



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E  
BIOLÓGICAS**

**VANESSA SENA DIOGO**

**ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO ÁCIDO  
PERFLUOROOCETANÓICO (PFOA) E VENLAFAXINA (VEN) EM  
*Triops longicaudatus* (LeConte, 1846) *Artemia salina* (Linnaeus,  
1758)**

**PETROLINA-PE**

**2023**

**VANESSA SENA DIOGO**

**ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO ÁCIDO  
PERFLUOROOCETANÓICO (PFOA) E VENLAFAXINA (VEN) EM  
*Triops longicaudatus* (LeConte, 1846) *Artemia salina* (Linnaeus,  
1758)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação Ciências da Saúde e Biológicas, *Campus* Petrolina, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde e Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Patricia Avello Nicola Pereira

Coorientadora: Prof. Dra. Cleônia Roberta Melo Araújo

Coorientador: Dr. Nuno Gonçalo de Carvalho Ferreira

**PETROLINA**

**2023**

Diogo, Vanessa Sena  
D591a Análise ecotoxicológica do ácido perfluorooctanóico (PFOA) e venlafaxina (VEN) em *Triops longicaudatus* (LeConte, 1846) *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) / Vanessa Sena Diogo. – Petrolina-PE, 2023.

viii; 97 f. il. ; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina, Petrolina-PE, 2023.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup> Dra. Patricia Avello Nicola.

1. Ácido perfluorooctanóico. 2. Contaminantes Emergentes. 3. Venlafaxina. 4. Ecossistema aquático. I. Título. II. Nicola, Patricia Avello. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 546.24

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas da UNIVASF

Bibliotecária: Adriana Santos Magalhães CRB-4/2275

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

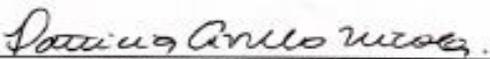
VANESSA SENA DIOGO

**ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO ÁCIDO PERFLUOROOCETANÓICO (PFOA) E  
VENLAFAXINA EM TRIOPS LONGICAUDATUS E ARTEMIA SALINA**

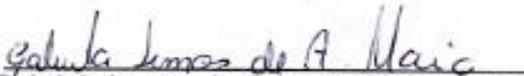
Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências com ênfase na linha de pesquisa: Biodiversidade, Tecnologia e Recursos Naturais, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 15 de setembro de 2023

**Banca Examinadora**



Patricia Avello Nicola, Doutora  
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf



Gabriela Lemos de Azevedo Maia, Doutora  
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf



Maria Gardenny Ribeiro Pimenta, Doutora  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB



Aos meus pais,  
Ana Paula Sena e Valter Diogo.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao suporte do UIDB/04423/2020, UIDP/04423/2020, e do Projeto BEESNESS (CIRCNA/BRB/0293/2019) do FTC pelo apoio para a realização das atividades de laboratório.

Agradeço a Universidade Federal do Vale do São Francisco e ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde de Biológicas pela oportunidade de fazer parte do corpo discente do programa de mestrado.

Ao CEMA Fauna Caatinga, todos os colegas e funcionários pelo suporte enquanto realizei experimentos no Laboratório de Ecologia.

Agradeço ao meu coorientador Dr. Nuno Gonçalo Ferreira pela orientação, paciência, empenho e dedicação para a realização deste trabalho.

À professora Dra. Patricia Nicola por toda orientação e paciência.

A professora Dra. Marcelle Almeida e ao técnico Dr. Hugo Leonardo, pelo apoio no momento em que precisei usar equipamento do laboratório de Fisiologia Vegetal.

A Dra. Laura Guimarães e Dr. Luis Oliva Teles, pela ajuda na execução do trabalho, bem como análise de dados.

Ao André Pereira e João Amorim por terem me ajudado no laboratório da de Ciências do Porto.

A Cláudia pela ajuda na análise dos vídeos com no MATLAB.

