ***Environmental Pollution***, v. 219, p. 1007-1020, 2016.

- BROOKS, B. W.; FORAN, C. M.; RICHARDS, S. M.; WESTON, J.; TURNER, P. K.; STANLEY, J. K.; SOLOMON, K. R.; SLATTERY, M.; LA POINT, T. W. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. **Toxicology letters**, v. 142, n. 3, p. 169-183, 2003a.
- BROOKS, B. W.; TURNER, P. K.; STANLEY, J. K.; WESTON, J. J.; GLIDEWELL, E. A.; FORAN, C. M.; SLATTERY, M.; LA POINT, T. W.; HUGGETT, D. B. Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. **Chemosphere**, v. 52, n. 1, p. 135-142, 2003b.
- BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Evaluation of *Daphnia similis* as a test species in ecotoxicological assays. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 73, n. 5, p. 878-882, 2004.
- BUTLER, G. C. **Principles of ecotoxicology**. New York: Wiley, 1978.
- BUXTON, G. V. **Radiation Chemistry - From Basics to Applications in Material and Life Sciences**. EDP Sciences: Les Ulis, France, 2008.
- BUXTON, G. V. **Radiation Chemistry. Principles and Applications**; Verlag Chemie Publishers: Weinheim, Germany, 1987.
- BUXTON, G. V.; GREENSTOCK, C. L.; HELMAN, W. P.; ROSS, A. B. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\text{O}^-$ in aqueous solution). **Journal of physical and chemical reference data**, v. 17, n. 2, p. 513-886, 1988.
- CABEZA, Y.; CANDELA, L.; RONEN, D.; TEIJON, G. Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). **Journal of hazardous materials**, v. 239, p. 32-39, 2012.
- CALDWELL, D. J.; D'ACO, V.; DAVIDSON, T.; KAPPLER, K.; MURRAY-SMITH, R. J.; OWEN, S. F.; ROBINSON, P. F.; SIMON-HETTICH, B.; STRAUB, J. O.; TELL, J. Environmental risk assessment of metformin and its transformation product guanylurea: II. Occurrence in surface waters of Europe and the United States and derivation of predicted no-effect concentrations. **Chemosphere**, v. 216, p. 855-865, 2019.
- CAIAFFO, V.; OLIVEIRA, B. D.; DE SÁ, F. B.; NETO, J. E. Anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant activity of fluoxetine. **Pharmacology research & perspectives**, v. 4, n. 3, 2016.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. **Human & Experimental Toxicology**, v. 21, p. 91-97, 2002.
- CALLEJA, M. C.; PERSOONE, G.; GELADI, P. Comparative acute toxicity of the first 50 multicentre evaluation of in vitro cytotoxicity chemicals to aquatic non-vertebrates. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 26, n. 1, p. 69-78, 1994.
- CALVO, W. A. P.; DUARTE, C. L.; MACHADO, L. D. B.; MANZOLI, J. E.; GERALDO, A. B. C.; KODAMA, Y.; SILVA, L. G. A.; PINO, E. S.; SOMESSARI, E.

- S. R.; SILVEIRA, C. G.; RELA, P. R. Electron beam accelerators—trends in radiation processing technology for industrial and environmental applications in Latin America and the Caribbean. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 81, n. 8, p. 1276-1281, 2012.
- CAMACHO-MUÑOZ, D.; MARTÍN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Concentration evolution of pharmaceutically active compounds in raw urban and industrial wastewater. *Chemosphere*, v. 111, p. 70-79, 2014.
- CAMPOS, B.; GARCIA-REYERO, N.; RIVETTI, C.; ESCALON, L.; HABIB, T.; TAULER, R.; TSAKOVSKI, S.; PIÑA, B.; BARATA, C. Identification of metabolic pathways in *Daphnia magna* explaining hormetic effects of selective serotonin reuptake inhibitors and 4-nonylphenol using transcriptomic and phenotypic responses. *Environmental science & technology*, v. 47, n. 16, p. 9434-9443, 2013.
- CAMPOS, B.; PIÑA, B.; BARATA, C. Mechanisms of action of selective serotonin reuptake inhibitors in *Daphnia magna*. *Environmental science & technology*, v. 46, n. 5, p. 2943-2950, 2012.
- CAMPOS, B.; RIVETTI, C.; KRESS, T.; BARATA, C.; DIRCKSEN, H. Depressing antidepressant: Fluoxetine affects serotonin neurons causing adverse reproductive responses in *Daphnia magna*. *Environmental science & technology*, v. 50, n. 11, p. 6000-6007, 2016.
- CAPODAGLIO, A. G. Contaminants of emerging concern removal by high-energy oxidation-reduction processes: State of the art. *Applied Sciences*, v. 9, n. 21, p. 4562, 2019.
- CAPODAGLIO, A. G. High-energy oxidation process: an efficient alternative for wastewater organic contaminants removal. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 19, n. 8, p. 1995-2006, 2017.
- CARBULONI, C. F.; SAVOIA, J. E.; SANTOS, J. S.; PEREIRA, C. A.; MARQUES, R. G.; RIBEIRO, V. A.; FERRARI, A. M. Degradation of metformin in water by TiO₂-ZrO₂ photocatalysis. *Journal of environmental management*, v. 262, p. 110347, 2020.
- CARDOSO, M. Antimicrobial use, resistance and economic benefits and costs to livestock producers in Brazil. OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers N°. 135, 2019.
- CARDOSO, O.; PORCHER, J. M.; SANCHEZ, W. Factory-discharged pharmaceuticals could be a relevant source of aquatic environment contamination: review of evidence and need for knowledge. *Chemosphere*, v. 115, p. 20-30, 2014.
- CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos de la ciclooxigenase-2: avanos terapéuticos. *Revista brasileira de anestesiologia*, v. 54, n. 3, p. 448-464, 2004.

CASTILLO-ZACARÍAS, C.; BAROCIO, M.E.; HIDALGO-VÁZQUEZ, E.; SOSA-HERNÁNDEZ, J.E.; PARRA-ARROYO, L.; LÓPEZ-PACHECO, I.Y.; BARCELÓ, D.; IQBAL, H.N.M.; PARRA-SALDÍVAR, R. Antidepressant drugs as emerging contaminants: Occurrence in urban and non-urban waters and analytical methods for their detection. ***Science of the Total Environment***, p. 143722, 2021.

CASTRO, P. B. N.; DA SILVA RODRIGUES, D. A.; ROESER, H. M. P.; DA FONSECA SANTIAGO, A.; AFONSO, R. J. D. C. F. Antibiotic consumption in developing countries defies global commitments: an overview on Brazilian growth in consumption. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 27, n. 17, p. 21013-21020, 2020.

CEDERGREEN, N. Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. ***PloS one***, v. 9, n. 5, p. e96580, 2014.

CESTER, C. C.; TOUTAIN, P. L. A comprehensive model for enrofloxacin to ciprofloxacin transformation and disposition in dog. ***Journal of Pharmaceutical Sciences***, v. 86, n. 10, p. 1148-1155, 1997.

CHANGOTRA, R.; RAJPUT, H.; GUIN, J. P.; VARSHNEY, L.; DHIR, A. Hybrid coagulation, gamma irradiation and biological treatment of real pharmaceutical wastewater. ***Chemical Engineering Journal***, v. 370, p. 595-605, 2019.

CHALLIS, J. K.; HANSON, M. L.; FRIESEN, K. J.; WONG, C. S. A critical assessment of the photodegradation of pharmaceuticals in aquatic environments: defining our current understanding and identifying knowledge gaps. ***Environmental Science: Processes & Impacts***, v. 16, n. 4, p. 672-696, 2014.

CHEN, H.; ZHA, J.; YUAN, L.; WANG, Z. Effects of fluoxetine on behavior, antioxidant enzyme systems, and multixenobiotic resistance in the Asian clam *Corbicula fluminea*. ***Chemosphere***, v. 119, p. 856-862, 2015.

CHIARELLO, M.; MINETTO, L.; DELLA GIUSTINA, S. V.; BEAL, L. L.; MOURA, S. Popular pharmaceutical residues in hospital wastewater: quantification and qualification of degradation products by mass spectroscopy after treatment with membrane bioreactor. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 23, n. 16, p. 16079-16089, 2016.

CHIN, T. A.; CRISTESCU, M. E. Speciation in *Daphnia*. ***Molecular Ecology***, v. 30, n. 6, p. 1398-1418, 2021.

CHMIELEWSKI, A. G. Electron accelerators for environmental protection. ***Reviews of Accelerator Science and Technology***, v. 4, n. 01, p. 147-159, 2011.

CHO, J. Y.; CHUNG, B. Y.; LEE, K. B.; LEE, G. H.; HWANG, S. A. Decomposition reaction of the veterinary antibiotic ciprofloxacin using electron ionizing energy. ***Chemosphere***, v. 117, p. 158-163, 2014.

CHOI, E.P.H.; HUI, B.P.H.; WAN, E.Y.F. Depression and anxiety in Hong Kong during covid-19. *International journal of environmental research and public health*, v. 17, n. 10, p. 3740, 2020.

CHRISTENSEN, A. M.; FAABORG-ANDERSEN, S.; INGERSLEV, F.; BAUN, A. Mixture and single-substance toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors toward algae and crustaceans. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 26, n. 1, p. 85-91, 2007.

CIEJKA, M.; NGUYEN, K.; BLUTH, M. H.; DUBEY, E. Drug toxicities of common analgesic medications in the emergency department. *Clinics in laboratory medicine*, v. 36, n. 4, p. 761-776, 2016.

CLEUVERS, M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology letters*, v. 142, n. 3, 185-194, 2003.

CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 59, n. 3, p. 309-315, 2004.

COLLIN, F.; KHOURY, H.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; THEROND, P.; LEGRAND, A.; JORE, D.; GARDÈS-ALBERT, M. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric identification of the oxidation end-products of metformin in aqueous solutions. *Journal of mass spectrometry*, v. 39, n. 8, p. 890-902, 2004.

Comissão Europeia. *Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27. Technical guidance for deriving Environmental Quality Standards*. European Union, 2011.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). Norma Técnica: **Determinação da dureza total em águas – método titulométrico do EDTA: método de ensaio, maio 1992**. CETESB, São Paulo. 1992.

CORRER, C. J.; COURA-VITAL, W.; FRADE, J. C.; NASCIMENTO, R. C.; NASCIMENTO, L. G.; PINHEIRO, E. B.; FERREIRA, W. M.; REIS, J. S.; MELO, K. F. S.; PONTAROLO, R.; LENZI, M. S. A.; ALMEIDA, J. V.; PEDROSA, H. C. JOÃO, W. S. Prevalence of people at risk of developing type 2 diabetes mellitus and the involvement of community pharmacies in a national screening campaign: a pioneer action in Brazil. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, v.12, n. 1, p. 1-11, 2020.

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

COURTIER, A.; CADIÈRE, A.; ROIG, B. Human Pharmaceuticals: Why and how to reduce their presence in the environment. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v. 15, p. 77-82, 2019.

