



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

**Avaliação da toxicidade aguda e dos efeitos da irradiação
com feixe de elétrons em misturas de compostos farmacêuticos**

NATHALIA FONSECA BOIANI

**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

**Avaliação da toxicidade aguda e dos efeitos da irradiação
com feixe de elétrons em misturas de compostos farmacêuticos**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

NATHALIA FONSECA BOIANI

**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: Capes

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:

FONSECA BOIANI, N. . *Avaliação da toxicidade aguda e dos efeitos da irradiação com feixe de elétrons em misturas de compostos farmacêuticos*. 2022. 129 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).

Fonseca Boiani, Nathalia

Avaliação da toxicidade aguda e dos efeitos da irradiação com feixe de elétrons em misturas de compostos farmacêuticos / Nathalia Fonseca Boiani; orientadora Sueli Ivone Borrely. -- São Paulo, 2022.

131 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.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra Sueli Ivone Borrely pela orientação, apoio, ensinamentos, dedicação e confiança no desenvolvimento do doutorado, e principalmente pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos meus pais, José e Maria Otilia por todo amor, carinho, paciência e dedicação. Agradeço pelo apoio, palavras de incentivo e esforços durante toda a minha vida.

Ao Caio, meu companheiro de vida e aventuras, obrigada pelo apoio, afeto e incentivo, por sempre estar ao meu lado, e nunca soltar a minha mão!

Ao meu irmão Fábio, obrigada por estar sempre ao meu lado e ser meu exemplo. Ao meu irmão Gustavo (*in memoriam*), por ser meu ponto de luz e fé.

As minhas sobrinhas, Sofia e Sara, meu amor maior, por trazerem leveza e encherem de amor e esperança a minha vida!

Aos meus anjinhos, Kucky, Cora, Rubi, Shiva e Ravi, vocês são meus bens mais preciosos!

Aos grandes amigos de trabalho Vanessa, Thalita, Flávio e Reginaldo, agradeço pelos ótimos momentos compartilhados, pelos trabalhos realizados, amizade, confiança, e aprendizados.

Aos engenheiros Elisabeth Somessari e Samir Somessari do acelerador de elétrons, pela pronta disponibilidade e auxílio nos processos de irradiação das amostras.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN - pela oportunidade de realização do trabalho.

Aos professores do Ensino do IPEN, pela contribuição no meu processo de aprendizado, e aos funcionários do IPEN, pelo auxílio e prestatividade.

E a todos que deram sua contribuição, meu muito obrigada!!!

*Chegar para agradecer e louvar.
Louvar o ventre que me gerou
O orixá que me tomou,
E a mão da doçura de Oxum que consagrou.
Louvar a água de minha terra
O chão que me sustenta, o palco, o massapê,
A beira do abismo,
O punhal do susto de cada dia.
Agradecer as nuvens que logo são chuva,
Sereniza os sentidos e ensina a vida a reviver.
Agradecer os amigos que fiz
E que mantém a coragem de gostar de mim, apesar de mim...
Agradecer a alegria das crianças,
As borboletas que brincam em meus quintais, reais ou não.
Agradecer a cada folha, a toda raiz, as pedras majestosas
E as pequeninas como eu, em Aruanda.
Agradecer o sol que raia o dia,
A lua que como o menino Deus espraia luz
E vira os meus sonhos de pernas pro ar.
Agradecer as marés altas
E também aquelas que levam para outros costados todos os males.
Agradecer a tudo que canta no ar, dentro do mato sobre o mar,
As vozes que soam de cordas tênues e partem cristais.
Agradecer os senhores que acolhem e aplaudem esse milagre.
Agradecer, Ter o que agradecer. Louvar e abraçar!*

Maria Bethânia

RESUMO

BOIANI, Nathalia. F. **Avaliação da toxicidade aguda e dos efeitos da irradiação com feixe de elétrons na mistura de compostos farmacêuticos.** 2022. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN - CNEN/SP. São Paulo.

Atualmente uma vasta gama de contaminantes vêm sendo detectados no meio hídrico, os produtos farmacêuticos merecem atenção especial, pois representam mistura complexa de contaminantes no ambiente, podendo causar efeitos deletérios a biota. Esses compostos possuem alta produção, utilização, descarte incorreto, chegando a rede coletora de esgoto através principalmente, da excreção humana e de resíduos da indústria farmacêutica e agropecuária. Em águas superficiais, contribuem na alteração do padrão de qualidade das águas e redução da biodiversidade de organismos aquáticos, afetando tanto os ecossistemas quanto a saúde humana. As técnicas convencionais de tratamentos de efluentes são insuficientes na remoção desses compostos e seus metabólitos, sendo assim, buscam-se técnicas avançadas capazes de reduzir esses resíduos nas águas. O processo de irradiação por feixe de elétrons vem mostrando resultados satisfatórios na degradação dos compostos farmacêuticos, podendo ser utilizado como alternativa ou complemento aos processos de tratamento de efluentes. O objetivo deste trabalho foi a avaliação ecotoxicológica de quatro compostos farmacêuticos, isolados e em diferentes misturas (binárias, ternárias e quaternárias), bem como a aplicação da irradiação por feixe de elétrons, como proposta de tratamento para a redução dos efeitos tóxicos. Foram realizados ensaios com o antidepressivo Fluoxetina, o β -bloqueador Propranolol, o antibiótico Sulfadiazina e o estimulante Cafeína, individuais e combinados, antes e após o processo de irradiação. Os organismos-teste utilizados foram o microcrustáceo *Daphnia similis* e a bactéria *Vibrio fischeri*. A avaliação de risco através da concentração prevista sem efeito (PNEC), e a interação das misturas binárias (MixTox) também foram abordados no presente estudo. Os resultados dos ensaios de toxicidade para efeitos agudos dos fármacos individuais indicaram possível risco de sua presença para a biota aquática, quanto ao Propranolol e a Cafeína. Nas análises das interações toxicológicas das misturas binárias, foi identificado sinergismo para a mistura de Fluoxetina com Propranolol, e antagonismo para a mistura de Fluoxetina com Sulfadiazina e com a Cafeína. A irradiação por feixe de elétrons foi eficaz

na redução da toxicidade dos compostos combinados. Na mistura binária de Fluoxetina com o Propranolol, a eficiência de remoção da toxicidade foi de 80% para *D. similis* e 30% para *V. fischeri*, nas doses de 2,5 e 5,0 kGy. A mistura de Fluoxetina com Sulfadiazina apresentou valores entre 20-30% de redução da toxicidade para ambos os organismos e doses aplicadas. Os resultados da mistura de Fluoxetina com Cafeína apresentaram eficiência de remoção da toxicidade de 45% para *D. similis* e 30% para *V. fischeri*, nas doses aplicadas. Nas misturas ternárias, a eficiência de remoção de toxicidade foi de 40% e 55% para *V. fischeri*, e de 25% e 35% para *D. similis*, respectivamente nas doses de 2,5 e 5,0 kGy. Na mistura quaternária a redução da toxicidade chegou a 80% para *V. fischeri* versus 60% para *D. similis*, na dose de 5,0 kGy; e em 40%, para ambos os organismos, na dose de 2,5 kGy. Houve o decaimento da absorvância em todos os comprimentos de onda característicos das amostras, indicando que o processo de irradiação foi eficiente na degradação dos compostos, porém baixa eficiência de remoção de carbono orgânico total, indicando que não houve mineralização significativa das amostras irradiadas.

Palavras-chave: Ecotoxicologia aquática; Ecotoxicologia em misturas; Misturas de fármacos; Radiação ionizante.

ABSTRACT

BOIANI, Nathalia. F. **Evaluation of acute toxicity and effects of electron beam irradiation in a mixtures of pharmaceuticals.** 2022. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN - CNEN/SP. São Paulo.

Currently, a wide range of contaminants have been detected in the water environment, pharmaceutical products deserve special attention, as they represent a complex mixture of contaminants in the environment, which can cause deleterious effects to biota. These compounds have high production, use, incorrect disposal, reaching the sewage collection network mainly through human excretion and waste from the pharmaceutical industry and agricultural. In surface waters, they contribute to changing the water quality standart and reducing the biodiversity of aquatic organisms, affecting ecosystems and human health. Conventional techniques of effluent treatment are insufficient in the removal of these compounds and their metabolites, therefore, advanced techniques capable of reducing these residues in the waters are being sought. The electron beam irradiation process has shown satisfactory results in the degradation of pharmaceutical compounds, and can be used as an alternative or complement to effluent treatment processes. The aim of this work was the ecotoxicological evaluation of four compounds, isolated and in different mixtures (binary, tertiary and quaternary), as well the application of electron beam irradiation, as a treatment proposal for the reduction of toxic effects. Tests were carried out with the antidepressant Fluoxetine, the β -blocker Propranolol, the antibiotic Sulfadiazine and the stimulant Caffeine, isolated and in combination, before and after the irradiation process. The test organisms used were the microcrustacean *Daphnia similis* and the bacterium *Vibrio fischeri*. Risk assessment through predicted no-effect concentration (PNEC), and the interaction of binary mixtures (MixTox) were also addressed in the present study. The results of toxicity for acute effects of the isolated pharmaceuticals compounds indicate a possible risk of their presence for the aquatic biota about Propranolol and Caffeine. In the analysis of the toxicological interactions of the binary mixtures, synergism was identified for the mixture of Fluoxetine with Propranolol, and antagonism for the mixture of Fluoxetine with Sulfadiazine and with Caffeine. Electron beam irradiation was effective in reducing the toxicity of the combined compounds. In the binary mixture of Fluoxetine with Propranolol, the toxicity removal efficiency was 80% for *D. similis* and 30% for *V.*

fischeri, at doses of 2.5 and 5.0 kGy. The mixture of Fluoxetine with Sulfadiazine showed values between 20-30% of reduction in toxicity for both organisms and applied doses. The results of the mixture of Fluoxetine with Caffeine presented an efficiency of toxicity removal of 45% for *D.similis* and 30% for *V.fischeri*, in the applied doses. In ternary mixtures, the toxicity removal efficiency was 40% and 55% for *V. fischeri*, and 25% and 35% for *D. similis*, respectively at doses of 2.5 and 5.0 kGy. In the quaternary mixture, the reduction in toxicity reached 80% for *V. fischeri* versus 60% for *D. similis*, at a dose of 5.0 kGy, and 40% for both organisms at a dose of 2.5 kGy. There was a decrease in absorbance at all characteristic wavelengths of the samples, indicating that the irradiation process was efficient in the degradation of the compounds, but low efficiency in the removal of total organic carbon, indicating that there was no significant mineralization in the irradiated samples.

Keywords: Aquatic ecotoxicology; Mixture ecotoxicology; Pharmaceutical mixtures; Ionizing radiation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações médias de produtos farmacêuticos detectados em matrizes aquáticas.....	24
Tabela 2 - Trabalhos na área ambiental com a utilização de acelerador de elétrons.....	38
Tabela 3 - Toxicidade aguda dos compostos farmacêuticos; Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína, obtidas a partir de ensaios ecotoxicológicos, com <i>Daphnia similis</i> e <i>Vibrio fischeri</i>	56
Tabela 4 - Estimativa do quociente de risco (QR) baseado no maior valor de concentração ambiental (MEC) descritas na literatura para matrizes superficiais.....	59
Tabela 5 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura binária de Fluoxetina e Propranolol.....	60
Tabela 6 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura dos fármacos Fluoxetina e Sulfadiazina.....	61
Tabela 7 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura dos fármacos Fluoxetina e Cafeína.....	62
Tabela 8 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada, em <i>D. similis</i>	64
Tabela 9 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada, em <i>V. fischeri</i>	65
Tabela 10 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas binárias, em <i>D. similis</i>	68
Tabela 11 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas binárias, em <i>V. fischeri</i>	69
Tabela 12 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas ternárias, em <i>D. similis</i>	72
Tabela 13 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas ternárias, em <i>V. fischeri</i>	72
Tabela 14 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para a mistura quaternária,	

em <i>D. similis</i>	74
Tabela 15 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para a mistura quaternária, em <i>V. fischeri</i>	75
Tabela 16 - Parâmetros físico-químicos mensurados nas amostras.....	80
Tabela 17 - Valores de carbono orgânico total (COT) e eficiência de remoção (%) dos compostos farmacêuticos e misturas após a irradiação por feixe de elétrons.....	81
Tabela 18 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras dos compostos farmacêuticos individuais, brutos e irradiados.	88
Tabela 19 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras das misturas binárias, brutas e irradiadas.	88
Tabela 20 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras das misturas ternárias, brutas e irradiadas.	89
Tabela 21 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras da mistura quaternária, brutas e irradiadas.	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular da Fluoxetina.....	29
Figura 2 - Estrutura molecular do Propranolol.....	30
Figura 3 - Estrutura molecular da Sulfadiazina.....	31
Figura 4 - Estrutura molecular da Cafeína.....	32
Figura 5 - Representação de uma curva dose-resposta típica obtida em ensaios de toxicidade.....	40
Figura 6 - Organismos utilizados em ensaios de toxicidade; A) <i>Daphnia similis</i> , B) <i>Vibrio fischeri</i>	41
Figura 7 - Etapas do desenvolvimento experimental do projeto.....	45
Figura 8 - Acelerador de Elétrons (CETER/IPEN) com amostras dos produtos farmacêuticos para a irradiação.....	47
Figura 9 - Incubadora com cultivos de <i>D. similis</i>	48
Figura 10 - Sistema Microtox®, ensaio com a bactéria <i>V. fischeri</i>	50
Figura 11 - Equipamentos utilizados para medir os valores de pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade.....	53
Figura 12 - Equipamentos utilizados nas análises dos efeitos da irradiação por feixe de elétrons; A) TOC- 5000 A; e B) espectrofotômetro UV-VIS 1800.....	54
Figura 13 - Concentrações de efeito mediano (CE50 - mg.L ⁻¹) obtidas a partir de ensaios de toxicidade com <i>D. similis</i> e <i>V. fischeri</i> expostos aos compostos farmacêuticos Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína.....	57
Figura 14 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) <i>D. similis</i> e B) <i>V. fischeri</i> , expostos aos compostos farmacêuticos isolados, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.....	66
Figura 15 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) <i>D. similis</i> e B) <i>V. fischeri</i> , expostos aos compostos farmacêuticos isolados, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.....	70
Figura 16 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) <i>D. similis</i> e B) <i>V. fischeri</i> , expostos as misturas ternárias, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.....	73
Figura 17 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) <i>D. similis</i> e B) <i>V. fischeri</i> , expostos a mistura quaternária, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.....	75

Figura 18 - Eficiência de remoção da toxicidade dos compostos farmacêuticos isolados e combinados em misturas, nas doses de 2,5 e 5,0 kGy, nos ensaios realizados com os organismos teste:.....	77
Figura 19 - Espectrofotometria UV-Vis dos compostos farmacêuticos: A) Fluoxetina; B) Propranolol, em função das doses de radiação aplicadas.	83
Figura 20 - Espectrofotometria UV-Vis do composto farmacêutico Sulfadiazina, em função das doses de radiação aplicadas.	84
Figura 21 - Espectrofotometria UV-Vis do composto farmacêutico Cafeína, em função das doses de radiação aplicadas.	85
Figura 22 - Espectrofotometria UV-Vis das misturas binárias dos compostos farmacêuticos: A) FLX+PRP; B) FLX+SDZ; C) FLX+CFN, em função das doses de radiação aplicadas.	85
Figura 23 - Espectrofotometria UV-Vis das misturas ternárias dos compostos farmacêuticos: A) FLX+PRP+SDZ; B) FLX+PRP+CFN, em função das doses de radiação aplicadas.....	87
Figura 24 - Espectrofotometria UV-Vis da mistura quaternária dos compostos farmacêuticos.	87
Figura 25 - Carta controle de sensibilidade do organismo <i>D. similis</i>	90
Figura 26 - Carta controle de sensibilidade do organismo <i>V. fischeri</i>	90

LISTA DE SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
AIEA – Agência Internacional de Energia Atômica
CA – Adição de Concentração
CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CETER – Centro de Tecnologia das Radiações
CE50 – Concentração Efetiva Mediana
CFN - Cafeína
CL50 – Concentração Letal Mediana
CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear
COT – Carbono Orgânico Total
CV – Coeficiente de Variação
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DL – Nível de Concentração
DR – Proporção da Concentração
DQO – Demanda Química de Oxigênio
ETAs – Estações de Tratamento de Água
ETEs – Estações de Tratamento de Esgoto
FA – Fator de Avaliação
FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos
FLX - Fluoxetina
HO – Radical Hidroxila
IA – Ação Independente
IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
LEBA – Laboratório de Ensaio Biológicos e Ambientais
MEC – Concentração Ambiental Medida
MoA – Modo de Ação
NOEC – Maior Concentração de Efeito Não Observado
NUCLEP – Nuclebrás Equipamentos Pesados
OD – Oxigênio Dissolvido
PEC – Concentração Ambiental Prevista
PNEC – Concentração Prevista Sem Efeito

POAs – Processos Oxidativos Avançados

PPCPs - Produtos Farmacêuticos e de Cuidados Pessoais

PRP – Propranolol

QR – Quociente de Risco

SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SDZ - Sulfadiazina

SENAI – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

TDPM – Transtorno Disfórico Pré-Menstrual

TOC – Transtorno Obsessivo Compulsivo

TPM – Transtorno Pré-Menstrual

UT – Unidade Tóxica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVO	21
2.1 Objetivos específicos	21
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1 Fármacos no meio ambiente	22
3.1.1 Fluoxetina	28
3.1.2 Propranolol.....	29
3.1.3 Sulfadiazina	31
3.1.4 Cafeína	32
3.2 Tratamento de águas residuárias	33
3.3 Irradiação por feixe de elétrons no tratamento de águas	34
3.4 Ecotoxicologia	39
3.4.1 Organismos-teste	41
4 METODOLOGIA	44
4.1 Preparo das soluções dos compostos farmacêuticos.....	45
4.1.2 Preparação das misturas.....	46
4.2 Irradiação das amostras.....	46
4.3 Ensaio de toxicidade para efeito agudo – <i>Daphnia similis</i>	47
4.3.1 Cultivo e manutenção	47
4.3.2 Ensaio de ecotoxicidade	49
4.4 Projeto experimental dos ensaios de toxicidade das misturas	49
4.5 Ensaio de toxicidade para efeito agudo – <i>Vibrio fischeri</i>	50
4.6 Avaliação do risco ambiental.....	51
4.7 Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade aguda	52
4.8 Análises físico-químicas	53
4.8.1 pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade	53

4.8.2 Carbono orgânico total (COT) e Espectrofotometria UV-Vis.....	53
4.9 Análises estatísticas	54
4.10 Descarte de resíduos	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1 Avaliação dos efeitos relacionados à toxicidade aguda.....	56
5.2 Avaliação da toxicidade de misturas	59
5.2.1 Fluoxetina + Propranolol	60
5.2.2 Fluoxetina + Sulfadiazina	61
5.2.3 Fluoxetina + Cafeína.....	61
5.3 Irradiação das amostras.....	63
5.3.1 Misturas binárias.....	67
5.3.2 Misturas ternárias.....	71
5.3.3 Mistura quaternária	74
5.4 Eficiência de remoção da toxicidade	76
5.5 Análises físico-químicas	79
5.5.1 Carbono orgânico total.....	81
5.6 Degradação dos compostos farmacêuticos	82
5.6.1 Espectrofotometria UV-Vis	82
5.7 Análises estatísticas	88
5.8 Carta controle de sensibilidade	89
6 CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICE.....	108
APÊNDICE A - Fichas controle dos ensaios de toxicidade com <i>D. similis</i>	108
APÊNDICE B: Fichas controle dos ensaios de toxicidade com <i>V. fischeri</i>	121
APÊNDICE C – Análises físico-químicas.....	129

INTRODUÇÃO

A contaminação da água trata-se de um assunto que sempre foi discutido extensivamente em nível global, uma vez que o meio hídrico é um recurso natural imprescindível para as mais diversas atividades humanas, dentre elas, o abastecimento público e industrial, a produção de energia elétrica, a agricultura e a preservação da vida aquática, além de ser o principal veículo de dispersão ambiental dos poluentes químicos, já que são os corpos d'água, os receptores dos esgotos domésticos, industriais e agropecuários. O lançamento desses contaminantes nos ambientes aquáticos, com ou sem tratamento prévio, acaba por afetar a qualidade das águas do sistema receptor, refletindo nas condições ideais para a sobrevivência dos organismos que ali se encontram, na qualidade da água e também na saúde humana. Sendo assim, temas como reúso, minimização e tratamentos de resíduos ganham cada vez mais importância (CETESB, 2020).

A cada ano, uma vasta gama de contaminantes orgânicos e inorgânicos vêm sendo detectados em águas superficiais do mundo todo. Estes contaminantes têm sua origem associada aos mecanismos de produção e descarte, higienização e excreção.

A preocupação a respeito da contaminação e da qualidade da água no Brasil ainda está focada no tratamento de esgotos domésticos, que é deficitário. A contaminação aquática por substâncias constantemente consumidas, como medicamentos, produtos de higiene pessoal, hormônios, surfactantes e pesticidas, merece atenção especial, uma vez que o esgoto doméstico é sua principal via de entrada ao ambiente, ainda que contribuições significativas também ocorrem por meio de emissões de hospitais, fábricas e agricultura (FENT et al., 2006; PETRIE et al., 2015; ADELEYE et al., 2022).

Dentre esses compostos, cabe destacar os produtos farmacêuticos, devido seu amplo consumo pela população em geral, exercendo papel importante na prevenção e tratamento de doenças, além de serem considerados potenciais contaminantes ambientais, como compostos biologicamente ativos capazes de induzir os mais diversos efeitos adversos aos organismos. Uma vez que podem ser excretados em sua forma biologicamente ativa, como substância original ou seu metabólito (CALAMARI et al., 2003). A taxa de excreção da forma inalterada depende do fármaco, da dose e do indivíduo. De modo geral, 40 a 90% da dose administrada é excretada em sua forma

original (PATEL et al., 2019).

As concentrações de fármacos nas águas são geralmente baixas, na faixa de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$. Apesar dessas concentrações baixas, há incertezas sobre os riscos ocasionados em decorrência da exposição. Suspeita-se que muitos desses produtos farmacêuticos possam causar danos à saúde dos organismos, afetando os ecossistemas e, em alguns casos, à saúde humana, ainda que necessite de concentrações mais elevadas para causar a morte (FENT et al., 2006; GEIGER et al., 2016).

Outro fator a ser levado em conta, e que vem mostrando que a presença desses produtos químicos no ambiente se torna cada vez mais preocupante, é que essas substâncias não aparecem individualmente, e sim como uma mistura complexa de contaminantes, que pode levar a efeitos indesejados. A ubiquidade de um número de contaminantes emergentes potencialmente tóxicos no meio ambiente leva a necessidade de compreender melhor a sua ocorrência, o seu destino e o impacto ecológico (PETRIE et al., 2015).

A avaliação de risco regulatório de substâncias tóxicas no ambiente aquático concentra-se na avaliação de uma única substância, porém, os organismos aquáticos vêm sendo, invariavelmente expostos a misturas de contaminantes, cujos componentes podem interagir, produzindo efeitos sinérgicos ou antagônicos. Apesar do conhecimento adquirido nas últimas duas décadas sobre os efeitos e riscos dos produtos farmacêuticos no meio ambiente, ainda existem lacunas de pesquisa importantes. Uma dessas questões-chave é em relação aos efeitos induzidos por misturas farmacêuticas e os métodos para avaliá-los (BARATA et al., 2006; VARANO et al., 2017; GODOY et al., 2019).

A preocupação quanto à preservação dos ecossistemas aquáticos e o risco de contaminação da água de abastecimento público têm incentivado estudos com o objetivo de identificar e quantificar esses resíduos, a fim de minimizar o descarte e desenvolver processos eficientes para removê-los.

A presença de fármacos em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é reflexo da baixa eficiência de remoção dos mesmos pelos processos convencionais de tratamento, insuficiente na remoção dos traços para diferentes fármacos e compostos orgânicos e inorgânicos, levando à contaminação de águas superficiais. Tal situação tem incentivado a busca de métodos mais eficientes, capazes de promover a mineralização desses contaminantes, ou pelo menos sua transformação em produtos que não apresentem efeitos adversos ao ambiente. Sendo assim, buscam-se técnicas

avançadas, tais como a ozonização, processos oxidativos avançados ou filtração com o uso de membranas para aumentar a eficiência na redução de resíduos e subprodutos desses compostos em águas (TERNES et al., 2003; OLUWOLE et al., 2020).

Estes Processos Oxidativos Avançados (POAs), têm se mostrado como alternativa ou complemento aos processos convencionais de tratamento de efluentes. Caracterizam-se pelas reações de oxidação química, intermediadas pelo Radical Hidroxila (HO), esta espécie é pouco seletiva e altamente reativa, atuando na oxidação química de muitas substâncias. Assim, os POAs vêm sendo utilizados no tratamento de águas residuárias, contribuindo para a redução da toxicidade das amostras, degradação dos contaminantes orgânicos e favorecendo a biodegradabilidade dos efluentes industriais (RIZZO, 2011).

O objetivo principal deste estudo foi propor a irradiação por feixe de elétrons como uma tecnologia alternativa ou complementar ao processo de tratamento de efluentes, a fim de reduzir os impactos ecotoxicológicos das misturas de compostos farmacêuticos no meio ambiente aquático, avaliando a eficiência de remoção da toxicidade e a degradação destes compostos, antes e após a exposição à radiação ionizante.

2 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo a aplicação do processo de irradiação com feixe de elétrons, a fim de reduzir os efeitos tóxicos da mistura de compostos farmacêuticos, em solução aquosa, avaliando a eficiência do tratamento proposto.

2.1 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a toxicidade aguda do antidepressivo Fluoxetina, do β - bloqueador Propranolol, do antibiótico Sulfadiazina, e do estimulante Cafeína, bem como seu potencial risco para a biota aquática;
- ✓ Determinar a toxicidade aguda de misturas de compostos farmacêuticos, empregando ensaios ecotoxicológicos aos organismos de referência: *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*;
- ✓ Identificar os efeitos das interações toxicológicas provenientes das misturas dos compostos farmacêuticos analisados;
- ✓ Determinar a eficácia do tratamento proposto por meio da avaliação da redução da toxicidade dos compostos farmacêuticos, após o tratamento com a irradiação por feixe de elétrons.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Fármacos no meio ambiente

O meio hídrico é o principal veículo de dispersão ambiental dos poluentes químicos, uma vez que são eles os receptores dos esgotos domésticos, industriais e agropecuários. Esses resíduos podem apresentar contaminantes e características físico-químicas que os classificam como substâncias tóxicas e com potencial risco ambiental (GAFFNEY et al., 2014).

Contaminantes emergentes compreendem produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, surfactantes e seus metabólitos, subprodutos industriais, hormônios naturais, aditivos de gasolina, pesticidas e drogas ilícitas, que vêm sendo consumidos em larga escala e continuamente (GEIGER et al., 2016). Os produtos farmacêuticos são utilizados principalmente para fins terapêuticos, preventivos e diagnósticos e desempenham papel importante na saúde dos seres humanos (FENT et al., 2006). O uso global de produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs) continuou a aumentar na última década devido aos avanços em pesquisas e desenvolvimento, ao crescimento da população mundial e ao aumento da acessibilidade aos cuidados de saúde e produtos farmacêuticos (VAN BOECKEL et al., 2014).

Os fármacos vêm sendo detectados nas águas residuárias, portanto no meio ambiente aquático, o que pode resultar em uma exposição crônica potencial ao ambiente a uma mistura de compostos. A excreção por humanos é a principal via de entrada de PPCPs nos sistemas de águas municipais, porém contribuições significativas também ocorrem por meio das emissões hospitalares, agricultura e indústrias de PPCPs. Os fármacos permanecem ativos após serem liberados no ambiente e podem afetar quaisquer organismos aquáticos, influenciando em seus sistemas biológicos (GEIGER et al., 2016; ADELEYE et al., 2022). Com base nos dados obtidos em Estações de Tratamento de Águas (ETAs), analgésicos, antibióticos e estimulantes (exemplo, Cafeína), são os PPCPs mais detectados em águas residuárias brutas. A massa total de PPCPs descarregada com efluente por uma Estação de Tratamento de (ETEs) em águas receptoras é de 7,35 – 20.160 g/dia, o que é considerável, devido aos potenciais efeitos adversos dos PPCPs em organismos aquáticos, que ocorrem dentro das concentrações medidas, e que são encontradas na superfície das águas (ADELEYE et al., 2022).

Os PPCPs podem ser apenas parcialmente metabolizados durante o seu uso terapêutico, resultando na sua excreção metabólica e liberação de frações residuais no esgoto, de forma inalterada, na forma de metabólitos ou conjugados, chegando às ETEs (GROS et al., 2010; PATEL et al., 2019; FRASCAROLI et al., 2021).

A maioria desses produtos é projetada para manter a sua estrutura química durante o curso do tratamento terapêutico, podendo permanecer ativos em estações de tratamento por um longo período de tempo. Muitos estudos têm mostrado que a maioria dos medicamentos é significativamente recalcitrante, e os processos convencionais de tratamento, baseados na degradação biológica dos contaminantes, não são projetados para eliminar esses compostos, pois possuem ação biocida ou estruturas químicas complexas não passíveis de biodegradação, comprovado por diversos estudos que mostram a presença desse tipo de contaminante em efluentes de ETEs (JAÉN-GIL et al., 2018; PATEL et al., 2019; FRASCAROLI et al., 2021). Conseqüentemente, um fluxo consistente de PPCPs e seus metabólitos atingem o meio aquático, perturbando o equilíbrio ecológico de rios, lagos, ambientes marinhos, águas subterrâneas, águas superficiais e água potável (WANG et al., 2020).

Os avanços da tecnologia permitiram a detecção de baixas concentrações (ng.L^{-1}) de vários PPCPs em esgoto, águas superficiais, subterrâneas, água potável, solo e também nos organismos aquáticos (RICHARDSON e TERNES, 2018; SNOW et al., 2020). AUS DER BEEK e colaboradores (2016) detectaram produtos farmacêuticos no ambiente natural em mais de 70 países, representando todos os continentes, onde mais de 600 substâncias farmacêuticas diferentes foram detectadas no meio ambiente.

Fármacos de diversas classes terapêuticas, como antibióticos, hormônios, antilipêmicos, antiinflamatórios, analgésicos, entre outros, têm sido detectados em concentrações na faixa de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$ em várias partes do mundo (Tabela 1), estudos demonstraram que o nível de concentração dos fármacos detectados em ambientes aquáticos está relacionado com o padrão de consumo dos mesmos pela população, pela taxa de remoção nas ETEs, pelo tipo de efluente que aporta nas ETEs e pela sazonalidade. Este quadro gera preocupação, uma vez que são substâncias biologicamente ativas que podem desencadear efeitos fármaco-dinâmicos nos organismos aquáticos, podendo comprometer a qualidade dos recursos hídricos, alterando a biodiversidade e o equilíbrio de ecossistemas aquáticos (FENT et al., 2006; MELO et al., 2009). É importante salientar que no Brasil há uma maior expectativa de ocorrência de fármacos em águas residuais

como consequência da carência de tratamento de esgotos no país (MELO et al., 2009).

Tabela 1 – Literatura disponível de concentrações médias de produtos farmacêuticos detectados em matrizes aquáticas.

Fármaco (Classe Terapêutica)	Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Matriz	Referência
Atenolol (β - bloqueador)	0,49	Esgoto Bruto/Itália	CASTIGLIONI et al. (2006)
	0,28	Efluente de ETE/Itália	CASTIGLIONI et al. (2006)
	0,30	Esgoto Bruto/Suécia	PATEL et al. (2019)
	19,3	Água Superficial/Brasil	DE SOUZA et al. (2014)
	10,2	Água Superficial/Líbano	MOKH et al.(2017)
Cafeína (Estimulante)	3,39	Água Superficial/Turquia	AYMAN e ISIK (2015)
	11,0	Água Marinha/Canadá	LI et al. (2019)
	10,3	Esgoto Bruto/Alemanha	HILLEBRAND et al. (2012)
	0,94	Esgoto Bruto/Suécia	PATEL et al. (2019)
Cetoprofeno (Antiinflamatório)	0,15	Esgoto Bruto/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	0,22	Água Superficial/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	0,81	Efluente de ETE/França	PATEL et al. (2019)
	0,16	Esgoto Bruto/Suécia	PATEL et al. (2019)
	0,33	Efluente de ETE/França	PATEL et al. (2019)
Diclofenaco (Antiinflamatório)	0,84	Efluente de ETE/Grécia	PATEL et al. (2019)
	2,74	Efluente de ETE/Itália	PATEL et al. (2019)
	0,40	Esgoto Bruto/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	0,020	Água Superficial/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	10,9	Água Superficial/Brasil	STELATO et al. (2016)
	0,54	Água Superficial/Reino Unido	GARDNER et al. (2012)
Fluoxetina (Antidepressivo)	0,012	Efluente de ETE/Estados Unidos	FORD et al. (2018)
	0,32-0,54	Efluente de ETE/Estados Unidos	FORD et al. (2018)
	0,144	Afluente/Estados Unidos	LARA-MARTÍN et al. (2014)
	0,027	Efluente/Estados Unidos	LARA-MARTÍN et al. (2014)
	0,050	Esgoto Bruto/Suécia	PATEL et al. (2019)
	0,030	Efluente de ETE/França	PATEL et al. (2019)
Propranolol (β - bloqueador)	0,010	Efluente de ETE/Grécia	PATEL et al. (2019)
	0,040	Efluente de ETE/Itália	PATEL et al. (2019)
	0,20-0,40	Água Superficial/Brasil	BISOGNIN et al. (2018)
	0,080	Efluente de ETE/França	PATEL et al. (2019)
Sulfametazol (Antibiótico)	0,090	Efluente de ETE/Grécia	PATEL et al. (2019)
	0,010	Efluente de ETE/Itália	PATEL et al. (2019)
	0,10	Efluente de ETE/Brasil	JANK et al. (2014)
	3,6	Esgoto Bruto/Suécia	PATEL et al. (2019)
	0,92	Efluente de ETE/França	PATEL et al. (2019)
Ibuprofeno (Antiinflamatório)	0,050	Efluente de ETE/Grécia	PATEL et al. (2019)
	0,070	Efluente de ETE/Itália	PATEL et al. (2019)
	0,60	Esgoto Bruto/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	0,19	Água Superficial/Brasil	ESCHER et al. (2019)
	0,42	Água Superficial/Brasil	STELATO et al. (2016)

Fonte: autora da tese.

Os PPCPs detectados em águas residuárias são provenientes da rede de esgoto, incluindo residências, aterros sanitários, instalações de saúde e fabricantes de PPCPs (PHILLIPS et al., 2010; MAENG et al., 2016; MASONER et al., 2020).

Nas águas residuárias municipais, os analgésicos ocorrem em concentrações relativamente altas (em relação a outras classes de produtos farmacêuticos), na faixa de 1,3 a 1.407.000 ng.L⁻¹, onde concentrações muito mais altas foram relatadas em efluentes hospitalares e da indústria farmacêutica (SIM et al., 2010; ASHFAQ et al., 2017). Apesar de elevados, esses valores não são surpreendentes, uma vez que se trata de um medicamento altamente relevante para a saúde pública (a maioria das doenças está associada a dor e inflamação) (HIDER-MLYNARZ et al., 2018), além de estarem amplamente disponíveis, por serem vendidos sem receita (HEBERER, 2002) e também consumidos em altas doses diárias (ADELEYE et al., 2022). As concentrações médias de analgésicos em águas residuárias observadas em cidades na Ásia (540 ng.L⁻¹) e na América do Sul (105 ng.L⁻¹) são pelo menos uma ordem de magnitude menor do que na Austrália (8.970 ng.L⁻¹), África (8.000 ng.L⁻¹), América do Norte (2.485 ng.L⁻¹) e Europa (1.707 ng.L⁻¹) (ADELEYE et al., 2022).

Embora a maioria dos países classifique os antibióticos como medicamentos que necessitam de prescrição, um suprimento de antibióticos sem prescrição ocorre mundialmente, sendo mais desenfreado nos países em desenvolvimento (CHANG et al., 2018; HORUMPENDE et al., 2018; SAKEENA et al., 2018; GRIGORYAN et al., 2019; ZAPATA-CACHAFEIRO et al., 2019). Os antibióticos mais detectados em águas residuárias municipais são: Ciprofloxacina, Sulfametoxazol, Eritromicina, Trimetoprima e Tetraciclina (ADELEYE et al., 2022). Esses medicamentos também são amplamente utilizados na pecuária, na prevenção e tratamento de doenças, para promover o crescimento dos animais e melhora da produtividade (WATANABE et al., 2010). Cerca de 25-75% dos antibióticos consumidos são excretados como composto original inalterado (EVGENIDOU et al., 2015).