Aos meus pais, minha irmã Itala Naiane e Samyres Alice, por serem meu porto seguro, por todo apoio emocional, paciência, amor e suporte que sempre me deram em toda essa jornada.

Ao amigo que o mestrado me deu a oportunidade de conhecer, Luiz Miguel, e Fernanda Torres que tive o prazer de reencontrar na pós-graduação. Vocês com toda

certeza tornaram esse caminho mais leve, e agregaram muito conhecimento na minha vida.

A Marcus Conduru, pelo amor, paciência e palavras de conforto principalmente nesta reta final.

Aos amigos que trago desde a graduação e que sem dúvida me ajudaram em diversos aspectos para que eu conseguisse chegar até aqui: Matheus Jesus, Naine Nunes, Jéssica Camila e Maria Ivo, gratidão por sempre ter vocês na minha vida.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O ácido perfluorooctanóico (PFOA) e a venlafaxina (VEN) são considerados contaminantes emergentes e devido a sua ampla distribuição podem ser facilmente encontrados nos ecossistemas aquáticos. O PFOA é uma substância sintética com uma ampla gama de aplicação industrial. Este pode atuar como desregulador endócrino, e já foi considerado um composto com efeito carcinogênico em humanos. A VEN é um fármaco da classe dos antidepressivos inibidores seletivos da recaptação da serotonina e da noradrenalina, amplamente utilizado para tratar transtornos de ansiedade. Ainda não se tem muitas informações dos efeitos desses contaminantes em alguns organismos. Nesse estudo, realizamos ensaios de comportamento durante 96h com *Triops longicaudatus* utilizando a VEN nas concentrações 0,0265; 0,265; 2,65; 265 e 2650 $\mu$ g/L e o PFOA nas concentrações 0,004; 0,04; 0,4; 4; 40 e 400 $\mu$ g/L. Além disso foi realizado um teste de sobrevivência com *Artemia salina* utilizando a VEN nas concentrações 0,0265; 26,5 e 2650 $\mu$ g/L. Nos resultados da análise estatística para comportamento a *Network Neural Artificial* (NNA) identificou-se seis classes de comportamento (classe 1 a 6). As seis classes comportamentais definidas pela NNA, têm um perfil de frequência com um valor de inércia de 4,4% e 4,6%, respectivamente para VEN e PFOA, com as condições experimentais testadas. Os valores do teste qui-quadrado foram significativos para ambos os compostos (VEN: qui-quadrado = 5809; df = 65; p = 0,0000 / PFOA: qui-quadrado = 4193; df = 65; p = 0,0000). Quanto à sobrevivência durante os ensaios de comportamento, os *T. longicaudatus* não mostraram um padrão homogêneo, de acordo com o aumento da concentração de VEN e PFOA. Nos tratamentos com a venlafaxina a média de tamanho de *T. longicaudatus* variou de 14,58mm (controle) a 20,02mm (0,26 $\mu$ g/L). Com o PFOA a média variou de 13,02mm (4  $\mu$ g/L) a 15,64mm (0,004 $\mu$ g/L). A diferença entre as médias de tamanhos em ambos os tratamentos apresentou diferença significativa (p<0,05). Quanto aos ensaios de sobrevivência em *A. salina* com VEN, o percentual de sobreviventes decresceu à medida que aumentava a concentração e o tempo de exposição 90, 75, 55 e 40% sobreviveram nas concentrações 0; 0,0265; 0,265; 2,65; 265 e 2650 $\mu$ g/L, respectivamente. Sendo assim, foi possível observar que o *T. Longicaudatus* é sensível tanto para a VEN quanto para o PFOA, uma vez que apresentaram diferentes comportamentos ao longo da exposição. Além disso, *A. salina* também mostrou sensibilidade ao fármaco VEN nas concentrações e tempo de exposição utilizados nesse trabalho.