COUTO, C. F.; LANGE, L. C.; AMARAL, M. C. Occurrence, fate and removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) in water and wastewater treatment plants—A review. *Journal of Water Process Engineering*, v. 32, p. 100927, 2019.

CRAGO, J.; BUI, C.; GREWAL, S.; SCHLENK, D. Age-dependent effects in fathead minnows from the anti-diabetic drug metformin. *General and comparative endocrinology*, v. 232, p. 185-190, 2016.

CUI, H.; WANG, S. P.; FU, J.; ZHOU, Z. Q.; ZHANG, N.; GUO, L. Influence of ciprofloxacin on microbial community structure and function in soils. *Biology and fertility of soils*, v. 50, n. 6, p. 939-947, 2014.

CUNHA, D. L.; DE ARAUJO, F. G.; MARQUES, M. Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 31, p. 24076-24091, 2017.

DA SILVA, A. Q.; DE SOUZA ABESSA, D. M. Toxicity of three emerging contaminants to non-target marine organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 26, n. 18, p. 18354-18364, 2019.

DAESCU, M.; IOTA, M.; SERBSCHI, C.; ION, A. C.; BAIBARAC, M. The Influence of UV Light on Photodegradation of Acetylsalicylic Acid. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 8, p. 4046, 2021.

DAI, Q.; WANG, J.; YU, J.; CHEN, J.; CHEN, J. Catalytic ozonation for the degradation of acetylsalicylic acid in aqueous solution by magnetic CeO₂ nanometer catalyst particles. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 144, p. 686-693, 2014.

DAIGLE, J. K. *Acute responses of freshwater and marine species to ethinyl estradiol and fluoxetine*. 2010. Dissertação (mestrado). Universidade do Estado da Louisiana.

DALLA ROSA, V. M.; DE OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, C. R. D. M.; BARETTA, D. (2019). Ecotoxicology as a tool for soil sustainability: Agrochemicals and Veterinary Pharmaceuticals in Brazil. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, n. 9, p. 16070-16084, 2019.

DE FARIAS, N. O.; OLIVEIRA, R.; SOUSA-MOURA, D.; DE OLIVEIRA, R. C. S.; RODRIGUES, M. A. C.; ANDRADE, T. S.; DOMINGUES, I.; CAMARGO, N. S.; MUEHLMANN, L. A.; GRISOLIA, C. K. Exposure to low concentration of fluoxetine affects development, behaviour and acetylcholinesterase activity of zebrafish embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 215, p. 1-8, 2019.

DE JESUS, R. L. N.; SILVA, D. C.; DIAS, R. A. S.; SILVA, L. K.; DOS SANTOS DINIZ, M.; GOIABEIRA, J. C. F.; FERREIRA, A. D. M. P. Determination of Antibiotics in Water Samples from Anil River, in Northeast of Brazil. *Modern Environmental Science and Engineering*, p. 9, 2019.

DE JESUS GAFFNEY, V.; CARDOSO, V. V.; CARDOSO, E.; TEIXEIRA, A. P.; MARTINS, J.; BENOLIEL, M. J.; ALMEIDA, C. M. M. Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional treatment processes. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 24, n. 17, p. 14717-14734, 2017.

DE SOUZA, I. M.; MACHADO-DE-SOUSA, J. P. Brazil: world leader in anxiety and depression rates. ***Brazilian Journal of Psychiatry***, v. 39, n. 4, p. 384-384, 2017.

DE SOUZA, R. C.; GODOY, A. A.; KUMMROW, F.; DOS SANTOS, T. L.; BRANDÃO, C. J.; PINTO, E. Occurrence of caffeine, fluoxetine, bezafibrate and levothyroxine in surface freshwater of São Paulo State (Brazil) and risk assessment for aquatic life protection. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 28, n. 16, p. 20751-20761, 2021.

DI NICA, V.; VILLA, S.; FINIZIO, A. Toxicity of individual pharmaceuticals and their mixtures to *Aliivibrio fischeri*: Experimental results for single compounds and considerations of their mechanisms of action and potential acute effects on aquatic organisms. ***Environmental toxicology and chemistry***, v. 36, n. 3, p. 807-814, 2017.

DIAS, I. C.; DE ALMEIDA, C. H.; MELO, É. M. M.; DIAS, H. C.; LUZ, I. S.; SANTOS, J. L. D.; BARBOSA, J. F.; ZANETTI, L. F.; FILHO, R. M. N., SOARES, G. F. G. Os impactos da pandemia de COVID-19 na saúde mental da população. ***Revista Eletrônica Acervo Científico***, v. 30, p. e8218-e8218, 2021.

DIONÍSIO, R.; DANIEL, D.; ARENAS, F.; CAMPOS, J. C.; COSTA, P. C.; NUNES, B.; CORREIA, A. T. Effects of pH on salicylic acid toxicity in terms of biomarkers determined in the marine gastropod *Gibbula umbilicalis*. ***Marine Environmental Research***, p. 104995, 2020a.

DIONÍSIO, R.; DANIEL, D.; DE ALKIMIN, G. D.; NUNES, B. Multi-parametric analysis of ciprofloxacin toxicity at ecologically relevant levels: short-and long-term effects on *Daphnia magna*. ***Environmental toxicology and pharmacology***, v. 74, p. 103295, 2020b.

DOLAR, D.; ZOKIĆ, T. I.; KOŠUTIĆ, K.; AŠPERGER, D.; PAVLOVIĆ, D. M. RO/NF membrane treatment of veterinary pharmaceutical wastewater: comparison of results obtained on a laboratory and a pilot scale. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 19, n. 4, p. 1033-1042, 2012.

DOS SANTOS. ***Avaliação de risco ambiental relacionado à ocorrência de fármacos e produtos de higiene pessoal em águas superficiais brasileiras***. 2017. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade de Brasília.

DOVIZIO, M.; BRUNO, A.; TACCONELLI, S.; PATRIGNANI, P. Mode of action of aspirin as a chemopreventive agent. ***Prospects for chemoprevention of colorectal neoplasia***, p. 39-65, 2013.

- DOLEZALOVA, J.; RUMLOVA, L. A new biological test of water toxicity—yeast *Saccharomyces cerevisiae* conductometric test. ***Environmental toxicology and pharmacology***, v. 38, n. 3, p. 977-981, 2014.
- DOYLE, B. L.; MCDANIEL, F. D.; HAMM, R. W. The future of industrial accelerators and applications. ***Reviews of Accelerator Science and Technology***, v. 10, n. 01, p. 93-116, 2019.
- DZIEWECZYNSKI, T. L.; HEBERT, O.L. Fluoxetine alters behavioral consistency of aggression and courtship in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. ***Physiology & behavior***, v. 107, n. 1, p. 92-97, 2012.
- EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A. E.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. ***Emerging Contaminants***, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2017.
- EBERLEIN, T. H. Essentials of organic chemistry: for students of pharmacy, medicinal chemistry, and biological chemistry (Paul M. Dewick). 2008.
- EBERT, I.; BACHMANN, J.; KÜHNEN, U.; KÜSTER, A.; KUSSATZ, C.; MALETZKI, D.; SCHLÜTER, C. Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. ***Environmental Toxicology and Chemistry***, v. 30, n. 12, p. 2786-2792, 2011.
- ELLIOTT, S. M.; BRIGHAM, M. E.; LEE, K. E.; BANDA, J. A.; CHOY, S. J.; GEFELL, D. J.; MINARIK, T. A.; MOORE, J. N.; JORGENSON, Z. G. Contaminants of emerging concern in tributaries to the Laurentian Great Lakes: I. Patterns of occurrence. ***PloS one***, v. 12, n. 9, p. e0182868, 2017.
- ENGBRECHT, J.; NEALSON, K.; SILVERMAN, M. Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*. ***Cell***, v. 32, n. 3, p. 773-781, 1983.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Drinking Water Contaminant Candidate List 4, 2016. Disponível em: < <https://www.epa.gov/ccl/contaminant-candidate-list-4-ccl-4-0>>. Acesso em 09 de setembro de 2021.
- ESTÈVE, K.; POUPOT, C.; DABERT, P.; MIETTON-PEUCHOT, M.; MILISIC, V. A *Saccharomyces cerevisiae*-based bioassay for assessing pesticide toxicity. ***Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology***, v. 36, n. 12, p. 1529-1534, 2009.
- ESTRADA-ARRIAGA, E. B.; CORTÉS-MUÑOZ, J. E.; GONZÁLEZ-HERRERA, A.; CALDERÓN-MÓLGORA, C. G.; DE LOURDES RIVERA-HUERTA, M.; RAMÍREZ-CAMPEROS, E.; MONTELLANO-PALACIOS, L.; GELOVER-SANTIAGO, L.; PÉREZ-CASTREJÓN, S.; CARDOSO-VIGUEROS, L.; MARTIN-DOMÍNGUEZ, A.; GARCÍA-SÁNCHEZ, L. Assessment of full-scale biological nutrient removal systems upgraded with physico-chemical processes for the removal of emerging pollutants present in wastewaters from Mexico. ***Science of the Total Environment***, v. 571, p. 1172-1182, 2016.

- FARRUGIA, G.; AZZOPARDI, M.; SALIBA, C.; GRECH, G.; GROSS, A. S.; PISTOLIC, J.; BENES, V.; VASSALLO, N.; BORG, J.; MADEO, F.; EISENBERG, T.; BALZAN, R. Aspirin impairs acetyl-coenzyme A metabolism in redox-compromised yeast cells. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.
- FEIJÓ, F. D. M.; BERTOLUCI, M. C.; REIS, C. Serotonin and hypothalamic control of hunger: a review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, n. 1, p. 74-77, 2011.
- FÉLIX-CAÑEDO, T. E.; DURÁN-ÁLVAREZ, J. C.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico City's water sources. **Science of the Total Environment**, v. 454, p. 109-118, 2013.
- FENT, K.; ESCHER, C.; CAMINADA, D. Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. **Reproductive Toxicology**, v. 22, n. 2, p. 175-185, 2006.
- FERNÁNDEZ, C.; GONZÁLEZ-DONCEL, M.; PRO, J.; CARBONELL, G.; TARAZONA, J. V. Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo River system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 3, p. 543-551, 2010.
- FILIP, J.; CAJTHAML, T.; NAJMANOVÁ, P.; ČERNÍK, M.; ZBOŘIL, R. **Advanced nano-bio technologies for water and soil treatment**. Springer, 2020.
- FLAHERTY, C. M.; DODSON, S. I. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. **Chemosphere**, v. 61, n. 2, p. 200-207, 2005.
- FONG, P. P. Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin reuptake inhibitors. **The biological bulletin**, v. 194, n. 2, p. 143-149, 1998.
- FORETZ, M.; GUIGAS, B.; BERTRAND, L.; POLLAK, M.; VIOLLET, B. Metformin: from mechanisms of action to therapies. **Cell metabolism**, v. 20, n. 6, p. 953-966, 2014.
- FRÉDÉRIC, O.; YVES, P. Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. **Chemosphere**, v. 115, p. 31-39, 2014.
- FULONE, I.; BARBERATO-FILHO, S.; DOS SANTOS, M. F.; DE LIMA ROSSI, C.; GUYATT, G.; LOPES, L. C. Essential psychiatric medicines: wrong selection, high consumption and social problems. **BMC public health**, v. 16, n. 1, p. 52, 2015.
- GARDNER, M., JONES, V., COMBER, S., SCRIMSHAW, M. D., COELLO-GARCIA, T., CARTMELL, E., LESTER, J.; ELLOR, B. Performance of UK wastewater treatment works with respect to trace contaminants. **Science of the Total Environment**, v. 456, n. 359-369, 2013.
- GARTISER, S.; HAFNER, C.; KRONENBERGER-SCHÄFER, K.; HAPPEL, O.; TRAUTWEIN, C.; KÜMMERER, K. Approach for detecting mutagenicity of

biodegraded and ozonated pharmaceuticals, metabolites and transformation products from a drinking water perspective. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 19, n. 8, p. 3597-3609, 2012.