A concentração de antibióticos em águas residuárias municipais é de 1-303.500 ng.L⁻¹ (ADELEYE et al., 2022). Concentrações altas de antibióticos estão presentes em efluentes de fabricantes de produtos farmacêuticos, lixiviados de aterros e fazendas (ZHANG et al., 2013; HOU et al., 2016). Altas concentrações de antibióticos são comuns nas águas residuárias de hospitais e empresas farmacêuticas que produzem antibióticos e nas ETEs que recebem esses fluxos de resíduos (PHILLIPS et al., 2010). As concentrações

de antibióticos (e outros PPCPs) costumam exibir um padrão sazonal, com concentrações mais baixas observadas no verão e concentrações mais altas no inverno, associadas ao aumento da incidência de gripe ou outras doenças que são comuns nas estações mais frias, bem como a menor taxa de biodegradação (MOHAPATRA et al., 2016). A concentração média de antibióticos em águas residuárias africanas (1.530 ng.L^{-1}), onde vários antibióticos são comumente empregados sem receita, são ordens de magnitude maior do que no restante do mundo (ADELEYE et al., 2022).

A Carbamazepina, Fluoxetina, Amitriptilina e Venlafaxina são os produtos psicoativos mais relatados nas águas residuárias municipais. Vários estudos realizados relataram 100% de frequência de detecção de Carbamazepina em águas residuárias municipais (SIM et al., 2010; MOHAPATRA et al., 2016; ADELEYE et al., 2022). Os psicoativos estão presentes nos afluentes em concentrações até três ordens de magnitude mais baixas do que os analgésicos e antibióticos. As concentrações médias de psicoativos relatadas em efluentes foram de 82 ng.L^{-1} (Ásia), 129 ng.L^{-1} (Europa) e 132 ng.L^{-1} (América do Norte) (ADELEYE et al., 2022).

Os anti-hipertensivos, mais comumente detectados no ambiente aquático incluem o Atenolol, Propranolol, Metoprolol, Valsartana e Sotalol, e seus níveis globais em efluentes municipais variaram de $0,26$ a $294.700 \text{ ng.L}^{-1}$ (MOHAPATRA et al., 2016; ARCHER et al., 2017; WANG et al., 2018; ADELEYE et al., 2022). Maiores concentrações de anti-hipertensivos encontrados em diferentes continentes foram para o Atenolol: $294.700 \text{ ng.L}^{-1}$ na Ásia, 33.106 ng.L^{-1} na Europa, 4.790 ng.L^{-1} na Austrália, 3.700 ng.L^{-1} nos Estados Unidos e 2.541 ng.L^{-1} na África do Sul) (MOHAPATRA et al., 2016; ARCHER et al., 2017; MASONER et al., 2020; ADELEYE et al., 2022). Não foi possível encontrar valores de Atenolol em águas residuárias da América do Sul. As concentrações de Metoprolol e Propranolol em águas residuárias municipais foram: $2-79.500 \text{ ng.L}^{-1}$ e $0,26-1.962 \text{ ng.L}^{-1}$, respectivamente (MOHAPATRA et al., 2016; WANG et al., 2018; ADELEYE et al., 2022). As concentrações mais altas de outros anti-hipertensivos relatados em águas residuárias foram 8.400 ng.L^{-1} (Portugal), 3.573 ng.L^{-1} (Espanha), 169 ng.L^{-1} (Bélgica) e 141 ng.L^{-1} (Estados Unidos) (MASONER et al., 2020; ADELEYE et al., 2022).

Os estimulantes são amplamente consumidos em chás, cafés, refrigerantes, bebidas energéticas e produtos de chocolate. A Cafeína, um estimulante típico, trata-se de uma das substâncias mais consumidas no mundo (QUADRA et al., 2020). Vários

analgésicos de venda livre e com prescrição médica, analépticos, inibidores de apetite e remédios para resfriado, que também contêm Cafeína para potencializar seus efeitos (BUERGE et al., 2003). Concentrações mais altas de Cafeína presentes no afluente foram relatadas no verão em comparação com o inverno, devido ao maior consumo de bebidas com Cafeína durante os meses quentes de verão (MOHAPATRA et al., 2016). Os valores mais elevados de Cafeína, relatados em efluentes municipais de diferentes continentes foram: 3.594.000 ng.L⁻¹ na Ásia, 1.214.375 ng.L⁻¹ na África do Sul, 150.413 ng.L⁻¹ na Inglaterra, 130.000 ng.L⁻¹ nos Estados Unidos, e 9.310 ng.L⁻¹ na América do Sul (ARCHER et al., 2017; ADELEYE et al., 2022).

Apesar da introdução de diversos produtos químicos e farmacêuticos no ambiente aquático, os efeitos de toxicidade aos organismos aquáticos costumam ser observados somente em concentrações relativamente altas - acima de 1 µg.L⁻¹, ainda assim, há evidências de que mesmo níveis baixos de certos resíduos farmacêuticos têm efeitos agudos e crônicos em vários organismos, bem como potenciais efeitos indiretos nos ecossistemas (FENT et al., 2006; PETRIE et al., 2015). Outro fator a ser levado em conta, e que vem mostrando que a presença desses produtos químicos no ambiente se torna cada vez mais preocupante, é que essas substâncias não aparecem individualmente, e sim como uma mistura complexa de contaminantes, que pode levar a efeitos indesejados. A ubiquidade de um número de contaminantes emergentes potencialmente tóxicos no meio ambiente leva a necessidade de compreender melhor a sua ocorrência, o seu destino e o impacto ecológico (MELO et al., 2009; PETRIE et al., 2015).

A avaliação de risco regulatório de substâncias tóxicas no ambiente aquático concentra-se na avaliação de uma única substância, porém, os organismos aquáticos vêm sendo, invariavelmente expostos a misturas de contaminantes, cujos componentes podem interagir, produzindo efeitos sinérgicos ou antagônicos. Apesar do conhecimento adquirido nas últimas duas décadas sobre os efeitos e riscos dos produtos farmacêuticos no meio ambiente, ainda existem lacunas de pesquisa importantes. Uma dessas questões-chave é em relação aos efeitos induzidos por misturas farmacêuticas e os métodos para avaliá-los (BARATA et al., 2006; VARANO et al., 2017; GODOY et al., 2020).

As misturas de fármacos apresentam um efeito maior do que os compostos individualmente. Como exemplo, o antiepiléptico Carbamazepina e o agente redutor de lipídios, o Ácido Clofíbrico (pertencentes a classes terapêuticas muito diferentes), exibiram efeitos mais fortes para *Daphnia magna* durante os ensaios de imobilização do que os

compostos isolados na mesma concentração (CLEUVERS, 2003). Toxicidade aguda considerável foi relatada em uma mistura de Diclofenaco, Ibuprofeno, Naproxeno e Aspirina® (ácido acetilsalicílico), na mesma concentração, onde pouco ou nenhum efeito foi observado para os produtos químicos individualmente (CLEUVERS, 2004).

Os produtos farmacêuticos também foram detectados em águas residuárias destinadas ao reuso, apesar dessas águas terem sido processadas através de sistemas avançados de tratamento de águas. A contaminação ambiental por esses compostos também ocorre como resultado da eliminação incorreta, por meio do sistema de coleta de esgoto ou em resíduos sólidos destinados a aterro sanitário. A descarga de águas residuárias em rios e oceanos, ainda que tratadas, e a disseminação de lodos ou biossólidos no solo, como fertilizantes, podem resultar na contaminação do ambiente (MURDOCH, 2015).

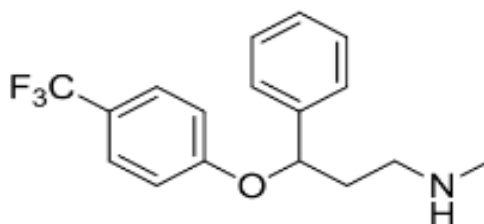
Os fármacos presentes nas águas geram preocupação em locais onde ocorre o reuso indireto da água, quando o efluente que é descartado nos córregos e rios, retorna como fonte natural, sendo usado na produção da água potável nas ETAs. Mesmo em baixas concentrações, não é aconselhável o reuso dessa água, devido à possibilidade de bioacumulação (JONES et al., 2003). Isto ocorre em vários países, inclusive no Brasil.

Neste estudo nos concentramos em produtos farmacêuticos de alto e frequente consumo em todo o mundo, uso crescente, metabolização incompleta, remoção incompleta em águas residuárias de tratamento e que têm sido frequentemente detectados em plantas aquáticas. Dentre eles o antidepressivo Fluoxetina, o β -bloqueador Propranolol, o antibiótico Sulfadiazina e o estimulante Cafeína (SANTOS et al., 2010; JANK et al., 2014; FABBRI e FRANZELLITTI, 2016; MOKH et al., 2017; GODOY et al., 2020; PATEL et al., 2019; LI et al., 2019).

3.1.1 Fluoxetina

A Fluoxetina (FLX) é o cloridrato de (\pm)-N-metil-3-fenil-3-[(α,α,α -trifluoro-p-tolil)-oxi] propilamina, com fórmula molecular $C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl_{18}$ (Figura 1), e peso molecular de $345,79 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Figura 1 - Estrutura molecular da Fluoxetina.



A Fluoxetina, conhecida mundialmente pelo nome comercial Prozac®, foi um dos primeiros medicamentos desenvolvidos e comercializados para o tratamento de enfermidades mentais, tais como a depressão, ansiedade, bulimia nervosa, transtorno obsessivo compulsivo (TOC), transtorno disfórico pré-menstrual (TDPM), incluindo tensão pré-menstrual (TPM), irritabilidade e disforia, e indevidamente empregada no controle de peso (BORRELY et al., 2012).

Este fármaco é parcialmente metabolizado no fígado, originando a Norfluoxetina, o metabólito primário e ativo, e outros metabólitos não identificados, que são excretados na urina. Sua meia vida de eliminação é de 4 a 6 dias, e do seu metabólito ativo, a Norfluoxetina, é de 4 a 16 dias. Sendo assim, cerca de 20 - 30% da dose de Fluoxetina administrada por humanos, é excretada na forma de metabólito (BORRELY et al., 2012).

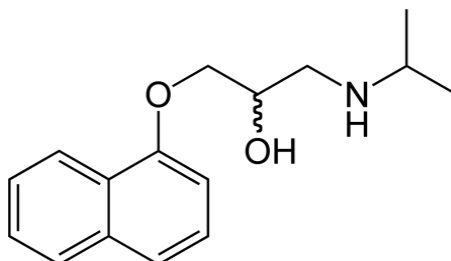
As drogas psiquiátricas são substâncias psicoativas que têm efeito na química do cérebro e do sistema nervoso e, portanto, são usadas para tratar doenças mentais e neurológicas, tratam-se de inibidores seletivos da recaptção da serotonina, seu suposto mecanismo de ação (CALISTO e ESTEVES, 2009). Entre os medicamentos mais detectados em corpos d'água estão os antidepressivos (Fluoxetina), os ansiolíticos (Diazepam) e os antiepilépticos (Carbamazepina) (FENT et al., 2006). Todos estes compostos permanecem estáveis ao longo dos processos de tratamento de esgoto (BRODIN et al., 2013). Além disso, compostos como Oxazepam, Carbamazepina, Fluoxetina e Norfluoxetina exibem altos fatores de bioacumulação em organismos aquáticos; alguns foram detectados em algas, plâncton e invertebrados (BRODIN et al., 2013; VALDÉS et al., 2016; VALDEZ-CARRILLO et al., 2020).

3.1.2 Propranolol

O fármaco Propranolol (PRP) é quimicamente (RS)-1-(isopropylamino)-3-

(naphthalen- 1-yloxy)propran-2-ol, com fórmula molecular $C_{16}H_{21}NO_2$ (Figura 2) e peso molecular $259.34 \text{ g.mol}^{-1}$.

Figura 2 - Estrutura molecular do Propranolol.



O Propranolol é um beta bloqueador adrenérgico não seletivo, altamente prescrito para o tratamento de doenças cardiovasculares, dentre elas: hipertensão, angina, fibrilação atrial, pós-infarto, taquicardia, arritmia, cardiomiopatia obstrutiva e enxaquecas. Estes compostos β -bloqueadores (atenolol, metoprolol, nadolol, propranolol), atuam basicamente impedindo que receptores β -adrenérgicos sejam ativados ao se ligarem com a noradrenalina provocando uma série de eventos que culminam na hipertensão e outras complicações do sistema circulatório (ROSA, 2008). O Propranolol foi o primeiro agente β -bloqueador utilizado na prática da clínica médica. É utilizado para reduzir a pressão alta, aliviar a dor no peito (angina), melhorar o ritmo do batimento cardíaco (arritmias e taquicardia), prevenir infarto do miocárdio e prevenir enxaquecas (VARANO et al., 2017).

Trata-se de um fármaco altamente lipofílico, sofrendo absorção quase completa após a administração oral, grande parte do fármaco é metabolizada pelo fígado, apenas cerca de 25% dele atinge a circulação sistêmica. Possui amplo volume de distribuição e penetra facilmente no sistema nervoso central, é extensamente metabolizado e grande parte desses metabólitos está presente na urina. O 4-hidroxiopropranolol é um dos produtos do metabolismo hepático (PONTES, 2009).

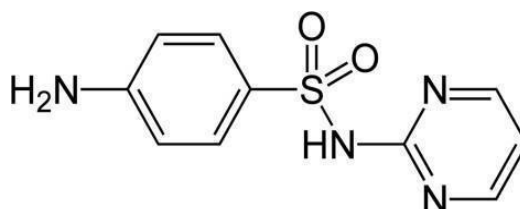
O grupo dos β -bloqueadores inclui bloqueadores seletivos como o atenolol, que atuam nos receptores β_1 -adrenérgicos cardíacos, e bloqueadores não seletivos, como o Propranolol, que atuam nos receptores β_1 e β_2 -adrenérgicos. Esses compostos são frequentemente analisados e comumente detectados em ecossistemas aquáticos devido ao seu uso generalizado e, muitas vezes, ao metabolismo incompleto. Por exemplo, apenas 50% do atenolol ingerido é absorvido pelo corpo humano (ALDER et al., 2010). Além disso, esses compostos são altamente resistentes à hidrólise e muito biodisponíveis no

ambiente (MASZKOWSKA et al., 2014). A exposição contínua a concentrações ambientais de Propranolol demonstrou afetar a fisiologia, o crescimento e as características reprodutivas dos peixes medaka (*Oryzias latipes*) (HUGGETT et al., 2002) e aumenta sua bioacumulação em *Daphnia magna* (JEONG et al., 2016).

3.1.3 Sulfadiazina

O antibiótico Sulfadiazina (SDZ) é o 4-amino-2-N-pirimidinil-benzenossulfonamida, com fórmula molecular $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ (Figura 3), e peso molecular de $250,278 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Figura 3 - Estrutura molecular da Sulfadiazina.



A Sulfadiazina é um antibiótico do grupo das sulfonamidas, antibióticos sintéticos utilizados no tratamento de doenças infecciosas provenientes de microrganismos. Utilizada no tratamento de doenças como meningite, infecções urinárias, febre reumática e toxoplasmose. Esse medicamento possui ampla ação como agente sistêmico antibacteriano, atuando na inibição da enzima bacteriana que produz o ácido fólico, necessário para a síntese de precursores de DNA e RNA, no interior da célula bacteriana (WANG et al., 2019).

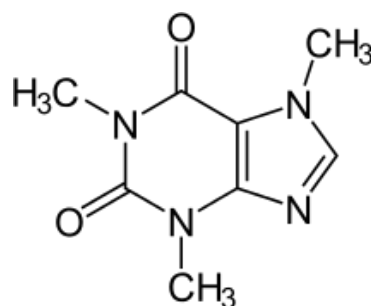
Os microrganismos sensíveis à Sulfadiazina são primariamente aqueles que sintetizam seu próprio ácido fólico. Este fármaco é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, 3 a 6 horas após a administração. A meia-vida da Sulfadiazina é de 10 horas aproximadamente, podendo ser prolongada quando existe diminuição da capacidade renal. Cerca de 50% da Sulfadiazina administrada oralmente é excretada na urina em 24 horas, 15 a 40% é excretada na forma acetilada. A excreção da Sulfadiazina pela urina, é dependente do pH. Cerca de 30% é excretado inalterado por acetilação rápida e lenta quando a urina é ácida, enquanto cerca de 75% é excretado inalterado por acetilação lenta, quando a urina é alcalina (VALDEZ-CARRILLO et al., 2020).

Os antibióticos são definidos como produtos químicos que matam ou inibem o crescimento de microrganismos, conseqüentemente, eles têm sido amplamente utilizados para tratar, controlar e prevenir doenças infecciosas em humanos, animais e plantas (SANTIAGO et al., 2009). Compostos como sulfonamidas, tetraciclina, macrolídeos e fluoroquinolonas são utilizados para prevenir infecções, na aquicultura (como tratamentos profiláticos), na agricultura (como promotores de crescimento), na pecuária e no tratamento de infecções do trato respiratório e urinário em humanos (BRENNER et al., 2011). O interesse pela presença de antibióticos no meio aquático está mais relacionado à sua pseudo-persistência, bem como sua participação como agente de resistência bacteriana (VALDEZ-CARRILLO et al., 2020).

3.1.4 Cafeína

A Cafeína (CFN) é conhecida quimicamente como 1,3,7-trimetil-1*H*-purino-2,6(3*H*, 7*H*)-diona(1,3,7-trimetilxantina), um composto químico de fórmula molecular $C_8H_{10}N_4O_2$ (Figura 4), e peso $194,19 \text{ g.mol}^{-1}$.

Figura 4 - Estrutura molecular da Cafeína.



A Cafeína é classificada como alcaloide do grupo das xantinas, atua sobre o sistema nervoso central e metabolismo basal, inibindo os receptores de adenosina, um neurotransmissor que age no controle da frequência cardíaca, da pressão sanguínea e da temperatura corporal. Doses terapêuticas de Cafeína estimulam o coração, aumentando a sua capacidade de trabalho, produzindo também dilatação dos vasos periféricos (DI LORENZO et al., 2019).

A Cafeína ocorre naturalmente em 60 espécies de plantas e é usada em diversos alimentos e bebidas, além de ser amplamente utilizada em formulações de medicamentos. A meia-vida da Cafeína varia extensamente, em adultos saudáveis, é de

aproximadamente 5 a 6 horas, podendo diminuir ou aumentar devido a fatores como tabagismo, peso corporal e gravidez. É metabolizada no fígado pelo sistema da enzima da oxidase do citocromo P450 e dividida em três dimetilxantinas metabólicas: paraxantina, teobromina e teofilina, que serão excretadas na urina. Uma pequena fração da Cafeína total consumida é excretada em sua forma original (QUADRA et al., 2019).

Uma quantidade considerável de Cafeína pode ser descartada sem ser consumida, especialmente por cafeterias (MONTAGNER et al., 2017). Uma vez no esgoto, a Cafeína pode atingir corpos d'água, e se espalhar em águas superficiais, subterrâneas e também em água potável (BRUTON et al., 2010; MACHADO et al., 2016). A concentração de Cafeína no esgoto varia de acordo com vários aspectos, como padrões de ingestão, temperatura, época do ano, o número de consumidores, a extensão e a rede de esgoto. Mesmo com taxas de remoção eficazes, a alta concentração de Cafeína no esgoto reflete os amplos padrões de consumo e a falta de saneamento adequado (MONTAGNER et al., 2017). Portanto, a Cafeína é reconhecida como contaminante emergente e, embora considerado um composto seguro, concentrações de Cafeína podem ser tóxicas para o meio aquático e organismos terrestres, e até mesmo para humanos (QUADRA et al., 2019).

3.2 Tratamento de águas residuárias

Os processos biológicos são frequentemente utilizados no tratamento de grandes volumes de efluentes, porque permitem alcançar altas taxas de remoção de matéria orgânica e seu custo é relativamente baixo. No entanto, alguns compostos são recalcitrantes e podem, inclusive, ser tóxicos aos microrganismos. Em estudos de biodegradação de antibióticos, as taxas de remoção foram da ordem de 50% para sistemas convencionais de lodo ativado (TRAN et al., 2016).

Os processos físicos - decantação, flotação, filtração, adsorção - são caracterizados pela transferência de fase do contaminante, sem que este seja de fato degradado. Por outro lado, costumam ser bastante eficientes, podendo ser úteis como pré ou pós- tratamento do processo final (GOMES e SCHOENELL, 2018). Em ETEs que operam com sistema de lodos ativados a adsorção é o principal mecanismo de remoção de fármacos lipofílicos, como os estrógenos (TRAN et al., 2016).

Os processos químicos baseiam-se na oxidação dos contaminantes pela reação com oxidantes fortes, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloro (Cl_2), dióxido de cloro

(ClO₂) e permanganato (MnO₄⁻). Na maioria dos casos, no entanto, a utilização deste tipo de tratamento não promove a mineralização completa dos contaminantes a CO₂, havendo a formação de uma grande variedade de subprodutos de degradação, em geral, ácidos orgânicos (oxálico, tartárico, fórmico, acético).

A eficiência de remoção dos fármacos em ETEs depende das propriedades físico-químicas de cada composto. Vários trabalhos relatam que a eliminação destes compostos é frequentemente incompleta. Por exemplo, para o anticonvulsivante carbamazepina uma remoção de 7% foi observada, enquanto que para o analgésico ácido acetilsalicílico 99% de remoção foi obtida em uma ETE na Alemanha (TERNES et al., 2003). Esta oscilação na taxa de remoção também foi observada em ETE na Finlândia, onde 26% de remoção foi obtida para diclofenaco e 92% para ibuprofeno (LINDQVIST et al., 2005). Compostos polares tendem a permanecer na fase aquosa, o que favorece sua entrada no ambiente aquático. Por outro lado, compostos pouco polares são removidos por adsorção no lodo, como mencionado anteriormente (CARBALLA et al., 2004).

3.3 Irradiação por feixe de elétrons no tratamento de águas

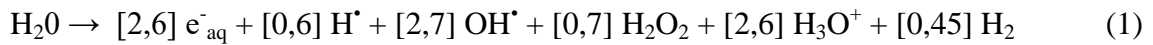
Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são caracterizados pelas reações de oxidação química intermediada pelo Radical Hidroxila (HO), trata-se de espécies oxidantes transitórias, reativas e pouco seletivas. O potencial de redução do HO (E₀ = 2,73 V), muito superior ao dos oxidantes convencionais, atuam na oxidação de uma grande variedade de substâncias. A versatilidade desses processos é reforçada pelo fato de oferecerem diferentes possibilidades de caminhos para gerar os radicais hidroxilas (ALKDASI et al., 2004; MELO et al., 2009). Por estes motivos, os POAs vêm sendo amplamente utilizados em tratamento de águas residuárias, para a remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos, e também para melhorar a biodegradabilidade dos efluentes, devido a remoção efetiva dos contaminantes (RIZZO, 2011; OLUWOLE et al., 2020).

Os POAs são processos que produzem espécies oxidantes, como as hidroxilas (OH•) que quebram as moléculas em produtos menos nocivos, e também podendo mineralizar. Quando comparados a outros processos, geram poucos resíduos e emissão de gases (WOJNÁROVITS e TAKÁCS, 2008). Como exemplos de POAs, podemos citar em destaque: os processos de fotocatalise, foto-Fenton, ozonização, radiação ionizante, dentre

outros (ASHRAF et al., 2016; JALLOULI et al., 2018; BANSAL et al., 2018; CHANGOTRA et al., 2019).

Nos POAs, a partir da irradiação de soluções aquosas nos aceleradores de elétrons, a principal modificação se deve a interação da radiação com a matéria (água) ocasionando mudanças fundamentais no sistema irradiado, por meio da reação de ionização e excitação nos átomos e moléculas, incluindo a oxidação de moléculas orgânicas e alterações estruturais em moléculas orgânicas e inorgânicas (GARCIA, 2020).

As principais espécies geradas pela radiólise da água são os e^-_{aq} , H^\bullet , OH^\bullet , e os produtos moleculares H_2 e H_2O_2 . A equação a seguir (Equação 1) corresponde a radiólise da água:



Os radicais livres originados em decorrência da ionização das moléculas de água interagem entre si ou com moléculas próximas. O Radical Hidroxila (OH^\bullet) é o oxidante primário na degradação de compostos orgânicos, e está entre os principais radicais formados na radiólise da água (BORRELY, 2001; WOJNÁROVITS e TAKÁCS, 2016; GARCIA, 2020).

O rendimento das espécies formadas pela absorção de energia na reação da radiólise da água é avaliado pelo valor G ($mol.J^{-1}$). Os principais produtos moleculares e intermediários que são formados pela interação da radiação com a água estão representados na equação 1, onde estão as espécies formadas e seus respectivos rendimentos para 100 eV de energia absorvida. O valor G é o número de moléculas produzidas ou que reagem para uma dada energia de radiação, e dependentes do pH da solução (BORRELY, 2001; GARCIA, 2020).

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



Em meio básico, os átomos de hidrogênios são transformados em e^-_{aq} e os radicais OH^\bullet dissociam-se, conforme as Equações 3 e 4, respectivamente:



Na presença de ar ou em soluções com oxigênio saturado ocorre a captura dos radicais e^-_{aq} e H^\bullet pelo oxigênio gerando os radicais ânion superóxido e hidroperoxila, representados nas Equações 5 e 6, respectivamente:



As tecnologias envolvendo a radiação ionizante vêm sendo utilizadas em diversos segmentos, tais como, industrial, medicinal, ambiental e na produção de alimentos. No mundo existem cerca de 250 instalações de radiação gama e mais de 1600 aceleradores de feixe de elétrons. No Brasil, encontramos 7 irradiadores com atividades entre 10 kCi e 100 Mci e mais de 20 aceleradores de elétrons com energias entre 100 keV e 10 Mev. Dentre eles temos 2 aceleradores industriais, JOB 188 e JOB 307, instalados no Centro de Tecnologia das Radiações (CETER), no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN), sendo eles destinados a diversas áreas de pesquisa e prestação de serviços (IAEA, 2019).

Os aceleradores originam elétrons com energia entre 50 e 400 kW. Para o tratamento de gás, é necessária a energia entre 0,7 a 1,0 Mev, e para o tratamento de águas residuárias e esgotos, a energia deve ser superior a 1,0 Mev, tornando o processo mais caro quando destinado a tratamento de efluentes industriais. Porém, doses baixas de radiação têm se mostrado suficientes na penetração de elétrons em efluentes industriais, originando mudanças na hidrodinâmica dos poluentes, justificando assim o seu uso (HAN et al., 2007; MORAIS, 2015; GARCIA, 2020).

Estima-se que o custo total para o tratamento por feixe de elétrons seja de 0,29 US \$/m³ para 10,000 m³/dia (incluindo operação, capacidade e descarga de água), e que este valor de custo reduza de acordo com o aumento do volume tratado (0,041 US \$/m³ para 200,000 m³/dia) (HOSSAIN et al., 2018), tratando-se assim de um sistema de desempenho técnico competitivo, de viabilidade econômica e de práticas operacionais seguras (ABDEL-RAHMAN e HUNG, 2020).

As aplicações da radiação ionizante vêm se estendendo para as mais diversas áreas, como na saúde, indústria, agricultura e meio ambiente (IAEA, 2020). Levando em conta o tratamento de águas residuárias, a radiação ionizante tem sido aplicada visando a remoção de agrotóxicos, herbicidas, corantes, produtos farmacêuticos, petroquímicos, e na

desinfecção de águas residuárias e lodo (ABDEL-RAHMAN e HUNG, 2020).

A irradiação por feixe de elétrons pode ser aplicada à degradação de resíduos de fármacos, tanto na saída das ETEs quanto em etapas finais do processo de tratamento de água. Em efluentes de ETEs, a remoção desses resíduos evitaria a contaminação de águas superficiais por essa fonte e, conseqüentemente, os efeitos em organismos aquáticos seriam minimizados. Por outro lado, a água captada para tratamento em estação de tratamento de água, que pode estar contaminada por resíduos de fármacos provenientes de outras fontes, como esgoto doméstico *in natura* e efluente rural, após passar pelos processos convencionais de tratamento poderia ser submetida a um POA para a remoção de compostos orgânicos persistentes, inclusive os resíduos de fármacos. Dessa forma, esses resíduos não estariam presentes na água potável, ou em quantidades reduzidas, evitando assim, possíveis efeitos prejudiciais à saúde humana (MELO et al., 2009).

Em aplicações ambientais o acelerador de elétrons tem se mostrado a melhor opção entre os irradiadores, sendo desenvolvida como um tratamento avançado que pode ser aplicado como complemento ao tratamento de águas e efluentes (SILVA et al., 2016; TOMINAGA et al., 2018, 2021; BORRELY et al., 2019; BOIANI et al., 2019, 2021).

Um exemplo de implementação de aceleradores de elétrons em planta industrial, na China, constatou que a utilização da irradiação em conjunto do tratamento biológico melhorou em 224% (3 kGy) a biodegradabilidade do efluente, como bases nos valores obtidos de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (HE et al., 2016). Na Coreia do Sul foi aplicada a irradiação no tratamento de efluentes têxteis em um complexo industrial (cidade de Daegu), como pré-tratamento para o processo biológico (lodo ativado), onde obtiveram resultados promissores em relação a biodegradabilidade dos efluentes, com diminuição entre 30 e 40% da DQO e DBO, e superior a 70% de Carbono Orgânico Total (COT), em dose próxima a 1 kGy (KIM et al., 2011; HAN et al., 2012).

Trabalhos pioneiros sobre as aplicações da radiação ionizante no tratamento de águas datam da década de 50, nesta época as fontes de cobalto e radiação gama eram as mais empregadas. Atualmente são utilizados preferencialmente os aceleradores de elétrons para o tratamento de águas e efluentes, baseado no estágio atual da tecnologia e sua versatilidade (SILVA et al., 2016).

O fator econômico é um dos pontos mais importantes para a instalação de uma planta de acelerador de elétrons, eles originam elétrons acelerados com energia que

alcançam de 50 a 400 kW (HAN et al., 2007). Na Tabela 2, são apresentados trabalhos na área ambiental utilizando os aceleradores de elétrons.

Tabela 2 - Trabalhos na área ambiental com a utilização de acelerador de elétrons.

Autor/Ano	Objetivo	Dose (kGy)
BORRELY et al. (2000)	Redução da toxicidade de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação.	5,0 – 50
ROMANELLI et al. (2006)	Irradiação com feixe de elétrons dos surfactantes DSS e LAS.	3,0 – 12,0
HAN et al. (2007)	Irradiação de efluente têxtil a fim de melhorar sua biodegradabilidade.	1 – 2
SILVA et al. (2016)	Avaliação da redução da toxicidade da Fluoxetina, e sua mistura com esgoto doméstico.	0,5 – 20
BORRELY et al. (2016)	Remoção de cor e toxicidade de um efluente têxtil com feixe de elétrons.	0,5 – 20
TOMINAGA et al. (2018)	Redução da toxicidade do fármaco Diclofenaco, Fluoxetina e mistura de ambos, após irradiação.	2,5 – 10
TEGZE et al. (2018)	Degradação dos antibióticos Norfloxacina e Ciprofloxacina.	2,0
SÁGI et al. (2018)	Eficiência de degradação de antibióticos sulfonamidas.	1,5-2,5
SHAO et al. (2018)	Degradação do fármaco Fluoxetina induzida pela radiação ionizante.	0,5-5,0
BOIANI et al. (2021)	Redução da toxicidade dos fármacos Propranolol e Fluoxetina, isolados e em mistura.	2,5 – 10
BORRELY et al. (2019)	Redução da toxicidade de surfactantes não iônicos e efluente têxtil – remoção de cor.	0,5 – 15
ZHUAN e WANG (2020)	Degradação do Diclofenaco em solução aquosa por radiação ionizante.	0,2-1,0
TOMINAGA et al. (2021)	Redução da toxicidade da mistura dos fármacos Aspirina+Fluoxetina.	1,0 -5,0
TAKÁCS et al. (2022)	Eliminação da toxicidade e atividade microbiana da oxacilina usando radiação ionizante.	0,5 -1,0

Fonte: autora da tese.

No Brasil essa tecnologia vem sendo estudada há anos e a diminuição de toxicidade aos organismos aquáticos tem sido evidenciada, além de outros parâmetros. Diversos autores obtiveram êxito na aplicação da radiação por feixe de elétrons no tratamento de esgotos domésticos e industriais, e também em substâncias isoladas ou em misturas. Esses autores sugerem ou obtiveram bons resultados com doses iguais ou menores a 5,0 kGy, para a redução da toxicidade das amostras estudadas (SILVA et al., 2016; TOMINAGA et al., 2018; 2021; BORRELY et al., 2019; BOIANI et al., 2019, 2021).

No momento, o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), está trabalhando na fabricação de uma unidade móvel com Acelerador Industrial de Elétrons, com o intuito de tratar efluentes industriais visando o possível reuso ou descarte. O caminhão terá capacidade de tratar até 1000 m³ de líquido por dia. Este “Projeto da Unidade Móvel com Acelerador Industrial de Elétrons” foi elaborado em parceria com Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI-SP), Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP), Petrobras, Truckvan, Nuclebrás Equipamentos Pesados (NUCLEP), e a empresa coreana EB-Tech Co Ltd, com apoio da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) (SILVA et al., 2019).

3.4 Ecotoxicologia

A Ecotoxicologia trata-se de uma ciência multidisciplinar, que permite a avaliação da interação da ecologia (relações entre os seres vivos e o ambiente) com a toxicologia (efeitos adversos de determinada substância a um organismo), possibilitando o estudo dos efeitos das substâncias químicas e suas interações sobre os sistemas biológicos, determinando a sensibilidade aos compostos químicos, a um efluente ou amostra ambiental, permitindo a avaliação da contaminação e prevendo os impactos futuros dessa exposição. A ecotoxicologia vem sendo utilizada como importante ferramenta de prevenção à poluição ambiental, buscando a identificação das causas e efeitos nocivos sobre os organismos, a quantificação e avaliação dos seus efeitos, o reconhecimento dos contaminantes e seus mecanismos de ação, bem como o destino no meio ambiente (CONAMA 357/05; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008; KLAASSEN et al., 2019).

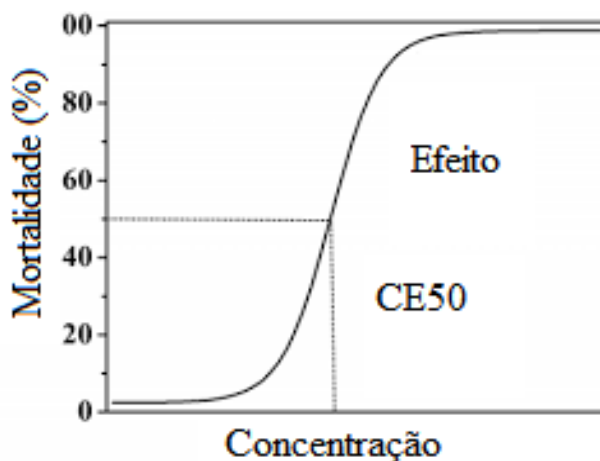
Os ensaios de ecotoxicidade consistem na exposição de determinado organismo-teste a uma série de concentrações de um composto químico, junto com um controle negativo, sem o composto químico, e ao final do experimento, são avaliados os efeitos adversos que podem ser quantificados devido à exposição a substâncias, tais como: alteração no comportamento animal, número de organismos vivos ou mortos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, números de anomalias ou incidência de tumores, alterações fisiológicas e bioquímicas, densidade e diversidade de espécies em uma comunidade biológica, dentre outros. Ao final é elaborada uma curva dose-resposta entre a concentração do contaminante ao qual os organismos foram expostos e a gravidade

da resposta detectada (BORRELY et al., 2018; FILIP et al., 2020; GARCIA et al., 2021).

Os ensaios de ecotoxicidade para efeito agudo e crônico de contaminantes são amplamente aplicados na avaliação dos efeitos dessas substâncias aos organismos presentes no ambiente. Ensaios de toxicidade aguda baseiam-se na avaliação dos efeitos severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos a determinado agente químico em um curto período de tempo, sendo a mortalidade, o critério de avaliação mais comum. Estes ensaios são úteis na triagem rápida, pois fornecem informações sobre os limites de efeito e toxicidade comparativa e seletiva, e ainda podem ser utilizados para determinação de faixas de concentrações para estudos posteriores (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008; KLAASSEN et al., 2019).