GIMÉNEZ, V.; NUNES, B. Effects of commonly used therapeutic drugs, paracetamol, and acetylsalicylic acid, on key physiological traits of the sea snail *Gibbula umbilicalis*. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 26, n. 21, p. 21858-21870, 2019.

GIRARDI, C.; GREVE, J.; LAMSHÖFT, M.; FETZER, I.; MILTNER, A.; SCHÄFFER, A.; KÄSTNER, M. Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. ***Journal of hazardous materials***, v. 198, p. 22-30, 2011.

GIRI, A. S.; GOLDBERGER, A. K. Ciprofloxacin degradation in photo-Fenton and photocatalytic processes: Degradation mechanisms and iron chelation. ***Journal of Environmental Sciences***, v. 80, p. 82-92, 2019.

GODOY, A. A.; DOMINGUES, I.; NOGUEIRA, A. J. A.; KUMMROW, F. Ecotoxicological effects, water quality standards and risk assessment for the anti-diabetic metformin. ***Environmental Pollution***, v. 243, p. 534-542, 2018.

GODOY, A. A.; KUMMROW, F., What do we know about the ecotoxicology of pharmaceutical and personal care product mixtures? ***Critical Reviews in Environmental Science and Technology***, v. 47, n. 16, p. 1453-1496, 2017.

GODOY, A. A.; DE OLIVEIRA, Á.C.; SILVA, J. G. M.; AZEVEDO, C. C. DE J.; DOMINGUES, I.; NOGUEIRA, A. J. A.; KUMMROW, F. Single and mixture toxicity of four pharmaceuticals of environmental concern to aquatic organisms, including a behavioral assessment. ***Chemosphere***, v. 235, p. 373-382, 2019.

GOGOI, A.; MAZUMDER, P.; TYAGI, V. K.; CHAMINDA, G. T.; AN, A. K.; KUMAR, M. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. ***Groundwater for Sustainable Development***, v. 6, p. 169-180, 2018.

GÓMEZ-OLIVÁN, L.M.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; ISLAS-FLORES, H.; GARCÍA-MEDINA, S.; SANJUAN-REYES, N. DNA damage and oxidative stress induced by acetylsalicylic acid in *Daphnia magna*. ***Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology***, v. 164, p. 21-26, 2014.

GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCILO, A. B. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. ***Microchemical Journal***, v. 136, p. 25-39, 2018.

GUERRA, P.; KIM, M.; SHAH, A.; ALAEE, M.; SMYTH, S. A. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. ***Science of the Total Environment***, v. 473, p. 235-243, 2014.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. D. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. ***Química Nova***, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GULER, Y.; FORD, A.T. Anti-depressants make amphipods see the light. ***Aquatic Toxicology***, v. 99, n. 3, p. 397-404, 2010.

GUO, Z.; ZHU, S.; ZHAO, Y.; CAO, H.; LIU, F. Radiolytic decomposition of ciprofloxacin using γ irradiation in aqueous solution. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 22, n. 20, p. 15772-15780, 2015.

GUPTA, A.; GARG, A. Degradation of ciprofloxacin using Fenton's oxidation: Effect of operating parameters, identification of oxidized by-products and toxicity assessment. ***Chemosphere***, v. 193, p. 1181-1188, 2018.

GURUGE, K. S.; GOSWAMI, P.; TANOUE, R.; NOMIYAMA, K.; WIJESEKARA, R. G. S.; DHARMARATNE, T. S. First nationwide investigation and environmental risk assessment of 72 pharmaceuticals and personal care products from Sri Lankan surface waterways. ***Science of the Total Environment***, v. 690, p. 683-695, 2019.

GURUGE, R. C.; RODRIGUES-SILVA, C.; RIBEIRO, A. R.; RATH, S. Tracking the occurrence of psychotropic pharmaceuticals in Brazilian wastewater treatment plants and surface water, with assessment of environmental risks. ***Science of the Total Environment***, v. 727, p. 138661, 2020.

GWOREK, B.; KIJEŃSKA, M.; ZABOROWSKA, M.; WRZOSEK, J.; TOKARZ, L.; CHMIELEWSKI, J. Pharmaceuticals in aquatic environment. Fate and behaviour, ecotoxicology and risk assessment—a review. ***Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research***, v. 76, n. 3, p. 397-407, 2019.

HALLING-SØRENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LÜTZHØFT, H. H.; JØRGENSEN, S. 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-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. ***Environmental science & technology***, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.

HAN, B.; KIM, J. K.; KIM, Y. R.; KIM, S. M. High power accelerator for environmental application. *Journal-* ***Korean Physical Society***, v. 59, n. 6, p. 3485-3488, 2011.

HAUSER-DAVIS, R. A.; PARENTE, T. E. ***Ecotoxicology: Perspectives on Key Issues***. CRC Press, 2018.

HEBERER, T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. ***Journal of hydrology***, v. 266, n. 3-4, p. 175-189, 2002.

HECKMANN, L. H.; SIBLY, R. M.; TIMMERMANS, M. J.; CALLAGHAN, A. Outlining eicosanoid biosynthesis in the crustacean *Daphnia*. ***Frontiers in Zoology***, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2008.

HENRY, T. B.; BLACK, M. C. Acute and chronic toxicity of fluoxetine (selective serotonin reuptake inhibitor) in western mosquitofish. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 54, n. 2, p. 325-330, 2008.

HENRY, T. B.; KWON, J. W.; ARMBRUST, K. L.; BLACK, M. C. Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 23, n. 9, p. 2229-2233, 2004.

HERNANDO, M. D.; DE VETTORI, S.; BUENO, M. M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. **Chemosphere**, v. 68, n. 4, p. 724-730, 2007.

HEYLAND, A.; BASTIEN, T.; HALLIWUSHKA, K. Transgenerational reproductive effects of two serotonin reuptake inhibitors after acute exposure in *Daphnia magna* embryos. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 238, p. 108875, 2020.

HIEMKE, C., HÄRTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacology & therapeutics**, v. 85, n. 1, p. 11-28, 2000.

HOLMES, E.A.; O'CONNOR, R.C.; PERRY, V.H.; TRACEY, I.; WESSELY, S.; ARSENEAULT, L.; BALLARD, C.; CHRISTENSEN, H.; COHEN SILVER, R.; EVERALL, I.; FORD, T.; JOHN, A.; KABIR, T.; KING, K.; MADAN, I.; MICHIE, S.; PRZYBYLSKI, A. K.; SHAFRAN, R.; SWEENEY, A.; WORTHMAN, C.M.; YARDLEY, L.; COWAN, K.; COPE, C.; HOTOPF, M.; BULLMORE, E. Multidisciplinary research priorities for the COVID-19 pandemic: a call for action for mental health science. **The Lancet Psychiatry**, v. 7, n. 6, p. 547-560, 2020.

HOM-DIAZ, A.; NORVILL, Z. N.; BLÁNQUEZ, P.; VICENT, T.; GUIEYSSE, B. Ciprofloxacin removal during secondary domestic wastewater treatment in high-rate algal ponds. **Chemosphere**, v. 180, p. 33-41, 2017.

HOSINER, D.; GERBER, S.; LICHTENBERG-FRATE, H.; GLASER, W.; SCHÜLLER, C.; KLIPP, E. Impact of acute metal stress in *Saccharomyces cerevisiae*. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e83330, 2014.

HOSSAIN, K.; MARUTHI, Y. A.; DAS, N. L.; RAWAT, K. P.; SARMA, K. S. S. Irradiation of wastewater with electron beam is a key to sustainable smart/green cities: a review. **Applied water science**, v. 8, n. 1, p. 6, 2018.

HRENOVIC, J.; STILINOVIC, B.; DVORACEK, L. Use of prokaryotic and eukaryotic biotests to assess toxicity of wastewater from pharmaceutical sources. **Acta Chim. Slov**, v. 52, p. 119-125, 2005.

HUDEC, I. A comparison of populations from the *Daphnia similis* group (Cladocera: *Daphniidae*). In BIOLOGY OF CLADOCERA, 1991, Springer, Dordrecht.

IDE, A. H.; OSAWA, R. A.; MARCANTE, L. O.; DA COSTA PEREIRA, J.; DE AZEVEDO, J. C. R. Occurrence of pharmaceutical products, female sex hormones

and caffeine in a subtropical region in Brazil. **CLEAN–Soil, Air, Water**, v. 45, n. 9, p. 1700334, 2017.

ILLÉS, E.; TAKÁCS, E.; DOMBI, A.; GAJDA-SCHRANTZ, K.; RÁCZ, G.; GONTER, K.; WOJNÁROVITS, L. Hydroxyl radical induced degradation of ibuprofen. **Science of the total environment**, v. 447, p. 286-292, 2013.

ILLÉS, E.; TEGZE, A.; KOVÁCS, K.; SÁGI, G.; PAPP, Z.; TAKÁCS, E.; WOJNÁROVITS, L. Hydrogen peroxide formation during radiolysis of aerated aqueous solutions of organic molecules. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 134, p. 8-13, 2017.

INMETRO, 2007. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Sistema Internacional de Unidades, Tradução da 7. Ed do original francês “Le Système International d’ Unités”, elaborado pelo Bureau International des Poids ET Mesures – BIPM. 8. Ed. (revisada). Rio de Janeiro: INMETRO, 2007.

INOUYE, S. NAD (P) H-flavin oxidoreductase from the bioluminescent bacterium, *Vibrio fischeri* ATCC 7744, is a flavoprotein. **FEBS letters**, v. 347, n. 2-3, p. 163-168, 1994.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Nuclear Technology Review 2020. 2020.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation Treatment of Polluted Water and Wastewater. Vienna, Austria, 2008.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Status of industrial scale radiation treatment of wastewater and its future. Daejon, Republica da Coréia do Sul, 2003.

IQVIA INSTITUTE. **2018 and Beyond: Outlook and Turning Points**. EUA, 2018 Disponível em: <<https://www.iqvia.com/-/media/iqvia/pdfs/institute-reports/2018-and-beyond-outlook-and-turning-points-institute-report.pdf> > Acesso em: 07 de setembro de 2021.

JACOB, R. S.; DE SOUZA SANTOS, L. V.; D’AURIOL, M.; LEBRON, Y. A. R.; MOREIRA, V. R.; LANGE, L. C. Diazepam, metformin, omeprazole and simvastatin: a full discussion of individual and mixture acute toxicity. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 7, p. 1062-1071, 2020.

JALLOULI, N.; PASTRANA-MARTÍNEZ, L. M.; RIBEIRO, A. R.; MOREIRA, N. F.; FARIA, J. L.; HENTATI, O.; SILVA, A. M. T; KSIBI, M. Heterogeneous photocatalytic degradation of ibuprofen in ultrapure water, municipal and pharmaceutical industry wastewaters using a TiO₂/UV-LED system. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 976-984, 2018.

JANK, L.; HOFF, R. B.; COSTA, F. J. D.; PIZZOLATO, T. M. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–

electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 10, p. 1013-1037, 2014.

JOHANSSON, C. H.; JANMAR, L.; BACKHAUS, T. Toxicity of ciprofloxacin and sulfamethoxazole to marine periphytic algae and bacteria. **Aquatic toxicology**, v. 156, p. 248-258, 2014.

JOHNSON, D. J.; SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; WILSON, C. J.; SOLOMON, K. R. Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 67, n. 1, p. 128-139, 2007.

JONKER, M. J.; SVENDSEN, C.; BEDAUX, J. J.; BONGERS, M.; KAMMENGA, J. E. Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 24, n. 10, p. 2701-2713, 2005.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. **Journal of environmental management**, v. 219, p. 189-207, 2018.

KAR, S.; LESZCZYNSKI, J. Exploration of computational approaches to predict the toxicity of chemical mixtures. **Toxics**, v. 7, n. 1, p. 15, 2019.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. Basic & Clinical Pharmacology, McGraw-Hill Education, New York, pp. 619-620, 2015.

KELLY, K. R.; BROOKS, B. W. Global Aquatic Hazard Assessment of Ciprofloxacin: Exceedances of Antibiotic Resistance Development and Ecotoxicological Thresholds. **Progress in molecular biology and translational science**, v. 159, p. 59-77, 2018.

KIM, D.; NGUYEN, L. N.; OH, S. Ecological impact of the antibiotic ciprofloxacin on microbial community of aerobic activated sludge. **Environmental geochemistry and health**, v. 42, n. 6, p. 1531-1541, 2020.

KING, B. M. Analysis of variance. **International Encyclopedia of Education (Third Edition)**, p. 32-36, 2010.

KHOURI, H.; COLLIN, F.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; LEGRAND, A.; JORE, D.; GARDÈS-ALBERT, M. Radical-induced oxidation of metformin. **European journal of biochemistry**, v. 271, n. 23-24, p. 4745-4752, 2004.

KLAASSEN, C. D.; AMDUR, M. O.; DOULL, J. **Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons**. McGraw-Hill Education, 2019

KLEYWEGT, S.; PAYNE, M.; NG, F.; FLETCHER, T. Environmental loadings of active pharmaceutical ingredients from manufacturing facilities in Canada. **Science of the Total Environment**, v. 646, p. 257-264, 2019.

- 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.
- KOSTICH, M. S.; BATT, A. L.; LAZORCHAK, J. M. Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation. ***Environmental Pollution***, v. 184, p. 354-359, 2014.
- KOSMA, C. I.; LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Comprehensive study of the antidiabetic drug metformin and its transformation product guanlyurea in Greek wastewaters. ***Water research***, v. 70, p. 436-448, 2015.
- KOSMA, C. I.; LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: occurrence, removal and environmental risk assessment. ***Science of the Total Environment***, v. 466, p. 421-438, 2014.
- KOSMA, C. I.; LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Occurrence and removal of PPCPs in municipal and hospital wastewaters in Greece. ***Journal of hazardous materials***, v. 179, n. 1-3, p. 804-817, 2010.
- KOUTSAFTIS, A.; AOYAMA, I. Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. ***Science of the Total Environment***, v. 387, n. 1-3, p. 166-174, 2007.
- KOVALAKOVA, P.; CIZMAS, L.; MCDONALD, T. J.; MARSALEK, B.; FENG, M.; SHARMA, V. K. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. ***Chemosphere***, v. 251, 126351, 2020.
- KUDO, H. ***Radiation applications***. Springer. 2018.
- KUSK, K. O.; CHRISTENSEN, A. M.; NYHOLM, N. Algal growth inhibition test results of 425 organic chemical substances. ***Chemosphere***, v. 204, p. 405-412, 2018.
- KWON, J. W.; ARMBRUST, K. L. Laboratory persistence and fate of fluoxetine in aquatic environments. ***Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal***, v. 25, n. 10, p. 2561-2568, 2006.
- LAKSHMI, R.; ARUNAGIRINATHAN, N. Isolation and Identification of Bioluminescent Bacterium from Marine Fishes-Toxicity of Metals Assessed by Effect of Metals on Growth of the Bacterium. ***Indian journal of applied microbiology***, v. 17, n. 1, p. 11-17, 2014.
- LAMEIRA, V. Estudos dos efeitos letais e subletais (reprodução e teratogênese) do fármaco triclosan para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Crustacea). 2008. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

LE CAËR, S. Water radiolysis: influence of oxide surfaces on H₂ production under ionizing radiation. *Water*, v.3 , n. 1, p. 235-253, 2011.

LEITÃO, V. B. G.; FRANCISCO, P. M. S. B.; MALTA, D. C.; COSTA, K. S. Tendência do uso e fontes de obtenção de antidiabéticos orais para tratamento de diabetes no Brasil de 2012 a 2018: análise do inquérito Vigitel. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 24, 2021

LIMA, D. A. Os dez medicamentos mais vendidos no Brasil no ano de 2018: Aspectos farmacológicos, utilização e o papel do farmacêutico na dispensação. 2019. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

LIMA, G. B.; OLIVEIRA, I. K. B.; DA ROCHA GOMES FILHO, S. L. Análise do consumo de antidepressivos entre pacientes de uma Unidade de Saúde em Caruaru-PE. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 12, p. 95016-95023, 2020.

LIN, A. Y. C.; YU, T. H.; LIN, C. F. Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: risk to aqueous environments in Taiwan. *Chemosphere*, v. 74, n. 1, p. 131-141, 2008.

LIN, J. S.; PAN, H. Y.; LIU, S. M.; LAI, H. T. Effects of light and microbial activity on the degradation of two fluoroquinolone antibiotics in pond water and sediment. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, v. 45, n. 5, p. 456-465, 2010.

LISTER, A.; REGAN, C.; VAN ZWOL, J.; VAN DER KRAAK, G. Inhibition of egg production in zebrafish by fluoxetine and municipal effluents: A mechanistic evaluation. *Aquatic toxicology*, v. 95, n. 4, p. 320-329, 2009.

LIU, C. H.; ZHANG, E.; WONG, G. T. F.; HYUN, S.; HAHM, H. "CHRIS," Factors associated with depression, anxiety, and PTSD symptomatology during the COVID-19 pandemic: Clinical implications for U.S. young adult mental health. *Psychiatry research*, v. 290, p. 113172, 2020.

LOCATELLI, M. A. F.; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 60, n. 3, p. 385-393, 2011.

LOPES, V. S. A.; RIENTE, R. R.; DA SILVA, A. A.; TORQUILHO, D. F.; DA SILVA CARREIRA, R.; DA COSTA MARQUES, M. R. Development of a solid-phase extraction system modified for preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Marine pollution bulletin*, v. 110, n. 1, p. 572-577, 2016.

LÓPEZ-SERNA, R.; PETROVIĆ, M.; BARCELÓ, D. Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain). *Science of the total environment*, v. 440, p. 280-289, 2012.

LU, C. Y.; EMMERICK, I. C. M.; STEPHENS, P.; ROSS-DEGNAN, D.; WAGNER, A. K. Uptake of new antidiabetic medications in three emerging markets: a comparison between Brazil, China and Thailand. **Journal of pharmaceutical policy and practice**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2015.

LV, Z.; GUO, Y. Metformin and its benefits for various diseases. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 191, 2020.

MA, D.; YI, H.; LAI, C.; LIU, X.; HUO, X.; AN, Z.; LI, L.; FU, Y.; LI, B.; ZHANG, M.; QIN, L.; LIU, S.; YANG, L. Critical review of advanced oxidation processes in organic wastewater treatment. **Chemosphere**, p. 130104, 2021.

MAĆERAK, A. L.; KERKEZ, Đ.; BEČELIĆ-TOMIN, M.; PILIPOVIĆ, D. T.; KULIĆ, A.; JOKIĆ, J.; DALMACIJA, B. Removal of Diclofenac and Metformin from Water in Laboratory Photo Reactor. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings**, v. 2, n. 20, p. 1288, 2018.

MACHI, S. Trends for electron beam accelerator applications in industry. **Reviews of Accelerator Science and Technology**, v. 4, n. 01, p. 1-10, 2011.

MACLAREN, R. D.; WISNIEWSKI, K.; MACLAREN, C. Environmental concentrations of metformin exposure affect aggressive behavior in the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **PLoS One**, v. 13, n. 5, p. e0197259, 2018.

MAGDALENO, A.; SAENZ, M. E.; JUÁREZ, A. B.; MORETTON, J. Effects of six antibiotics and their binary mixtures on growth of *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 113, p. 72-78, 2015.

MAHMOOD, A. R.; AL-HAIDERI, H. H.; HASSAN, F. M. Detection of antibiotics in drinking water treatment plants in Baghdad City, Iraq. **Advances in Public Health**, p. 1-10; 2019.

MANDRIOLI, R.; FORTI, G. C.; RAGGI, M. A. Fluoxetine metabolism and pharmacological interactions: the role of cytochrome p450. **Current drug metabolism**, v. 7, n. 2, p. 127-133, 2006.

MARQUES, C. R.; ABRANTES, N.; GONÇALVES, F. Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans: I. Acute and chronic effects of acetylsalicylic acid. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 19, n. 5, p. 518-526, 2004.

MARTINS, A. F.; VASCONCELOS, T. G.; HENRIQUES, D. M.; FRANK, C. D. S.; KÖNIG, A.; KÜMMERER, K. Concentration of ciprofloxacin in Brazilian hospital effluent and preliminary risk assessment: a case study. **CLEAN—Soil, Air, Water**, v. 36, n. 3, p. 264-269, 2008.

MARTINS, N.; PEREIRA, R.; ABRANTES, N.; PEREIRA, J.; GONÇALVES, F.; MARQUES, C. R. Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 1167-1176, 2012.

MARTINS, S. C.; CARDOSO, S.; MARQUES, A. R. Qual o papel da Aspirina na prevenção primária do Carcinoma Colorretal em indivíduos de médio risco? - Uma revisão baseada na evidência. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 35, n. 1, p. 42-51, 2019.

MARX, C.; MÜHLBAUER, V.; KREBS, P.; KUEHN. Environmental risk assessment of antibiotics including synergistic and antagonistic combination effects. **Science of the Total Environment**, v. 524–525, p. 269–279, 2015.