O resultado de um ensaio de toxicidade de efeito agudo pode ser expresso pela Concentração Efetiva Mediana (CE50) ou pela Concentração Letal Mediana (CL50). A CE50 é a concentração efetiva mediana que causa efeito a 50% dos organismos expostos (Figura 5) após determinado período (24 a 48 horas, por exemplo), dentre os efeitos mais comuns temos: imobilidade, perda de equilíbrio, falha em responder a estímulo externo e comportamento anormal. A CL50 é a concentração estimada que causa mortalidade a 50% dos organismos expostos em um período de tempo específico (usualmente de 24 a 96 horas) (RAND, 1995; BLÁHA e HOFMAN, 2020).

Figura 5 - Representação de uma curva dose-resposta típica obtida em ensaios de toxicidade.



Fonte: autora da tese.

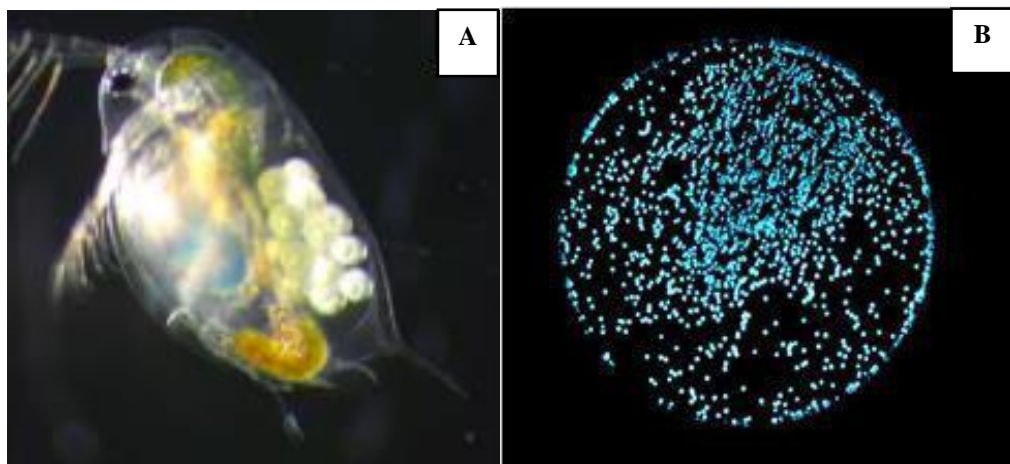
Os organismos aquáticos são reconhecidos como bioindicadores de contaminação ambiental, uma vez que apresentam respostas com importante relevância aos potenciais perigos de contaminação ambiental pelos compostos químicos. Espécies

representativas de diferentes grupos, tais como os decompositores (microrganismos), produtores (algas e plantas) e consumidores (invertebrados e vertebrados) são utilizados como modelos para os testes de toxicidade (FILIP et al., 2020). Entre os organismos difundidos em ensaios que apresentam metodologia padronizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), encontram-se os microcrustáceos *Daphnia similis* e a bactéria *Vibrio fischeri*, empregados neste estudo.

3.4.1 Organismos-teste

No presente estudo, foram realizados ensaios para avaliação do efeito agudo com o microcrustáceo *Daphnia similis* e com a bactéria *Vibrio fischeri* (Figura 6).

Figura 6 - Organismos utilizados em ensaios de ecotoxicidade; A) *Daphnia similis*, B) *Vibrio fischeri*.



Fonte: A) Garcia, (2020); B) National Science Foundation.

Os microcrustáceos *Daphnia similis* pertencem à classe Cladocera, Família daphnidae, e representam um papel importante na cadeia alimentar por serem consumidores primários, alimentam-se de algas e são consumidos por organismos de níveis tróficos superiores, como os peixes, por exemplo. Sendo assim, alterações em suas populações podem acarretar em um desequilíbrio em toda a cadeia alimentar. São organismos filtradores, com cerdas filtradoras, presentes na região torácica, que retêm algas, bactérias e detritos orgânicos presentes na água, o alimento é transferido para a boca, triturado na mandíbula e em seguida passa ao trato digestório (BARNES e RUPPERT, 1996; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

A reprodução geralmente acontece por partenogênese, de forma assexuada, onde as fêmeas produzem células diplóides, que dão origem a uma população constituída

somente por fêmeas, que em condições favoráveis possuem crias de 4 a 65 jovens. Caso ocorra algum estresse ambiental, qualquer alteração como superpopulação, falta de alimento, mudança de temperatura ou variação indevida de fotoperíodo, pode acarretar no surgimento de machos, e/ou fêmeas com dois ovos haplóides que são fecundados pelos machos (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008).

Ensaio de ecotoxicidade com *Daphnia similis* são amplamente utilizados para a avaliação da toxicidade aguda e crônica, em publicações científicas, incluídos em relatórios ambientais de qualidade de água e exigidos em monitoramentos por órgãos ambientais fiscalizadores, devido a características como: sensibilidade a diversos contaminantes aquáticos, facilidade de cultivo, reprodução por partenogênese, que permite a constante sensibilidade do organismos e boa repetibilidade nos resultados (MORAIS, 2015).

A bactéria *Vibrio fischeri* é um organismo de água salgada, gram-negativo e anaeróbio facultativo que emite luz naturalmente sob condições favoráveis, pertence à classe Gammaproteobacteria e a Família Vibrionaceae. Essa bactéria vive geralmente em colônias, em mutualismo com lulas e peixes, mas também existem representantes de vida livre. A luminescência emitida pela bactéria é relacionada à atividade metabólica do organismo, que libera energia em forma de luz. Os compostos podem causar indução ou supressão dessas atividades enzimáticas, causando redução na bioluminescência (PARVEZ et al., 2006; GARCIA, 2020).

Por se tratar de um ensaio com rápida obtenção de resultados, é muito utilizado em correlação com bioensaios de vertebrados e peixes. Neste ensaio é avaliada a redução da luz emitida pelo microrganismo após a exposição a amostra de interesse. As medidas da quantidade de luz emitida antes e após o contato com a amostra, em intervalos de tempo padronizados (15 ou 30 minutos), mostram a redução da capacidade de produção da luz quando em contato com amostras tóxicas (BORRELY, 2001; PARVEZ et al., 2006; GARCIA, 2020).

Dentre os diversos ensaios ecotoxicológicos existentes, o de toxicidade aguda utilizando essa bactéria é o que mais vem sendo utilizado para a determinação de toxicidade de amostras ambientais em diferentes partes do mundo. Apesar de existirem controvérsias sobre a utilização deste organismo, por ser proveniente de ambiente marinho, este apresenta resultados similares a outros ensaios de toxicidade de águas doces. No Brasil, vem sendo cada vez mais utilizado o teste com a bactéria *Vibrio fischeri* pelos

setores industriais e órgãos ambientais, pois possui padronização de metodologia pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) (SOARES, 2012; BOIANI, 2018).

Os ensaios com a bactéria *Vibrio fischeri* apresentam vantagens como sensibilidade, rapidez, reprodutibilidade, confiabilidade e simplicidade. Vêm sendo frequentemente aplicados como um método de triagem primária, em razão da velocidade das análises, que podem ser amplamente aplicadas em casos de emergências ambientais (ABBAS et al., 2018). No nosso estudo, foi primordial a utilização deste ensaio devido a necessidade de testar parâmetros para estabelecer a eficácia ideal do tratamento com radiação ionizante, o que foi facilitado por ser um ensaio sensível e rápido.

4 METODOLOGIA

Visando o desenvolvimento e respectiva transferência de tecnologia, este estudo empregou um acelerador de elétrons para a degradação de compostos farmacêuticos, em solução aquosa, individuais e em misturas, além de ampla avaliação dos efeitos dessas substâncias nos organismos aquáticos. Assim, com este projeto, foi possível obter a avaliação da redução da toxicidade de compostos farmacêuticos, após o tratamento com a irradiação por feixe de elétrons.

Foram utilizados o antidepressivo Fluoxetina, o β -bloqueador Propranolol, o antibiótico Sulfadiazina e o estimulante e excipiente farmacêutico Cafeína, diluídos em água destilada. Esses compostos foram analisados isolados e também combinados em seis diferentes misturas, dentre elas: três misturas binárias; duas misturas ternárias; e uma mistura quaternária, a fim de verificar o potencial tóxico desses compostos em mistura.

Outro enfoque do trabalho foi à avaliação de risco ambiental de produtos possivelmente tóxicos, onde são necessários dados de ensaios com organismos de diferentes níveis tróficos. Diante disso, foram escolhidos o microcrustáceo *Daphnia similis* e a bactéria *Vibrio fischeri* para a etapa do estudo, devido à sua relevância para o compartimento aquático, além de serem espécies de diferentes níveis tróficos e recomendadas em protocolos padrões para a avaliação do risco ambiental. Todos os ensaios de toxicidade para efeito agudo foram realizados no Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais (LEBA) do Centro de Tecnologia das Radiações (CETER/IPEN).

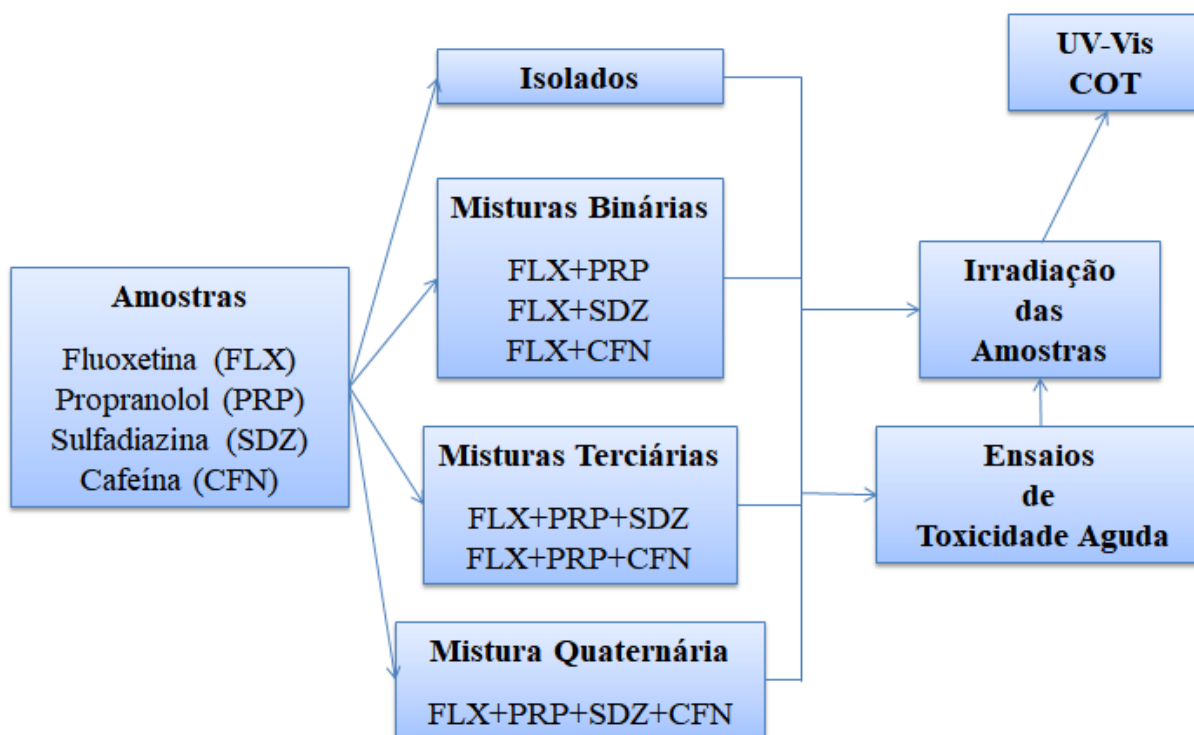
A previsão/avaliação do risco da toxicidade das misturas binárias - sinergismo/antagonismo - dos produtos farmacêuticos testados para *D. similis* foram realizados em relação à adição de concentração (CA) e a ação independente (IA), empregando o modelo MixTox, em planilha Excel automatizada (ToxCalcMix v. 1.0), desenvolvida de acordo com os modelos e equações já descritas (JONKER et al., 2005; BARATA et al., 2006).

Além disso, também foram avaliados os parâmetros físico-químicos dos compostos químicos, tais como: pH; Oxigênio Dissolvido (OD), Condutividade e Carbono Orgânico Total (COT). Foram realizadas análises de Espectrometria UV-Vis a fim de verificar a degradação dos compostos farmacêuticos após a aplicação da radiação ionizante.

A parte experimental realizada durante o estudo consta no fluxograma a seguir

(Figura 7):

Figura 7 - Etapas do desenvolvimento experimental do projeto.



Fonte: autora da tese.

4.1 Preparo das soluções dos compostos farmacêuticos

Neste estudo foram utilizados o antidepressivo Fluoxetina, grau de pureza $\geq 99\%$, e o β -bloqueador Propranolol, grau de pureza $\geq 98\%$, adquiridos do fabricante Divis Pharmaceuticals Ltda. Os fármacos foram preparados em balão volumétrico com diluição em água destilada nas concentrações de 20 mg.L^{-1} para a Fluoxetina. Para o Propranolol, as concentrações utilizadas foram de 50 mg.L^{-1} (para os ensaios de mistura) e 80 mg.L^{-1} (para os ensaios isolados), concentrações estas selecionadas a partir da literatura.

O antibiótico Sulfadiazina, grau de pureza $\geq 99\%$, e o estimulante Cafeína, grau de pureza $\geq 99\%$, foram adquiridos do fabricante Sigma-Aldrich. Para a preparação da solução estoque do antibiótico, após a diluição do fármaco em água destilada, visando a concentração de 50 mg.L^{-1} , foi necessária a elevação da temperatura a 80°C , a fim de garantir a solubilização do composto (em balão volumétrico) conforme literatura. O composto farmacêutico Cafeína foi preparado em balão volumétrico, com diluição em água destilada, nas concentrações de 50 mg.L^{-1} (para os ensaios de mistura) e 100 mg.L^{-1} (para

os ensaios isolados), conforme ensaios preliminares.

A escolha desses compostos farmacêuticos se deu com base em dados da literatura que demonstraram estes metabólitos dentre os mais encontrados nas diversas matrizes ambientais aquáticas, dentre os países que estudam a sua detecção. Além do alto consumo dessas substâncias pela população em geral, e do seu uso contínuo.

Para a validação dos ensaios de ecotoxicidade foram utilizadas como substância de referência o Cloreto de Potássio (KCl) para a *Daphnia similis*, e o Fenol para a *Vibrio fischeri*, ambas com grau de pureza > mín. 99%, do fabricante Anidrol Produtos Químicos.

4.1.2 Preparação das misturas

O preparo das misturas para realização dos ensaios de ecotoxicidade foram realizadas na proporção de 1:1. Nas misturas binárias, foram feitas as misturas de 250 mL de cada solução estoque do composto farmacêutico de interesse, em balão volumétrico de 500 mL, com concentração esperada de 50% de cada amostra de composto farmacêutico.

Para as misturas ternárias, foram realizadas as misturas de 166 mL de cada solução estoque de interesse, e para a mistura quaternária 125 mL, em balão volumétrico de 500 mL, com concentração esperada de 50% de cada composto, conferindo a proporção de 1:1 das amostras.

Para os ensaios de predição da toxicidade das misturas binárias, também foram necessárias concentrações de 25:75 e 75:25 das misturas, preparadas em balão volumétrico de 500 mL, com 125 mL de amostra de determinado composto, para 375 mL do outro composto de interesse, visando essas concentrações determinadas.

4.2 Irradiação das amostras

As amostras foram dispostas no acelerador de elétrons do CETER/IPEN, modelo Dynamitron (Figura 8), com energia fixada em 1,4 MeV, e potência de 37,5 kW, variando a corrente do feixe eletrônico. As doses de radiação aplicadas variaram conforme a intensidade da corrente elétrica, para obtenção do feixe de elétrons. As amostras foram contidas em recipiente de vidro de borosilicato, material Pyrex[®], com volume de 246 mL (a fim de garantir espessura de 4,0 mm de amostra para correta distribuição da energia e penetrabilidade), os recipientes foram cobertos com filme plástico, garantindo a

preservação da amostra. Os recipientes contendo as amostras foram dispostos em bandeja móvel e esteira automática com velocidade fixada em $6,72 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, passando duas vezes sob feixe de elétrons, recebendo metade da dose em cada passagem. Com base em estudos anteriores (SILVA et al., 2016; TOMINAGA, 2018; BOIANI, 2018), foram aplicadas doses baixas - 2,5 e 5,0 kGy - nas soluções dos compostos farmacêuticos, a fim de viabilizar o custo operacional e minimizar a energia do processo.

A confirmação das doses recebidas pelas amostras submetidas à irradiação por feixe de elétrons foram realizadas com o dosímetro Perspex, Harwell Red, Batch KZ tipo 4034, com variação menor que 5%, experimento esse realizado pelo Laboratório de Dosimetria do CETER/IPEN.

Figura 8 - Acelerador de Elétrons (CETER/IPEN) com amostras dos produtos farmacêuticos para a irradiação.



Fonte: autora da tese.

4.3 Ensaios de toxicidade para efeito agudo – *Daphnia similis*

4.3.1 Cultivo e manutenção

A água utilizada para a manutenção dos cultivos dos organismos *D. similis* foi coletada em área de proteção de manancial no reservatório de Ribeirão Piraí, município de

Salto/SP.

A água foi coletada semestralmente e sua dureza determinada 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 ± 2 mg CaCO_3 L. A fim de garantir a solubilização total dos sais utilizados para a correção da dureza, e saturação de oxigênio adequada, a água foi mantida sob aeração constante durante período mínimo 24 horas, para a realização dos ensaios e trocas de água dos cultivos. Embora a norma recomende que o 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.

Após a coleta de cada lote de água, foram realizados ensaios de viabilidade para o organismo-teste *D. similis* com idade entre 6 e 24h. Os ensaios foram encerrados após 48 horas de exposição dos organismos, sem adição de alimento. Todos os lotes de água coletados no período de desenvolvimento deste trabalho foram satisfatórios, pois não apresentaram imobilidade dos organismos superior a 10% do total dos indivíduos expostos.

Os cultivos dos organismos foram mantidos em cristalizadores de 2 litros, com 40 organismos em cada e acondicionados em incubadora modelo Q315M26 (Quimis[®]) em temperatura de $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas de luz / 8 horas escuro (Figura 9). Cada cultivo foi mantido por 30 dias, aproximadamente, com renovação da água de cultivo uma vez por semana e manutenção diária, que consistia na retirada de neonatos e dos exoesqueletos liberados durante as mudas. A alimentação foi realizada com microalga *Raphidocelis subcapitata*, na concentração 1 a 5×10^6 células para cada dafinídeo, e complementada com ração de peixes e leveduras diluídos em água (RL) na proporção de 50 μL /org.

Figura 9 - Incubadora com cultivos de *D. similis*.



Fonte: autora da tese.

4.3.2 Ensaio de ecotoxicidade

Os ensaios com *D. similis* seguiram as recomendações da norma ABNT NBR 12713/2016. Para cada amostra foi realizada uma série de diluições, a fim de determinar o valor de CE50. As concentrações foram definidas a partir de ensaios preliminares.

O mínimo de 5 concentrações distintas foi adotado, além de um controle (somente água de cultivo). Os ensaios foram realizados em duplicata para todos os compostos farmacêuticos e misturas analisadas. Para cada concentração-teste foram montadas quatro réplicas com 10 mL cada, e adicionados cinco neonatos, com idades entre 6 e 24 horas de vida em cada, totalizando vinte organismos por concentração (Apêndice A). Os ensaios foram mantidos por 48h protegidos da luz e temperatura em $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após esse período, avaliou-se a imobilidade/mortalidade dos organismos em cada uma das concentrações. Os valores das CE50_{48h}, bem como seus intervalos de confiança foram calculados no software GraphPad Prism v. 7.0. Os parâmetros físico-químicos pH, OD e condutividade foram verificados no início e no fim de cada ensaio.

Para a validação dos ensaios de toxicidade foi avaliada a sensibilidade dos organismos, utilizando Cloreto de Potássio (KCl) como substância referência, esses resultados foram utilizados para carta controle de sensibilidade, segundo recomendações da Norma Técnica (ABNT NBR 12713/2016). Os ensaios foram conduzidos mensalmente e os resultados obtidos foram analisados pelo cálculo da CE50_{48h} e seus intervalos de confiança, novamente por meio do software GraphPad Prism v. 7.0. A partir dos valores de CE50 obtidos foi possível calcular o Coeficiente de Variação (CV) que é considerado válido quando possui valores inferiores a 30%, com o objetivo de verificar a precisão do método utilizado e a qualidade dos dados obtidos.

4.4 Projeto experimental dos ensaios de toxicidade das misturas

A previsão da toxicidade de efeito agudo das misturas binárias dos compostos farmacêuticos, nos ensaios com *D. similis*, foi realizada em relação aos modelos de Adição de Concentração (CA) e Ação Independentes (IA), e desvios de cada modelo (sinergismo/antagonismo; dependente do Nível de Concentração (DL) ou da Proporção da Concentração (DR), em planilha Excel automatizada (ToxCalcMix v. 1.0), desenvolvida na Universidade de Aveiro & CESAM, Portugal (disponível em: <https://pydio.bio.ua.pt/public/toxcalcmix>). Esta planilha automatizada foi desenvolvida de

acordo com os modelos e equações descritos em BARATA et al. (2006).

A partir dos parâmetros de CE50 obtidos para as respectivas curvas de concentração-resposta para os efeitos isolados de cada composto para *D. similis*, um projeto experimental foi realizado para cada mistura binária em estudo, considerando um planejamento de proporção fixa parcial, incluindo cinco misturas que se diferenciam na proporção de concentração para cada uma das duas substâncias: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100 %, totalizando 5 diferentes proporções de misturas binárias, que foram utilizadas nos ensaios de toxicidade para efeito agudo. Este esquema experimental nos permite cobrir possíveis interações em diversas proporções de mistura e níveis de efeito, tornando possível reduzir o número de organismos-teste utilizados.

4.5 Ensaios de toxicidade para efeito agudo – *Vibrio fischeri*

Os ensaios de toxicidade para efeito agudo, com a bactéria *V. fischeri*, foram realizados com base na norma ABNT NBR 15411-3/2012, com sistema Microtox®, modelo M-500 da Microbics (Figura 10).

Figura 10 - Sistema Microtox®, ensaio com a bactéria *V. fischeri*.



Fonte: autora da tese.

A luminescência da bactéria foi analisada inicialmente (I_0) e após 15 minutos (I_{15}) de exposição à amostra de interesse, a fim de avaliar se houve perda de luminescência, em cada concentração-teste. A perda de luminescência é indicativo de efeito tóxico da amostra para a bactéria. As concentrações utilizadas variaram de acordo com cada amostra

analisada, com valores entre: 2,55% e 81,90% e mais um controle, exposto ao diluente (Apêndice B). Os ensaios foram realizados em duplicata para todos os compostos farmacêuticos e misturas analisadas.

A bactéria *V. fischeri* (marca Biolux®) foi adquirida na forma liofilizada e armazenada em freezer a $-20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Para a realização dos ensaios, um frasco de 1 mL, com as bactérias liofilizadas, foi reconstituído em 1000 μL de solução tampão de reativação, essa solução foi transferida para a cubeta específica e colocada no sistema Microtox® (M500 Toxicity Analyzer), com temperatura aproximada de $3^{\circ}\text{C} \pm 0,2$. Com isso, foi realizada a diluição de 100 μL da bactéria hidratada em 1000 μL de solução diluente em nova cubeta.

A diluição serial da amostra foi realizada utilizando uma solução diluente (1:10 - solução Biolux®) juntamente com os controles. Duas sequências de cubetas foram preparadas; na primeira as amostras com suas diluições e o devido ajuste osmótico, e a segunda fileira de cubetas recebeu as bactérias, que foram utilizadas para obter as leituras iniciais (I_0). Após a adição das amostras às cubetas que continham as bactérias, procedeu-se à leitura da bioluminescência final (I_{15}) após 15 minutos de exposição.

A partir da análise dos resultados, foi possível calcular os valores da $CE50_{15\text{min}}$, empregando curva de regressão linear, baseada no valor do efeito gama (γ) (quociente entre a luz perdida e a luz remanescente). Esses dados foram inseridos em planilha do Excel que calculou a regressão linear a partir da diminuição da luminescência em função das concentrações das amostras. Assim, foram obtidos os valores de $CE50_{15\text{min}}$, e o respectivo intervalo de confiança.

Para a validação dos ensaios realizados, foi avaliada a sensibilidade de *V. fischeri* utilizando Fenol como substância referência, e os resultados obtidos foram utilizados na composição da carta-controle de sensibilidade, segundo recomendações da Norma Técnica (ABNT NBR 15411-3/2012).

4.6 Avaliação do risco ambiental

As avaliações de possíveis riscos ambientais foram feitas de acordo com a diretiva europeia - Guidance Document on Risk Assessment (Comissão Europeia, 2003) e Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards (Comissão Europeia, 2011), por meio da relação entre os valores de MEC (Concentração Ambiental Medida), ou

PEC (Concentração Ambiental Prevista) e PNEC (Concentração Prevista Sem Efeito).

PNEC é um limite mínimo de concentração abaixo do qual um efeito adverso provavelmente não ocorrerá. Os valores de PNEC são derivados a partir de dados de toxicidade dos organismos do ambiente em questão, e preferencialmente de diferentes níveis tróficos, obtidos em ensaios de laboratório. Tanto para a avaliação de efeitos agudos quanto crônicos, é necessário o uso de um Fator de Avaliação (FA) (varia de 1 a 1000) que é dividido pelo dado de toxicidade. Esse valor também deve ser determinado levando em consideração o nível de confiança (quanto menor a confiabilidade maior o FA) dos dados toxicológicos. Esse valor pode ser obtido por meio da relação entre os dados de toxicidade dos organismos do meio ambiental que se deseja estudar (solo, sedimento, água) e FA.

No cálculo do PNEC da toxicidade de efeito agudo, são considerados os dados de CL50 ou CE50, da espécie mais sensível analisada, enquanto nos ensaios de toxicidade para efeito crônico, são utilizados os dados de Maior Concentração de Efeito Não Observado (NOEC).

A avaliação do impacto de cada composto farmacêutico foi realizada por meio de um Quociente de Risco (QR), que é obtido por meio da razão entre as concentrações ambientais medidas (MEC), mas também podem ser utilizados valores das concentrações previstas (PEC), divididos pelo valor do PNEC, selecionado a partir da literatura. O QR estabelece que os resultados possam ser: menores que 0,1, entre 0,1 e 1,0 e maiores do que 1,0, classificados respectivamente como: ausência de risco, possível risco e ocorrência de risco aos organismos aquáticos.

4.7 Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade aguda

A eficiência da irradiação quanto à redução de toxicidade aguda para *D. similis* e *V. fischeri* foi obtida a partir dos valores de CE50, transformados para Unidade de Toxicidade (UT), seguindo com o cálculo (Equação 7):

$$UT = 100/CE50 \quad (7)$$

$$RT (\%) = ((UT_0 - UT_{\text{irrad}}) \times 100/UT_0)$$

Sendo: UT_0 = Unidades Tóxicas antes da irradiação; UT_{irrad} = Unidades Tóxicas após a irradiação.

4.8 Análises físico-químicas

4.8.1 pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade

Os parâmetros físico-químicos (pH, oxigênio dissolvido na água e condutividade) das amostras foram avaliados antes e após a irradiação por feixe de elétrons. As determinações foram realizadas em equipamentos específicos: HD 40d (oxigênio dissolvido e condutividade) e Micronal B474 (pH) (Figura 11).

Figura 11 - Equipamentos utilizados para medir os valores de pH, oxigênio dissolvido e condutividade.



Fonte: autora da tese.

4.8.2 Carbono orgânico total (COT) e Espectrofotometria UV-Vis

Para a análise de Carbono Orgânico Total (COT) presente nas amostras foi utilizado o equipamento Shimadzu, modelo TOC- 5000 A (Figura 12A). Sendo o COT medido pela diferença entre o Carbono Total (CT) e o Carbono Inorgânico (CI). A remoção de COT obtida pelo tratamento com feixe de elétrons foi calculada de acordo com os valores antes e após a irradiação. A espectrofotometria foi utilizada na análise dos efeitos da irradiação por feixe de elétrons, através do espectrofotômetro UV-VIS 1800 (Shimadzu) e do software UV-Probe Ver (Figura 12B).

Figura 12 - Equipamentos utilizados nas análises dos efeitos da irradiação por feixe de elétrons; A) TOC-5000 A; e B) espectrofotômetro UV-VIS 1800.



Fonte: autora da tese.

4.9 Análises estatísticas

A fim de avaliar a significância entre os dados obtidos nos ensaios de toxicidade das amostras, compostos farmacêuticos brutos e irradiados, foram realizadas análises estatísticas de significância entre os valores obtidos, pelo método de Análise de Variância (One-way ANOVA). Após a análise de variação significativa pela ANOVA, foram comparadas as médias/contrastos das condições testadas pelo Teste de Tukey, no software GraphPad Prism 7.

4.10 Descarte de resíduos

As soluções das amostras utilizadas nos ensaios de ecotoxicidade deste trabalho foram armazenadas em bombonas de 20L, devidamente identificadas e entregues ao setor responsável pela coleta e destinação final de resíduos do CETER/IPEN, evitando assim uma possível contaminação ambiental.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação dos efeitos relacionados à toxicidade aguda

Um dos objetivos do trabalho foi à avaliação da toxicidade aguda dos compostos farmacêuticos individuais, a fim de calcular o quociente de risco associado aos compostos em estudo. Além de avaliar se o tratamento com radiação é eficiente na redução da toxicidade.

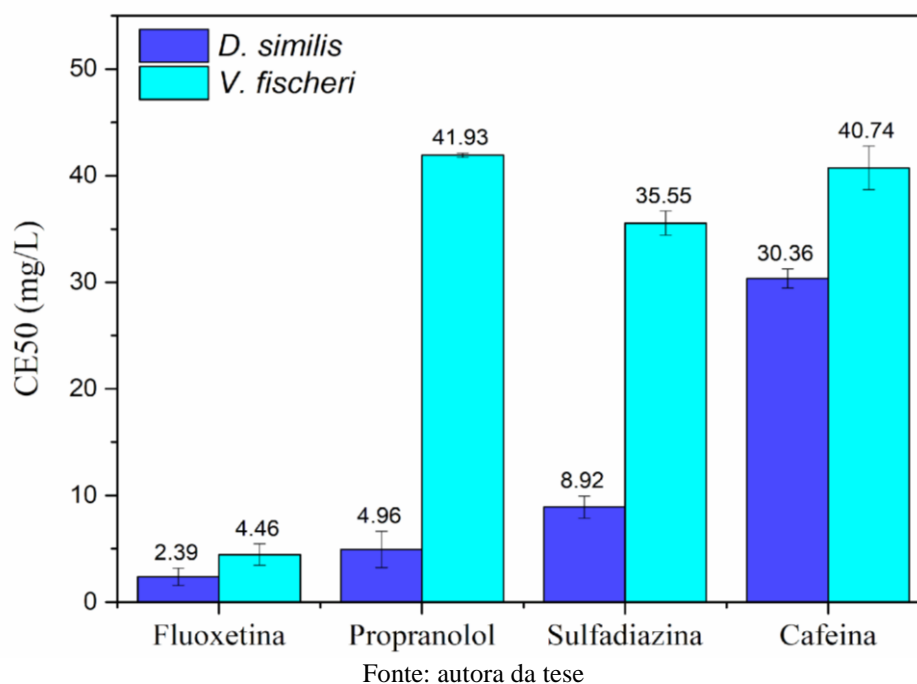
Os valores determinados foram representados quanto à Concentração Efetiva Mediana (CE50) e das Unidades Tóxicas (UT), lembrando que a CE50 é um valor inversamente proporcional à toxicidade e a UT é um valor diretamente proporcional à toxicidade. Esses valores foram obtidos a partir de ensaios ecotoxicológicos realizados com a exposição dos organismos teste *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, a fim de avaliar a toxicidade aguda dos compostos farmacêuticos Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína (Tabela 3). Na Figura 13 foram compiladas as médias de toxicidade destes compostos, e os valores também foram descritos nos Apêndices A e B.

Tabela 3 - Toxicidade aguda dos compostos farmacêuticos; Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína, obtidas a partir de ensaios ecotoxicológicos, com *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*.

	<i>D. similis</i> – CE50 _(48h) mg.L ⁻¹	UT	<i>V. fischeri</i> - CE50 _(15min) mg.L ⁻¹	UT
Fluoxetina	2,26 (1,79-2,85)	44,25	4,35 (3,94-4,81)	22,99
	2,51 (2,12-2,98)	39,84	4,56 (3,31-6,28)	21,93
X ± S	2,39 ± 0,18	42,04 ± 3,12	4,46 ± 0,15	22,46 ± 0,75
Propranolol	4,00 (3,22-4,96)	25,00	41,08 (28,93-58,32)	2,43
	5,92 (4,99-7,02)	16,89	42,77 (28,87-63,37)	2,34
X ± S	4,96 ± 1,36	20,95 ± 5,73	41,93 ± 1,20	2,39 ± 0,07
Sulfadiazina	8,55 (7,16-10,22)	11,70	35,94 (27,78-46,50)	2,78
	9,28 (8,04-10,72)	10,78	35,15 (28,50-43,34)	2,84
X ± S	8,92 ± 0,52	11,24 ± 0,25	35,55 ± 0,56	2,81 ± 0,04
Cafeína	29,72 (25,20-35,04)	3,36	42,18 (25,05-71,01)	2,37
	31,00 (25,58-37,56)	3,23	39,30 (28,35-54,46)	2,54
X ± S	30,36 ± 0,91	3,30 ± 0,10	40,74 ± 2,04	2,46 ± 0,12

Fonte: autora da tese.

Figura 13 - Concentrações de efeito mediano (CE50 - mg.L^{-1}) obtidas a partir de ensaios de ecotoxicidade com *D. similis* e *V. fischeri* expostos aos compostos farmacêuticos Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína.



Os resultados de toxicidade para efeito agudo reportaram maior sensibilidade dos organismos teste a Fluoxetina, com valores médios de CE50 de $2,4 \text{ mg.L}^{-1}$ para *D. similis* e $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ para *V. fischeri*. Propranolol e Sulfadiazina também foram mais tóxicos para *D. similis* com valores médios de CE50 de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $9,0 \text{ mg.L}^{-1}$, quando comparados *V. fischeri*, CE50 de $42,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $35,5 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente. A Cafeína foi o composto que conferiu menor sensibilidade aos organismos, com valores relativamente próximos para o microcrustáceo e para bactéria, CE50 de $30,4$ e $40,7 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente.

Em concordância com trabalhos anteriormente descritos na literatura, os ensaios realizados no presente estudo forneceram valores de CE50 na faixa de $5,9 - 8,1 \text{ mg.L}^{-1}$, para *D. similis* e *V. fischeri*, expostas à Fluoxetina (CHRISTENSEN et al., 2007; MINGUEZ et al., 2014; SILVA et al., 2016). Valores dentro da faixa de CE50 de $1,6$ a $15,9 \text{ mg.L}^{-1}$, foram relatados para *D. magna* (GODOY et al., 2020) e *D. similis* (VARANO et al., 2017). Dados anteriores da exposição ao antibiótico Sulfadiazina determinaram CL50 de 1520 mg.L^{-1} para peixes e $1,88 \text{ mg.L}^{-1}$ para dafnídeos; e CE50 de $10,3 \text{ mg.L}^{-1}$ para algas verdes (YANG et al., 2017). Autores indicam que os organismos marinhos foram mais suscetíveis a este antibiótico, com CE50 de $0,11 \text{ mg.L}^{-1}$ para a diatomácea

Phaeodactylum tricornutum (KIM et al., 2007); e de 26,4 mg.L⁻¹ para *V. fischeri* (DE ORTE et al., 2013). Em relação a Cafeína foram reportados valores de CE50 de 177,8 mg.L⁻¹ (CHEVALIER et al., 2015) e de 445,3 mg.L⁻¹ (BANG et al., 2015) para *D. magna*, valores de CL50 de 1,2 mg.L⁻¹; 60 mg.L⁻¹; e 100 mg.L⁻¹ foram observados para os organismos *Chironomus dilutus* (larva de inseto), *Ceriodaphnia dubia* (microcrustáceo), e *Pimephales promelas* (peixe), respectivamente (MOORE et al., 2008).