MATTOS, K. P.; VISACRI, M. B.; QUINTANILHA, J. C.; LLORET, G. R.; CURSINO, M. A.; LEVIN, A. S.; LEVY, C. E.; MORIEL, P. Brazil's resolutions to regulate the sale of antibiotics: impact on consumption and *Escherichia coli* resistance rates. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 10, p. 195-199, 2017.

MAUL, J. D.; SCHULER, L. J.; BELDEN, J. B.; WHILES, M. R.; LYDY, M. J. Effects of the antibiotic ciprofloxacin on stream microbial communities and detritivorous macroinvertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 25, n. 6, p. 1598-1606, 2006.

MCHUGH, M. L. Multiple comparison analysis testing in ANOVA. **Biochemia medica**, v. 21, n. 3, p. 203-209, 2011.

MEIGHEN, E. A. Bacterial bioluminescence: organization, regulation, and application of the lux genes. **The FASEB journal**, v. 7, n. 11, p. 1016-1022, 1993.

MELCHOR-MARTÍNEZ, E. M.; JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, M. G.; MARTÍNEZ-RUIZ, M.; PEÑA-BENAVIDES, S. A.; IQBAL, H. M. N.; PARRA-SALDÍVAR, R.; SOSA-HERNÁNDEZ, J. E. Antidepressants surveillance in wastewater: Overview extraction and detection. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, p. 100074, 2020.

MEHNERT, R. Review of industrial applications of electron accelerators. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 113, n. 1-4, p. 81-87, 1996.

MENEZES ZANOVELI, J.; DE MORAIS, H.; CAROLINE DA SILVA DIAS, I.; KAROLINE SCHREIBER, A.; PASQUINI DE SOUZA, C.; MARIA DA CUNHA, J. Depression associated with diabetes: from pathophysiology to treatment. **Current diabetes reviews**, v. 12, n 3, p. 165-178, 2016.

MIAO, X. S.; BISHAY, F.; CHEN, M.; METCALFE, C. D. Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 13, p. 3533-3541, 2004.

MICALLEF, J.; SOEIRO, T.; JONVILLE-BÉRA, A. P.; OF PHARMACOLOGY, F. S. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, pharmacology, and COVID-19 infection. **Therapies**, v. 75, n. 4, p. 355-362, 2020.

MINGUEZ, L.; BUREAU, R.; HALM-LEMEILLE, M. P. Joint effects of nine antidepressants on *Raphidocelis subcapitata* and *Skeletonema marinoi*: A matter of amine functional groups. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 117-123, 2018.

MINGUEZ, L.; FARCY, E.; BALLANDONNE, C.; LEPAILLEUR, A.; SERPENTINI, A.; LEBEL, J. M.; BUREAU, R.; HALM-LEMEILLE, M. P. Acute toxicity of 8 antidepressants: What are their modes of action?. **Chemosphere**, v. 108, p. 314-319, 2014.

MIRISOLA, M. G.; BRAUN, R. J.; PETRANOVIC, D. Approaches to study yeast cell aging and death. **FEMS Yeast Research**, v. 14, n. 1, p. 109-118, 2014.

MOERMOND, C. T. A.; SMIT, C.E. Derivation of water quality standards for carbamazepine, metoprolol, and metformin and comparison with monitoring data. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 35, n. 4, p. 882-888, 2016.

MOHAN, H.; RAJPUT, S. S.; JADHAV, E. B.; SANKHLA, M. S.; SONONE, S. S.; JADHAV, S.; KUMAR, R. Ecotoxicity, Occurrence, and Removal of Pharmaceuticals and Illicit Drugs from Aquatic Systems. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, p. 12530-12546, 2021.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MONTAGNER, C. C.; SODRÉ, F. F.; ACAYABA, R. D.; VIDAL, C.; CAMPESTRINI, I.; LOCATELLI, M. A.; PESCARA, I. C.; ALBULQUERQUE, A. F.; UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F. Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 3, p. 614-632, 2019.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas no Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, São Paulo, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

MONTEIRO, C. N.; LIMA, M. G.; SZWARCOWALD, C. L.; BASTOS, T. F.; BARROS, M. B. D. A. Utilização de anti-hipertensivos e antidiabéticos no Brasil: análise das diferenças socioeconômicas. Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, e190014-SUPL, 2019.

MONTINARI, M. R.; MINELLI, S.; De CATERINA, R. The first 3500 years of aspirin history from its roots – A concise summary. **Vascular pharmacology**, v. 113, p. 1-8, 2019.

MOTIEI, A.; BRINDEFALK, B.; OGWONOWSKI, M.; EL-SHEHAWY, R.; PASTUSZEK, P.; EK, K.; LIEWENBORG, B.; UDEKWU, K.; GOROKHOVA, E. Disparate effects of antibiotic-induced microbiome change and enhanced fitness in *Daphnia magna*. **PloS one**, v. 15, n. 1, p. e0214833, 2020.

MOURA, M. L.; BOSZCZOWSKI, I.; MORTARI, N.; BARROZO, L. V.; NETO, F. C.; LOBO, R. D.; DE LIMA, A. C. P.; LEVIN, A. S. The impact of restricting over-the-counter sales of antimicrobial drugs: preliminary analysis of national data. **Medicine**, v. 94, p. 38, 2015.

MUKHERJEE, D.; RAY, A.K.; BARGHI, S. Mechanism of acetyl salicylic acid (Aspirin) degradation under solar light in presence of a TiO₂-polymeric film photocatalyst. **Processes**, v. 4, n. 2, p. 13, 2016

MULROY, A. Monitoring and analysis of water and wastes. **Water Environmental & Technology**, v.13, n. 2, p. 32-36, 2001.

NA, T. W.; KANG, T. W.; LEE, K. H.; HWANG, S. H.; JUNG, H. J.; KIM, K. Distribution and ecological risk of pharmaceuticals in surface water of the Yeongsan River, Republic of Korea. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 181, p. 180-186, 2019.

NABUCO, G.; de OLIVEIRA, M. H. P. P.; AFONSO, M. P. D. O impacto da pandemia pela COVID-19 na saúde mental. **Revista Brasileira de medicina de família e comunidade**, v. 15, n. 42, p. 2532-2532, 2020.

NAŁĘCZ-JAWECKI, G. Evaluation of the in vitro biotransformation of fluoxetine with HPLC, mass spectrometry and ecotoxicological tests. **Chemosphere**, v. 70, n. 1, p. 29-35, 2007.

NAGARNAIK, P.; BATT, A.; BOULANGER, B. Source characterization of nervous system active pharmaceutical ingredients in healthcare facility wastewaters. **Journal of environmental management**, v. 92, n. 3, p. 872-877, 2011.

NAKAMURA, Y.; YAMAMOTO, H.; SEKIZAWA, J.; KONDO, T.; HIRAI, N.; TATARAZAKO, N. The effects of pH on fluoxetine in Japanese medaka (*Oryzias latipes*): acute toxicity in fish larvae and bioaccumulation in juvenile fish. **Chemosphere**, v. 70, n. 5, p. 865-873, 2008.

NAPOLEÃO, D. C.; ZAIDAN, L. M. C.; RODRÍGUEZ-DÍAZ, J. M.; DA ROCHA SANTANA, R. M.; DE MENDONÇA, M. B. D. S.; DA NOVA ARAÚJO, A.; BENACHOUR, M.; DA SILVA, V. L Use of the photo-Fenton process to discover the degradation of drugs present in water from the Wastewater Treatment Plants of the pharmaceutical industry. **Afinidad**, v. 75, n. 581, 2018.

NATION, J. L. **Insect physiology and biochemistry**. CRC press, 2001.

NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL. Australian Guidelines for Water Recycling: Augmentation of Drinking Water Supplies, 2008. Disponível em:
<https://www.waterquality.gov.au/sites/default/files/documents/water-recycling-guidelines-augmentation-drinking-22.pdf> Acesso 10 de setembro de 2021.

NEEDS, C. J.; BROOKS, P. M. Clinical pharmacokinetics of the salicylates. **Clinical pharmacokinetics**, v. 10, n. 2, p. 164-177, 1985.

NENTWIG, G. Effects of pharmaceuticals on aquatic invertebrates. Part II: The antidepressant drug fluoxetine. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 52, n. 2, p. 163-170, 2007.

NETO, E. M. R.; MARQUES, L. A. R. V.; FERREIRA, M. A. D.; LOBO, P. L. D.; JUNIOR, F. J. G.; CAMARÃO, G. C.; DE MORAES, M. E. A. Metformina: uma revisão da literatura. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 355-362, 2015.

NEWMAN, M.C. **Fundamentals of Ecotoxicology: The Science of Pollution**. CRC Press Taylor & Francis Group, 2015.

NIE, X.; WANG, X.; CHEN, J.; ZITKO, V.; AN, T. Response of the freshwater alga *Chlorella vulgaris* to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 27, n. 1, p. 168-173, 2008.

NIEMUTH, N. J.; JORDAN, R.; CRAGO, J.; BLANKSMA, C.; JOHNSON, R.; KLAPER, R.D.; Metformin exposure at environmentally relevant concentrations causes potential endocrine disruption in adult male fish. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 34, n. 2, p. 291-296, 2015.

NIEMUTH, N. J.; KLAPER, R. D. Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish. **Chemosphere**, v. 135, p. 38-45, 2015.

NIEMUTH, N. J.; KLAPER, R. D. Low-dose metformin exposure causes changes in expression of endocrine disruption-associated genes. **Aquatic Toxicology**, v. 195, p. 33-40, 2018.

NOVITSKY, M. A.; SKOPIN, S. D.; KRAVTSOV, V. V. Pharmacogenetics of fluoxetine. **Personalized Psychiatry and Neurology**, v. 1, n. 1, p. 93-101, 2021.

NUNES, B.; CAMPOS, J. C.; GOMES, R.; BRAGA, M. R.; RAMOS, A. S.; ANTUNES, S. C.; CORREIA, A. T. Ecotoxicological effects of salicylic acid in the freshwater fish *Salmo trutta fario*: antioxidant mechanisms and histological alterations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 667-678, 2015.

NUNES, B.; LEAL, C.; RODRIGUES, S.; ANTUNES, S. C. Assessment of ecotoxicological effects of ciprofloxacin in *Daphnia magna*: Life-history traits, biochemical and genotoxic effects. **Water Science and Technology**, v. 2017, n. 3, p. 835-844, 2018.

OAKES, K. D.; COORS, A.; ESCHER, B. I.; FENNER, K.; GARRIC, J.; GUST, M.; KNACJER, T.; KÜSTER, A.; KUSSATZ, C.; METCALFE, C. D.; MONTEIRO, S.; MOON, T. W.; MENNIGEN, J. A.; PARROTT, J.; PÉRY, A. R. R.; RAMIL, M.; ROENNEFAHRT, I.; TARAZONA, J. V.; SÁNCHEZ-ARGÜELLO, P.; TERNES, T. A.; TRUDEAU, V. L.; BOUCARD, T.; VAN DER KRAAK, G. J.; SERVOS, M. R. Environmental risk assessment for the serotonin re-uptake inhibitor fluoxetine: Case study using the European risk assessment framework. **Integrated environmental assessment and management**, v. 6, p. 524-539, 2010.