Dados da literatura indicam valores na ordem de µg.L⁻¹ desses compostos farmacêuticos reportados em águas superficiais e efluentes de ETE do mundo todo. O Propranolol foi reportado em efluentes de ETE da Europa, com valores entre 0,010 e 0,040 µg.L⁻¹ (PATEL et al., 2019). No Brasil, foram relatados valores de 0,20 a 0,40 µg.L⁻¹ de Propranolol, em águas superficiais, bem como 19,0 µg.L⁻¹ do estimulante Cafeína (SOUSA et al., 2014). Em águas superficiais na Turquia, a Cafeína foi encontrada com valores de 3,39 µg.L⁻¹ (AYMAN e ISIK, 2015). O antibiótico Sulfadiazina foi reportado em efluentes de ETE da Europa na faixa entre 0,010 e 0,090 µg.L⁻¹ (PATEL et al., 2019), e em um efluente de ETE no Brasil, na faixa de 0,10 µg.L⁻¹ (GARDNER et al., 2012). Já o antidepressivo Fluoxetina foi reportado em efluentes de ETE do Reino Unido na faixa de 0,54 µg.L⁻¹ (GARDNER et al., 2012) e dos Estados Unidos, na faixa de 0,32-0,54 µg.L⁻¹ (LARA-MARTIN et al., 2014).

Na Tabela 4 consta a avaliação do quociente de risco para os compostos farmacêuticos do presente estudo. Os valores de PNEC da Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína, foram estimados pelos dados de toxicidade aguda, divididos por um fator de avaliação (FA) de 1000 (duas espécies, *D. similis* e *V. fischeri*), e foram calculados a partir dos valores de CE50 obtidos para *D. similis*, devido a maior sensibilidade desse organismo. O maior valor de concentração ambiental medida (MEC) dos compostos farmacêuticos Fluoxetina, Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína em águas superficiais brasileiras foi utilizado para a avaliação de risco, visando verificar o pior cenário real. Desta forma, concentrações máximas reportadas na literatura foram utilizadas para a estimativa do risco. Cabe destacar o caráter protetivo dessa aplicação dos ensaios de toxicidade a fim de induzir ações para a preservação dos corpos hídricos.

Os resultados encontrados sugerem a presença de um possível risco para a biota aquática quanto aos compostos farmacêuticos Propranolol e Cafeína ($0,1 < QR < 1$). Assim, os resultados reforçaram a importância de avaliação da toxicidade, os riscos associados à presença de misturas no meio ambiente e a tratamentos alternativos para a

remoção destes poluentes.

Tabela 4 - Estimativa do quociente de risco (QR) baseado no maior valor de concentração ambiental (MEC) descritos na literatura para matrizes superficiais.

Composto	MEC - $\mu\text{g.L}^{-1}$	Referência	CE50 - $\mu\text{g.L}^{-1}$	Referência	AF	PNEC	QR
PRP	0,40	PATEL et al. (2019)	2390	Presente estudo	1000	2,4	0,16
FLX	0,060	PIVETTA et al. (2020)	4960	Presente estudo	1000	4,9	0,01
SDZ	0,10	PATEL et al. (2019)	8920	Presente estudo	1000	8,9	0,01
CFN	19,0	MONTAGNER et al. (2019)	30360	Presente estudo	1000	30,4	0,63

Fonte: autora da tese.

5.2 Avaliação da toxicidade de misturas

Os produtos farmacêuticos vêm sendo frequentemente detectados nos ambientes aquáticos como misturas, podendo causar efeitos tóxicos para organismos não alvo, sendo assim, um dos nossos objetivos deste estudo, foi avaliar os efeitos da mistura binária da Fluoxetina com os compostos farmacêuticos: Propranolol, Sulfadiazina e Cafeína, uma vez que a Fluoxetina foi o composto que apresentou maior toxicidade. Utilizamos como organismo teste o microcrustáceo *D. similis*, devido a maior sensibilidade deste organismo aos compostos.

Além disso, foi testada a previsão preditiva dos modelos matemáticos (MixTox) Adição de Concentração (CA) e Ação Independente (IA) para avaliar a natureza das possíveis interações toxicológicas entres esses compostos. O modelo CA assume que os componentes da mistura têm o mesmo Modo de Ação (MoA), interagindo na mesma molécula alvo. O modelo IA, em vez disso, assume que os componentes da mistura de produtos químicos afetam os organismos por diferentes modos de ação, portanto seus efeitos são independentes um do outro.

Os efeitos tóxicos resultantes das misturas de compostos podem ser caracterizados pelo sinergismo ou antagonismo, que referem-se a efeitos maiores (sinergismo) ou menores (antagonismo), a partir da soma dos efeitos dos componentes isolados, que podem ser: dependentes do nível de concentração (DL), onde os efeitos em baixas concentrações são diferentes dos efeitos em altas concentrações; e dependentes da proporção da concentração (DR), onde a composição da mistura interfere nos efeitos

causados, onde um dos compostos é dominante, assim o efeito sinérgico ou antagônico pode ser observado devido principalmente ao composto 1 ou ao composto 2. (JONKER et al., 2005).

Os resultados das análises das misturas de acordo com os modelos de ação CA e IA e seus respectivos desvios foram descritos nas Tabelas 5, 6 e 7.

5.2.1 Fluoxetina + Propranolol

O modelo de ação independente (IA) foi o que melhor descreveu os efeitos da mistura dos fármacos Fluoxetina + Propranolol (menor valor SS e maiores valores de r^2), em comparação com o modelo de adição de concentração (CA) (Tabela 5) esse modelo explicou mais variabilidade das respostas tóxicas agudas às daphnias expostas. O efeito sinérgico predominante foi observado como o desvio que melhor se ajusta às respostas observadas em relação à imobilização de *D. similis*. Pelo modelo de desvio de concentração dependente da proporção (DR) foi apontado sinergismo leve a moderado, quando os fármacos encontram-se em baixas concentrações ($a < 0$), e antagonismo onde a toxicidade da mistura foi causada pelo agente tóxico Propranolol ($b > 1$).

Tabela 5 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura binária de Fluoxetina e Propranolol.

FLX+PRP	Adição de Concentração				Ação Independente			
	CA	S/A/CA	DR/CA	DL/CA	IA	S/A/IA	DR/IA	DL/IA
Max	1	1	1	1	1	1	1	1
$\beta_{\text{fluoxetina}}$	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77
$\beta_{\text{propranolol}}$	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48	4,48
CE ₅₀ fluoxetina	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57
CE ₅₀ propranolol	5,82	5,82	5,82	5,82	5,82	5,82	5,82	5,82
A	-	-0,24	-1,38	-8,76	-	-5,67	-4,15	-6,95
b _{DR/DL}	-	-	14,15	0,84	-	-	6,06	1,18
SS	0,18	0,18	0,13	0,11	0,63	0,18	0,08	0,10
r ²	0,96	0,96	0,97	0,97	0,84	0,95	0,98	0,97
x ₂ ou F	95,36	72,14	62,66	90,64	23,56	68,74	101,77	99,45
Df	-	17,18	15,18	16,18	-	17,18	15,18	16,18
p (x ² /F)	7,35 10 ⁻¹²	7,69 10 ⁻¹¹	5,68 10 ⁻¹⁰	1,90 10 ⁻¹¹	6,01 10 ⁻⁷	1,13 10 ⁻¹⁰	1,69 10 ⁻¹¹	9,26 10 ⁻¹²

Legenda: max é o valor máximo de resposta, β é a inclinação da curva de resposta da dose individual; CE50 é a concentração letal mediana; a, bDR e bDL são parâmetros da função; SS é a soma de resíduos quadrados; r² é o coeficiente de regressão; o teste de x² ou de F é a estatística do teste; DF é o grau de liberdade; e p (x²/F) é o nível de significância da estatística do teste. S/A é o desvio do sinergismo ou antagonismo; DR é o desvio dependente da proporção da concentração e DL é o desvio dependente do nível de concentração.

Fonte: autora da tese.

5.2.2 Fluoxetina + Sulfadiazina

O modelo de adição de concentração (CA) descreveu melhor os efeitos da mistura binária de Fluoxetina + Sulfadiazina na imobilização de *D. similis*, quando comparado com o modelo de ação independente (IA) (Tabela 6). Foi identificado antagonismo predominante, dependente do nível de concentração (DL) - antagonismo em concentrações baixas e sinergismo em concentrações elevadas da mistura ($a < 0$).

Tabela 6 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura dos fármacos Fluoxetina e Sulfadiazina.

FLX+SDZ	Adição de Concentração				Ação Independente			
	CA	S/A/CA	DR/CA	DL/CA	IA	S/A/IA	DR/IA	DL/IA
Max	1	1	1	1	1	1	1	1
$\beta_{\text{fluoxetina}}$	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77
$\beta_{\text{sulfadiazina}}$	9,27	9,27	9,27	9,27	9,27	9,27	9,27	9,27
CE ₅₀ fluoxetina	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57
CE ₅₀ sulfadiazina	10,77	10,77	10,77	10,77	10,77	10,77	10,77	10,77
A	-	14,21	7,85	0,12	-	0,88	-1,20	0,003
b _{DR/DL}	-	-	-19,13	-74,62	-	-	-18,34	-2055,5
SS	2,21	1,76	1,30	0,78	1,92	1,91	1,27	1,75
r ²	0,51	0,60	0,71	0,82	0,574	0,575	0,711	0,611
x ₂ ou F	4,66	5,28	5,27	12,61	6,06	4,59	5,42	4,19
Df	-	17,18	15,18	16,18	-	17,18	15,18	16,18
p (x ² /F)	0,009	0,366	0,239	0,032	0,002	0,547	0,323	0,523

Legenda: max é o valor máximo de resposta, β é a inclinação da curva de resposta da dose individual; CE50 é a concentração letal mediana; a, bDR e bDL são parâmetros da função; SS é a soma de resíduos quadrados; r² é o coeficiente de regressão; o teste de x² ou de F é a estatística do teste; DF é o grau de liberdade; e p (x²/F) é o nível de significância da estatística do teste. S/A é o desvio do sinergismo ou antagonismo; DR é o desvio dependente da proporção da concentração e DL é o desvio dependente do nível de concentração.

Fonte: autora da tese.

5.2.3 Fluoxetina + Cafeína

Para as combinações da mistura binária de Fluoxetina + Cafeína, o modelo de adição de concentração (CA) descreveu melhor os efeitos dessa mistura, quando comparado ao modelo de ação independente (IA) (Tabela 7), que vai de encontro ao modo de ação desses compostos, mesmo a Fluoxetina tratando-se de um antidepressivo, atua no organismo também como estimulante, assim como a Cafeína. O sinergismo predominante foi identificado, dependente da proporção das concentrações da mistura (DR), exceto nas proporções de concentração da mistura onde foi verificado $b > 1$, que indica antagonismo causado principalmente pelo agente tóxico Cafeína.

Tabela 7 - Resumo das análises dos ensaios de ecotoxicidade para a mistura dos fármacos Fluoxetina e Cafeína.

FLX+CFN	Adição de Concentração				Ação Independente			
	CA	S/A/CA	DR/CA	DL/CA	IA	S/A/IA	DR/IA	DL/IA
Max	1	1	1	1	1	1	1	1
$\beta_{\text{fluoxetina}}$	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77
$\beta_{\text{cafeína}}$	44,83	44,83	44,83	44,83	44,83	44,83	44,83	44,83
CE_{50} fluoxetina	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57	2,57
CE_{50} cafeína	37,50	37,50	37,50	37,50	37,50	37,50	37,50	37,50
A	-	-21,58	-3,79	-46,84	-	-11,78	-5,94	-12,05
b_{DR/DL}	-	-	44,02	0,72	-	-	5,25	0,69
SS	0,70	0,16	0,08	0,11	1,12	0,13	0,12	0,12
r²	0,83	0,96	0,98	0,97	0,73	0,96	0,97	0,97
x₂ ou F	22,4	88,17	111,45	102,02	12,4	102,85	69,95	88,99
Df	-	17,18	15,18	16,18	-	17,18	15,18	16,18
p (x²/F)	8,58 10 ⁻⁷	1,51 10 ⁻¹¹	8,71 10 ⁻¹²	7,61 10 ⁻¹²	5,13 10 ⁻⁵	4,30 10 ⁻¹²	2,57 10 ⁻¹⁰	2,19 10 ⁻¹¹

Legenda: max é o valor máximo de resposta, β é a inclinação da curva de resposta da dose individual; CE50 é a concentração letal mediana; a, bDR e bDL são parâmetros da função; SS é a soma de resíduos quadrados; r² é o coeficiente de regressão; o teste de x² ou de F é a estatística do teste; DF é o grau de liberdade; e p (x²/F) é o nível de significância da estatística do teste. S/A é o desvio do sinergismo ou antagonismo; DR é o desvio dependente da proporção da concentração e DL é o desvio dependente do nível de concentração.

Fonte: autora da tese.

Das análises das combinações binárias descritas acima, podemos concluir que a natureza da interação entre os compostos de uma mistura depende do nível de efeito e da proporção em que cada um é aplicado. Nossas análises estão de acordo com estudos anteriores de VARANO et al. (2017) e GODOY et al. (2020), que determinaram as interações entre fármacos para os microcrustáceos *D. magna* e *D. similis*. Dessa forma, fica evidenciada a importância de considerar um projeto experimental capaz de cobrir várias interações possíveis em diferentes proporções de misturas de compostos farmacêuticos.

GODOY et al. (2020) aplicaram os modelos matemáticos de adição de concentração e ação independente para a avaliação das interações toxicológicas entre produtos farmacêuticos, onde observaram que a maioria dos efeitos da mistura binária de fármacos estavam na zona entre os efeitos previstos pelos modelos de adição de concentração e ação independente. As interações entre as misturas binárias de Bisoprolol + Metformina, Bisoprolol + Ranitidina e Sotalol + Ranitidina, fármacos de diferentes modos de ação, foram melhores descritas pelo modelo de adição de concentração, apresentando efeito antagonístico. VARANO et al. (2017) observaram que a aplicação do MixTox aos dados experimentais indicou que Fluoxetina + Propranolol não atuam como sinérgicos em relação ao seu efeito na imobilização para *D. magna*. Quando a adição de concentração foi usada como modelo de referência, um antagonismo significativo foi observado.

É possível apontar que o sinergismo/antagonismo não depende da similaridade

ou dissimilaridade do modo de ação de cada composto em uma mistura, o conhecimento prévio dos mecanismos de ação de um composto não é suficiente para prever os seus padrões de interação quando combinados em misturas com semelhante ou diferente mecanismo tóxico. Espécies diferentes podem apresentar respostas semelhantes, ou não em uma mesma mistura de compostos (GODOY et al., 2020).

Interações sinérgicas foram observadas neste estudo para as misturas binárias de Fluoxetina com Propranolol e com a Cafeína. O sinergismo pode ser resultado de interações em torno de um ou mais dos seis processos, que ocorrem como resultado da toxicidade que um produto químico pode conferir a um organismo: biodisponibilidade, absorção, transporte interno, metabolização, ligação no local de destino e excreção (CEDERGREEN, 2014). O exato mecanismo para o sinergismo observado nos ensaios de toxicidade das misturas de fármacos só pode ser elucidado com estudos a nível molecular (GODOY et al., 2020).

5.3 Irradiação das amostras

Considerando a irradiação das soluções que continham os compostos farmacêuticos, com feixe de elétrons, foram avaliadas amostras irradiadas e não irradiadas. As doses de radiação aplicadas foram de 2,5 kGy e 5,0 kGy.

Os valores determinados neste estudo para os compostos farmacêuticos isolados, tendo como organismo teste o microcrustáceo *D. similis*, e a bactéria *V. fischeri*, representados quanto à concentração efetiva mediana (CE50%), calculada pelo método Trimmed Spearman Karber (TSK), com os valores de médias (X) e desvio padrão (S), os intervalos de confiança entre parênteses, unidade tóxica (UT) e eficiência de remoção da toxicidade (%), foram apresentados nas Tabelas 8 e 9. Na Figura 14, foram compiladas as médias de toxicidade aguda. Esses valores também foram descritos nos Apêndices A e B.

Tabela 8 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada, em *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina				
0,0	1	11,33 (8,99-14,29)	8,83	-
	2	12,58 (10,61-14,91)	7,95	-
	X ± S	11,96 ± 0,88	8,39 ± 0,62	-
2,5	1	37,89 (34,53-41,59)	2,64	68,5
	2	39,01 (34,00-45,18)	2,56	69,4
	X ± S	38,50 ± 0,8	2,60 ± 0,1	69,0 ± 0,6
5,0	1	46,53 (41,15-52,61)	2,15	74,4
	2	49,51 (43,44-56,43)	2,02	75,9
	X ± S	48,00 ± 2,1	2,10 ± 0,1	75,10 ± 1,1
Propranolol				
0,0	1	5,01 (4,03-6,21)	19,96	-
	2	7,40 (6,24-8,78)	13,51	-
	X ± S	6,21 ± 1,69	16,74 ± 4,56	-
2,5	1	25,64 (21,31-30,87)	3,90	76,7
	2	28,54 (24,66-33,04)	3,50	79,1
	X ± S	27,1 ± 2,1	3,70 ± 0,3	77,9 ± 1,7
5,0	1	36,53 (31,55-42,28)	2,74	83,6
	2	39,23 (35,12-43,82)	2,55	84,28
	X ± S	37,9 ± 1,9	2,6 ± 0,1	84,2 ± 0,8
Sulfadiazina				
0,0	1	17,11 (14,32-20,44)	5,84	-
	2	18,57 (16,08-21,45)	5,39	-
	X ± S	17,84 ± 1,03	5,61 ± 0,32	-
2,5	1	22,54 (20,20-25,14)	4,44	21,0
	2	22,72 (21,89-23,59)	4,40	21,6
	X ± S	22,6 ± 0,1	4,42 ± 0,0	21,3 ± 0,4
5,0	1	23,83 (21,56-26,33)	4,20	25,3
	2	26,68 (22,47-31,67)	3,75	33,2
	X ± S	25,3 ± 2,0	4,0 ± 0,3	29,3 ± 5,6
Cafeína				
0,0	1	29,72 (25,20-35,04)	3,36	-
	2	31,00 (25,58-37,56)	3,23	-
	X ± S	30,36 ± 0,91	3,30 ± 0,10	-
2,5	1	21,82 (18,29-26,02)	4,58	-39,1
	2	18,57 (16,08-21,45)	5,39	-63,4
	X ± S	20,2 ± 2,3	4,98 ± 0,6	-51,2 ± 17,2
5,0	1	18,57 (16,08-21,45)	5,39	-63,4
	2	17,84 (15,69-20,29)	5,61	-70,1
	X ± S	18,2 ± 0,5	5,5 ± 0,2	-66,8 ± 4,7

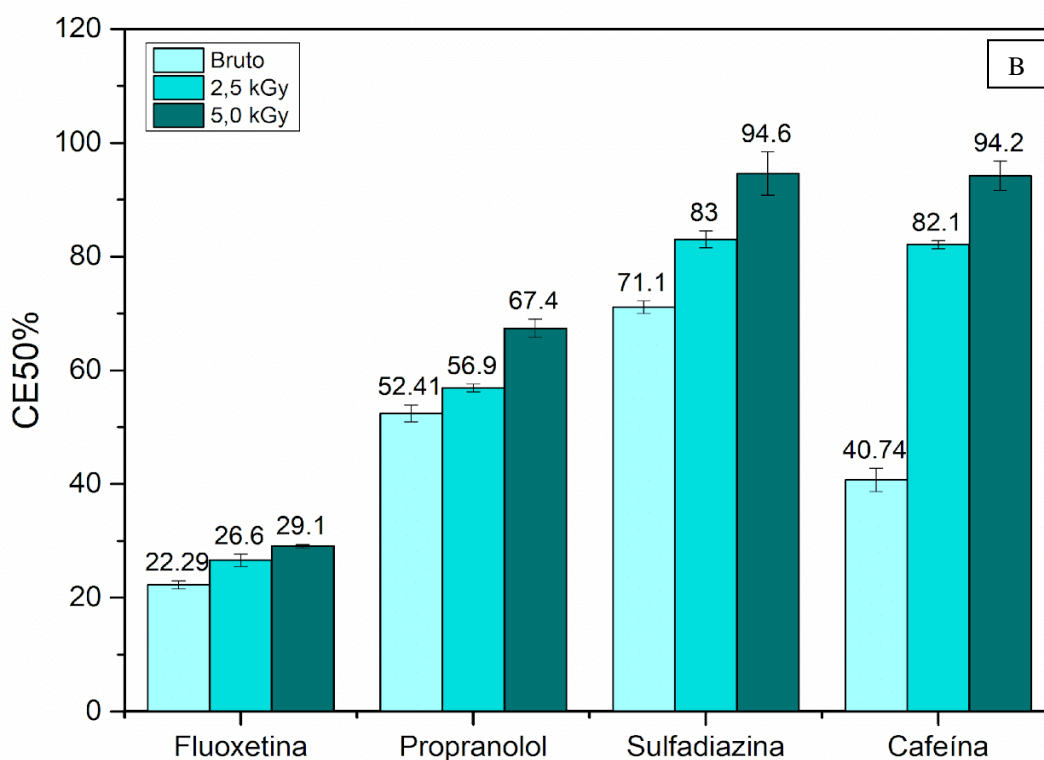
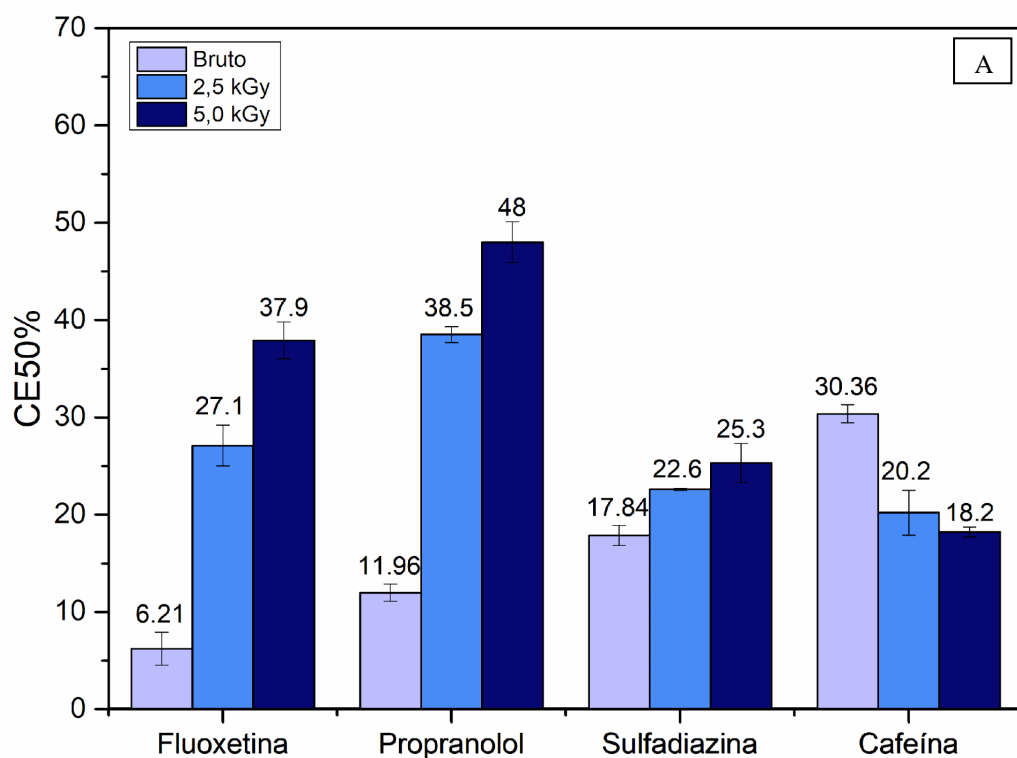
Fonte: autora da tese.

Tabela 9 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada, em *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina				
0,0	1	21,78 (19,70-24,07)	4,65	-
	2	22,80 (16,55-31,40)	4,39	-
	X ± S	22,29 ± 0,72	4,49 ± 0,15	-
2,5	1	25,82 (12,51-53,29)	3,87	13,7
	2	27,25 (8,33-39,72)	3,66	18,5
	X ± S	26,6 ± 1,1	3,76 ± 0,2	16,1 ± 3,4
5,0	1	29,31 (18,68-45,97)	3,41	24,0
	2	28,90 (15,14-55,14)	3,46	22,9
	X ± S	29,1 ± 0,3	3,4 ± 0,0	23,5 ± 0,8
Propranolol				
0,0	1	51,35 (36,17-72,91)	1,95	-
	2	53,47 (36,09-79,22)	1,87	-
	X ± S	52,41 ± 1,50	1,91 ± 0,05	-
2,5	1	57,38 (50,64-65,02)	1,74	8,7
	2	56,40 (35,82-88,80)	1,77	7,1
	X ± S	56,9 ± 0,7	1,76 ± 0,0	7,9 ± 1,1
5,0	1	68,52 (51,51-91,15)	1,46	23,5
	2	66,29 (52,42-83,83)	1,51	21,0
	X ± S	67,4 ± 1,6	1,5 ± 0,0	22,3 ± 1,8
Sulfadiazina				
0,0	1	71,89 (55,56-93,01)	1,39	-
	2	70,30 (57,01-86,68)	1,42	-
	X ± S	71,10 ± 1,12	1,41 ± 0,02	-
2,5	1	84,08 (59,01-99,82)	1,19	15,5
	2	81,97 (70,98-94,66)	1,22	13,3
	X ± S	83,0 ± 1,5	1,20 ± 0,0	14,4 ± 1,5
5,0	1	97,26 (69,05-127,00)	1,03	26,9
	2	91,95 (61,18-128,18)	1,09	22,7
	X ± S	94,6 ± 3,8	1,1 ± 0,1	24,8 ± 3,0
Cafeína				
0,0	1	42,18 (25,05-71,01)	2,37	-
	2	39,30 (28,35-54,46)	2,54	-
	X ± S	40,74 ± 2,04	2,46 ± 0,12	-
2,5	1	82,63 (63,31-97,84)	1,21	50,8
	2	81,65 (70,98-94,66)	1,21	50,2
	X ± S	82,1 ± 0,7	1,22 ± 0,0	50,5 ± 0,4
5,0	1	96,11 (67,55-136,73)	1,04	57,7
	2	92,38 (49,01-134,14)	1,08	56,0
	X ± S	94,2 ± 2,6	1,1 ± 0,0	56,8 ± 1,2

Fonte: autora da tese

Figura 14 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) *D. similis* e B) *V. fischeri*, expostos aos compostos farmacêuticos isolados, antes e após irradiação por feixe de elétrons.



Fonte: autora da tese.

Comparando os valores das amostras dos fármacos, não irradiadas *versus* irradiadas, foi possível verificar que as doses de 2,5 e 5,0 kGy foram eficientes na redução da toxicidade desses compostos.

Nas amostras de Fluoxetina observamos eficiência de remoção da toxicidade de 69% e 75% para *D. similis* e 16% e 23,5% para *V. fischeri*, nas doses de 2,5 e 5,0 kGy, respectivamente. Quanto ao Propranolol, a redução da toxicidade foi de 77,9% e 84,2% para *D. similis* e 7,9% e 22,3% para *V. fischeri*, nas doses aplicadas.

Para o antibiótico Sulfadiazina, a eficiência de remoção observada foi de 21,3% e 29,3% para *D. similis*, seguida de 14,4% e 24,8% para *V. fischeri*, nas doses de 2,5 e 5,0 kGy, valores semelhantes para ambos os organismos teste.

Os resultados obtidos para os ensaios ecotoxicológicos dos fármacos Fluoxetina e Propranolol, com *D. similis* apresentaram uma porcentagem de redução da toxicidade superior, com valores entre 70 a 80% de eficiência de remoção da toxicidade, quando comparada ao organismo *V. fischeri*, onde os ensaios apresentaram valores de 10 a 25% de eficiência de remoção da toxicidade, nas doses aplicadas.

Com base nos resultados da Cafeína, foi possível verificar que as doses de 2,5 e 5,0 kGy não apresentaram melhora na toxicidade das amostras tratadas quando expostas ao organismo *D. similis*, as doses de radiação aplicadas elevaram a toxicidade das soluções, não apresentando eficiência de remoção da toxicidade para essa amostra, sugerindo a possível formação de subprodutos que conferiram maior toxicidade ao organismo. Porém, nos ensaios com *V. fischeri*, as mesmas doses induziram importante redução da toxicidade do composto. A dose de 2,5 kGy com 50,5%, e a dose de 5,0 kGy com 56,8% de eficiência de remoção da toxicidade.

5.3.1 Misturas binárias

Os valores de toxicidade determinados nos ensaios para as misturas binárias dos compostos farmacêuticos foram representados quanto à concentração efetiva mediana (CE50%), unidade tóxica (UT) e eficiência do processo de remoção da toxicidade (%), bem como seus intervalos de confiança, e constam nas Tabelas 10 e 11. Na Figura 15 foram apresentados os resultados quanto à CE50%, dos ensaios realizados com as misturas binárias dos compostos farmacêuticos: Fluoxetina + Propranolol; Fluoxetina + Sulfadiazina; Fluoxetina + Cafeína; com os organismos teste *D. similis* e *V. fischeri*.

Tabela 10 - - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas binárias, em *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol				
0,0	1	9,80 (7,91-12,15)	10,20	-
	2	8,55 (6,89-10,61)	11,70	-
	X ± S	9,18 ± 0,88	10,95 ± 1,05	-
2,5	1	49,95 (42,18-59,16)	2,00	81,7
	2	46,65 (40,08-54,30)	2,14	80,1
	X ± S	48,3 ± 2,3	2,07 ± 0,1	81,1 ± 0,9
5,0	1	57,43 (49,83-66,20)	1,74	84,1
	2	53,59 (46,04-62,38)	1,87	83,0
	X ± S	55,5 ± 2,7	1,8 ± 0,1	83,5 ± 0,8
Fluoxetina + Sulfadiazina				
0,0	1	23,64 (19,75-28,30)	4,23	-
	2	22,14 (18,37-26,69)	4,52	-
	X ± S	22,89 ± 1,06	4,37 ± 0,20	-
2,5	1	36,10 (34,80-44,18)	2,77	36,7
	2	37,90 (33,43-42,98)	2,64	39,7
	X ± S	37,0 ± 1,3	2,70 ± 0,1	38,2 ± 2,1
5,0	1	39,23 (35,12-43,82)	2,55	41,7
	2	39,46 (35,77-43,54)	2,53	42,1
	X ± S	39,3 ± 0,2	2,5 ± 0,0	41,9 ± 0,2
Fluoxetina + Cafeína				
0,0	1	16,46 (13,57-19,96)	6,08	-
	2	14,01 (11,89-16,51)	7,14	-
	X ± S	15,24 ± 1,73	6,61 ± 0,75	-
2,5	1	25,62 (21,48-30,57)	3,19	40,9
	2	26,68 (22,47-31,67)	3,75	43,3
	X ± S	26,2 ± 0,7	3,83 ± 0,1	42,1 ± 1,7
5,0	1	30,10 (26,06-34,76)	3,32	49,7
	2	28,91 (24,74-33,79)	3,46	47,6
	X ± S	29,5 ± 0,8	3,4 ± 0,1	48,7 ± 1,5

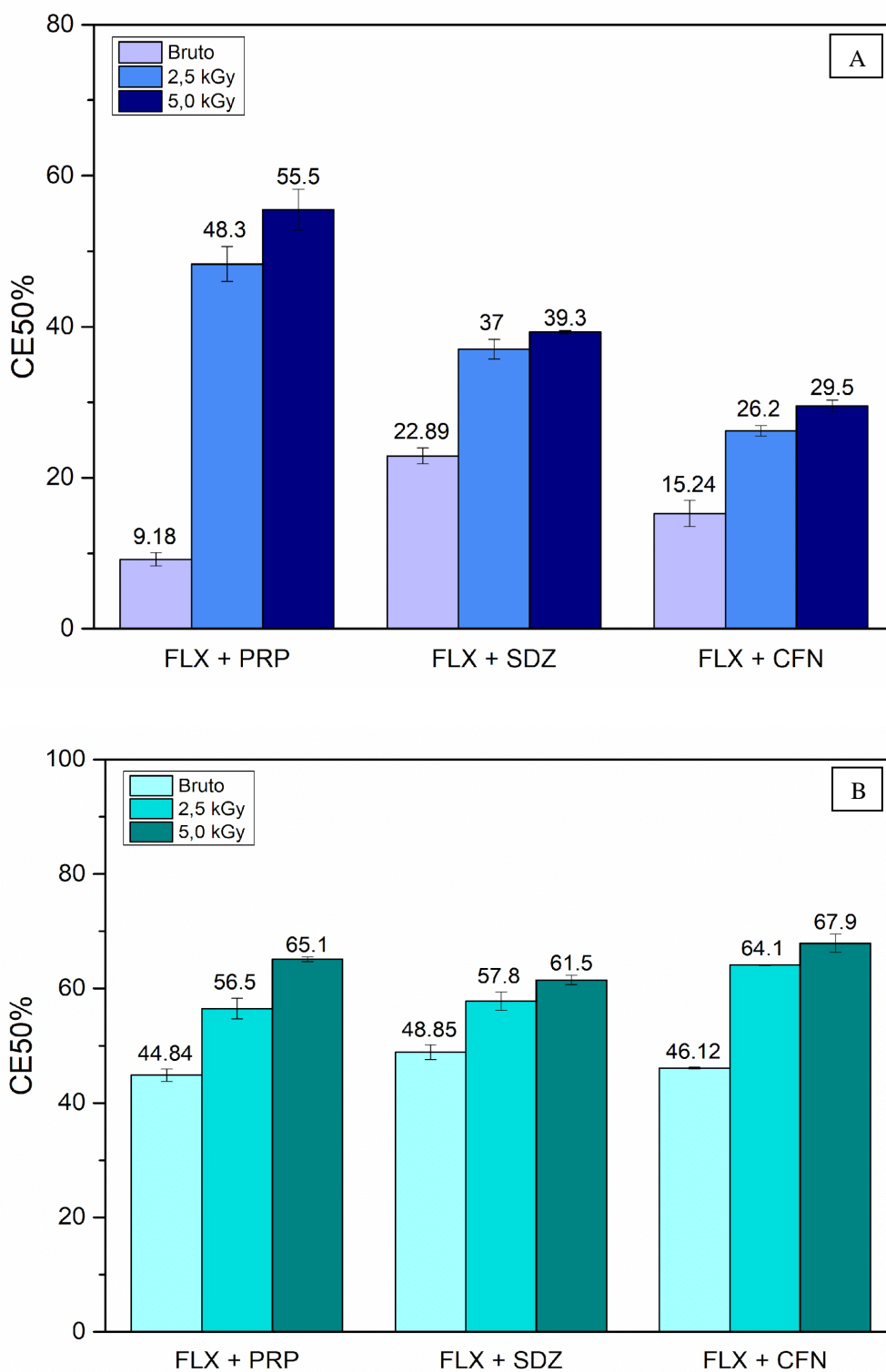
Fonte: autora da tese.

Tabela 11 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas binárias, em *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{15min} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol				
0,0	1	45,62 (36,69-56,72)	2,19	-
	2	44,05 (25,93-74,83)	2,27	-
	X ± S	44,84 ± 1,11	2,23 ± 0,06	-
2,5	1	55,21 (38,44-79,31)	1,81	18,80
	2	57,73 (23,17-83,53)	1,73	22,40
	X ± S	56,50 ± 1,80	1,77 ± 0,10	20,60 ± 2,50
5,0	1	65,43 (42,54-100,63)	1,53	31,50
	2	64,82 (37,02-113,50)	1,54	30,90
	X ± S	65,10 ± 0,40	1,50 ± 0,01	31,20 ± 0,50
Fluoxetina + Sulfadiazina				
0,0	1	47,94 (34,40-66,81)	2,09	-
	2	49,75 (31,46-78,65)	2,01	-
	X ± S	48,85 ± 1,28	2,05 ± 0,05	-
2,5	1	58,95 (46,18-75,25)	1,70	17,2
	2	56,67 (33,54-95,75)	1,76	13,8
	X ± S	57,8 ± 1,6	1,73 ± 0,0	15,5 ± 2,4
5,0	1	62,02 (46,84-73,42)	1,61	21,3
	2	60,91 (41,84-88,65)	1,64	19,8
	X ± S	61,5 ± 0,0	1,6 ± 0,0	20,6 ± 1,0
Fluoxetina + Cafeína				
0,0	1	46,24 (29,39-72,75)	2,16	-
	2	46,00 (37,13-56,98)	2,17	-
	X ± S	46,12 ± 0,17	2,17 ± 0,01	-
2,5	1	64,21 (45,88-89,87)	1,56	28,2
	2	64,03 (46,45-79,19)	1,56	28,0
	X ± S	64,1 ± 0,1	1,56 ± 0,0	28,1 ± 0,1
5,0	1	69,02 (56,24-91,48)	1,45	33,2
	2	66,75 (54,58-81,64)	1,50	30,9
	X ± S	67,9 ± 1,6	1,5 ± 0,0	32,0 ± 1,6

Fonte: autora da tese

Figura 15 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) *D. similis* e B) *V. fischeri*, expostos aos compostos farmacêuticos isolados, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.