OOSTERHUIS, M.; SACHER, F.; TER LAAK, T. L. Prediction of concentration levels of metformin and other high consumption pharmaceuticals in wastewater and regional surface water based on sales data. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 380-388, 2013.

ORATA, E. D.; DE LEON, P. D. P.; DOMA, B. T. Degradation of metformin in water using electro-Fenton process. ***IOP Conference Series: Earth and Environmental Science***, v. 344, n. 1, p. 012007, 2019.

ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO (OECD). ***Harmonized Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures***. OECD Series on Testing and Assessment, France, 2002.

ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO (OECD). ***Pharmaceutical Residues in Freshwater Hazards and Policy Responses***. OECD Publishing, Paris, 2019.

ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO (OECD). ***Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals***. OECD Publishing, Paris, 2012.

OLIVEIRA, K. S. D.; MORELLO, L.; OLIVEIRA, S. V. D.; AGOSTINETTO, L.; SILVA, B. F. D.; SIEGLOCH, A. E. Disposal of animal healthcare services waste in southern Brazil: One Health at risk. ***Saúde em Debate***, v. 43, p. 78-93, 2020.

OLUWOLE, A. O.; OMOTOLA, E. O.; OLATUNJI, O. S. Pharmaceuticals and personal care products in water and wastewater: a review of treatment processes and use of photocatalyst immobilized on functionalized carbon in AOP degradation. ***BMC chemistry***, v. 14, n. 1, p. 1-29, 2020.

PADHYE, L. P.; YAO, H.; KUNG'U, F. T.; HUANG, C. H. Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. ***Water research***, v. 51, p. 266-276, 2014.

PAÍGA, P.; CORREIA, M.; FERNANDES, M. J.; SILVA, A.; CARVALHO, M.; VIEIRA, J.; JORGE, S.; SILVA, J. G.; FREIRE, C.; DELERUE-MATOS, C. Assessment of 83 pharmaceuticals in WWTP influent and effluent samples by UHPLC-MS/MS: Hourly variation. ***Science of the total environment***, v. 648, p. 582-600, 2019.

PAÍGA, P.; DELERUE-MATOS, C. Determination of pharmaceuticals in groundwater collected in five cemeteries' areas (Portugal). ***Science of the Total Environment***, v. 569, p. 16-22, 2016.

PAÍGA, P.; SANTOS, L. H. M. L. M.; RAMOS, S.; JORGE, S.; SILVA, J. G.; DELERUE-MATOS, C. Presence of pharmaceuticals in the Lis river (Portugal): Sources, fate and seasonal variation. ***Science of the Total Environment***, v. 573, p. 164-177, 2016.

PAPAGEORGIU, M.; KOSMA, C.; LAMBROPOULOU, D. Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. ***Science of the total Environment***, v. 543, p. 547-569, 2016.

PAPAGEORGIU, M.; ZIORIS, I.; DANIS, T.; BIKIARIS, D.; LAMBROPOULOU, D. Comprehensive investigation of a wide range of pharmaceuticals and personal care products in urban and hospital wastewaters in Greece. **Science of The Total Environment**, v. 694, p. 133565, 2019.

PAPPA, S.; NTELLA, V.; GIANNAKAS, T.; GIANNAKOULIS, V. G.; PAPOUTSI, E.; KATSAOUNOU, P. Prevalence of depression, anxiety, and insomnia among healthcare workers during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. **Brain, behavior, and immunity**, v. 88, p. 901-907, 2020.

PARENTE, C. E. T.; SIERRA, J.; MARTÍ, E. Ecotoxicity and biodegradability of oxytetracycline and ciprofloxacin on terrestrial and aquatic media. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 262-271, 2018.

PARIDA, V. K.; SAIDULU, D.; MAJUMDER, A.; SRIVASTAVA, A.; GUPTA, B.; GUPTA, A. K. Emerging contaminants in wastewater: A critical review on occurrence, existing legislations, risk assessment, and sustainable treatment alternatives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 105966, 2021.

PARK, J.; AN, S.; JHO, E. H.; BAE, S.; CHOI, Y.; CHOE, J. K. Exploring reductive degradation of fluorinated pharmaceuticals using Al₂O₃-supported Pt-group metallic catalysts: Catalytic reactivity, reaction pathways, and toxicity assessment. **Water Research**, v. 185, p. 116242, 2020.

PAROLINI, M. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. **Science of the Total Environment**, v. 740, p. 140043, 2020.

PARVEZ, S.; VENKATARAMAN, C.; MUKHERJI, S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. **Environment international**, v. 32, n. 2, p. 265-268, 2006.

PATEL, M.; KUMAR, R.; KISHOR, K.; MLSNA, T.; PITTMAN, C.U.; MOHAN, D. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. **Chemical reviews**, v. 119, n. 6, p. 3510-3673, 2019.

PEREIRA, A. M.; SILVA, L. J.; MEISEL, L. M.; LINO, C. M.; PENA, A. Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment. **Environmental research**, v. 136, p. 108-119, 2015.

PERY, A. R.; GUST, M.; VOLLAT, B.; MONS, R.; RAMIL, M.; FINK, G.; TERNES, T. GARRIC, J. Fluoxetine effects assessment on the life cycle of aquatic invertebrates. **Chemosphere**, v. 73, n. 3, p. 300-304, 2008.

PETERS, J. R.; GRANEK, E. F. Long-term exposure to fluoxetine reduces growth and reproductive potential in the dominant rocky intertidal mussel, *Mytilus californianus*. **Science of the Total Environment**, v. 545, p. 621-628, 2016.

PETRIE, B.; YOUDAN, J.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1431, p. 64-78, 2016.

PIVETTA, R. C.; RODRIGUES-SILVA, C.; RIBEIRO, A. R.; RATH, S. Tracking the occurrence of psychotropic pharmaceuticals in Brazilian wastewater treatment plants and surface water, with assessment of environmental risks. **Science of the Total Environment**, v. 727, p. 138661, 2020.

PRÁŠKOVÁ, E.; ŽIVNÁ, D.; ŠTĚPÁNOVÁ, S.; ŠEVČÍKOVÁ, M.; BLAHOVÁ, J.; MARŠÁLEK, P.; ŠIROKÁ, Z.; VOŠLÁŘOVÁ, E.; SVOBODOVÁ, Z. Acute toxicity of acetylsalicylic acid to juvenile and embryonic stages of *Danio rerio*. **Neuroendocrinology Letters**, v. 33, p. 72-76, 2012.

QUADRA, G. R.; De SOUZA, H. O.; dos SANTOS COSTA, R.; dos SANTOS FERNANDEZ, M. A. Do pharmaceuticals reach and affect the aquatic ecosystems in Brazil? A critical review of current studies in a developing country. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 2, p. 1200-1218, 2017.

QUINTÃO, F. J. O.; FREITAS, J. R. L.; DE FÁTIMA MACHADO, C.; AQUINO, S. F.; DE QUEIROZ SILVA, S.; DE CÁSSIA FRANCO AFONSO, R. J. Characterization of metformin by-products under photolysis, photocatalysis, ozonation and chlorination by high-performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 30, n. 21, p. 2360-2368, 2016.

RABELLO, R. F.; BONELLI, R. R.; PENNA, B. A.; ALBUQUERQUE, J. P.; SOUZA, R. M.; CERQUEIRA, A. M. Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil: An update overview. **Animals**, v. 10, n. 4, p. 552, 2020.

RAMÍREZ-MORALES, D.; MASÍS-MORA, M.; MONTIEL-MORA, J. R.; CAMBRONERO-HEINRICH, J. C.; BRICEÑO-GUEVARA, S.; ROJAS-SÁNCHEZ, C. E.; MÉNDEZ-RIVERA, M.; ARIAS-MORA, V.; TORMO-BUDOWSKI, R.; BRENES-ALFARO, L.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E., Occurrence of pharmaceuticals, hazard assessment and ecotoxicological evaluation of wastewater treatment plants in Costa Rica. **Science of the Total Environment**, v. 746, p. 141200, 2020.

RAND, G. M. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment. CRC press, 1995.

RENDAL, C.; KUSK, K. O.; TRAPP, S. Optimal choice of pH for toxicity and bioaccumulation studies of ionizing organic chemicals. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 2395-2406, 2011.

RASHID, R.; SHAFIQ, I.; AKHTER, P.; IQBAL, M. J.; HUSSAIN, M. A state-of-the-art review on wastewater treatment techniques: the effectiveness of adsorption method. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-17, 2021.

REINHOLDS, I.; PUGAJEVA, I.; PERKONS, I.; LUNDANES, E.; RUSKO, J.; KIZANE, G.; NIKOLAJEVA, V.; MUTERE, O.; PETRINA, Z.; BAUMANE, L.; BARTKEVICS, V. Decomposition of multi-class pharmaceutical residues in wastewater by exposure to ionising radiation. ***International Journal of Environmental Science and Technology***, v. 14, n. 9, p. 1969-1980, 2017.

REIS, E. O.; FOUREAUX, A. F. S.; RODRIGUES, J. S.; MOREIRA, V. R.; LEBRON, Y. A.; SANTOS, L. V.; AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C. Occurrence, removal and seasonal variation of pharmaceuticals in Brazilian drinking water treatment plants. ***Environmental Pollution***, v. 250, p. 773-781, 2019.

RIVERA-UTRILLA, J.; SÁNCHEZ-POLO, M.; FERRO-GARCÍA, M. Á.; PRADOS-JOYA, G.; OCAMPO-PÉREZ, R. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. ***Chemosphere***, v. 93, n. 7, p. 1268-1287, 2013.

ROBB, C. T.; GOEPP, M.; ROSSI, A. G.; YAO, C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and COVID-19. ***British Journal of pharmacology***, v. 177, n. 21, p. 4899-4920, 2020.

ROBINSON, A. A.; BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. ***Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal***, v. 24, n. 2, p. 423-430, 2005.

RODEA-PALOMARES, I.; PETRE, A. L.; BOLTES, K.; LEGANÉS, F.; PERDIGÓN-MELÓN, J. A.; ROSAL, R.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F. Application of the combination index (CI)-isobologram equation to study the toxicological interactions of lipid regulators in two aquatic bioluminescent organisms. ***Water research***, v. 44, n. 2, p. 427-438, 2010.

RODRIGUES-SILVA, C.; PORTO, R. S.; SANTOS, S. G. D.; SCHNEIDER, J.; RATH, S. Fluoroquinolones in hospital wastewater: analytical method, occurrence, treatment with ozone and residual antimicrobial activity evaluation. ***Journal of the Brazilian Chemical Society***, v. 30, p. 1447-1458, 2019.

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. ***Química Nova***, v. 37, n. 5, p. 868-885, 2014.

ROMANELLI, M. F. Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixe. 2004. Dissertação (mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

ROOHVAND, F.; EHSANI, P.; ABDOLLAHPOUR-ALITAPPEH, M.; SHOKRI, M.; KOSSARI, N. Biomedical applications of yeasts-a patent view, part two: era of humanized yeasts and expanded applications. ***Expert opinion on therapeutic patents***, v. 30, n. 8, p. 609-631, 2020.