Fonte: autora da tese.

A mistura binária de FLX + PRP foi três vezes mais tóxica para *D. similis*, quando comparada à mistura de FLX + SDZ. Quanto aos resultados de toxicidade aguda das misturas para *V. fischeri*, os valores de CE50% foram próximos nas três diferentes misturas em estudo, cerca de 45%. As três misturas binárias conferiram maior toxicidade para *D. similis*.

Quanto a eficiência de remoção da toxicidade, a mistura binária dos fármacos FLX + PRP, apresentou maior redução da toxicidade para *D. similis*, cerca de 80%, quando comparada a *V. fischeri*, cerca de 20 a 30%, em ambas as doses aplicadas de 2,5 e 5,0 kGy. A mistura binária dos fármacos FLX + SDZ apresentou valores de eficiência de remoção da toxicidade em torno de 40% nos ensaios com *D. similis*, e 20% nos ensaios com *V. fischeri*. Nos resultados de FLX + CFN, os valores apresentados de eficiência de remoção da toxicidade foram em torno de 45% para *D. similis* e 30% para *V. fischeri*, nas doses aplicadas.

5.3.2 Misturas ternárias

Os valores determinados para as misturas ternárias foram representados quanto à concentração efetiva mediana (CE50%), unidade tóxica (UT) e eficiência de remoção da toxicidade (%), bem como seus intervalos de confiança (Tabelas 12 e 13).

Na Figura 16, foram compilados os resultados quanto à CE50% dos ensaios das misturas ternárias dos compostos farmacêuticos, sendo elas: Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina e Fluoxetina + Propranolol + Cafeína; tendo como organismos teste *D. similis* e *V. fischeri*.

Tabela 12 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas ternárias, em *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina				
0,0	1	9,06 (7,43-11,04)	11,04	-
	2	9,83 (7,98-12,10)	10,17	-
	X ± S	9,45 ± 0,54	10,61 ± 0,61	-
2,5	1	39,23 (35,12-43,82)	2,55	76,0
	2	40,56 (36,47-45,11)	2,47	76,8
	X ± S	39,9 ± 0,9	2,51 ± 0,1	76,4 ± 0,6
5,0	1	42,04 (36,76-48,08)	2,38	77,60
	2	44,04 (39,06-49,68)	2,27	78,60
	X ± S	43,0 ± 1,4	2,3 ± 0,1	78,1 ± 0,7
Fluoxetina + Propranolol + Cafeína				
0,0	1	7,93 (5,95-10,56)	12,61	-
	2	7,89 (6,13-10,14)	12,67	-
	X ± S	7,91 ± 0,03	12,64 ± 0,05	-
2,5	1	39,28 (35,12-43,82)	2,55	79,9
	2	42,04 (36,76-48,08)	2,38	81,2
	X ± S	40,7 ± 2,0	2,46 ± 0,1	80,5 ± 0,9
5,0	1	44,81 (37,77-53,16)	2,23	82,3
	2	40,61 (35,88-45,97)	2,46	80,5
	X ± S	42,7 ± 3,0	2,3 ± 0,2	81,4 ± 1,3

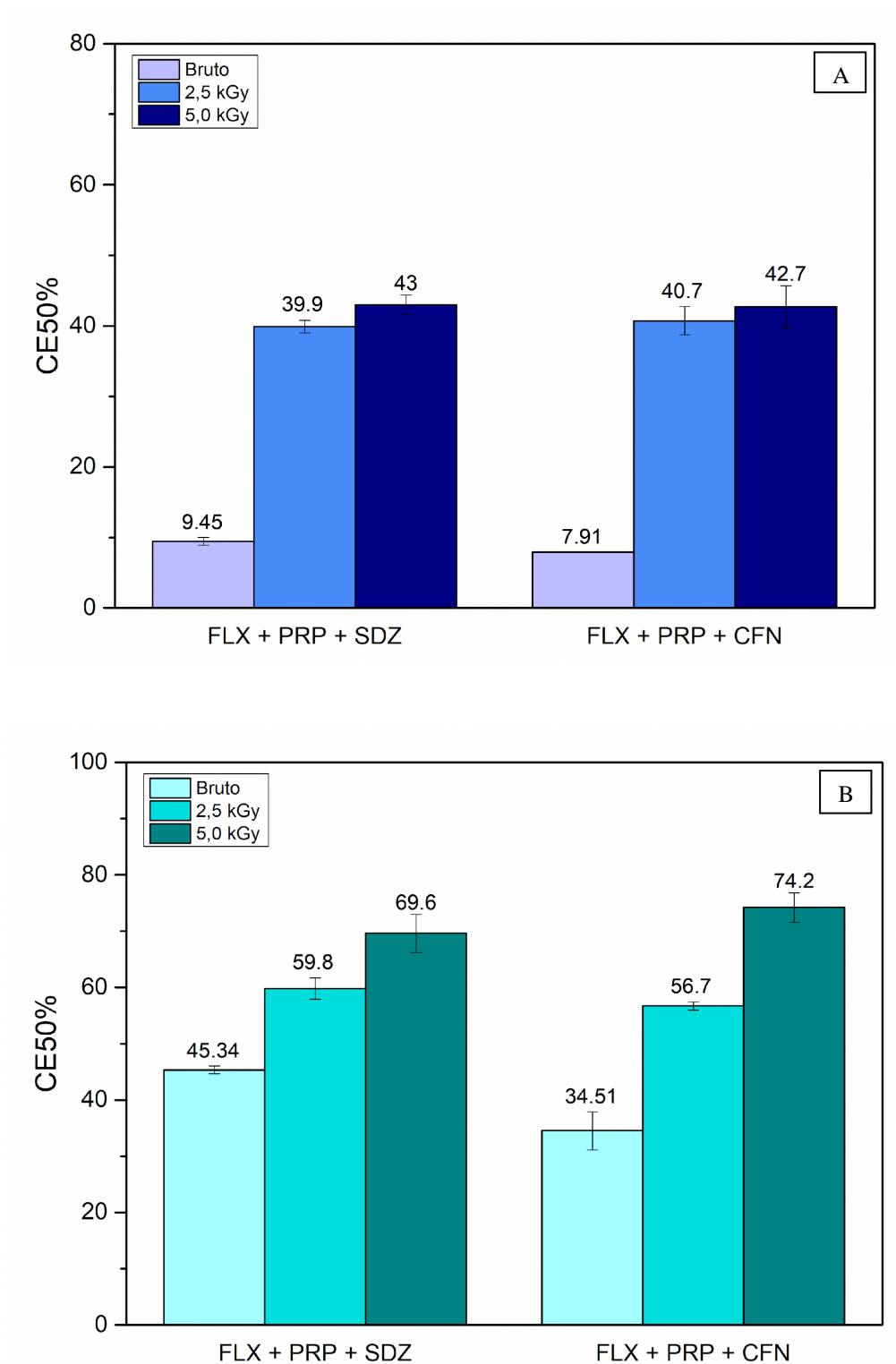
Fonte: autora da tese.

Tabela 13 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para as misturas ternárias, em *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{15min} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina				
0,0	1	44,84 (29,84-67,40)	2,23	-
	2	45,84 (35,49-59,21)	2,18	-
	X ± S	45,34 ± 0,71	2,21 ± 0,03	-
2,5	1	61,09 (40,42-92,31)	1,64	25,8
	2	58,45 (51,06-66,90)	1,71	22,4
	X ± S	59,8 ± 1,9	1,67 ± 0,1	24,1 ± 2,4
5,0	1	71,95 (54,76-94,53)	1,39	37,0
	2	67,19 (47,27-95,50)	1,49	32,5
	X ± S	69,6 ± 3,4	1,4 ± 0,1	34,8 ± 3,2
Fluoxetina + Propranolol + Cafeína				
0,0	1	36,92 (30,08-45,31)	2,71	-
	2	32,09 (16,02-64,25)	3,12	-
	X ± S	34,51 ± 3,42	2,91 ± 0,29	-
2,5	1	57,18 (47,58-68,71)	1,75	40,0
	2	56,24 (22,52-64,42)	1,78	38,9
	X ± S	56,7 ± 0,7	1,76 ± 0,0	39,4 ± 0,7
5,0	1	72,31 (58,49-89,39)	1,38	52,5
	2	76,02 (54,86-95,35)	1,32	54,8
	X ± S	74,2 ± 2,6	1,3 ± 0,0	53,7 ± 1,6

Fonte: autora da tese.

Figura 16 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) *D. similis* e B) *V. fischeri*, expostos as misturas ternárias, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.



Fonte: autora da tese

As misturas ternárias foram mais tóxicas para o organismo *D. similis* do que para *V. fischeri*, sendo mais tóxicas na presença de Cafeína do que na presença de Sulfadiazina. O tratamento proposto para a redução da toxicidade das misturas de fármacos foi eficaz em todas as amostras em estudo.

Nas misturas ternárias, o percentual de remoção de toxicidade foi maior nos ensaios com *D. similis*, com valores em torno de 80% de eficiência de remoção da toxicidade, em ambas as doses aplicadas, quando comparado aos ensaios com *V. fischeri*, com valores em torno de 40% e 45%, nas doses aplicadas de 2,5 e 5,0 kGy, respectivamente.

5.3.3 Mistura quaternária

Os valores determinados para a mistura quaternária foram representados quanto à concentração efetiva mediana (CE50%), unidade tóxica (UT) e eficiência de remoção da toxicidade (%) (Tabelas 14 e 15). Na Figura 17, foram compilados os resultados quanto à CE50% dos ensaios realizados a partir da mistura quaternária, com exposição dos organismos teste *D. similis* e *V. fischeri*.

Tabela 14 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para a mistura quaternária, em *D. similis*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina + Cafeína				
0,0	1	8,98 (6,65-12,13)	11,14	-
	2	12,17 (9,76-15,19)	8,22	-
	X ± S	10,58 ± 2,26	9,68 ± 2,06	-
2,5	1	17,14 (15,38-19,09)	5,83	39,7
	2	16,46 (15,22-17,20)	6,08	37,2
	X ± S	16,8 ± 0,5	5,95 ± 0,2	38,5 ± 1,8
5,0	1	25,62 (21,48-30,57)	3,90	59,7
	2	22,71 (18,99-27,16)	4,40	54,5
	X ± S	24,2 ± 2,10	4,20 ± 0,4	57,1 ± 3,7

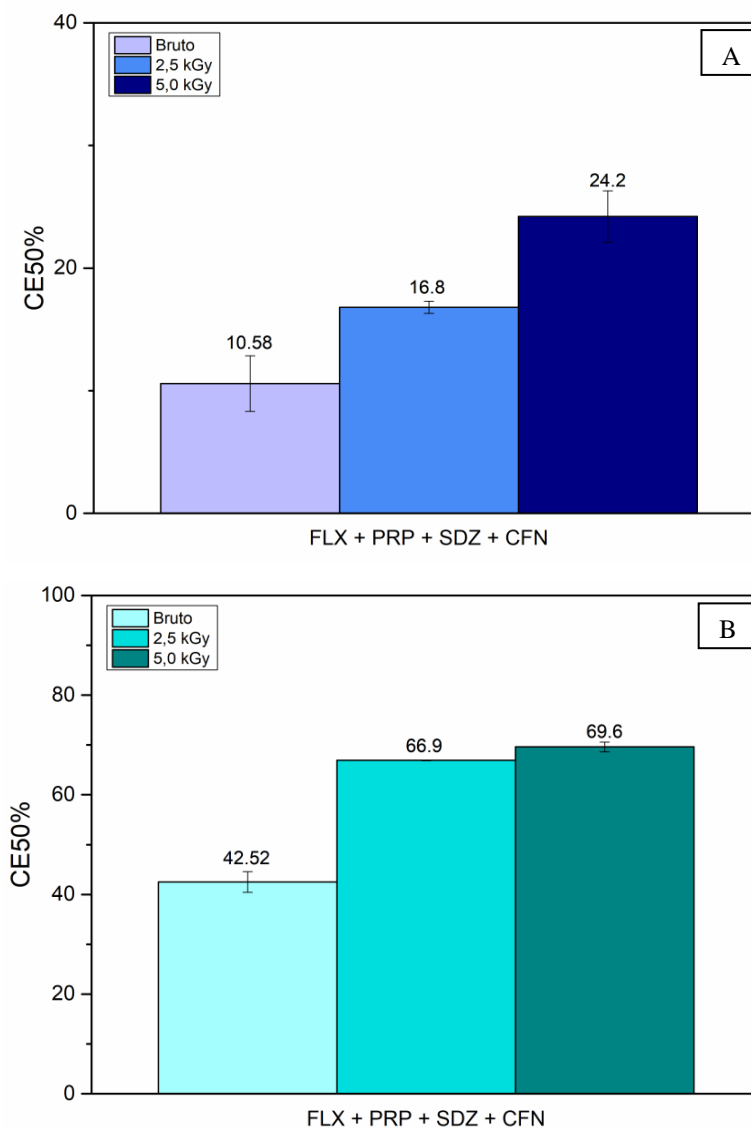
Fonte: autora da tese.

Tabela 15 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), unidades tóxicas (UT) e eficiência do tratamento proposto em função da dose de radiação aplicada para a mistura quaternária, em *V. fischeri*.

Doses (kGy)	Ensaio	CE50 _{48h} (%)	UT	Eficiência (%)
Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina + Cafeína				
0,0	1	43,99 (31,81-60,81)	2,27	-
	2	41,04 (29,83-56,46)	2,44	-
	X ± S	42,52 ± 2,09	2,35 ± 0,12	-
2,5	1	66,82 (49,02-91,06)	1,50	36,5
	2	66,92 (47,89-93,50)	1,49	36,5
	X ± S	66,9 ± 0,1	1,50 ± 0,0	36,5 ± 0,1
5,0	1	68,85 (54,42-87,09)	1,45	38,3
	2	70,29 (49,35-100,11)	1,42	39,6
	X ± S	69,6 ± 1,0	1,4 ± 0,0	39,0 ± 0,9

Fonte: autora da tese.

Figura 17 - Concentrações de efeito mediano (CE50%), obtidas a partir de ensaios de toxicidade com: A) *D. similis* e B) *V. fischeri*, expostos a mistura quaternária, antes e após a irradiação por feixe de elétrons.



Fonte: autora da tese.

A mistura quaternária, também foi mais tóxica para *D. similis* do que para *V. fischeri*, evidenciando assim que o microcrustáceo é um organismo mais sensível aos possíveis efeitos tóxicos dos compostos farmacêuticos em estudo. Quando aplicada a irradiação por feixe de elétrons, a mesma se mostrou eficaz na redução da toxicidade dos compostos farmacêuticos, em ambas as doses aplicadas de 2,5 e 5,0 kGy.

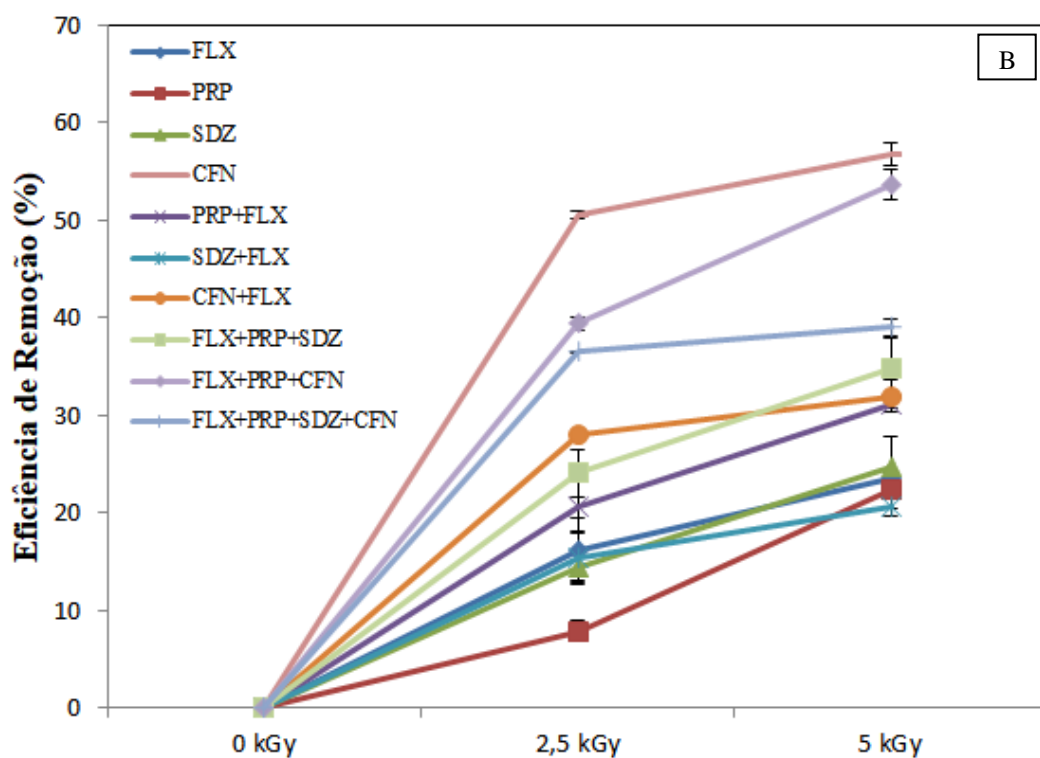
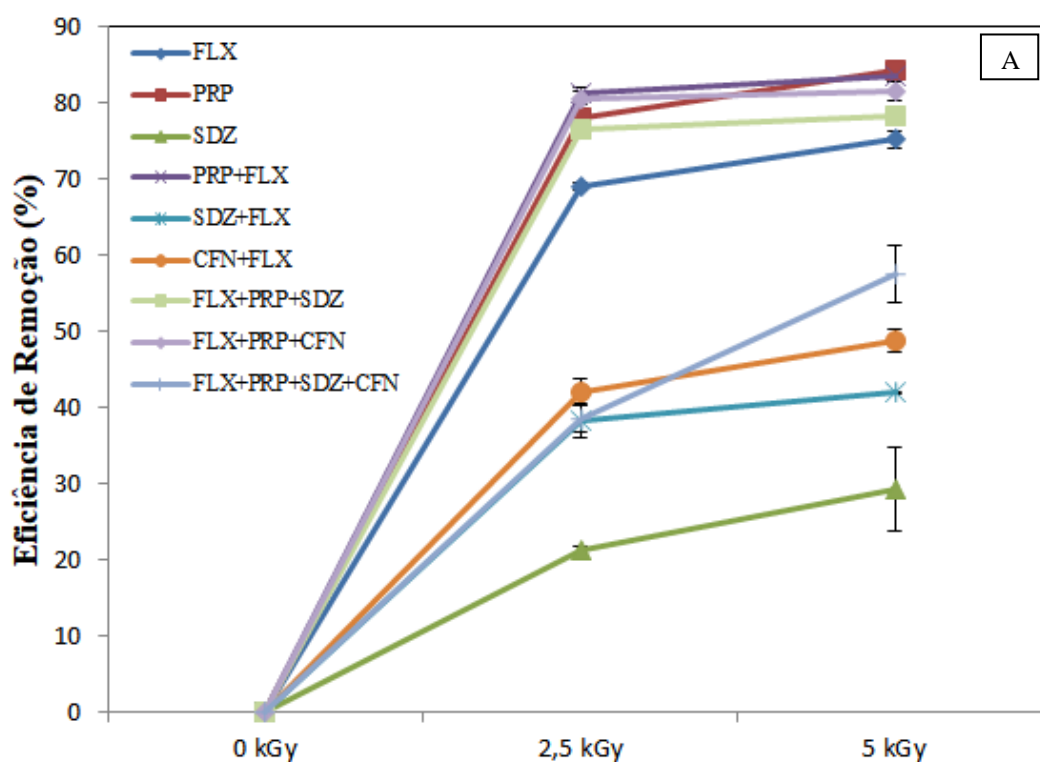
Apesar da mistura quaternária ter se mostrado mais tóxica para *D. similis*, os valores de remoção da toxicidade dessa mistura foram semelhantes nos ensaios para ambos os organismo testes, chegando a 40% de eficiência de remoção da toxicidade, nas amostras irradiadas com 2,5 kGy. Na dose de 5,0 kGy, os valores observados foram de 60% de redução da toxicidade nos ensaios com *D. similis*, versus 40% nos ensaios com *V. fischeri*.

5.4 Eficiência de remoção da toxicidade

Na Figura 18, foram comparadas as eficiências de remoção da toxicidade de todos os compostos em estudo, bem como suas misturas. Para o organismo teste *D. similis*, verificamos uma tendência, onde o Propranolol foi o fármaco que apresentou valores maiores de redução da toxicidade, seguido de sua mistura com a Fluoxetina. As misturas ternárias também apresentaram alta eficiência de remoção da toxicidade. O antibiótico Sulfadiazina foi o composto que apresentou menor redução da toxicidade.

A Cafeína não apresentou redução da toxicidade nos ensaios com *D. similis*, porém nos ensaios com *V. fischeri*, foi o destaque, com a melhor eficiência de remoção da toxicidade, seguida da mistura ternária que continha a mesma, evidenciando assim a importância dos ensaios de toxicidade com organismo de níveis tróficos distintos.

Figura 18 - Eficiência de remoção da toxicidade dos compostos farmacêuticos isolados e combinados em misturas, nas doses de 2,5 e 5,0 kGy, nos ensaios realizados com os organismos teste: A) *D.similis* e B) *V. fischeri*.



Fonte: autora da tese.

Sendo assim, fica evidenciado que o tratamento por feixe de elétrons é uma tecnologia eficaz na redução da toxicidade de compostos farmacêuticos isolados e combinados em misturas, ainda que em doses baixas, como aquelas que foram utilizadas neste trabalho. Em aplicações ambientais o acelerador de elétrons parece ser a melhor opção entre os irradiadores, e essa tecnologia vem sendo desenvolvida como um tratamento avançado que pode ser aplicado como complemento ao tratamento de águas e efluentes.

Os POAs compreendem os aceleradores de elétrons, que podem ser aplicados à degradação de resíduos de fármacos, tanto na saída das ETEs quanto em etapas finais do processo de tratamento de água. Em efluentes de ETEs, a remoção desses resíduos evitaria a contaminação de águas superficiais por essa fonte e, conseqüentemente, os efeitos em organismos aquáticos seriam minimizados. Por outro lado, a água captada para tratamento em ETAs, que podem estar contaminadas por resíduos de fármacos provenientes de outras fontes, como esgoto doméstico *in natura* e efluente rural, após passar pelos processos convencionais de tratamento poderia ser submetida a um processo oxidativo combinado, para a remoção dos compostos orgânicos presentes, inclusive os resíduos farmacêuticos. Dessa forma, esses resíduos não estariam presentes na água potável evitando possíveis efeitos prejudiciais à saúde humana (MELO et al., 2009).

Trabalhos pioneiros sobre as aplicações da radiação ionizante no tratamento de águas datam da década de 50, nesta época as fontes de radiação gama eram mais empregadas. Atualmente são utilizados preferencialmente os aceleradores de elétrons para o tratamento de águas e efluentes, baseado no estágio atual da tecnologia e de sua versatilidade (SILVA et al., 2016).

Diversos autores obtiveram bons resultados com doses iguais ou menores que 5,0 kGy, na redução da toxicidade de amostras de fármacos (HOMLOK et al., 2011; SILVA et al., 2016; TEGSE, et al., 2018; TOMINAGA et al., 2018; 2021; BOIANI et al., 2019, 2021).

SILVA et al. (2016) obtiveram mais de 90% de degradação para o Cloridrato de Fluoxetina em doses de 0,5 kGy e identificações abaixo do limite de detecção (0,012 mg.L⁻¹), em doses maiores que 2,5 kGy. Os resultados de toxicidade para *D. similis* demonstraram aproximadamente 87% de redução de efeitos agudos, enquanto para *V. fischeri* foi observado redução de aproximadamente 10%. TOMINAGA et al. (2018) observaram a completa degradação do Diclofenaco na presença do antidepressivo

Fluoxetina, em doses de 5,0 kGy com aproximadamente 65% de redução de toxicidade para *V. fischeri*. BOIANI et al. (2019) demonstraram uma significativa redução da toxicidade, na dose de 5,0 kGy para o fármaco Propranolol e sua mistura com Fluoxetina. Aproximadamente 80% de eficiência de remoção da toxicidade foi alcançada para o Propranolol e sua mistura, em experimentos com *D. similis*; e 20% com *V. fischeri*. TOMINAGA et al. (2021) indicou que 98% do fármaco Aspirina® foi degradado na dose de 5,0 kGy, já para a mistura dos fármacos Aspirina + Fluoxetina foi atingida a degradação completa.

HOMLOK et al. (2011) recomenda a dose de 1 kGy como suficiente para a desinfecção e eliminação de vestígios farmacêuticos em efluentes de ETEs. TEGZE et al. (2018) apontaram a dose de 2 kGy como suficiente na degradação das moléculas dos antibióticos Norfloxacin e Ciprofloxacina. Nos ensaios com a bactéria *V. fischeri*, a toxicidade aumentou em baixas doses, indicando que os produtos de degradação foram mais tóxicos que as moléculas iniciais.

Os resultados destes estudos evidenciaram que o tratamento com radiação ionizante, combinado com o sistema convencional de tratamento de esgoto, pode melhorar consideravelmente a qualidade do efluente (TEGZE et al., 2018). A irradiação pode aumentar a biodegradabilidade e diminuir significativamente a descarga de contaminantes nocivos nas ETEs. A técnica de radiação ionizante combinada é uma opção potencial para águas residuárias contendo antibióticos, pois diminui a resistência microbiana, podendo ser mais eficaz do que o tratamento biológico (CHU et al., 2021).

5.5 Análises físico-químicas

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos como pH, OD na água e condutividade, mensurados em diluições de amostras empregadas nos ensaios ecotoxicológicos foram dispostos na Tabela 16. Esses dados foram apresentados detalhadamente no Apêndice C.

A média dos valores de pH nas diferentes amostras variou entre 5,05 e 7,93, fato esse explicado pela redução do pH em função do aumento da dose de radiação absorvida, uma vez que a irradiação de substâncias orgânicas gera a formação de ácidos orgânicos provenientes da degradação dos compostos farmacêuticos. De acordo com a resolução CONAMA 430/2011 os valores permissíveis de pH em amostras de efluentes

devem estar entre 5,0 e 9,0, desta forma, os valores obtidos neste estudo, para as amostras estão de acordo com a legislação vigente.

Em relação ao OD, a variação foi entre 6,8 e 7,7 mg.L⁻¹, não havendo diferença significativa entre as amostras, sendo esses valores adequados para ensaios ecotoxicológicos exigidos pelas normas de cultivo, onde valores de OD em águas naturais não devem ser inferiores a 5,0 mg.L⁻¹ (CONAMA 357/2005).

Quanto à condutividade, foi possível notar um aumento nos valores diretamente proporcional ao aumento das doses de radiação ionizante aplicadas. Este parâmetro é relacionado à capacidade da água em conduzir corrente elétrica, desta forma a produção de moléculas ionizadas formadas a partir da irradiação, favorece o aumento da condutividade.

Tabela 16 - Parâmetros físico-químicos mensurados nas amostras.

Composto	Dose (kGy)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS.cm ⁻¹)
Fluoxetina	0	7,93 ± 0,2	7,2 ± 0,2	91,3 ± 6,8
	2,5	5,69 ± 0,1	7,3 ± 0,4	94,2 ± 16,9
	5,0	5,41 ± 0,5	7,4 ± 0,1	124,0 ± 5,7
Propranolol	0	7,82 ± 0,2	7,2 ± 0,1	96,3 ± 13,9
	2,5	5,45 ± 0,0	7,0 ± 0,4	101,2 ± 8,3
	5,0	5,66 ± 0,2	6,8 ± 0,5	128,4 ± 5,2
Sulfadiazina	0	6,43 ± 0,1	7,7 ± 0,1	16,7 ± 2,4
	2,5	5,44 ± 0,2	7,4 ± 0,6	17,7 ± 3,5
	5,0	5,28 ± 0,1	7,5 ± 0,1	18,0 ± 0,6
Cafeína	0	7,31 ± 0,3	7,4 ± 0,4	77,1 ± 2,8
	2,5	5,41 ± 0,2	7,3 ± 0,0	81,4 ± 1,1
	5,0	5,45 ± 0,6	7,4 ± 0,3	87,5 ± 1,2
FLX+PRP	0	6,44 ± 0,5	7,7 ± 0,2	100,4 ± 6,8
	2,5	5,27 ± 0,2	7,5 ± 0,2	107,0 ± 3,7
	5,0	5,08 ± 0,1	7,4 ± 0,1	108,4 ± 22,9
FLX+SDZ	0	6,63 ± 0,1	7,6 ± 0,0	92,5 ± 0,5
	2,5	5,63 ± 0,2	7,5 ± 0,0	98,1 ± 12,7
	5,0	5,27 ± 0,1	7,2 ± 0,1	110,7 ± 15,9
FLX+CFN	0	7,46 ± 0,3	7,7 ± 0,7	94,3 ± 3,1
	2,5	5,30 ± 0,1	7,1 ± 0,1	95,3 ± 2,8
	5,0	5,05 ± 0,0	7,1 ± 0,1	95,5 ± 1,6
FLX+PRP+SDZ	0	6,47 ± 0,2	7,5 ± 0,0	97,3 ± 0,9
	2,5	5,26 ± 0,3	7,2 ± 0,2	113,2 ± 15,6
	5,0	5,27 ± 0,3	7,5 ± 0,1	115,2 ± 10,3
FLX+SDZ+CFN	0	6,35 ± 0,2	7,6 ± 0,3	101,5 ± 6,8
	2,5	5,17 ± 0,1	7,7 ± 0,0	102,0 ± 0,3
	5,0	5,06 ± 0,1	7,2 ± 0,1	105,6 ± 4,5
FLX+PRP+SDZ+CFN	0	6,05 ± 0,0	7,5 ± 0,0	94,1 ± 2,8
	2,5	5,61 ± 0,2	7,3 ± 0,0	95,4 ± 1,6
	5,0	5,43 ± 0,0	7,3 ± 0,0	103,8 ± 3,9

Fonte: autora da tese.

5.5.1 Carbono orgânico total

A fim de verificar a mineralização das amostras dos compostos farmacêuticos estudados, bem como de suas misturas combinadas, antes e após a irradiação por feixe de elétrons, foram realizadas as análises de Carbono Orgânico Total (COT). Os dados dos valores médios de COT (mg.L^{-1}) e de eficiência de remoção da toxicidade (%) das amostras brutas e irradiadas nas diferentes doses e combinações de mistura foram apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores de carbono orgânico total (COT) e eficiência de remoção (%) dos compostos farmacêuticos e misturas após a irradiação por feixe de elétrons.

Amostra	Dose (kGy)	COT (mg.L^{-1})	Eficiência (%)
Fluoxetina	0	12,61	-
	2,5	13,57	4,3
	5,0	14,10	6,3
Propranolol	0	50,65	-
	2,5	52,90	7,1
	5,0	54,06	10,6
Sulfadiazina	0	15,22	-
	2,5	23,38	34,9
	5,0	26,21	41,9
Cafeína	0	33,77	-
	2,5	35,33	4,4
	5,0	37,14	9,1
FLX+PRP	0	31,82	-
	2,5	32,19	1,1
	5,0	33,03	3,7
FLX+SDZ	0	19,42	-
	2,5	20,37	4,7
	5,0	20,84	6,8
FLX+CFN	0	24,19	-
	2,5	24,79	2,4
	5,0	26,89	10,0
FLX+PRP+SDZ	0	30,40	-
	2,5	32,43	6,3
	5,0	36,12	15,8
FLX+PRP+CFN	0	33,43	-
	2,5	34,09	1,9
	5,0	35,30	5,3
FLX+PRP+SDZ+CFN	0	34,15	-
	2,5	31,86	1,0
	5,0	31,54	7,6

Fonte: autora da tese.

Os resultados de COT para os compostos farmacêuticos indicaram valores de carbono orgânico em solução aquosa: $50,65 \text{ mg.L}^{-1}$ para a Fluoxetina, $33,77 \text{ mg.L}^{-1}$ para a Cafeína, $15,22 \text{ mg.L}^{-1}$ para a Sulfadiazina e $12,61 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Propranolol. Foram observadas eficiências de remoção de COT em torno de 10% para o Propranolol e Cafeína,

e em torno de 6% para a Fluoxetina, na dose de 5,0 kGy, indicando que não houve mineralização significativa das amostras irradiadas. Porém, para a Sulfadiazina, observamos valores de eficiência de remoção de COT de 40%.

Quanto às misturas dos compostos orgânicos, foram observadas eficiências de remoção de COT entre 5% e 10%, na dose de 5,0 kGy, para as misturas binárias e quaternária. A mistura ternária de FLX + PRP + CFN apresentou eficiência de remoção de COT de 15%, na dose de 5,0 kGy, sendo essa a melhor registrada dentre as misturas.

SILVA (2016) em seu trabalho apresentou a baixa mineralização do Cloridrato de Fluoxetina, com valores de remoção de COT de 22% na dose de 20 kGy. TOMINAGA (2018) verificou a eficiência de remoção de COT em apenas 2,29% para a amostra de mistura dos fármacos Fluoxetina + Diclofenaco, na dose de 7,5 kGy, quando trabalhou com essa mesma mistura, em concentração mais diluída, verificou valores de eficiência de remoção de COT de 33% em 7,5 kGy, demonstrando que as concentrações dos fármacos podem interferir na remoção de COT das amostras em estudo. TEGZE et al. (2018) demonstrou que 2 kGy não foi suficiente para induzir a mineralização de antibióticos, com valores de 25% e 10%, respectivamente para Ciprofloxacina e Norfloxacina, com 6 kGy, aumentou para 40% a eficiência de remoção de COT. HOMLOK et al. (2011) verificou baixa mineralização para o fármaco Diclofenaco. O processo de radiação ionizante apresenta alta eficiência na degradação das moléculas, mas baixa mineralização dos compostos orgânicos, sendo indicadas doses mais altas para a melhor eficiência de remoção de COT. (HOMLOK et al.; 2011; SILVA et al., 2016; TEGZE et al., 2018).

5.6 Degradação dos compostos farmacêuticos

5.6.1 Espectrofotometria UV-Vis

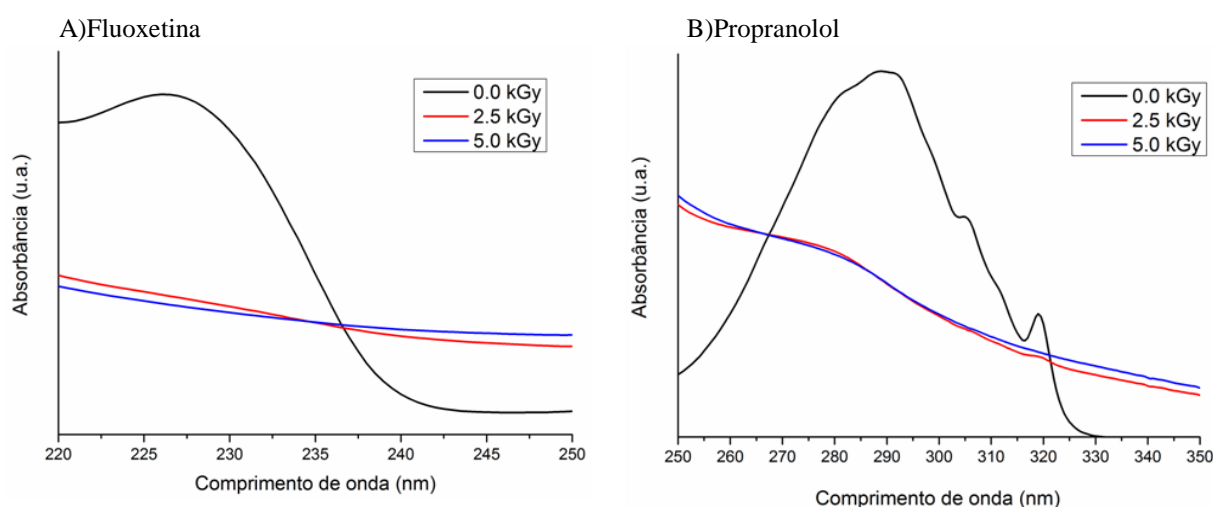
Os efeitos da irradiação por feixe de elétrons nas amostras de compostos farmacêuticos foram avaliados por espectrofotometria UV-Vis, a fim de detectar a possível degradação dos mesmos presentes nas amostras. A eficiência do processo na degradação dos compostos foi mensurada pela diferença dos picos característicos, identificados por meio das curvas obtidas pelo espectro UV-Vis de cada composto farmacêutico, para diferentes doses de irradiação.