RUBY, E. G.; NEALSON, K. H. Symbiotic association of *Photobacterium fischeri* with the marine luminous fish *Monocentris japonica*: a model of symbiosis based on bacterial studies. ***The Biological Bulletin***, v. 151, n. 3, p. 574-586, 1976.

RUMLOVA, L.; DOLEZALOVA, J. A new biological test utilizing the yeast *Saccharomyces cerevisiae* for the rapid detection of toxic substances in water. ***Environmental toxicology and pharmacology***, v. 33, n. 3, p. 459-464, 2012.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. ***Zoologia dos invertebrados***. Roca, 1996.

SAARISTO, M.; MCLENNAN, A.; JOHNSTONE, C. P.; CLARKE, B. O.; WONG, B. B. M. Impacts of the antidepressant fluoxetine on the anti-predator behaviours of wild guppies (*Poecilia reticulata*). ***Aquatic toxicology***, v. 183, p. 38-45, 2017.

SÁGI, G.; BEZSENYI, A.; KOVÁCS, K.; KLÁTYIK, S.; DARVAS, B.; SZÉKÁCS, A.; WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. The impact of H₂O₂ and the role of mineralization in biodegradation or ecotoxicity assessment of advanced oxidation processes. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 144, p. 361-366, 2018.

SANDERSON, H.; THOMSEN, M. Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute aquatic toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q) SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action. ***Toxicology Letters***, v. 187, n. 2, p. 84-93, 2009.

SAHLIN, S.; JOAKIM LARSSON, D. G.; ÅGERSTRAND, M. Ciprofloxacin: EQS data overview. ***The Department of Environmental Science and Analytical Chemistry (ACES) Report***, v. 15, 2018.

SALVADORI, M.; DE VITO, V.; OWEN, H.; GIORGI, M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intracoelomic administration in Tortoises (*Testudo hermanni*). ***Israel Journal of Veterinary Medicine***, v. 70, n. 1, p. 45-48, 2015.

SANCHEZ-RANGEL, E.; INZUCCHI, S. E. Metformin: clinical use in type 2 diabetes. ***Diabetologia***, v. 60, n. 9, p. 1586-1593, 2017.

SANTA-ANA-TELLEZ, Y.; MANTEL-TEEUWISSE, A. K.; DRESER, A.; LEUFKENS, H. G.; WIRTZ, V. J. Impact of over-the-counter restrictions on antibiotic consumption in Brazil and Mexico. ***PloS one***, v. 8, n. 10, p. e75550, 2013.

SAYED, M.; KHAN, J. A.; SHAH, L. A.; SHAH, N. S.; KHAN, H. M.; REHMAN, F., KHAN, A. R.; KHAN, A. M. Degradation of quinolone antibiotic, norfloxacin, in aqueous solution using gamma-ray irradiation. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 23, n. 13, p. 13155-13168, 2016.

SCHEURER, M.; MICHEL, A.; BRAUCH, H. J.; RUCK, W.; SACHER, F. Occurrence and fate of the antidiabetic drug metformin and its metabolite guanilurea in the environment and during drinking water treatment. ***Water research***, v. 46, n. 15, p. 4790-4802, 2012.

SCHEURER, M.; SACHER, F.; BRAUCH, H. J. Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. ***Journal of environmental monitoring***, v.11, n. 9, p. 1608-1613, 2009.

SCHULTZ, M. M.; PAINTER, M. M.; BARTELL, S. E.; LOGUE, A.; FURLONG, E. T.; WERNER, S. L.; SCHOENFUSS, H. L. Selective uptake and biological consequences of environmentally relevant antidepressant pharmaceutical exposures on male fathead minnows. ***Aquatic Toxicology***, v. 104, n. 1-2, p. 38-47, 2011.

SCOTT, P. D.; BARTKOW, M.; BLOCKWELL, S. J.; COLEMAN, H. M.; KHAN, S. J.; LIM, R.; MCDONALD, J. A.; NICE, H.; NUGEGODA, D.; PETTIGROVE, V.; TREMBLAY, L. A.; WARNE, M. S. J.; LEUSCH, F. D. A national survey of trace organic contaminants in Australian rivers. ***Journal of environmental quality***, v. 43, n. 5, p. 1702-1712, 2014.

SEHONOVA, P.; SVOBODOVA, Z.; DOLEZELOVA, P.; VOSMEROVA, P.; FAGGIO, C. Effects of waterborne antidepressants on non-target animals living in the aquatic environment: A review. ***Aquatic Toxicology***, v. 104, n. 1-2, p. 38-47, 2011.

SHAO, H. Y.; WU, M. H.; DENG, F.; XU, G.; LIU, N.; LI, X.; TANG, L. Electron beam irradiation induced degradation of antidepressant drug fluoxetine in water matrices. ***Chemosphere***, v. 190, p. 184-190, 2018.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. ***Chronicles of young scientists***, v. 2, n. 1, p. 21-25, 2011.

SILVA, A.; SANTOS, L. H.; DELERUE-MATOS, C.; FIGUEIREDO, S. A. Impact of excipients in the chronic toxicity of fluoxetine on the alga *Chlorella vulgaris*. ***Environmental technology***, v. 35, n. 24, p. 3124-3129, 2014.

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***, v. 23, n. 12, p. 11927-11936, 2016.

SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. ***Environmental pollution***, v. 158, n. 5, p. 1938-1947, 2010.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. ***Diagnósticos dos serviços de água e esgoto***. 2019.

SODRÉ, F. F.; DUTRA, P. M.; DOS SANTOS, V. P. Pharmaceuticals and personal care products as emerging micropollutants in Brazilian surface waters: a preliminary snapshot on environmental contamination and risks. ***Eclética Química Journal***, v. 43, n. 1SI, p. 22-34, 2018.

SOMMI, R. W.; CRISMON, M. L.; BOWDEN, C. L. Fluoxetine: a serotonin-specific, second-generation antidepressant. ***Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy***, v. 7, n. 1, p. 1-14, 1987.

SOMESSARI, S. L.; SILVEIRA, C. G. D.; PAES, H.; SOMESSARI, E. S. Electron beam accelerator facilities at IPEN-CNEN/SP. In: International Nuclear Atlantic

Conference – INAC 2007, 30/Set - 10/Out, 2007. Disponível em: <
<http://repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/17590/11976.pdf?sequence=1>>. Acesso: 10 de Setembro de 2021.

SOUZA, C. C.; AQUINO, S. F.; SILVA, S. D. Q. Ensaio toxicológicos aplicados à análise de águas contaminadas por fármacos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 25, p. 217-228, 2020.

SOUSA, H. W.; SILVA, J. L.; NETO, M. S. A importância do profissional farmacêutico no combate à automedicação no Brasil. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 5, n. 1. 2008.

SPONGBERG, A. L.; WITTER, J. D.; ACUÑA, J.; VARGAS, J.; MURILLO, M.; UMAÑA, G., GÓMEZ, E.; PEREZ, G. Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. **Water research**, v. 45, n. 20, p. 6709-6717, 2011.

SPINKS, J. W. T.; WOODS, R. J. **An Introduction to Radiation Chemistry**, Wiley-Interscience publication: New York, NY, USA, 1990.

STANLEY D. W. **Eicosanoids in invertebrate signal transduction systems**. New Jersey, Princeton University Press, 2000.

STANLEY, J. K.; RAMIREZ, A. J.; CHAMBLISS, C. K.; BROOKS, B. W. Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate. **Chemosphere**, v. 69, n. 1, p. 9-16, 2007.

STANTON, R.; TO, Q. G.; KHALES, S.; WILLIAMS, S. L.; ALLEY, S. J.; THWAITE, T. L.; FENNING, A. S.; VANDELANOTTE, C. Depression, anxiety and stress during COVID-19: Associations with changes in physical activity, sleep, tobacco and alcohol use in Australian adults. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 11, p. 4065, 2020.

STRAUB, J. O.; CALDWELL, D. J.; DAVIDSON, T.; D'ACO, V.; KAPPLER, K.; ROBINSON, P. F.; SIMON-HETTICH, B.; TELL, J. Environmental risk assessment of metformin and its transformation product guanidylurea. I. Environmental fate. **Chemosphere**, v. 216, p. 844-854, 2019.

STUCKEY, D. C.; OH, S. Effect of ciprofloxacin on methane production and anaerobic microbial community. **Bioresource technology**, v. 261, p. 240-248, 2018.

SUVARNA, S.; NAIRY, R.; SUNIL, K. C.; NARAYANA, Y. Cytotoxicity Studies of Functionalized Gold Nanoparticles Using Yeast Comet Assay. **Journal of Clinical Toxicology**, v. 7, n. 346, p. 2161-0495.1000347, 2017.

ŚWIACKA, K.; MICHNOWSKA, A.; MACULEWICZ, J.; CABAN, M.; SMOLARZ, K. Toxic effects of NSAIDs in non-target species: a review from the perspective of the aquatic environment. **Environmental Pollution**, p. 115891, 2020.

SZABELAK, A., BOWNIK, A. Behavioral and physiological responses of *Daphnia magna* to salicylic acid. **Chemosphere**, v. 270, p. 128660, 2021.

SZABÓ, L.; TÓTH, T.; HOMLOK, R.; RÁCZ, G.; TAKÁCS, E.; WOJNÁROVITS, L. Hydroxyl radical induced degradation of salicylates in aerated aqueous solution. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 97, p. 239-245, 2014.

SZABÓ, L.; TÓTH, T.; HOMLOK, R.; TAKÁCS, E.; WOJNÁROVITS, L. Radiolysis of paracetamol in dilute aqueous solution. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 81, n. 9, p. 1503-1507, 2012.

SZYMONIK, A.; LACH, J.; MALÍŃSKA, K. Fate and removal of pharmaceuticals and illegal drugs present in drinking water and wastewater. ***Ecological Chemistry and Engineering***, v. 24, n. 1, p. 65, 2017.

TEGZE, A.; SÁGI, G.; KOVÁCS, K.; HOMLOK, R.; TÓTH, T.; MOHÁCSI-FARKAS, C.; WOJNÁROVITS, L.; & TAKÁCS, E. Degradation of fluoroquinolone antibiotics during ionizing radiation treatment and assessment of antibacterial activity, toxicity and biodegradability of the products. ***Radiation Physics and Chemistry***, v. 147, p. 101-105, 2018.

TEIXEIRA, J. R.; ELISE, F. G. Effects of environmentally relevant antibiotic mixtures on marine microalgal growth. ***Science of the Total Environment***, v. 580, p. 43–49, 2017.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. ***Water research***, v. 32, n. 11, p. 3245-3260, 1998.

TEWARI, S.; JINDAL, R.; KHO, Y. L.; EO, S.; CHOI, K. Major pharmaceutical residues in wastewater treatment plants and receiving waters in Bangkok, Thailand, and associated ecological risks. ***Chemosphere***, v. 91, n. 5, p. 697-704, 2013.

THAI, T.; SALISBURY, B. H.; ZITO, P. M. Ciprofloxacin. ***StatPearls [Internet]***, 2020.

TISCHLER, A. H.; HODGE-HANSON, K. M.; VISICK, K. L. *Vibrio fischeri*-squid symbiosis. ***Elsevier Oceanogr Ser***, v. 267, p. 1-9, 2019.

TISLER, S.; ZWIENER, C. Formation and occurrence of transformation products of metformin in wastewater and surface water. ***Science of the Total Environment***, v. 628, p. 1121-1129, 2018.

TOMINAGA, F. K.; DOS SANTOS BATISTA, A. P.; TEIXEIRA, A. C. S. C., BORRELY, S. I. Degradation of diclofenac by electron beam irradiation: Toxicity removal, by-products identification and effect of another pharmaceutical compound. ***Journal of Environmental Chemical Engineering***, v. 6, n. 4, p. 4605-4611, 2018.

TOMINAGA, F. K.; SILVA, T. T.; BOIANI, N. F.; DE JESUS, J. M. S.; TEIXEIRA, A. C. S. C.; BORRELY, S. I. Is ionizing radiation effective in removing pharmaceuticals from wastewater?. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 28, n. 19, p. 23975-23983, 2021.

- TRAUTWEIN, C.; BERSET, J. D.; WOLSCHKE, H.; KÜMMERER, K. Occurrence of the antidiabetic drug Metformin and its ultimate transformation product Guanylurea in several compartments of the aquatic cycle. ***Environment international***, v. 70, p. 203-212, 2014.
- TRAUTWEIN, C.; KÜMMERER, K. Incomplete aerobic degradation of the antidiabetic drug Metformin and identification of the bacterial dead-end transformation product Guanylurea. ***Chemosphere***, v. 85, n. 5, p. 765-773, 2011.
- TROJANOWICZ, M.; BOJANOWSKA-CZAJKA, A.; CAPODAGLIO, A. G. Can radiation chemistry supply a highly efficient AO (R) P process for organics removal from drinking and wastewater? A review. ***Environmental Science and Pollution Research***, v. 24, n. 25, p. 20187-20208, 2017.
- TRUBETSKOVA, I., LAMPERT, W. The juvenile growth rate of *Daphnia*: a short-term alternative to measuring the per capita rate of increase in ecotoxicology?. ***Archives of environmental contamination and toxicology***, v. 42, n. 2, p. 193-198, 2002.
- TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. ***Ecotoxicology and environmental safety***, v. 1, n. 2, p. 151-173, 1977.
- VARANO, V.; FABBRI, E.; PASTERIS, A. Assessing the environmental hazard of individual and combined pharmaceuticals: acute and chronic toxicity of fluoxetine and propranolol in the crustacean *Daphnia magna*. ***Ecotoxicology***, v. 26, n. 6, p. 711-728, 2017.
- VAN DYK, J.; MACDONALD, J. C. F. Penetration of high energy electrons in water. ***Physics in Medicine & Biology***, v. 17, n. 1, p. 52, 1972.
- VAN LEEUWEN, J. S.; VERMEULEN, N. P.E.; VOS, J. C. Yeast as a humanized model organism for biotransformation-related toxicity. ***Current drug metabolism***, v. 13, n. 10, p. 1464-1475, 2012.
- VANCE-BRYAN, K.; GUAY, D. R.; ROTSCHAFFER, J. C. Clinical pharmacokinetics of ciprofloxacin. ***Clinical pharmacokinetics***, v. 19, n. 6, p. 434-461, 1990.
- VIAL, G.; DETAILLE, D.; GUIGAS, B. Role of Mitochondria in the Mechanism (s) of Action of Metformin. ***Frontiers in endocrinology***, v. 10, p. 294, 2019.
- VIGARANI, A. Q. ***Avaliação da presença de fármacos no esgoto sanitário da cidade de Bauru-SP***. 2021. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- VULLIET, E; CREN-OLIVÉ, C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. ***Environmental Pollution***, v. 159, n. 10, p. 2929-2934, 2011.
- WAGNER, M. C. ***Ocorrência e degradação dos fármacos amoxicilina e cafeína em esgoto doméstico e águas superficiais***. 2016. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

WANG, C.; NIU, J.; YIN, L.; HUANG, J.; HOU, L. A. Electrochemical degradation of fluoxetine on nanotube array intercalated anode with enhanced electronic transport and hydroxyl radical production. **Chemical Engineering Journal**, v. 346, p. 662-671, 2018.

WANG, J.; WANG, S. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: a review. **Journal of environmental management**, v. 182, p. 620-640, 2016.

WANG, J.; ZHUAN, R. Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: An overview. **Science of the Total Environment**, v. 701, p. 135023, 2020.

WANG, L.; YING, G. G.; ZHAO, J. L.; YANG, X. B.; CHEN, F.; TAO, R.; ZHOU; LIU. S. L. J. Occurrence and risk assessment of acidic pharmaceuticals in the Yellow River, Hai River and Liao River of north China. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 16, p. 3139-3147, 2010.

WANG, Y. W.; HE, S. J.; FENG, X.; CHENG, J.; LUO, Y. T.; TIAN, L.; HUANG, Q. Metformin: a review of its potential indications. **Drug design, development and therapy**, v. 11, p. 2421, 2017.

WANG, Y.; QIU, L., HU, M. Application of yeast in the wastewater treatment. In E3S Web of Conferences (Vol. 53, p. 04025), 2018, EDP Sciences. Disponível em < https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/pdf/2018/28/e3sconf_icaeer2018_04025.pdf >. Acesso: 10 de setembro de 2021.

WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. Wastewater treatment with ionizing radiation. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 311, n. 2, p. 973-981, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use, 5th rev**: Ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use, 5th rev. World Health Organization, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report**. 2021.

YING, G. G.; ZHAO, J. L.; ZHOU, L. J.; LIU, S. Fate and occurrence of pharmaceuticals in the aquatic environment (surface water and sediment). **Comprehensive analytical chemistry**, p. 453-557, 2013.

YUAN, S.; JIANG, X.; XIA, X.; ZHANG, H.; ZHENG, S. Detection, occurrence and fate of 22 psychiatric pharmaceuticals in psychiatric hospital and municipal wastewater treatment plants in Beijing, China. **Chemosphere**, v. 90, n. 10, p. 2520-2525, 2013.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Aquatic Ecotoxicology: Principles and Applications**. São Carlos: Editora Rima, 2008.

ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ, M.; ŁEBKOWSKA, M.; AFFEK, K.; ZARZECZNA, A. Environmental risk assessment of selected pharmaceuticals present in surface waters in relation to animals. **Archives of Environmental Protection**, v. 37, n. 3, 31-42, 2011.

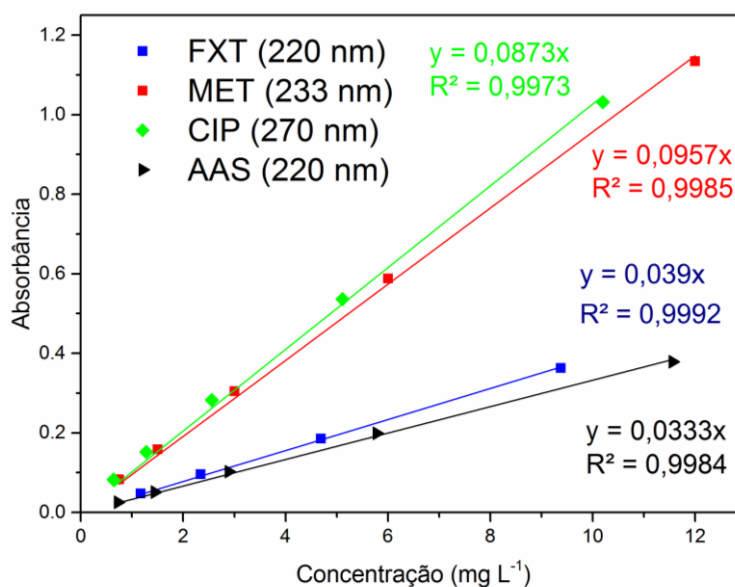
ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: treatability by conventional and non-conventional processes. **Journal of hazardous materials**, v.187, n.1-3, p. 24-36, 2011.

ZOU, X.; LIN, Z.; DENG, Z.; YIN, D. Novel approach to predicting hormetic effects of antibiotic mixtures on *Vibrio fischeri*. **Chemosphere**, v. 90, n. 7, p. 2070-2076, 2013.

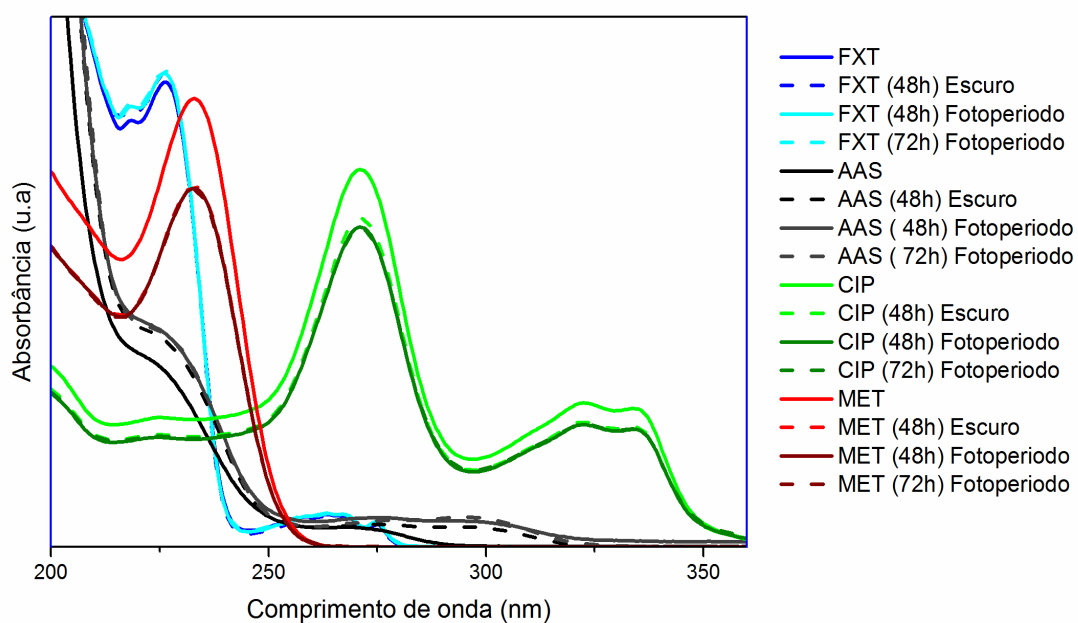
APÊNDICES

Apêndice A: Monitoramento da concentração dos fármacos por UV-Vis durante os ensaios de toxicidade

Relação entre concentração e absorvância para os fármacos AAS, FXT, CIP e MET com os respectivos comprimentos de onda



Espectro Uv-Vis (200-400 nm) para os fármacos AAS, FXT, CIP e MET em diferentes tempos e condições



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.