Nas análises preliminares obtidas pelo espectro UV-Vis, verificou-se o pico de absorção característico da FLX no comprimento de onda de 226 nm (Figura 19A), e o do

PRP no comprimento de onda de 290 nm (Figura 19B). Após o processo de irradiação por feixe de elétrons, foi verificado o decaimento da absorvância no comprimento de onda característico do antidepressivo, acompanhado do aumento da absorvância em 237 nm. As doses aplicadas de 2,5 e 5,0 kGy levaram a uma degradação da FLX de 58,9 e 61,5%, respectivamente. Nas análises do PRP, foi possível verificar o mesmo comportamento, o decaimento da absorvância no comprimento de onda característico do β -bloqueador, com valores de 57,1 e 56,9 % de degradação do PRP nas doses aplicadas de 2,5 e 5,0 kGy, seguido pelo aumento da absorvância após o comprimento de onda de 320 nm, em relação à amostra bruta, indicando a possível formação de intermediários.

Em relação à Fluoxetina, SILVA et al. (2016) obtiveram degradação superior a 90% em dose de radiação de 0,5 kGy. Padrão semelhante foi relatado por SHAO et al. (2018) com degradação de 98% e TOMINAGA et al. (2021) com obtenção de concentrações abaixo do limite de detecção, para soluções irradiadas a 1 kGy. Em estudos de degradação de β -bloqueadores via processos oxidativos avançados, foi observada a degradação de 80% do Propranolol, por processo Foto-Fenton (BAYDUM et al., 2012). Resultados mostraram que os processos de ozonização e Fe^{2+} /ozonização foram eficientes na degradação de β -bloqueadores presentes em efluentes hospitalares, pois foram capazes de degradar os compostos originais, atingindo 30,6%/49,1% e 3,4%/77,9% de degradação para O_3 e $\text{Fe}^{2+}/\text{O}_3$, respectivamente (WILDE et al., 2014).

Figura 19 - Espectrofotometria UV-Vis dos compostos farmacêuticos: A) Fluoxetina; B) Propranolol, em função das doses de radiação aplicadas.

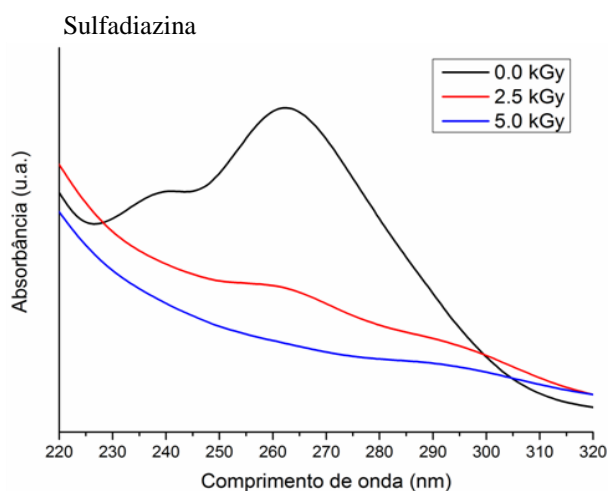


Fonte: autora da tese.

Em relação à SDZ, foi possível identificar as bandas de absorção característica em 240 e 258 nm, nas amostras brutas (Figura 20). Após o tratamento, houve o decaimento da absorbância, a partir do comprimento de onda de 230 nm, indicando que o processo de irradiação por feixe de elétrons foi eficiente na degradação do antibiótico, mesmo em doses baixas de 2,5 e 5,0 kGy, levando a degradação de 53,2 e 70,2%.

Trabalhos anteriores demonstraram que diferentes POAs foram eficientes para a remoção desse antibiótico. Reações de Fenton e foto-Fenton, desencadearam a degradação completa de SDZ em 8 h e 5 min de reação, respectivamente (CONDE-CID et al., 2021). LASTRE-ACOST et al. (2019), investigaram a dissipação de SDZ por meio de um processo foto-Fenton homogêneo, obtendo porcentagens de remoção de SDZ inferiores a 20% e 50%. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores, por meio de processo foto-Fenton homogêneo, porém na presença de luz UV, BATISTA et al. (2014) obtiveram a remoção completa de SDZ.

Figura 20 - Espectrofotometria UV-Vis do composto farmacêutico Sulfadiazina, em função das doses de radiação aplicadas.



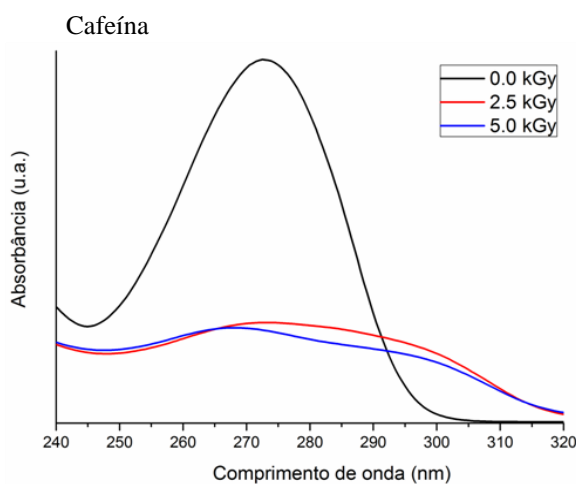
Fonte: autora da tese.

Nas análises por UV-Vis para CFN, foi possível identificar a banda de absorção características em 273 nm (Figura 21). Enquanto que após processo de irradiação por feixe de elétrons a mesma banda característica não foi identificada, evidenciando a degradação do composto após o processo, com valores de degradação de 72,3 e 74,5 %, nas doses 2,5 e 5,0 kGy, respectivamente. Cabe destacar, que houve aumento da absorbância após o comprimento de onda de 290 nm nas amostras irradiadas, o que indica

a formação de intermediários mais tóxicos do que o composto inicial, como mostra o aumento da toxicidade nos ensaios ecotoxicológicos para *D. similis* (Figura 14).

TORUN et al. (2014), estudaram a degradação de amostras de CFN, tratadas com ozônio e irradiação gama, onde a CFN foi completamente degradada com doses de 1,2 kGy e 3,0 kGy. A CFN foi completamente removida a 0,2 kGy, quando a solução passou por ozonização, identificando que soluções ozonizadas aumentam a eficiência de degradação da CFN. VIEIRA et al. (2020), observaram que 50% da concentração inicial de CFN já havia sido esgotada a 1 kGy de radiação gama.

Figura 21 - Espectrofotometria UV-Vis do composto farmacêutico Cafeína, em função das doses de radiação aplicadas.

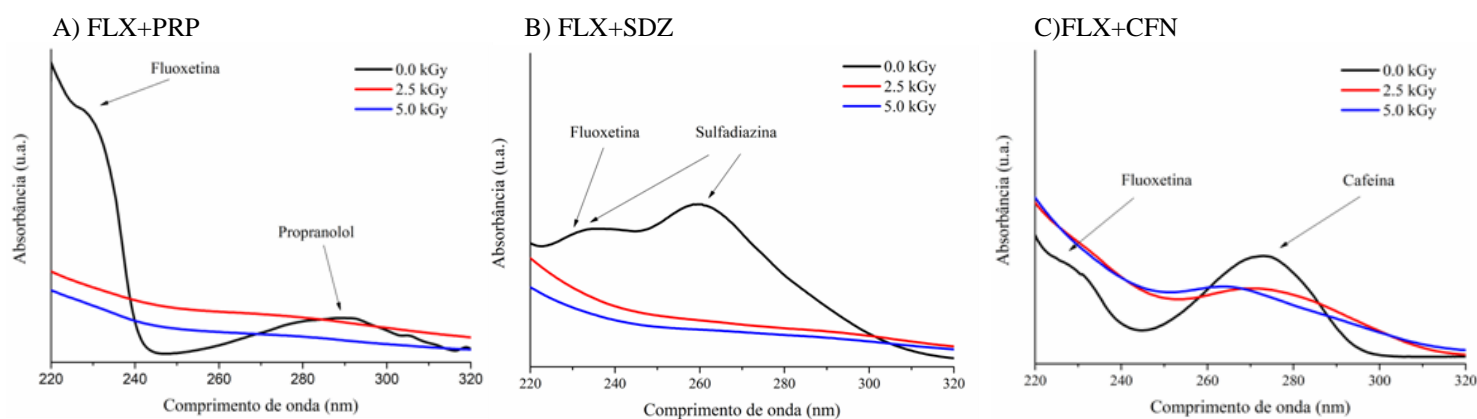


Os efeitos da irradiação por feixe de elétrons também foram avaliados por espectroscopia UV-Vis para a mistura dos compostos em estudo, a fim de verificar possíveis interações entre eles. Houve o decaimento da absorbância em todos os comprimentos de onda característicos dos compostos farmacêuticos, indicando assim que o processo foi eficiente na degradação dos produtos farmacêuticos, ainda que tenha sido observado o aumento da absorbância em comprimentos de onda não característicos aos fármacos, indicando a formação de produtos intermediários provenientes da radiólise da água, com estrutura alterada em relação ao composto inicial.

Na mistura binária de FLX+PRP (Figura 22A) houve o decaimento da absorbância nos comprimentos de onda característicos desses fármacos, porém foi possível notar uma diferença na eficiência de degradação do PRP, em relação ao fármaco isolado, quando este analisado em mistura com a FLX. Quanto à mistura binária de FLX+SDZ

(Figura 22B) também houve o decaimento da absorbância nos comprimentos de onda característicos desses fármacos, ainda que os picos de absorbância característicos da FLX e da SDZ se misturem, não foram notadas diferenças significativas entre as análises desses compostos isolados ou em mistura. Em relação à mistura binária de FLX+CFN (Figura 22C), foi observado o decaimento da absorbância no comprimento de onda característico apenas da CFN, ainda que com degradação menor do que a observada na análise do composto isolado. Já para FLX, não houve eficiência de degradação para o antidepressivo, indicando possível interferência da CFN no processo.

Figura 22 - Espectrofotometria UV-Vis das misturas binárias dos compostos farmacêuticos: A) FLX+PRP; B) FLX+SDZ; C) FLX+CFN, em função das doses de radiação aplicadas.



Fonte: autora da tese.

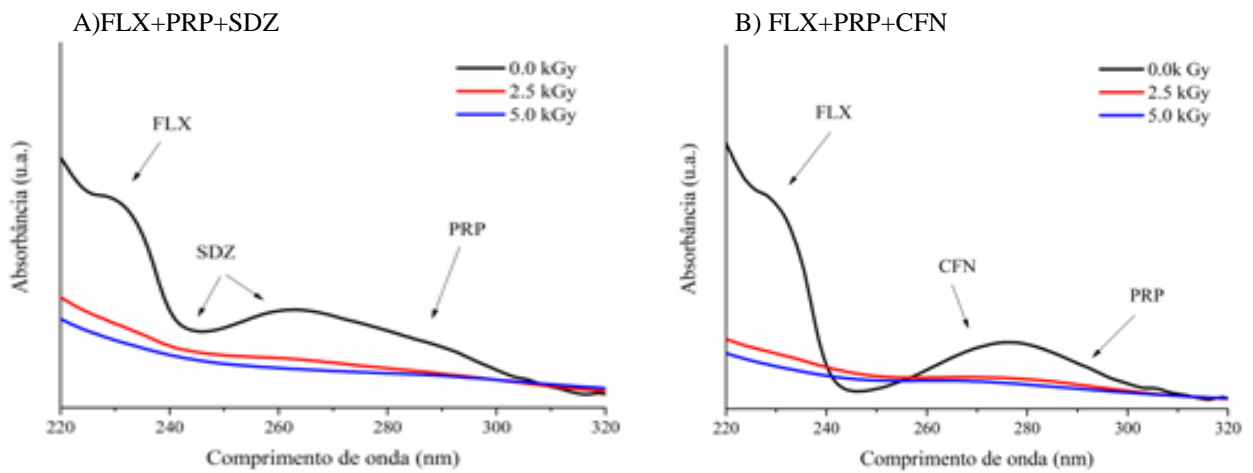
Nas análises de espectroscopia UV-Vis das misturas ternárias (Figura 23A e B) e da mistura quaternária (Figura 24) dos compostos farmacêuticos, observamos o decaimento da absorbância em todos os comprimentos de onda característicos dos compostos, ainda que alguns picos se misturem. A degradação dos compostos possivelmente é afetada pela interação entre eles, fato esse que pode ser observado ao se comparar comprimentos de onda diferentes evidenciados pelos picos de cada composto isolado com os das misturas, tanto em amostras brutas quanto irradiadas. Nesse sentido, cabe destacar, a necessidade de estudos complementares a fim de elucidar de forma mais precisa tais resultados obtidos.

A irradiação por feixe de elétrons resulta na radiólise da água, acarretando a produção de espécies de radicais altamente reativas, tais como o elétron aquoso (eaq), radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) e os átomos de hidrogênio ($\text{H}\bullet$), que interagem e promovem a oxidação, redução, dissociação ou degradação de vários poluentes orgânicos. Por meio do

variação 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, 2017).

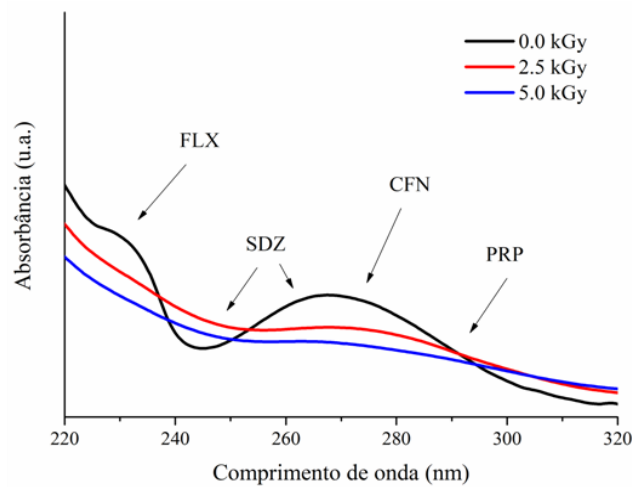
Amostras de águas residuárias de ETEs, contendo diferentes fármacos foram tratadas por feixe de elétrons e radiação gama, respectivamente. As concentrações de resíduos farmacêuticos apresentaram redução de 94% e 97% quando expostas a doses de 0,5 a 5,0 kGy (REINHOLDS et al., 2017).

Figura 23 - Espectrofotometria UV-Vis das misturas ternárias dos compostos farmacêuticos: A) FLX+PRP+SDZ; B) FLX+PRP+CFN, em função das doses de radiação aplicadas.



Fonte: autora da tese.

Figura 24 - Espectrofotometria UV-Vis da mistura quaternária dos compostos farmacêuticos.



Fonte: autora da tese.

5.7 Análises estatísticas

Pelo método ANOVA, foram verificadas as análises estatísticas de variância significativa entre os valores obtidos nos ensaios de toxicidade dos compostos farmacêuticos. Nas Tabelas 18-21, foram apresentados os valores de p-valor calculados, onde $p < 0,05$ indica que há variação significativa entre as médias.

Tabela 18 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras dos compostos farmacêuticos individuais, brutos e irradiados.

Organismo	Amostra	Níveis (kGy)	Estat F	P valor	Variação significativa
<i>D. similis</i>	Fluoxetina	0-2,5	-26,5	0,0007	Sim
		0-5,0	-36,07	0,0002	Sim
	Propranolol	0-2,5	-20,89	0,0033	Sim
		0-5,0	-31,68	0,0010	Sim
	Sulfadiazina	0-2,5	-4,79	0,0701	Não
		0-5,0	-7,415	0,0221	Sim
	Cafeína	0-2,5	10,17	0,0123	Sim
		0-5,0	12,16	0,0074	Sim
<i>V. fischeri</i>	Fluoxetina	0-2,5	-4,245	0,0211	Sim
		0-5,0	-,6815	0,0055	Sim
	Propranolol	0-2,5	-4,48	0,0840	Não
		0-5,0	-15	0,0030	Sim
	Sulfadiazina	0-2,5	-11,93	0,0323	Sim
		0-5,0	-23,51	0,0048	Sim
	Cafeína	0-2,5	-41,4	0,0005	Sim
		0-5,0	-53,51	0,0002	Sim

Fonte: autora da tese.

Tabela 19 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras das misturas binárias, brutas e irradiadas.

Organismo	Amostra	Níveis (kGy)	Estat F	P valor	Variação Significativa
<i>D. similis</i>	FXT + PRP	0-2,5	-39,13	0,0008	Sim
		0-5,0	-46,34	0,0005	Sim
	FXT + SDZ	0-2,5	-14,11	0,0014	Sim
		0-5,0	-16,46	0,0009	Sim
	FXT + CAF	0-2,5	-10,92	0,0044	Sim
		0-5,0	-14,72	0,0019	Sim
<i>V. fischeri</i>	FXT + PRP	0-2,5	-11,64	0,0052	Sim
		0-5,0	-20,29	0,0011	Sim
	FXT + SDZ	0-2,5	-8,965	0,0120	Sim
		0-5,0	-12,62	0,0045	Sim
	FXT + CAF	0-2,5	-18	0,0007	Sim
		0-5,0	-21,77	0,0004	Sim

Fonte: autora da tese.

Tabela 20 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras das misturas ternárias, brutas e irradiadas.

Organismo	Amostra	Níveis (kGy)	Estat F	P valor	Variação Significativa
<i>D. similis</i>	FXT + PRP + SDZ	0-2,5	-30,45	0,0001	Sim
		0-5,0	-33,6	0,0001	Sim
	FXT + PRP+CAF	0-2,5	-32,75	0,0011	Sim
		0-5,0	-34,8	0,0010	Sim
<i>V. fischeri</i>	FXT + PRP + SDZ	0-2,5	-14,43	0,0158	Sim
		0-5,0	-24,23	0,0036	Sim
	FXT + PRP+CAF	0-2,5	-22,21	0,0063	Sim
		0-5,0	-39,66	0,0012	Sim

Fonte: autora da tese.

Tabela 21 - Variação entre as médias de CE50 obtidas na exposição às amostras da mistura quaternária, brutas e irradiadas.

Organismo	Amostra	Níveis (kGy)	Estat F	P valor	Variação Significativa
<i>D. similis</i>	FXT + PRP + SDZ+CAF	0-2,5	-6,225	0,0788	Não
		0-5,0	-13,59	0,0096	Sim
<i>V. fischeri</i>	FXT + PRP + SDZ+CAF	0-2,5	-24,36	0,0008	Sim
		0-5,0	-27,06	0,0006	Sim

Fonte: autora da tese.

Em relação às análises estatísticas, os dados obtidos com *D. similis* e *V. fischeri*, resultaram em variação significativa entre as médias das amostras dos compostos farmacêuticos e suas misturas combinadas em pelo menos uma das doses de radiação utilizadas como tratamento, obtendo assim, uma redução significativa de toxicidade dos compostos farmacêuticos.

5.8 Carta controle de sensibilidade

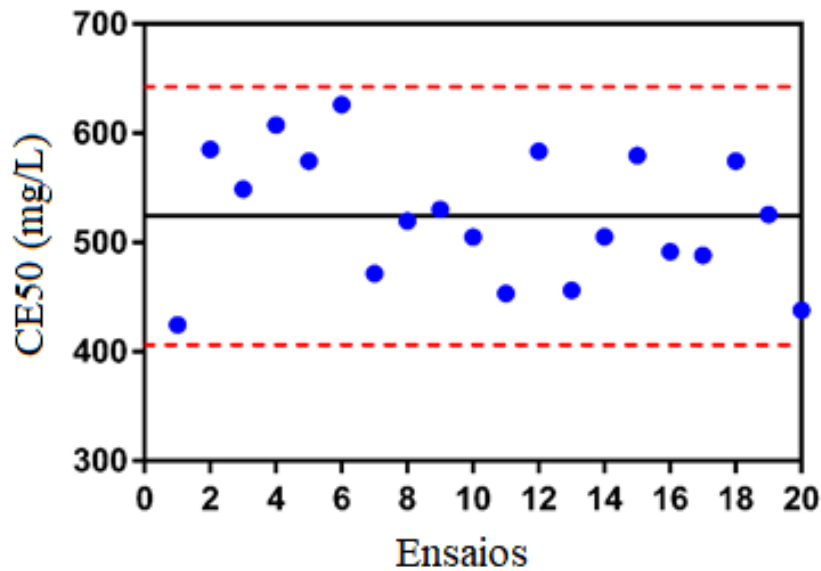
A fim de garantir a qualidade analítica e a validação dos resultados dos ensaios realizados neste trabalho, foram realizados ensaios mensais de sensibilidade com substância de referência KCL (Cloreto de Potássio) para o microcrustáceo *D. similis*, e com Fenol (C₆H₆O) para a bactéria *V. fischeri*.

As cartas controle foram elaboradas com base nos valores de Concentração Efeítva Mediana (CE50), sendo obtida a média, o desvio e o Coeficiente de Variação (CV), que são considerados válidos quando inferiores a 30% (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008) garantindo a confiabilidade dos ensaios nas amostras avaliadas. Os resultados das cartas controle foram apresentados nas Figuras 25 e 26, respectivamente.

Em relação aos ensaios de sensibilidade para *D. similis*, o valor médio da CE50

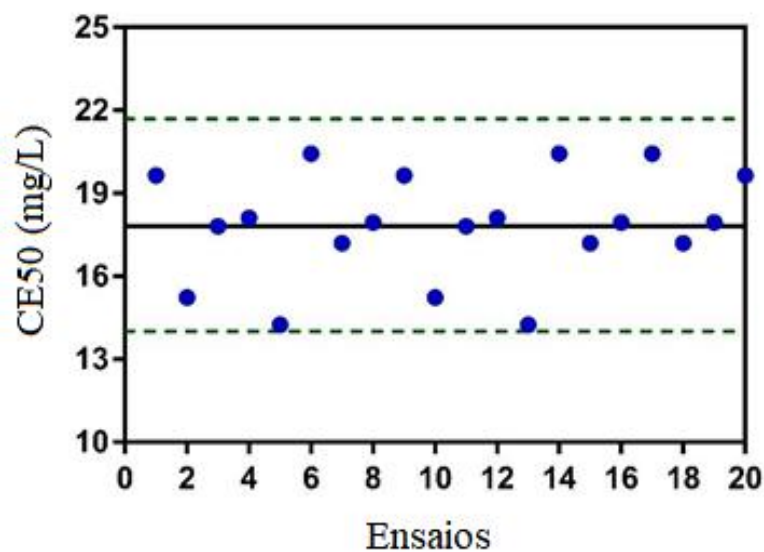
(mg.L^{-1}) foi de $524,39 \pm 59,05$ e o CV de 11,27%. Para *V. fischeri*, o valor médio da CE50 (mg.L^{-1}) foi de $17,82 \pm 1,93$ e CV de 10,83%. Sendo assim, podemos afirmar que todos os resultados dos ensaios estiveram dentro da faixa de sensibilidade, garantindo a confiabilidade dos ensaios e dos resultados de toxicidade para as amostras de compostos farmacêuticos analisados.

Figura 25 - Carta controle de sensibilidade do organismo *D. similis*.



Fonte: autora da tese.

Figura 26 - Carta controle de sensibilidade do organismo *V. fischeri*.



Fonte: autora da tese.

6 CONCLUSÕES

- Os resultados dos ensaios de ecotoxicidade para efeito agudo dos compostos farmacêuticos individuais evidenciaram a Fluoxetina como o produto farmacêutico mais tóxico para ambos os organismos expostos.

- O organismo teste *Daphnia similis* foi significativamente mais sensível para os fármacos Fluoxetina, Propranolol e Sulfadiazina do que para *Vibrio fischeri*, enquanto a Cafeína foi o produto farmacêutico menos tóxico aos organismos. Ainda assim, os resultados obtidos indicaram possível risco para a biota aquática quanto aos compostos farmacêuticos Propranolol e Cafeína.

- Com relação as análises preditivas das possíveis interações toxicológicas das misturas binárias dos compostos farmacêuticos, foi possível identificar o modelo de ação independente para a mistura binária de Fluoxetina + Propranolol, com efeito sinérgico. Para as misturas binárias de Fluoxetina + Sulfadiazina e Fluoxetina + Cafeína, o modelo de adição de concentração foi o que melhor descreveu os efeitos tóxicos dessas misturas, com antagonismo identificado para a mistura de Fluoxetina + Sulfadiazina e sinergismo para a mistura de Fluoxetina + Cafeína.

- A irradiação por feixe de elétrons mostrou-se um tratamento eficaz na redução da toxicidade dos compostos farmacêuticos estudados, tanto nas análises individuais, quanto combinados nas diferentes misturas.

- Apenas nos ensaios com Cafeína, aplicados ao organismo *Daphnia similis*, não foi possível verificar eficiência de remoção da toxicidade, sugerindo que o processo de irradiação por feixe de elétrons, acarretou na formação produtos de degradação com estrutura diferente do composto inicial e ainda mais tóxicos.

- Houve o decaimento da absorvância em todos os comprimentos de onda característicos aos compostos farmacêuticos estudados, indicando que o processo por irradiação foi eficiente na degradação dos mesmos, porém baixa eficiência de remoção de carbono orgânico total, indicando que não houve mineralização significativa das amostras irradiadas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Avaliar a toxicidade dos fármacos em diferentes misturas para organismos de diferentes níveis tróficos;
- ✓ Identificação dos subprodutos formados para os compostos isolados e para as misturas de fármacos;
- ✓ Aplicação de processos combinados, visando a eficácia da remoção de compostos orgânicos e da toxicidade;
- ✓ Propor a irradiação com feixe de elétrons no tratamento de amostras reais de indústrias farmacêuticas.

REFERÊNCIAS 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.

ADELEYE, A.S.; XUE, J.; ZHAO, Y.; TAYLOR, A.A.; ZENOBIO, J.E.; SUN, Y.; HAN, Z.; SALAWU, O.A.; ZHU, Y. Abundance, fate, and effects of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, v.424, p.127284, 2022.

ALDER, A.C.; SCHAFFNER, C.; MAJEWSKY, M.; KLASMEIER, J.; FENNER, K. Fate of β -blocker human pharmaceuticals in surface water: comparison of measured and simulated concentrations in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Water Research*, v.44, n.3, p.936–948, 2010.

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

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.

ASHFAQ, M.; NAWAZ KHAN, K.; SAIF UR REHMAN, M.; MUSTAFA, G.; FAIZAN NAZAR, M.; SUN, Q.; IQBAL, J.; MULLA, SIKANDAR. I.; YU, C.P. Ecological Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Receiving Environment of Pharmaceutical Wastewater in Pakistan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.136, p.31–39, 2017.

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 Technology*, v.158, p.383-386, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Ecotoxicologia aquática- **Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri***. ABNT NBR 15411, Rio de Janeiro, 2012.

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

AUS DER BEEK, T.; WEBER, F.A.; BERGMANN, A.; HICKMANN, S.; EBERT, I.; HEIN, A.; KÜSTER, A. Pharmaceuticals in the Environment--Global Occurrences and Perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.35, n.4, p.823–835, 2016.

AYMAN, Z.; ISIK, M. Pharmaceutically active compounds in water, Aksaray, Turkey. *Clean. - Soil, Air, Water*, v.43, p.1381-1388, 2015.

BARATA, C.; BAIRD, D.J.; NOGUEIRA, A.J.A.; SOARES, A.M.V.M.; RIVA, M.C. Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risk assessment. *Aquatic Toxicology*, v.78, n.1, p.1-14, 2006.

BANG, S.H.; AHN, J.Y.; HONG, N.H.; SEKHON, S.S.; KIM, Y.H.; MIN, J. Acute and chronic toxicity assessment and the gene expression of *Dhb*, *Vtg*, *Arnt*, *CYP4*, and *CYP314* in *Daphnia magna* exposed to pharmaceuticals. *Molecular and Cellular Toxicology*, v.11, p.153–160, 2015.

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.

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

BATISTA, A.P.S.; PIRES, F.C.C.; TEIXEIRA, A.C.S.C. Photochemical degradation of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine: relevance of concentration and heterocyclic aromatic groups to degradation kinetics. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, v. 286, p.40–46, 2021.

BAYDUM, V.; DANTAS, R.; TEIXEIRA, A.; PACHECO, J.; SILVA, V. Pré-tratamento de efluente de propranolol por processos de oxidação avançados. *Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry*, v.69, n.559, 2012.

BISOGNIN, R.P.; WOLFF, D.B.; CARISSIMI, E. Revisão sobre fármacos no ambiente. *Revista DAE*, v.66, n.210, p.78-95, 2018.

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

BOIANI, N.F. *Remoção da toxicidade do fármaco propranolol e de sua mistura com cloridrato de fluoxetina em solução aquosa empregando irradiação com feixe de elétrons*. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

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 Environmental Contamination*, v.14, n.1, p.53-58, 2019.

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.09 n.1A, 2021.

BORRELY, S.I.; SAMPA, M.H.O.; PEDROSO, C.B.; OIKAWA, H.; SILVEIRA, C.G.; CHERBAKIAN, E.H.; SANTOS, M.C.F. Radiation processing of wastewater evaluated by toxicity assays. *Radiation Physics and Chemistry*, v.57, p.507-511, 2000.

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

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

BORRELY, S.I.; MORAIS, A.V.; ROSA, J.M.; BADARÓ-PEDROSO, C.; PEREIRA, M.C.; HIGA, M.C. Decoloration and detoxification of effluents by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v.124, p.198-202, 2016.

BORRELY, S.I.; ROSA, J.M.; BOIANI, N.F.; GARCIA, V.S.G.; SOUSA, A.L. Emerging pollutants, related toxicity, and water quality decreasing: Tannery, textile, and pharmaceuticals load pollutants. *Biology, Engineering and Medicine*, v.3, p.1-6, 2018.

BORRELY, S.I.; SILVA, L.G.A.; DEL SOLE, S.V.; GARCIA, V.S.G.; BOIANI, N.F.; ROSA, J.M. Electron Beam Irradiation of textile effluents and no-ionic ethoxylated surfactant for toxicity and color removal. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, v.07-2A, p.01-10, 2019.

BRENNER, C.G.; MALLMANN, C.A.; ARSAND, D.R. MAYER, F.M.; MARTINS, A.F. Determinação de sulfametoxazol e trimetoprima e seus metabólitos em efluentes hospitalares. *Clean – Soil, Air, Water*, v.39, p.28–34, 2011.

BRODIN, T.; PIOVANO, S.; FICK, J.; KLAMINDER, J.; HEYNEN, M.; JONSSON, M. 2014. Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—impacts through behavioral alterations. *Philosophical Transactions*, v.369, n.1656: 20130580, 2014.

BRUTON, T., ALBOLOUSHI, A., DE LA GARZA, B., KIM, B.O., HALDEN, R.U. Fate of caffeine in the environment and ecotoxicological considerations, ACS Symposium Series. *American Chemical Society*, p.257-273, 2010.

BUERGE, I.J.; POIGER, T.; MÜLLER, M.D.; BUSER, H.R. Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. *Environmental Science Technology*, v.37, n.4, p.691–700, 2003.

CALISTO, V., ESTEVES, V.I. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere*, v.77, n.10, p.1257–1274, 2009.

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.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J.M.; LLOMPART, M.; GARCÍA-JARES, C.; RODRÍGUEZ, I.; GÓMEZ, M. TERNEZ, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, n.38, n.12, p.2918-26, 2004.

CASTIGLIONI, S.; BAGNATI, R.; FANELLI, R.; POMATI, F.; CALAMARI, D.; ZUCCATO, E. Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy. *Environmental Science Technology*, v.40, n.1, p.357-363, 2006.

CEDERGREEN, N.; KUDSK, P.; MATHIASSEN, S.K.; SØRENSEN, H.; STREIBIG, J.C. Reproducibility of binary-mixture toxicity studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, n. 1, p. 149-156, 2007.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Norma Técnica: Determinação da dureza total em águas – método titulométrico do EDTA: método de ensaio. 1992. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/serviços/normas/pdf/L5124.pdf>> Acesso em: 07 março 2022.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Norma Técnica: Qualidade das águas doce no Estado de São Paulo. Apêndice E Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade das Águas e dos Sedimentos e Metodologias Analíticas e de Amostragem. 2016. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2017/11/Ap%C3%AAndice-E-Significado-Ambiental-e-Sanit%C3%A1rio-das-Vari%C3%A1veis-de-Qualidade-2016.pdf>> Acesso em: 07 março 2022.

CHANG, J.; LV, B.; ZHU, S.; YU, J.; ZHANG, Y.; YE, D.; AZIZ, M. M.; YANG, C.; FANG, Y. Non Prescription Use of Antibiotics among Children in Urban China: A Cross-Sectional Survey of Knowledge, Attitudes, and Practices. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, v.16, n.2, p.163–172, 2018.

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.

CHEVALIER, J.; HARSCOET, E.; MERLIN, K.; PANDARD, P.; CACHOT, J.; GROTE, M. Exploration of *Daphnia* behavioral effect profiles induced by a broad range of toxicants with different modes of action. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.34, n.8, p.1760-1769, 2015.

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.

CHU, L.; WANG, J.; HE, S.; CHEN, C.; WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. Treatment of pharmaceutical wastewater by ionizing radiation: removal of antibiotics, antimicrobial resistance genes and antimicrobial activity. *Journal of Hazardous Materials*, v. 415, 125724, 2021.

CLEUVERS, M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*, v.142, n.3, p.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.

CONAMA-CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – Resolução nº357, de 17 de março de 2005.

CONAMA-CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – Resolução nº430, de 16 de maio de 2011.

CONDE-CID, M.; PAÍGA, P.; MOREIRA, M.M.; ALBERGARIA, J.T.; ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, E.; ARIAS-ESTÉVEZ, M.; DELERUE-MATOS, C. Sulfadiazine removal using green zero-valent iron nanoparticles: A low-cost and eco-friendly alternative technology for water remediation. *Environmental Research*. v.198, p.110451, 2021.

DE ORTE, M.R.; CARBALLEIRA, C.; VIANA, I. G.; CARBALLEIRA, A. Assessing the toxicity of chemical compounds associated with marine land-based fish farms: The use of mini-scale microalgal toxicity test. *Journal of Chemical Ecology*, v.29, n.6, p.554-563, 2013.

DE SOUSA, D.N.R.; MOZETO, A.A.; CARNEIRO, R.L.; FADINI, P.S. Electrical conductivity and emerging contaminants as markers of surface freshwater contamination by wastewater. *Science of The total environment*, v.484, p.19-26, 2014.

DI LORENZO, T.; CASTANO-SÁNCHEZ, A.; DI MARZIO, W.D.; GARCÍA-DONCEL, P.; MARTÍNEZ, L.M.; GALASSI, D.M.P.; IEPURE, S. The role of freshwater copepods in the environmental risk assessment of caffeine and propranolol mixtures in the surface water bodies of Spain. *Chemosphere*, v.220, p.227–236, 2019.

ESCHER, M.A.S.; AMÉRICO-PINHEIRO, J.H.P.; TORRES, N.H.; FERREIRA, L.F.R. A Problemática ambiental da contaminação dos recursos hídricos por fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Ambientais*, n.51, 2019.

EVGENIDOU, E.N.; KONSTANTINOY, I.K.; LAMBROPOULOU, D.A. Occurrence and Removal of Transformation Products of PPCPs and Illicit Drugs in Wastewaters: A Review. *Science of The Total Environment*, v.505, n.905–926, 2015.

FABBRI, E.; FRANZELLITTI, S. Human pharmaceuticals in the marine environment: Focus on exposure and biological effects in animal species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.35, n.4, p.799–812, 2016.

FENT, K.; WESTON, A.A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, v.76, n.122, 2006.

FILIP, J.; CAJTHAML, T.; NAJMANOVÁ, P.; CERNÍK, M.; ZBORIL, R. *Advanced nano-bio technologies for water and soil treatment*. Springer, 2020.

FORD, A.T.; HYETT, B.; CA, I.D.Y., MALYON, G. The effects of fluoxetine on attachment and writing behaviors in marine (*Gibbula umbilicalis*) and freshwater (*Lymnaea stagnalis*) gastropods. *Ecotoxicology*, v.27, p.477-484, 2018.

FRASCAROLI, G.; REID, D.; HUNTER, C.; ROBERTS, J.; HELWIG, K.; SPENCER, J.; ESCUDERO, A. Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Plants: A Systematic Review on the Substances of Greatest Concern Responsible for the Development of Antimicrobial Resistance *Applied Science*, v.11, 2021.

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

GARCIA, V.S.G.G. *Emprego de acelerador de elétrons para a redução da toxicidade de efluente têxtil e de produtos químicos aplicados durante o tingimento do algodão*. 2020. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

GARDNER, M.; COMBER, S.; SCRIMSHAW, M.D.; CARTMELL, E; LESTER, J.; ELLOR, B. The significance of hazardous chemicals in wastewater treatment works effluents. *Science of The Total Environment*, v.437, p.363–372, 2012.

GEIGER, E.; HORNEK-GAUSTERER, R.; SAÇAN, M.T. Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.129, p.189-98, 2016.

GODOY, A.A.; DOMINGUES, I.; CARVALHO, L.B.; OLIVEIRA, A.C.; AZEVEDO, C.C.J.; TAPARO, J.M.; ASSANO, P.K.; MORI, V.; HIDALGO, V.A.V.; NOGUEIRA, A.J.A.; KUMMROW, F. Assessment of the ecotoxicity of the pharmaceuticals bisoprolol, sotalol and ranitidine using standard and behavioral endpoints. *Environmental Science Pollution Research*, v. 27, p.5469–5481, 2020.

GOMES, L.P.; SCHOENELL, E.K. Application of ozone and ozone+hydrogen peroxide to remove recalcitrant compounds in landfill leachates. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.23, n.1, 2018.

GRIGORYAN, L.; GERMANOS, G.; ZOOROB, R.; JUNEJA, S.; RAPHAEL, J. L.; PAASCHE-ORLOW, M. K.; TRAUTNER, B. W. Use of Antibiotics Without a Prescription in the U.S. *Population. Annals of Internal Medicine*, v.171, n.4, p.257–263, 2019.

GROS, M.; PETROVIC, M.; GINEBREDA, A.; BARCELÓ, D. Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environmental International*, v.36, p.15–26, 2010.

HAN, B.; KIM, S.M.; SALIMOV, R.A. KUKSANOV, N.K. High power accelerator for environmental application. In: Proceedings of Eighth International Topical meetings on Nuclear Applications and Utilization of Accelerators. *American Nuclear Society*, p.1038-1041, 2007.

HAN, B.; KIM, J.K.; KIM, Y.; CHOI, J.S.; JEONG, K.Y. Operation of industrial-scale electron beam wastewater treatment plant. *Radiation Physics and Chemistry*, v.81, p.1475-1478, 2012.

HE, S.; SUN, W.; WANG, J.; CHEN, L.; ZHANG, Y.; YU, J. Enhancement of biodegradability of real textile and dyeing wastewater by electron beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v.124, p.203-207, 2016.

HEBERER, T. Occurrence, Fate, and Removal of Pharmaceutical Residues in the Aquatic Environment: A Review of Recent Research Data. *Toxicology Letters*, v.131, n.1, p.5–17, 2002.

HIDER-MLYNARZ, K.; CAVALIÉ, P.; MAISON, P. Trends in Analgesic Consumption in France over the Last 10 Years and Comparison of Patterns across Europe. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v.84, n.6, p.1324–1334, 2018.

HILLEBRAND, O.; NÖDLER, K.; LICHA, T.; SAUTER, M.; GEYER, T. Caffeine as an indicator for the quantification of untreated wastewater in karst systems. *Water Research*, v. 46, n. 2, p. 395-402, 2012.

HOMLOK, R.; TAKÁCS, E.; WOJNÁROVITS, L. Elimination of diclofenac from water using irradiation technology. *Chemosphere*, v.85, n.4, p. 603-608, 2011.

HORUMPENDE, P.G.; SONDA, T.B.; ZWETSELAAR, M.V.; ANTONY, M.L.; TENU, F.F.; MWANZIVA, C.E.; SHAO, E.R.; MSHANA, S.E.; MMBAGA, B.T.; CHILONGOLA, J.O. Prescription and Non-Prescription Antibiotic Dispensing Practices in Part I and Part II Pharmacies in Moshi Municipality, Kilimanjaro Region in Tanzania: A Simulated Clients Approach. *Plos One*, v.13, n.1: e0207465, 2018.

HOSSAIN, L.; SARKER, S.K.; KHAN, M.K. Evaluation of present and future wastewater impacts of textile dyeing industries in Bangladesh. *Environmental Development*, v.26, p.23-33, 2018.

HOU, J.; WANG, C.; MAO, D.; LUO, Y. The Occurrence and Fate of Tetracyclines in Two Pharmaceutical Wastewater Treatment Plants of Northern China. *Environmental Science Pollution Research*, v.23, n.2, p.1722–1731, 2016.

HUGGETT, D.B.; BROOKS, B.W.; PETERSON, B.; FORAN, C.M.; SCHLENK, D. Toxicity of select Beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-BLOCKERS) on

aquatic organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.43, p.229-235, 2002.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. QA/QC in management systems for irradiation facilities. *Technical Meeting, Malaysia*, 05-09 August, 2019.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Nuclear Technology Review, 2020.

JAÉN-GIL, A.; HOM-DÍAZ, A.; LLORCA, M.; VICENT, T.; BLÁNQUEZ, P.; BARCELÓ, D.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S. An automated online turbulent flow liquid-chromatography technology coupled to a high resolution mass spectrometer LTQ-Orbitrap for suspect screening of antibiotic transformation products during microalgae wastewater treatment. *Journal of Chromatography A*, v.1568, p.57–68, 2018.

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.

JEONG, T.Y.; KIM, H.Y.; KIM, S.D. Bioaccumulation and biotransformation of the beta-blocker propranolol in multigeneration exposure to *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, v.216, p.811-818, 2016.

JONES, O.A.H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J.N. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water research*, v.36, n.20, p.5013- 5022, 2003.

JONKER, M.J.; SVENDSEN, C.; BEDAUX, J.J.M.; BONGER, 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*, v.24, p.2701-2713, 2005.

KIM, Y.; KIM, J.; HAN, B. Application of an Electron Accelerator for the Treatment of Wastewater from Textile Dyeing Industries. *Journal of the Korean Physical Society*, v.59, n.6, p.3489-3493, 2011.

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

LARA-MARTÍN, P.A.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D.; BROWNAWELL, B.J. Occurrence, distribution and partitioning of non-ionic surfactants

and pharmaceuticals in the urbanized Long Island Sound Estuary (NY). *Marine Pollution Bulletin*, v.85, n.2, p.710–719, 2014.

LASTRE-ACOSTA, A.M.; VICENTE, R.; MORA, M.; JAUREGUI-HAZA, U.J.; ARQUES, A.; TEIXEIRA, A.C.S.C. Photo-Fenton reaction at mildly acidic conditions: assessing the effect of bio-organic substances of different origin and characteristics through experimental design. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v.54, p.711–720, 2019.

LI, S.; HE, B.; WANG, J.; LIU, J.; HU, X. Risks of caffeine residues in the environment: Necessity for a targeted ecopharmacovigilance program. *Chemosphere*, v.243, p.125343, 2019.

LINDQVIST, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research*, v.39, p.2219, 2005.

MACHADO, K.C.; GRASSI, M.T.; VIDAL, C.; PESCARA, I.C.; JARDIM, W.F.; FERNANDES, A.N.; SODRÉ, F.F.; ALMEIDA, F.V.; SANTANA, J.S.; CANELA, M.C. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Science of the Total Environment*, v.572, p.138-146, 2016.

MAENG, D.D.; SNYDER, R.C.; MEDICO, C.J.; MOLD, W.M.; MANEVAL, J.E. Unused Medications and Disposal Patterns at Home: Findings from a Medicare Patient Survey and Claims Data. *Journal of the American Pharmacists Association*, v. 56, n.1, p. 41-46, 2016.

MASONER, J.R.; KOLPIN, D.W.; COZZARELLI, I.M.; SMALLING, K.L.; BOLYARD, S.C.; FIELD, J.A.; FURLONG, E.T.; GRAY, J.L.; LOZINSKI, D.; REINHART, D.; RODOWA, A.; BRADLEY, P.M. Landfill Leachate Contribution Per-/Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) and Pharmaceuticals to Municipal Wastewater. *Environmental Science: Water Research Technology*, v.6, n.5, p.1300–1311, 2020.

MASZKOWSKA, J.; STOLTE, S.; KUMIRSKA, J.; LUKASZEWSKI, P.; BIALK-BIELINNSKA, A. Beta-blockers in the environment: Part II. Ecotoxicity study, *Science of the Total Environmental*, v.493, p.1122-1126, 2014.

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

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.

MOHAPATRA, S.; HUANG, C.H.; MUKHERJI, S.; PADHYE, L.P. Occurrence and Fate of Pharmaceuticals in WWTPs in India and Comparison with a Similar Study in the United States. *Chemosphere*, v.159, p.526–535, 2016.

MOKH, S.; EL KHATIB, M.; KOUBAR, M.; DAHER, Z.; AL ISKANDARANI, M. Innovative SPE-LC-MS/MS technique for the assessment of 63 pharmaceuticals and the detection of antibiotic-resistant-bacteria: A case study natural water sources in Lebanon. *Science of the Total Environment*, v.609, p.830-841, 2017.

MONTAGNER, C.C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R.D. Emerging contaminants in aquatic matrices from Brazil: current scenario and analytical, ecotoxicological and legislative aspects. *Química Nova*, v.40, n.9, 2017.

MONTAGNER, C.C.; SODRÉ, F.F.; ACAYABA, R.D.; VIDAL, C.; CAMPESTRINI, I.; LOCATELLI, M.A.; PESCARA, I.C.; ALBUQUERQUE, 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.

MOORE, M.T.; GREENWAY, S.L.; FARRIS, J.L.; GUERRA, B. Assessing Caffeine as an Emerging Environmental Concern Using Conventional Approaches. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, n.54, p.31-35, 2008.

MORAIS, A.V. *Avaliação da toxicidade e remoção da cor de um efluente têxtil submetido ao tratamento com feixe de elétrons*. 2015. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

MURDOCH, K. Pharmaceutical pollution in the environment: Issues for Australia, New Zealand and Pacific Island countries. *National Toxics Network*, Australia, May 2015.

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.

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, p.265-268, 2006.

PATEL, M.; KUMAR, R.; KISHOR, K.; MLSNA, T.; PITTMAN, C.U.; MAHON, D. Pharmaceuticals of emerging concern in Aquatic System chemistry, occurrence, effects and Removal Methods. *Chemical Reviews*, v.119, p.3510-3673, 2019.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research*, v.32, v.1, p.3-27, 2015.

PHILLIPS, P.J.; SMITH, S.G.; KOLPIN, D.W.; ZAUGG, S.D.; BUXTON, H.T.; FURLONG, E.T.; ESPOSITO, K.; STINSON, B. Pharmaceutical Formulation Facilities as Sources of Opioids and Other Pharmaceuticals to Wastewater Treatment Plant Effluents. *Environmental Science Technology*, v.44, n.13, p.4910-4916, 2010.

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, 138661, 2020.

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

QUADRA, G. R.; PARANAÍBA, J. R.; VILAS-BOAS, J.; ROLAND, F.; AMADO, A. M.; BARROS, N.; DIAS, R. J. P.; CARDOSO, S. J. A Global Trend of Caffeine Consumption over Time and Related Environmental Impacts. *Environmental Pollution*, v.256, p.113343, 2020.

RAND, G.M.; WELLS, P.G.; MACCARTY, L.S. *Introduction to aquatic toxicology: fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. Washington, DC: Taylor e Francis, 1995.

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.

RICHARDSON, S.D.; TERNES, T.A. Water analysis: emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry*, v.90, n.1, 398–428, 2018.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water Research*, v.45, n.15, p.4311-40, 2011.

ROMANELLI, M.F.; MORAES, M.C.F.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; BORRELY, S.I.; Evaluation of toxicity reduction of sodium dodecyl sulfate submitted to electron beam radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v.71, p. 411-413, 2004.

ROSA, G. A. B. *Estudo dos efeitos do fármaco propranolol para Ceriodaphnia silvestrii (cladocera, crustacea) com ênfase em efeitos nas populações*. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

SÁGI, G.; BEZSENYI, A.; KOVÁCS, K.; KLÁTYIK, S.; DARVAS, B.; SZÉKÁCS, A.; MOHÁCSI-KARKAS, C.; TAKÁCS, E.; WOJNÁROVITS, L. Radiolysis of sulfonamide antibiotics in aqueous solution: degradation efficiency and assessment of antibacterial activity, toxicity and biodegradability of products. *Science of The Total Environment*, v. 622-623, p.1009-1015. 2018.

SAKEENA, M. H. F.; BENNETT, A. A.; MCLACHLAN, A. J. Non-Prescription Sales of Antimicrobial Agents at Community Pharmacies in Developing Countries: A Systematic Review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.52, n.6, p.771–782, 2018.

SANTIAGO, M.L.; ESPINOSA, A.; BERMÚDEZ, M.C. Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, v.40, p.22–32, 2009.

SANTOS, L.H.M.L.M.; ARAÚJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 175, n.1-3, p. 45-95, 2010.

SHAO, H.; WU, M.; 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.

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. 11927-36, 2016.

SILVA, T.M., KODAMA, Y., SOMESSARI, S.L., OMI, N.M., NORMANTON, K.A.F., VASQUES, F.M.F., DUARTE, C.I., CALVO, W.A.P. Desenvolvimento de procedimentos e métodos de monitoração individual e de área em uma unidade móvel de irradiação por feixe de elétrons. *International Joint Conference Radio*, 2019.

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.

SNOW, D.D.; CASSADA, D.A.; BISWAS, S.; MALAKAR, A.; D’ALESSIO, M.; MARSHALL, A.H.L.; SALLACH, J.B. 2020. detection occurrence, and fate of emerging contaminants in agricultural environments. *Water Environmental. Research*. v.92, n.10, p.1741–1750, 2020.

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

SOUSA, D. N. R.; MOZETO, A. A.; CARNEIRO, R. L.; FADINI, P. S. Electrical conductivity and emerging contaminants as markers of surface freshwater contamination by wastewater. *Science of the Total Environment*, v.484, p.19-26, 2014.

STELATO, E. S.; OLIVEIRA, T. G.; STUNGES, G. M.; SILVA, E. C. P.; CUBA, R. M. F.; MINILLO, A.; ISIQUE, W. D. Avaliação da presença de resíduos de anti-inflamatórios não esteroides nos córregos veado e cedro do município de Presidente Prudente (SP). *Revista Brasileira de Ciências Ambientais*, n.39, p.97-113, 2016.

TAKÁCS; E.; WANG, J.; CHU, L.; KOVÁCS, K.; BEZSENYI, A.; SZABÓ, L. HOMLOK, R. WOJNÁROVITS, L. Elimination of oxacillin, its toxicity and antibacterial activity by using ionizing radiation. *Chemosphere*, v.286, p.131467, 2022.

TEGZE; A.; SÁGIA, G.; KOVÁCS, K.; HOMLOK, R., TÓTH, T.; MOHÁCSI-FARKASD, 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.

TERNES, T. A.; STÜBER, J.; HERRMANN, N.; McDOWELL, D. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Research*, v.37, n.8, p. 1976-1982, 2003.

TOMINAGA, F.K.; 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.; 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, p.23975-23983, 2021.

TOMINAGA, F.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, São Paulo.

TORUN, M.; ABBASOVA, D.; ŞOLPAN, D.; GÜVEN, O. Caffeine degradation in water by gamma irradiation, ozonation and ozonation/gamma irradiation. *Nukleonika*, v.59, n.1, p.25-35, 2014.

TRAN, N.H.; CHEN, H.; REINHARD, M.; MAO, F.; YEW-HOONG GN, K. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. *Water Research*, v.104, n.1, p.461-472, 2016.

VALDÉS, M.; HUERTA, B.; WUNDERLIN, D.; BISTONI, M.; BARCELÓ, D.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S. Bioacumulação e bioconcentração de carbamazepina e outros fármacos em peixes em experimentos de campo e de laboratório controlados. Evidências da metabolização da carbamazepina por peixes. *Science of The Total Environmental*, v.557, p.58–67, 2016.

VALDEZ-CARRILLO, M., ABRELL, L., RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, J., REYES-LÓPEZ, J.A., CARREÓN-DIAZCONTI, C. Pharmaceuticals as emerging contaminants in the aquatic environment of Latin America: a review. *Environmental Science Pollution Research*, v.27, p.44863-44891, 2020.

VAN BOECKEL, T.P.; GANDRA, S.; ASHOK, A.; CAUDRON, Q.; GRENFELL, B.T.; LEVIN, S.A.; LAXMINARAYAN, R. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infectious Diseases* v.14, n.8, p.742–750, 2014.

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.

VIEIRA, A.J.S.C.; GASPAR, E.M.; SANTOS, P.M.P. Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. *Radiation Physics and Chemistry*, v.174, p. 108968, 2020.

WANG, Y.; LI, Y.; HU, A.; RASHID, A.; ASHFAQ, M.; WANG, Y.; WANG, H.; LUO, H.; YU, C.-P.; SUN, Q. Monitoring, Mass Balance and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Seven Wastewater Treatment Plants in Xiamen City, China. *Journal of Hazardous Materials*, v.354, p.81–90, 2018.

WANG, H.; HU, C.; SHEN, Y.; SHI, B.; ZHAO, D.; XING, X. Response of microorganisms in biofilm to sulfadiazine and ciprofloxacin in drinking water distribution systems. *Chemosphere*, v.218 p.197-204, 2019.

WANG, Y.; LU, J.; ENGELSTÄDTER, J.; ZHANG, S.; DING, P.; MAO, L.; YUAN, Z.; BOND, P.L.; GUO, J. Non-antibiotic pharmaceuticals enhance the transmission of exogenous antibiotic resistance genes through bacterial transformation. *ISME Journal*, v.14, p.2179–2196, 2020.

WATANABE, N.; BERGAMASCHI, B.A.; LOFTIN, K.A.; MEYER, M.T.; HARTER, T. Use and Environmental Occurrence of Antibiotics in Freestall Dairy Farms with Manured Forage Fields. *Environmental Science Technology*, v.44, n.17, p.6591–6600, 2010.

WILDE, M.L.; MONTIPÓ, S.; MARTINS, A.F. Degradation of β -blockers in hospital wastewater by means of ozonation and Fe^{2+} /ozonation. *Water Research*, v.48, p. 280-295, 2014.

WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. Irradiation treatment of azo dye containing wastewater: An overview. *Radiation Physics and Chemistry*, v.77, p.225-244, 2008.

WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. Radiation Induced Degradation of Organic Pollutants in Water and Wastewaters. *Topics in Current Chemistry (Z)*, v.374, n.50, p.1-35, 2016.

YANG, G.; CHEN, C.; WANG, Y.; PENG, Q.; ZHAO, H.; GUO, D.; WANG, Q.; QIAN, Y. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, v.142, p.29-39, 2017.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações*. 2ed. São Carlos: Rima, 2008.

ZAPATA-CACHAFEIRO, M.; PIÑEIRO-LAMAS, M.; GUINOVART, M. C.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, P.; VÁZQUEZLAGO, J. M.; FIGUEIRAS, A. Magnitude and Determinants of Antibiotic Dispensing without Prescription in Spain: A Simulated Patient Study. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, v.74, n.2, p.511–514, 2019.

ZHANG, Y.; XIE, J.; LIU, M.; TIAN, Z.; HE, Z.; VAN NOSTRAND, J. D.; REN, L.; ZHOU, J.; YANG, M. Microbial Community Functional Structure in Response to Antibiotics in Pharmaceutical Wastewater Treatment Systems. *Water Research*, v.47, n.16, p.6298–6308, 2013.

ZHUAN, R.; WANG, J. Degradation of diclofenac in aqueous solution by ionizing radiation in the presence of humic acid. *Separation and Purification Technology*, v.234, p.116079, 2020.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Fichas controle dos ensaios de toxicidade com *D. similis*

Ensaios com Fluoxetina - 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
3,00	0	0	0	0	0	8,33	7,13	7,17	7,39	321,0	269,0
6,00	0	1	0	0	1	8,23	6,90	7,12	7,22	224,0	260,0
12,00	2	3	1	2	8	8,23	6,69	7,10	7,26	202,1	267,2
25,00	5	5	5	5	20	8,21	6,66	7,12	7,25	169,9	278,8
100,00	5	5	5	5	20	8,10	6,60	7,10	7,26	94,0	86,5

CE50_{48h}: 12,58 (10,61-14,91)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
3,00	0	0	0	0	0	8,83	7,52	7,74	7,46	370,8	222,6
6,00	0	0	2	2	4	8,50	7,50	7,72	7,42	272,8	230,7
12,00	3	3	2	3	11	8,02	7,02	7,70	7,38	236,5	238,8
25,00	5	5	4	3	17	8,00	7,00	7,62	7,36	171,9	237,6
50,00	5	5	5	5	20	7,94	6,89	7,60	7,33	120,8	237,0

CE50_{48h}: 11,33 (8,99-14,29)

Ensaios com Fluoxetina - 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
3,00	0	0	0	0	0	7,83	7,93	7,16	7,49	221	260,0
6,00	0	0	0	0	0	7,73	7,89	7,10	7,46	214	220,0
12,00	0	0	0	0	0	7,70	7,68	7,08	7,46	192,1	197,2
25,00	5	4	5	4	18	7,68	7,66	7,04	7,45	179,1	178,8
50,00	5	5	5	5	20	7,02	7,08	7,00	7,38	113,1	134,8

CE50_{48h}: 37,89 (34,53-41,59)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
3,00	0	0	0	0	0	8,03	7,73	7,71	7,62	221	224,2
6,00	0	0	0	0	0	8,02	7,69	7,71	7,59	218,1	216,6
12,00	0	0	0	1	1	7,98	7,60	7,70	7,56	202,2	198,6
25,00	5	4	4	3	16	7,91	7,66	7,62	7,55	162,2	158,8
50,00	5	5	5	5	20	7,03	7,06	7,61	7,58	119,1	114,1

CE50_{48h}: 39,01 (34,00-45,18)

Ensaios com Fluoxetina - 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
3,00	0	0	0	0	0	7,86	7,87	7,12	7,51	196,6	202,2
6,00	0	0	0	0	0	7,80	7,78	7,13	7,53	182,2	196,6
12,00	2	3	3	2	10	7,74	7,76	7,08	7,45	166,1	186,6
25,00	5	5	5	5	20	7,34	7,26	7,01	7,22	128,8	174,2
50,00	5	5	5	5	20	6,40	6,25	7,04	7,08	108,1	126,1

CE50_{48h}: 46,53 (41,15-52,61)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
6,00	0	0	0	0	0	7,96	7,80	7,72	7,41	206,4	212,1
12,00	0	0	0	0	0	7,94	7,80	7,73	7,37	191,5	196,1
25,00	2	2	3	2	9	7,90	7,56	7,80	7,35	176,1	172,3
50,00	5	3	5	5	18	7,38	7,46	7,71	7,33	145,3	149,1
100,00	5	5	5	5	20	5,80	5,75	7,48	7,28	98,1	128,1

CE50_{48h}: 49,51 (43,44-56,43)

Ensaios com Propranolol - 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
3,00	0	0	0	0	0	8,11	6,98	7,12	7,34	210,8	262,6
6,00	2	0	1	3	6	8,10	6,94	7,14	7,32	205,1	207,8
12,00	5	5	4	4	18	8,09	6,80	7,14	7,33	189,9	197,1
25,00	5	5	5	5	20	8,09	6,75	7,14	7,35	168,0	192,1
50,00	5	5	5	5	20	8,08	6,65	7,16	7,38	124,7	165,3
100,00	5	5	5	5	20	7,98	6,56	7,12	7,36	96,2	86,5

CE50_{48h}: 7,40 (6,24-8,78)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
3,00	0	0	0	0	0	7,63	7,93	7,14	7,34	217,8	222,6
6,00	2	3	3	5	13	7,62	7,90	7,12	7,32	217,8	210,7
12,00	5	5	5	4	19	7,55	7,82	7,12	7,36	213,5	198,8
25,00	5	5	5	5	20	7,50	7,70	7,18	7,28	161,9	167,6
50,00	5	5	5	5	20	7,48	7,50	7,18	7,22	104,1	157,0

CE50_{48h}: 5,01 (4,03-6,21)

Ensaios com Propranolol - 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
3,00	0	0	0	0	0	7,35	7,33	7,09	7,44	201,1	238,6
6,00	0	0	0	0	0	7,32	7,30	7,08	7,42	196,1	200,7
12,00	0	1	2	0	3	7,31	7,28	7,02	7,36	183,5	187,8
25,00	0	1	3	2	6	7,25	7,22	6,88	7,08	167,3	171,6
50,00	5	5	5	5	20	7,12	7,15	6,71	7,02	136,1	139,0
100,00	5	5	5	5	20	5,48	5,10	6,68	7,01	112,2	95,4

CE50_{48h}: 25,64 (21,31-30,87)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
3,00	0	0	0	0	0	7,93	7,73	7,78	7,38	222,3	212,6
6,00	0	0	0	0	0	7,92	7,70	7,77	7,35	220,6	195,8
12,00	0	0	0	0	0	7,85	7,62	7,81	7,32	214,5	187,6
25,00	0	2	2	2	6	7,80	7,60	7,91	7,27	198,9	171,5
50,00	5	5	5	5	20	7,78	7,50	8,09	7,15	167,4	140,9

CE50_{48h}: 28,54 (24,66-33,04)

Ensaio com Propranolol - 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,85	7,93	7,12	7,47	210,8	264,0
6,00	0	0	0	0	0	7,46	8,10	7,02	7,38	196,4	200,1
12,00	0	0	0	0	0	7,44	8,08	6,93	7,37	181,5	196,1
25,00	0	0	0	2	2	7,40	8,05	6,80	7,35	166,1	174,8
50,00	4	3	5	5	17	7,38	8,06	6,71	7,33	135,3	149,1
100,00	5	5	5	5	20	5,80	5,75	6,48	7,41	98,1	124,7

CE50_{48h}: 36,53 (31,55-42,28)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	7,70	7,78	7,58	224,0	226,0
6,00	0	0	0	0	0	7,72	7,30	7,80	7,41	191,4	200,1
12,00	0	0	0	0	0	7,62	7,23	7,76	7,36	183,2	196,5
25,00	0	0	0	0	0	7,60	7,15	7,74	7,32	167,8	182,5
50,00	4	5	5	3	17	7,58	7,06	7,71	7,29	134,2	147,8
100,00	5	5	5	5	20	5,40	5,35	7,08	7,00	94,1	120,5

CE50_{48h}: 39,23 (35,12-43,82)

Ensaio com Sulfadiazina - 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,02	8,50	7,78	7,58	224,0	226,0
10,00	0	0	0	0	0	7,83	7,91	7,72	7,24	170,8	172,6
25,00	2	4	5	5	16	7,02	7,70	7,74	7,42	172,8	170,7
50,00	5	5	5	5	20	7,00	7,02	7,72	7,46	136,5	88,8
100,00	5	5	5	5	20	6,50	6,35	7,82	7,58	17,9	17,4

CE50_{48h}: 17,11 (14,32-20,44)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	8,44	7,74	7,54	228,0	226,0
10,00	0	0	0	2	2	7,83	7,81	7,72	7,42	173,6	177,6
25,00	4	4	5	3	16	7,01	7,50	7,66	7,22	162,7	160,8
50,00	5	5	5	5	20	6,50	7,02	7,62	7,26	106,5	98,6
100,00	5	5	5	5	20	6,30	6,50	7,82	7,42	15,6	15,9

CE50_{48h}: 18,57 (16,08-21,45)

Ensaio com Sulfadiazina - 2,5kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,80	7,20	7,61	163,3	116,5
10,00	0	0	0	0	0	7,36	7,73	7,16	7,57	113,0	106,6
15,00	0	0	0	0	1	7,28	7,64	7,11	7,82	110,5	108,8
20,00	2	2	0	3	7	7,19	7,62	7,12	7,85	105,0	104,2
25,00	4	4	5	2	15	7,14	7,50	7,07	7,82	93,9	94,0
50,00	5	5	5	5	20	6,86	6,29	6,98	7,71	79,7	74,0

CE50_{48h}: 22,54 (20,20-25,10)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,80	7,20	7,61	163,3	116,5
10,00	0	0	0	0	0	7,36	7,73	7,16	7,57	113,0	106,6
15,00	0	0	0	0	0	7,28	7,64	7,11	7,82	110,5	108,8
20,00	0	0	2	0	2	7,19	7,62	7,12	7,85	105,0	104,2
25,00	5	2	4	4	16	7,14	7,50	7,07	7,82	93,9	94,0

CE50_{48h}: 22,72 (21,89-23,59)

Ensaio com Sulfadiazina - 5,0kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	8,06	7,33	7,54	205,9	209,1
10,00	1	0	0	0	1	7,94	8,08	7,35	7,61	182,5	185,3
25,00	4	0	0	3	7	7,90	6,74	7,35	7,53	136,4	145,7
50,00	5	5	5	5	20	6,69	6,65	7,38	7,20	86,2	90,3
100,00	5	5	5	5	20	5,36	5,36	7,43	7,71	12,8	17,6

CE50_{48h}: 26,68 (22,47-31,67)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	8,06	7,65	7,61	250,0	273,0
10,00	0	0	0	0	0	7,33	7,65	7,95	7,82	235,0	239,0
15,00	0	0	0	0	0	7,10	7,67	7,93	7,85	233,0	234,0
20,00	2	0	2	0	4	7,07	7,43	7,80	7,78	195,2	198,0
25,00	5	4	2	4	15	7,05	7,04	7,77	7,62	114,6	147,0
50,00	5	5	5	5	20	6,68	6,06	7,78	7,58	89,6	90,9

CE50_{48h}: 23,83 (21,56-26,33)

Ensaio com Cafeína - 0,0kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,95	8,04	7,78	7,71	181,7	200,1
10,00	0	0	0	0	0	7,92	7,41	7,89	7,82	162,4	181,6
25,00	2	1	2	3	5	7,83	7,42	7,76	7,65	147,8	163,7
50,00	5	5	5	4	19	7,29	6,75	7,63	7,52	132,8	135,6
75,00	5	5	5	5	20	7,05	6,29	7,42	7,38	98,7	88,7
100,00	5	5	5	5	20	7,06	6,02	7,12	7,00	32,1	75,1

CE50_{48h}: 29,72 (25,20-35,04)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,73	7,40	7,48	197,6	203,5
10,00	0	0	0	0	0	7,68	7,70	7,49	7,43	166,6	166,9
25,00	2	1	2	1	6	7,60	7,56	7,50	7,45	162,3	163,9
50,00	5	3	5	3	16	7,33	7,38	7,52	7,48	150,4	152,2
75,00	5	5	5	5	20	6,33	6,38	6,62	6,48	127,3	129,4
100,00	5	5	5	5	20	6,20	6,02	6,40	6,00	27,2	80,6

CE50_{48h}: 31,00 (25,58-37,56)

Ensaio com Cafeína - 0,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	0	0	0	0	7,80	7,60	6,89	6,80	162,4	166,8
25,00	5	4	5	4	18	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	5,57	5,02	7,00	6,82	32,1	86,6

CE50_{48h}: 16,38 (14,55-18,43)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	0	0	0	0	7,80	7,60	6,89	6,80	162,4	166,8
25,00	5	5	4	3	17	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	5,57	5,02	7,00	6,82	32,1	86,6

CE50_{48h}: 17,84 (15,69-20,29)

Ensaio com Cafeína - 1,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	0	0	1	1	7,76	7,80	7,60	7,60	159,5	156,6
25,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	5,90	5,82	6,40	6,04	27,2	90,6

CE50_{48h}: 15,81 (14,46-16,22)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	0	0	0	0	7,76	7,80	7,60	7,60	159,5	156,6
25,00	5	5	4	5	19	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	5,90	5,82	6,40	6,04	27,2	90,6

CE50_{48h}: 16,46 (15,22-17,80)

Ensaio com Cafeína - 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,69	8,02	7,02	7,41	192,2	202,6
10,00	0	0	0	0	0	7,59	7,86	7,29	7,35	173,4	178,7
25,00	5	5	3	3	12	7,57	7,74	7,28	7,43	171,3	173,7
50,00	5	5	5	5	20	7,35	7,58	7,31	7,46	166,1	167,9
100,00	5	5	5	5	20	5,56	5,67	7,30	7,43	84,1	80,6

CE50_{48h}: 21,82 (18,29-26,02)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,69	8,02	7,02	7,41	192,2	202,6
10,00	0	0	0	0	0	7,59	7,86	7,29	7,35	173,4	178,7
25,00	5	3	5	3	16	7,57	7,74	7,28	7,43	171,3	173,7
50,00	5	5	5	5	20	7,35	7,58	7,31	7,46	166,1	167,9
100,00	5	5	5	5	20	5,56	5,67	7,30	7,43	84,1	80,6

CE50_{48h}: 18,57 (16,08-21,45)

Ensaio com Cafeína – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,69	8,02	7,02	7,41	192,2	202,6
10,00	0	0	0	0	0	7,70	7,74	7,79	7,72	179,7	221,0
25,00	5	5	3	4	17	7,07	7,22	7,77	7,70	164,4	176,6
50,00	5	5	5	5	20	7,04	7,11	7,67	7,72	153,6	159,8
100,00	5	5	5	5	20	5,88	5,25	7,59	7,79	131,1	88,3

CE50_{48h}: 17,84 (15,69-20,29)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,69	8,02	7,02	7,41	192,2	202,6
10,00	0	0	0	0	0	7,70	7,74	7,79	7,72	179,7	221,0
25,00	5	3	5	4	16	7,07	7,22	7,77	7,70	164,4	176,6
50,00	5	5	5	5	20	7,04	7,11	7,67	7,72	153,6	159,8
100,00	5	5	5	5	20	5,88	5,25	7,59	7,79	131,1	88,3

CE50_{48h}: 18,57 (16,08-21,45)

Ensaio com Cafeína – 10,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	0	0	2	2	7,60	7,88	7,40	7,56	168,8	165,8
25,00	5	5	4	4	18	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	4,78	4,43	7,00	7,04	121,2	96,6

CE50_{48h}: 15,81 (14,18-17,63)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,40	7,56	7,78	7,70	181,7	198,8
10,00	0	2	0	1	3	7,60	7,88	7,40	7,56	168,8	165,8
25,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
100,00	5	5	5	5	20	4,78	4,43	7,00	7,04	121,2	96,6

CE50_{48h}: 14,93 (13,32-16,73)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	6,92	6,41	7,68	7,64	255	264
3,00	0	0	0	0	0	6,90	6,38	7,58	7,72	225	276
6,00	0	3	2	2	7	6,93	7,30	7,57	7,71	223	227
12,00	0	3	3	5	11	6,87	6,28	7,58	7,74	207	211
25,00	5	5	5	5	20	6,85	6,22	7,58	7,70	185,6	189,5
50,00	5	5	5	5	20	6,80	6,28	7,62	7,68	139,5	143,3

CE50_{48h}: 9,80 (7,91-12,15)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,70	7,52	7,43	7,88	231	244
3,00	0	0	0	2	2	7,72	7,26	7,39	7,76	225	228
6,00	2	2	1	0	6	7,67	7,25	7,32	7,90	218	221
12,00	2	4	4	4	14	7,65	7,21	7,36	7,83	206	211,3
25,00	5	5	5	5	20	7,61	7,20	7,44	7,81	184,5	186,9
50,00	5	5	5	5	20	7,59	7,18	7,52	7,78	147,1	149,5

CE50_{48h}: 8,55 (6,89-10,61)

Ensaio Mistura Binária (75% Fluoxetina + 25% Propranolol) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,42	-	-	-	-
3,00	0	0	0	2	2	-	-	-	-	-	-
6,00	2	2	1	1	6	-	-	-	-	-	-
12,00	3	3	4	2	12	-	-	-	-	-	-
25,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	6,88	6,82	-	-	-	-

CE50_{48h}: 9,17 (7,42-11,33)

Ensaios Mistura Binária (25% Fluoxetina + 75% Propranolol) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,42	-	-	-	-
3,00	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	-
6,00	2	2	2	1	7	-	-	-	-	-	-
12,00	5	5	4	4	18	-	-	-	-	-	-
25,00	5	5	5	5	20	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	7,08	7,06	-	-	-	-

CE50_{48h}: 6,94 (5,72-8,41)

Ensaios Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	6,92	6,41	7,68	7,64	255	264
6,00	0	0	0	0	0	6,88	6,50	7,40	7,42	230,5	242,4
12,00	0	0	0	0	0	6,79	6,47	7,45	7,37	225,8	231
25,00	0	0	0	1	1	6,72	6,34	7,59	7,46	213,3	198,5
50,00	3	2	2	2	9	6,66	6,31	7,60	7,48	190,3	166,2
100,00	5	5	5	5	20	5,09	5,35	7,83	7,57	132,3	109,6

CE50_{48h}: 49,95 (42,18-59,16)

Ensaio 2

Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,70	7,52	7,43	7,88	231	244
6,00	0	0	0	0	0	7,76	7,64	7,30	7,96	218	222
12,00	0	0	0	0	0	7,65	7,59	7,33	7,90	205,1	207,1
25,00	0	0	0	0	0	7,62	7,55	7,37	7,83	187,6	185,1
50,00	3	3	3	3	12	7,04	7,03	7,43	7,75	162,1	157,1
100,00	5	5	5	5	20	5,12	5,18	7,35	7,78	98,8	104,4

CE50_{48h}: 46,65 (40,08-54,30)

Ensaios Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	6,92	6,41	7,68	7,64	255	264
6,00	0	0	0	0	0	6,80	6,38	7,50	7,58	203,9	216,2
12,00	0	0	0	0	0	6,78	6,40	7,38	7,56	176,1	182,4
25,00	0	0	0	0	0	6,72	6,42	7,40	7,48	159,6	163,9
50,00	0	2	0	4	6	6,01	6,21	7,42	7,47	134,4	134,9
100,00	5	5	5	5	20	5,14	5,12	7,32	7,50	95,7	92,2

CE50_{48h}: 57,43 (49,83-66,20)

Ensaio 2

Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,70	7,52	7,43	7,88	231	244
6,00	0	0	0	0	0	7,89	7,39	7,32	7,83	199,0	197,2
12,00	0	0	0	0	0	7,91	7,49	7,38	7,86	180,2	185,2
25,00	0	0	0	0	0	7,88	7,43	7,41	7,86	172,9	174,9
50,00	0	3	2	3	8	7,80	7,45	7,43	7,88	142,9	145,5
100,00	5	5	5	5	20	5,02	5,09	7,50	7,84	107,2	109,6

CE50_{48h}: 53,59 (46,04-62,38)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,70	7,40	7,48	197,6	203,5
10,00	0	0	0	0	0	7,75	7,64	7,49	7,43	166,6	166,9
25,00	4	2	5	2	13	7,68	7,56	7,53	7,45	162,3	163,9
50,00	4	5	4	5	18	7,60	7,38	7,62	7,50	160,4	162,2
75,00	5	5	5	5	20	7,33	7,31	7,82	7,48	131,5	136,0
100,00	5	5	5	5	20	6,68	7,70	7,66	7,63	127,3	92,8

CE50_{48h}: 22,14 (18,37-26,69)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,70	7,40	7,48	197,6	203,5
10,00	0	0	0	0	0	7,75	7,64	7,49	7,43	166,6	166,9
25,00	2	3	2	3	10	7,68	7,56	7,53	7,45	162,3	163,9
50,00	5	5	5	5	20	7,60	7,38	7,62	7,50	160,4	162,2
100,00	5	5	5	5	20	6,68	7,70	7,66	7,63	127,3	92,8

CE50_{48h}: 23,64 (19,75-28,30)

Ensaio Mistura Binária (75% Fluoxetina + 25% Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,52	7,46	-	-	-	-
5,00	0	0	0	0	1	-	-	-	-	-	-
10,00	2	0	2	1	5	-	-	-	-	-	-
25,00	4	5	4	5	18	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	6,08	6,00	-	-	-	-

CE50_{48h}: 13,09 (11,13-16,84)

Ensaio Mistura Binária (25% Fluoxetina + 75% Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,52	7,46	-	-	-	-
5,00	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
10,00	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
25,00	2	4	2	5	13	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	6,72	6,58	-	-	-	-

CE50_{48h}: 20,96 (17,65-24,88)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,70	7,40	7,48	197,6	203,5
10,00	0	0	0	0	0	7,82	7,74	7,47	7,67	194,1	196,6
25,00	0	1	1	0	2	7,76	7,69	7,49	7,65	192,2	194,6
50,00	3	3	3	4	13	7,60	7,62	7,47	7,44	168,1	164,6
100,00	5	5	5	5	20	5,78	5,82	7,52	7,38	109,9	107,1

CE50_{48h}: 36,10 (34,80-44,18)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,75	7,78	7,48	7,52	202,1	207,6
10,00	0	0	0	0	0	7,78	7,82	7,52	7,60	196,2	197,1
25,00	1	0	0	0	1	7,72	7,78	7,49	7,59	194,2	194,1
50,00	5	3	5	4	16	7,04	7,08	7,38	7,52	167,1	169,4
100,00	5	5	5	5	20	5,48	5,59	7,22	7,38	99,1	89,1

CE50_{48h}: 37,90 (33,43-42,98)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,83	7,70	7,40	7,48	197,6	203,5
10,00	0	0	0	0	0	7,86	7,72	7,46	7,52	196,6	198,2
25,00	0	0	0	0	0	7,78	7,70	7,52	7,49	192,2	196,6
50,00	4	5	3	5	17	7,58	7,24	7,22	7,26	162,2	158,6
100,00	5	5	5	5	20	5,32	5,06	7,08	7,16	92,2	98,1

CE50_{48h}: 39,23 (35,12-43,82)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,75	7,78	7,48	7,52	202,1	207,6
10,00	0	0	0	0	0	7,72	7,68	7,58	7,55	199,0	196,1
25,00	0	0	0	0	0	7,68	7,59	7,56	7,48	198,1	192,1
50,00	4	4	3	5	16	7,32	7,22	7,32	7,22	171,1	168,8
100,00	5	5	5	5	20	5,40	5,22	7,24	7,18	98,6	99,4

CE50_{48h}: 39,46 (35,77-43,54)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,75	8,08	7,11	7,18	221	205,1
5,00	0	0	0	0	0	7,82	7,89	7,19	7,13	196,6	196,9
10,00	0	2	0	2	4	7,79	7,85	7,23	7,15	182,3	183,8
25,00	4	5	5	5	19	7,74	7,81	7,25	7,05	186,6	182,8
50,00	5	5	5	5	20	7,72	7,82	7,23	7,08	120,5	126,0
100,00	5	5	5	5	20	7,68	7,86	8,26	7,68	93,8	96,5

CE50_{48h}: 14,01 (11,89-16,51)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,62	7,68	7,72	7,80	202	206,6
5,00	0	0	0	0	0	7,70	7,68	7,76	7,86	198,1	196,6
10,00	2	1	0	0	3	7,68	7,62	7,78	7,82	192,1	196,1
25,00	4	5	3	4	16	7,65	7,59	7,76	7,82	188,6	182,2
50,00	5	5	5	5	20	7,60	7,56	7,72	7,78	118,6	116,2

CE50_{48h}: 16,46 (13,57-19,96)

Ensaio Mistura Binária (75% Fluoxetina + 25% Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,52	7,46	-	-	-	-
5,00	0	0	2	1	3	-	-	-	-	-	-
10,00	2	1	2	3	8	-	-	-	-	-	-
25,00	4	5	5	4	18	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	6,56	6,44	-	-	-	-

CE50_{48h}: 11,52 (8,77-15,12)

Ensaio Mistura Binária (25% Fluoxetina + 75% Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,52	7,46	-	-	-	-
5,00	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
10,00	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
25,00	4	4	3	4	15	-	-	-	-	-	-
50,00	5	5	5	5	20	7,16	7,06	-	-	-	-

CE50_{48h}: 19,33 (16,54-22,60)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,75	8,08	7,11	7,18	221	205,1
5,00	0	0	0	0	0	7,76	7,89	7,15	7,22	203,2	196,2
10,00	0	0	0	0	0	7,75	7,86	7,18	7,20	198,4	194,1
25,00	0	2	3	3	8	7,69	7,68	7,16	7,28	196,2	190,6
50,00	5	5	5	5	20	7,22	7,34	7,12	7,18	120,1	129,2
100,00	5	5	5	5	20	5,24	5,20	7,06	7,02	93,2	97,2

CE50_{48h}: 25,62 (21,48-30,57)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,62	7,68	7,72	7,80	202	206,6
5,00	0	0	0	0	0	7,74	7,64	7,75	7,83	204,0	208,0
10,00	0	0	0	0	0	7,70	7,59	7,77	7,85	201,2	204,0
25,00	2	3	2	0	7	7,67	7,42	7,71	7,91	183,1	195,1
50,00	5	5	5	5	20	6,42	6,36	7,68	7,83	154,2	146,5

CE50_{48h}: 26,68 (22,47-31,67)

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,75	8,08	7,11	7,18	221	205,1
5,00	0	0	0	0	0	7,89	7,84	7,10	7,15	223,1	205,2
10,00	0	0	0	0	0	7,95	7,82	7,11	7,15	210,2	204,2
25,00	2	0	2	0	4	7,98	7,79	7,22	7,13	199,2	185,2
50,00	5	5	5	5	20	7,01	7,22	7,26	7,15	129,1	121,6
100,00	5	5	5	5	20	5,04	5,22	7,25	7,18	91,2	94,4

CE50_{48h}: 30,10 (26,06-34,76)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,62	7,68	7,72	7,80	202	206,6
5,00	0	0	0	0	0	7,58	7,44	7,70	7,83	202,2	202,8
10,00	0	0	0	0	0	7,50	7,40	7,71	7,80	199,2	196,2
25,00	2	2	1	0	5	7,06	7,04	7,72	7,82	196,2	191,1
50,00	5	5	5	5	20	6,32	6,26	7,70	7,80	144,2	148,2

CE50_{48h}: 28,91 (24,74-33,79)

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,31	7,33	7,33	7,43	327	331,5
3,00	0	0	0	0	0	7,43	7,41	7,40	7,47	321,1	308
6,00	0	2	0	2	4	7,41	7,39	7,42	7,50	319,1	278,8
12,00	2	3	3	5	13	7,38	7,36	7,41	7,52	269,1	252,2
25,00	4	5	5	5	19	7,32	7,34	7,46	7,49	178,8	174,8
50,00	5	5	5	5	20	6,76	6,76	7,49	7,51	148,6	139,1

CE50_{48h}: 9,06 (7,43-11,04)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,31	7,33	7,33	7,43	327	331,5
3,00	0	0	0	0	0	7,43	7,41	7,40	7,47	321,1	308
6,00	0	1	0	2	3	7,41	7,39	7,42	7,50	319,1	278,8
12,00	3	4	3	4	15	7,38	7,36	7,41	7,52	269,1	252,2
25,00	5	5	5	5	20	7,32	7,34	7,46	7,49	178,8	174,8
50,00	5	5	5	5	20	6,76	6,76	7,49	7,51	148,6	139,1

CE50_{48h}: 9,83 (7,98-12,10)

Ensaios Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
10,00	0	0	0	0	0	7,31	7,51	7,06	7,26	163	163,5
25,00	0	0	0	0	0	7,39	7,58	7,09	7,27	151,3	150,6
50,00	5	3	4	5	17	7,35	7,54	7,11	7,32	133,8	135,9
100,00	5	5	5	5	20	5,48	5,84	7,09	7,07	128,4	102,1

CE50_{48h}: 39,23 (35,12-43,82)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,50	7,56	7,05	7,25	181,3	207,1
10,00	0	0	0	0	0	7,31	7,51	7,06	7,26	163	163,5
25,00	0	0	0	0	0	7,39	7,58	7,09	7,27	151,3	150,6
50,00	3	5	2	5	15	7,35	7,54	7,11	7,32	133,8	135,9
100,00	5	5	5	5	20	5,48	5,84	6,49	7,07	128,4	102,1

CE50_{48h}: 40,56 (36,47-45,11)

Ensaios Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	7,40	7,58	7,63	7,79	166,1	167,4
25,00	0	0	1	0	1	7,45	7,50	7,60	7,79	155,4	157,3
50,00	3	3	4	2	12	7,44	7,20	7,54	7,80	134,2	136,8
100,00	5	5	5	5	20	5,53	5,30	7,47	7,84	101,7	107,9

CE50_{48h}: 44,04 (39,06-49,68)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	7,40	7,58	7,63	7,79	166,1	167,4
25,00	0	0	0	0	0	7,45	7,50	7,60	7,79	155,4	157,3
50,00	4	5	3	3	15	7,44	7,20	7,54	7,80	134,2	136,8
100,00	5	5	5	5	20	5,53	5,30	7,47	7,84	101,7	107,9

CE50_{48h}: 42,04 (36,76-48,08)

Ensaios Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,31	7,33	7,33	7,43	227	221,5
1,00	0	0	0	0	0	7,34	7,36	7,33	7,44	226,2	224,2
5,00	2	3	0	1	5	7,28	7,33	7,31	7,43	225,2	223,2
10,00	2	2	3	3	10	7,25	7,28	7,36	7,42	221,1	211,1
25,00	5	5	5	5	20	7,22	7,26	7,34	7,38	199,2	198,1
50,00	5	5	5	5	20	7,22	7,16	7,21	7,36	178,2	175,1

CE50_{48h}: 7,93 (5,95-10,56)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,31	7,33	7,33	7,43	227	221,5
1,00	0	0	0	0	0	7,34	7,36	7,33	7,44	226,2	224,2
5,00	0	1	1	2	3	7,28	7,33	7,31	7,43	225,2	223,2
10,00	3	2	3	5	13	7,25	7,28	7,36	7,42	221,1	211,1
25,00	5	5	5	5	20	7,22	7,26	7,34	7,38	199,2	198,1
50,00	5	5	5	5	20	7,22	7,16	7,21	7,36	178,2	175,1

CE50_{48h}: 7,89 (6,13-10,14)

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	8,01	7,81	7,72	7,70	182,2	180,2
25,00	0	0	0	0	0	7,98	7,79	7,71	7,69	178,8	179,2
50,00	5	3	4	5	17	7,94	7,71	7,75	7,71	176,2	174,1
100,00	5	5	5	5	20	5,12	5,19	7,73	7,76	102,2	101,8

CE50_{48h}: 39,28 (35,12-43,82)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	8,01	7,81	7,72	7,70	182,2	180,2
25,00	0	0	0	0	0	7,98	7,79	7,71	7,69	178,8	179,2
50,00	3	5	2	5	15	7,94	7,71	7,75	7,71	176,2	174,1
100,00	5	5	5	5	20	5,12	5,19	7,73	7,76	102,2	101,8

CE50_{48h}: 42,04 (36,76-48,08)

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	8,04	7,88	7,69	7,64	188,1	183,1
25,00	0	0	1	0	1	8,01	7,85	7,61	7,63	167,1	169,2
50,00	3	3	4	2	12	7,89	7,81	7,55	7,51	134,4	132,1
100,00	5	5	5	5	20	5,10	5,57	7,53	7,48	102,0	108,8

CE50_{48h}: 44,81 (37,77-53,16)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	8,05	7,83	7,74	7,72	194,1	221
10,00	0	0	0	0	0	8,04	7,88	7,69	7,64	188,1	183,1
25,00	0	0	0	0	0	8,01	7,85	7,61	7,63	167,1	169,2
50,00	4	5	3	3	16	7,89	7,81	7,55	7,51	134,4	132,1
100,00	5	5	5	5	20	5,10	5,57	7,53	7,48	102,0	108,8

CE50_{48h}: 40,61 (35,88-45,97)

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 0,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,01	7,07	7,75	7,95	201	208
3,00	0	0	0	0	0	7,35	7,12	7,71	7,88	196,1	201,1
6,00	2	2	0	0	4	7,30	7,12	7,72	7,90	191,1	195,1
12,00	2	2	2	2	8	7,32	7,10	7,69	7,91	183,2	186,7
25,00	5	4	5	4	18	7,32	7,08	7,60	7,87	167,2	171,1
50,00	5	5	5	5	20	7,21	7,06	7,50	7,57	136,5	139,6

CE50_{48h}: 8,98 (6,65-12,13)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,01	7,07	7,75	7,95	201	208
3,00	0	0	0	0	0	7,35	7,12	7,71	7,88	196,1	201,1
6,00	2	2	0	0	6	7,30	7,12	7,72	7,90	191,1	195,1
12,00	2	2	2	2	12	7,32	7,10	7,69	7,91	183,2	186,7
25,00	5	4	5	4	20	7,32	7,08	7,60	7,87	167,2	171,1
50,00	5	5	5	5	20	7,21	7,06	7,50	7,57	136,5	139,6

CE50_{48h}: 12,17 (9,76-15,19)

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 2,5 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,06	261	265
10,00	0	0	0	0	0	7,84	7,87	7,46	7,81	183,2	186,1
25,00	5	5	4	4	18	7,83	7,83	7,41	7,76	167,2	172,1
50,00	5	5	5	5	20	7,72	7,81	7,21	7,72	134,2	137,8
100,00	5	5	5	5	20	5,75	5,60	7,28	7,80	98,1	96,5

CE50_{48h}: 17,14 (15,38-19,09)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,06	261	265
10,00	0	0	0	0	0	7,84	7,87	7,46	7,81	183,2	186,1
25,00	5	5	4	5	19	7,83	7,83	7,41	7,76	167,2	172,1
50,00	5	5	5	5	20	7,72	7,81	7,21	7,72	134,2	137,8
100,00	5	5	5	5	20	5,75	5,60	7,28	7,80	98,1	96,5

CE50_{48h}: 16,46 (15,22-17,80)

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 5,0 kGy

Ensaio 1					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,06	261	265
10,00	0	0	0	0	0	7,93	8,00	7,62	7,88	185,1	190,8
25,00	4	2	2	3	11	7,86	7,93	7,60	7,86	169,2	174,8
50,00	5	5	5	5	20	7,72	7,83	7,57	7,80	134,4	144,8
100,00	5	5	5	5	20	5,45	5,80	7,28	7,91	94,1	106,5

CE50_{48h}: 25,62 (21,48-30,57)

Ensaio 2					Análise Físico – Química						
Concentração(%)	Mortalidade				Total	pH _i	pH _f	OD _i (mg.L ⁻¹)	OD _f (mg.L ⁻¹)	Cond _i (mS.cm ⁻¹)	Cond _f (mS.cm ⁻¹)
Controle	0	0	0	0	0	7,86	7,95	7,50	8,06	261	265
10,00	0	0	0	0	0	7,93	8,00	7,62	7,88	185,1	190,8
25,00	2	3	2	1	8	7,86	7,93	7,60	7,86	169,2	174,8
50,00	5	5	5	5	20	7,72	7,83	7,57	7,80	134,4	144,8
100,00	5	5	5	5	20	5,45	5,80	7,28	7,91	94,1	106,5

CE50_{48h}: 22,71 (18,99-27,16)

APÊNDICE B: Fichas controle dos ensaios de toxicidade com *V. fischeri*

Ensaio com Fluoxetina – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	95	87	99	83	7,76	7,38	96,1
I ₁₅	90	89	70	49	19			

CE50_{15min}: 22,80 (16,55-31,40)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	90	92	95	90	7,76	7,38	96,1
I ₁₅	90	82	72	51	18			

CE50_{15min}: 21,78 (19,70-24,07)

Ensaio com Fluoxetina – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	92	90	89	90	5,80	7,60	106,2
I ₁₅	90	88	82	55	18			

CE50_{15min}: 25,82 (12,51-53,29)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	102	92	96	89	5,80	7,60	106,2
I ₁₅	90	94	86	49	22			

CE50_{15min}: 27,14 (8,34-88,32)

Ensaio com Fluoxetina – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	99	96	90	92	5,02	7,38	120,0
I ₁₅	90	92	88	60	23			

CE50_{15min}: 28,90 (15,14-55,14)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	101	99	96	98	5,02	7,38	120,0
I ₁₅	90	90	86	56	33			

CE50_{15min}: 29,31 (18,68-45,97)

Ensaio com Propranolol – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	96	90	92	89	7,65	7,32	106,1
I ₁₅	102	90	80	56	21			

CE50_{15min}: 51,35 (36,17-72,91)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	98	101	96	100	7,65	7,32	106,1
I ₁₅	102	92	91	60	26			

CE50_{15min}: 53,47 (36,09-79,22)

Ensaio com Propranolol – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	99	96	82	86	5,42	7,22	107,1
I ₁₅	102	96	89	56	24			

CE50_{15min}: 25,82 (12,51-53,29)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	89	86	90	92	5,42	7,22	107,1
I ₁₅	102	85	68	58	33			

CE50_{15min}: 56,40 (35,82-88,80)

Ensaio com Propranolol – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	92	89	88	96	5,52	7,16	124,7
I ₁₅	102	89	79	66	40			

CE50_{15min}: 68,52 (51,51-91,15)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	104	98	89	96	90	5,52	7,16	124,7
I ₁₅	102	92	78	60	39			

CE50_{15min}: 66,29 (52,42-83,83)

Ensaio com Sulfadiazina – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	92	97	95	96	88	6,36	7,62	15,0
I ₁₅	89	77	61	53	43			

CE50_{15min}: 70,30 (57,01-86,68)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	98	95	92	97	92	6,36	7,62	15,0
I ₁₅	82	76	70	61	31			

CE50_{15min}: 71,89 (55,56-93,01)

Ensaio com Sulfadiazina – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	98	93	95	92	97	5,29	7,82	15,2
I ₁₅	92	80	71	60	46			

CE50_{15min}: 81,97 (70,98-94,66)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	92	93	95	103	106	5,29	7,82	15,2
I ₁₅	90	77	78	60	53			
CE50 _{15min} : 84,08 (59,01-109,82)								

Ensaio com Sulfadiazina – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	92	94	89	89	87	5,20	7,62	18,4
I ₁₅	90	78	70	65	40			
CE50 _{15min} : 97,26 (69,05-127,00)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	98	90	89	92	91	5,20	7,62	18,4
I ₁₅	92	80	78	66	43			
CE50 _{15min} : 91,95 (61,18-128,18)								

Ensaio com Cafeína – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		7,67	15,35	30,71	61,42			
I ₀	94	94	93	99	102	7,56	7,72	79,1
I ₁₅	102	99	95	78	26			
CE50 _{15min} : 42,18 (25,05-71,01)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		7,67	15,35	30,71	61,42			
I ₀	94	81	91	92	80	7,56	7,72	79,1
I ₁₅	102	84	87	69	21			
CE50 _{15min} : 39,30 (28,35-54,46)								

Ensaio Cafeína – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	90	94	97	98	100	5,25	7,29	82,2
I ₁₅	109	87	88	78	55			
CE50 _{15min} : 82,63 (63,31-107,84)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	86	90	87	91	5,25	7,29	82,2
I ₁₅	80	66	53	47	42			
CE50 _{15min} : 81,65 (70,98-94,66)								

Ensaio Cafeína – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	89	86	77	85	5,02	7,12	86,6
I ₁₅	90	77	71	61	33			
CE50 _{15min} : 92,38 (49,01-174,14)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	107	95	92	93	5,02	7,12	86,6
I ₁₅	90	86	65	64	42			
CE50 _{15min} : 96,11 (67,55-136,73)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	96	96	92	96	98	6,86	7,86	106,6
I ₁₅	90	88	80	79	44			
CE50 _{15min} : 46,24 (29,39-72,75)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	96	92	90	96	89	6,86	7,86	106,6
I ₁₅	90	84	79	68	48			
CE50 _{15min} : 46,00 (37,13-56,98)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	96	95	92	88	90	5,42	7,58	122,2
I ₁₅	90	89	80	61	41			
CE50 _{15min} : 64,03 (46,45-79,19)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	96	98	100	104	101	5,42	7,58	122,2
I ₁₅	90	89	80	62	43			
CE50 _{15min} : 64,21 (45,88-89,87)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Propranolol) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	96	92	94	99	88	5,02	7,45	124,6
I ₁₅	90	81	78	64	33			
CE50 _{15min} : 66,75 (54,58-81,64)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	96	94	99	98	98	5,02	7,45	124,6
I ₁₅	90	88	90	71	44			
CE50 _{15min} : 69,02 (56,24-91,48)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	104	112	115	118	114	6,58	7,62	92,1
I ₁₅	102	102	93	74	68			
CE50 _{15min} : 47,94 (34,40-66,81)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	104	98	97	94	95	6,58	7,62	92,1
I ₁₅	84	93	89	80	46			
CE50 _{15min} : 49,75 (31,46-78,65)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	91	100	101	104	89	5,48	7,48	96,2
I ₁₅	104	98	91	96	48			
CE50 _{15min} : 56,67 (33,54-95,75)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	97	94	91	94	89	5,48	7,48	96,2
I ₁₅	94	90	81	77	60			
CE50 _{15min} : 58,95 (46,18-75,25)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Sulfadiazina) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	104	89	94	87	86	5,22	7,22	122,0
I ₁₅	112	88	80	75	52			
CE50 _{15min} : 60,91 (41,84-88,65)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	97	99	94	98	92	5,22	7,22	122,0
I ₁₅	94	92	82	78	55			
CE50 _{15min} : 62,02 (46,84-73,42)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	94	93	86	82	86	7,24	7,22	92,16
I ₁₅	102	91	82	68	44			
CE50 _{15min} : 46,24 (31,69-67,47)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,45			
I ₀	91	97	99	96	92	7,24	7,22	92,1
I ₁₅	84	85	79	65	39			
CE50 _{15min} : 47,67 (34,01-51,72)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	81	76	78	83	5,36	7,16	93,3
I ₁₅	90	68	53	42	35			
CE50 _{15min} : 61,07 (48,50-76,90)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	86	90	87	91	5,36	7,16	93,3
I ₁₅	80	66	53	47	42			
CE50 _{15min} : 64,78 (58,67-72,57)								

Ensaio Mistura Binária (Fluoxetina + Cafeína) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	97	89	89	91	88	5,06	7,04	96,6
I ₁₅	90	74	60	54	40			
CE50 _{15min} : 71,50 (55,54-92,05)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	90	95	94	96	88	5,06	7,04	96,6
I ₁₅	109	99	94	81	40			
CE50 _{15min} : 66,09 (45,35-96,32)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	95	89	96	96	6,32	7,48	96,6
I ₁₅	108	88	74	47	29			
CE50 _{15min} : 45,84 (35,49-59,21)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	102	99	99	101	6,32	7,48	96,6
I ₁₅	108	96	74	65	23			
CE50 _{15min} : 44,84 (29,84-67,40)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	104	93	90	95	5,04	7,36	122,4
I ₁₅	108	98	85	56	36			
CE50 _{15min} : 61,09 (40,42-92,31)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	95	89	96	96	5,04	7,36	122,4
I ₁₅	108	88	74	57	39			
CE50 _{15min} : 58,45 (51,06-66,90)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Sulfadiazina) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	97	88	92	91	5,01	7,62	124,2
I ₁₅	108	95	83	71	37			
CE50 _{15min} : 71,95 (54,76-94,53)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	107	95	96	101	96	5,01	7,62	124,2
I ₁₅	108	92	90	71	38			
CE50 _{15min} : 67,19 (47,27-95,50)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	95	87	99	83	6,21	7,78	106,3
I ₁₅	90	89	75	69	39			
CE50 _{15min} : 36,92 (30,08-45,31)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		5,11	10,23	20,47	40,95			
I ₀	94	98	96	94	95	6,21	7,78	106,3
I ₁₅	90	86	85	65	29			
CE50 _{15min} : 32,09 (16,02-64,25)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	99	98	96	94	95	5,22	7,74	102,2
I ₁₅	90	68	63	50	35			
CE50 _{15min} : 57,18 (47,58-68,71)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	99	90	90	94	84	5,22	7,74	102,2
I ₁₅	90	80	60	46	36			
CE50 _{15min} : 56,24 (22,52-64,42)								

Ensaio Mistura Ternária (Fluoxetina + Propranolol + Cafeína) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	94	94	98	88	103	5,02	7,72	102,4
I ₁₅	91	90	92	70	42			
CE50 _{15min} : 76,02 (54,86-95,35)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	94	95	90	90	84	5,02	7,72	102,4
I ₁₅	91	90	82	64	36			
CE50 _{15min} : 72,31 (58,49-89,39)								

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 0,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	91	94	96	92	6,02	7,46	92,1
I ₁₅	104	87	82	53	15			
CE50 _{15min} : 41,04 (29,83-56,46)								

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	87	86	83	83	6,02	7,46	92,1
I ₁₅	104	80	73	48	19			

CE50_{15min}: 43,99 (31,81-60,81)

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 2,5 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	99	94	87	89	5,46	7,26	94,2
I ₁₅	104	89	70	63	37			

CE50_{15min}: 66,92 (47,89-93,50)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	96	84	88	91	5,46	7,26	94,2
I ₁₅	104	94	78	57	41			

CE50_{15min}: 66,82 (49,02-91,06)

Ensaio Mistura Quaternária (FLX + PRP + SDZ + CFN) – 5,0 kGy

Ensaio 1								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	93	97	94	94	5,40	7,24	101,0
I ₁₅	104	92	83	70	44			

CE50_{15min}: 70,29 (49,35-100,11)

Ensaio 2								
Bioluminescência	Controle	Concentração (%)				pH	OD(mg.L ⁻¹)	Cond (mS.cm ⁻¹)
		10,23	20,47	40,95	81,90			
I ₀	102	95	90	97	90	5,40	7,24	101,0
I ₁₅	104	93	84	68	39			

CE50_{15min}: 68,85 (54,42-87,09)

APÊNDICE C – Análises físico-químicas

pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade – Fármacos isolados

Composto	Ensaio	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (mS.cm ⁻¹)	
Fluoxetina	Bruto	1	7,76	7,38	96,1
		2	8,10	7,10	86,5
		X ± S	7,93 ± 0,24	7,2 ± 0,2	91,3 ± 6,8
	2.5 kGy	1	5,80	7,60	106,1
		2	5,58	7,00	82,2
		X ± S	5,69 ± 0,16	7,3 ± 0,4	94,2 ± 16,9
	5 kGy	1	5,02	7,38	120,0
		2	5,80	7,48	128,1
		X ± S	5,41 ± 0,55	7,4 ± 0,1	124,0 ± 5,7
	Propranolol	Bruto	1	7,98	7,12
2			7,65	7,32	106,1
		X ± S	7,82 ± 0,23	7,2 ± 0,1	96,3 ± 13,9
2.5 kGy		1	5,48	6,68	95,4
		2	5,42	7,22	107,1
		X ± S	5,45 ± 0,04	7,0 ± 0,4	101,2 ± 8,3
5 kGy		1	5,80	6,48	132,0
		2	5,52	7,16	124,7
		X ± S	5,66 ± 0,20	6,8 ± 0,5	128,4 ± 5,2
Sulfadiazina		Bruto	1	6,36	7,62
	2		6,50	7,82	18,4
		X ± S	6,43 ± 0,10	7,7 ± 0,1	16,7 ± 2,4
	2.5 kGy	1	5,29	7,82	15,2
		2	5,58	6,92	20,2
		X ± S	5,44 ± 0,21	7,4 ± 0,6	17,7 ± 3,5
	5 kGy	1	5,20	7,62	18,4
		2	5,36	7,43	17,6
		X ± S	5,28 ± 0,11	7,5 ± 0,1	18,0 ± 0,6
	Cafeína	Bruto	1	7,56	7,72
2			7,06	7,12	79,1
		X ± S	7,31 ± 0,35	7,4 ± 0,4	77,1 ± 2,8
2.5 kGy		1	5,25	7,29	82,2
		2	5,56	7,30	80,6
		X ± S	5,41 ± 0,22	7,3 ± 0,0	81,4 ± 1,1
5 kGy		1	5,02	7,12	86,6
		2	5,88	7,59	88,3
		X ± S	5,45 ± 0,61	7,4 ± 0,3	87,5 ± 1,2

pH. Oxigênio Dissolvido e Condutividade – Misturas Binárias

Composto	Ensaio	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (mS.cm ⁻¹)		
FLX+PRP	Bruto	1	6,86	7,86	105,2	
		2	6,02	7,60	95,6	
		X ± S	6,44 ± 0,59	7,7 ± 0,2	100,4 ± 6,8	
	2.5 kGy	1	5,42	7,58	109,6	
		2	5,12	7,35	104,4	
		X ± S	5,27 ± 0,21	7,5 ± 0,2	107,0 ± 3,7	
	5 kGy	1	5,02	7,45	92,2	
		2	5,14	7,32	124,6	
		X ± S	5,08 ± 0,08	7,4 ± 0,1	108,4 ± 22,9	
	FLX+SDZ	Bruto	1	6,58	7,62	92,1
			2	6,68	7,66	92,8
			X ± S	6,63 ± 0,07	7,6 ± 0,0	92,5 ± 0,5
2.5 kGy		1	5,48	7,48	89,1	
		2	5,78	7,52	107,1	
		X ± S	5,63 ± 0,21	7,5 ± 0,0	98,1 ± 12,7	
5 kGy		1	5,22	7,22	122,0	
		2	5,32	7,08	99,4	
		X ± S	5,27 ± 0,07	7,2 ± 0,1	110,7 ± 15,9	
FLX+CFN		Bruto	1	7,24	7,22	92,1
			2	7,68	8,26	96,5
			X ± S	7,46 ± 0,31	7,7 ± 0,7	94,3 ± 3,1
	2.5 kGy	1	5,36	7,16	93,3	
		2	5,24	7,06	97,2	
		X ± S	5,30 ± 0,08	7,1 ± 0,1	95,3 ± 2,8	
	5 kGy	1	5,06	7,04	96,6	
		2	5,04	7,22	94,4	
		X ± S	5,05 ± 0,01	7,1 ± 0,1	95,5 ± 1,6	

pH. Oxigênio Dissolvido e Condutividade – Misturas Ternárias

Composto	Ensaio	pH	OD(mg.L ⁻¹)	Condutividade (mS.cm ⁻¹)		
FLX+PRP+SDZ	Bruto	1	6,32	7,48	96,6	
		2	6,62	7,42	97,9	
		X ± S	6,47 ± 0,21	7,5 ± 0,0	97,3 ± 0,9	
	2.5 kGy	1	5,04	7,36	124,2	
		2	5,48	7,09	102,1	
		X ± S	5,26 ± 0,31	7,2 ± 0,2	113,2 ± 15,6	
	5 kGy	1	5,01	7,62	122,4	
		2	5,53	7,47	107,9	
		X ± S	5,27 ± 0,37	7,5 ± 0,1	115,2 ± 10,3	
	FLX+SDZ+CFN	Bruto	1	6,21	7,78	106,3
			2	6,48	7,38	96,6
			X ± S	6,35 ± 0,19	7,6 ± 0,3	101,5 ± 6,8
2.5 kGy		1	5,22	7,74	102,2	
		2	5,12	7,73	101,8	
		X ± S	5,17 ± 0,07	7,7 ± 0,0	102,0 ± 0,3	
5 kGy		1	5,02	7,72	108,8	
		2	5,10	7,53	102,4	
		X ± S	5,06 ± 0,06	7,2 ± 0,1	105,6 ± 4,5	

pH. Oxigênio Dissolvido e Condutividade – Mistura Quaternária					
Composto	Ensaio	pH	OD(mg.L⁻¹)	Condutividade (mS.cm⁻¹)	
FLX+PRP+SDZ+CFN	Bruto	1	6,02	7,46	92,1
		2	6,08	7,50	96,1
		X ± S	6,05 ± 0,04	7,5 ± 0,0	94,1 ± 2,8
	2.5 kGy	1	5,46	7,26	94,2
		2	5,75	7,28	96,5
		X ± S	5,61 ± 0,21	7,3 ± 0,0	95,4 ± 1,6
	5 kGy	1	5,40	7,24	101,0
		2	5,45	7,28	106,5
		X ± S	5,43 ± 0,04	7,3 ± 0,0	103,8 ± 3,9

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.