**Palavras-chave:** Contaminantes Emergentes. Comportamento. Sobrevivência. Ecossistema aquático.

## ABSTRACT

Perfluorooctanoic acid (PFOA) and venlafaxine (VEN) are considered emerging contaminants and due to their wide distribution can be easily found in aquatic ecosystems. PFOA is a synthetic substance with a wide range of industrial applications. It can act as an endocrine disruptor and has been considered a compound with carcinogenic effects in humans. VEN is an antidepressant drug in the class of selective serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors, widely used to treat anxiety disorders. There is still not much information on the effects of these contaminants on some organisms. In this study, we carried out 96-hour behavioral tests with *Triops longicaudatus* using VEN at concentrations of 0.0265; 0.265; 2.65; 265 and 2650 µg/L and PFOA at concentrations of 0.004; 0.04; 0.4; 4; 40 and 400 µg/L. In addition, a survival test was carried out with *Artemia salina* using VEN at concentrations of 0.0265, 26.5 and 2650 µg/L. In the results of the statistical analysis for behavior, the Artificial Neural Network (ANN) identified six classes of behavior (class 1 to 6). The six behavioral classes defined by the NNA have a frequency profile with an inertia value of 4.4% and 4.6%, respectively for VEN and PFOA, with the experimental conditions tested. The chi-square test values were significant for both compounds (VEN: chi-square = 5809; df = 65; p = 0.0000 / PFOA: chi-square = 4193; df = 65; p = 0.0000). As for survival during the behavioral tests, the *T. longicaudatus* did not show a homogeneous pattern according to the increase in the concentration of VEN and PFOA. In treatments with venlafaxine, the average size of *T. longicaudatus* ranged from 14.58mm (control) to 20.02mm (0.26 µg/L). With PFOA, the average ranged from 13.02mm (4 µg/L) to 15.64mm (0.004 µg/L). The difference between the mean sizes in both treatments was significant ( $p < 0.05$ ). As for the survival tests on *A. salina* with VEN, the percentage of survivors decreased as the concentration and exposure time increased 90, 75, 55 and 40% survived at concentrations of 0; 0.0265; 0.265; 2.65; 265 and 2650 µg/L, respectively. Thus, it was possible to observe that *T. longicaudatus* is sensitive to both VEN and PFOA, since they showed different behaviors throughout exposure. In addition, *A. salina* also showed sensitivity to the drug VEN at the concentrations and exposure times used in this study.

**Keywords:** Emerging contaminants. Behavior. Survival. Aquatic ecosystem.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 OBJETIVOS .....	14
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
3.1 ECOTOXICOLOGIA E SUAS APLICAÇÕES .....	15
3.2 <i>Triops longicaudatus</i> .....	18
3.3 <i>Artemia salina</i> (Linnaeus, 1758) .....	22
3.4 COMPORTAMENTO DOS ORGANISMOS TESTE .....	27
3.5 CONTAMINANTES EMERGENTES .....	28
<b>3.5.1 Venlafaxina (VEN)</b> .....	<b>30</b>
<b>3.5.2 Ácido Perfluorooctanóico (PFOA)</b> .....	<b>35</b>
4 METODOLOGIA.....	39
4.1 ENSAIOS COM <i>Triops longicaudatus</i> (LeConte, 1846) .....	39
<b>4.1.1 Criação de <i>T. longicaudatus</i></b> .....	<b>39</b>
<b>4.1.2 Plano experimental</b> .....	<b>41</b>
<b>4.1.3 Processamento de imagens</b> .....	<b>46</b>
<b>4.1.4 Análises estatísticas</b> .....	<b>47</b>
<b>4.1.5 Processamento dos parâmetros: tamanho e sobrevivência</b> .....	<b>48</b>
4.2 ENSAIOS COM <i>Artemia salina</i> (Linnaeus, 1758).....	48

<b>4.2.1 Criação de <i>A. salina</i></b>	<b>48</b>
<b>4.2.2 Exposição e teste de sobrevivência com venlafaxina</b>	<b>49</b>
<b>4.2.3 Processamento de Dados</b>	<b>51</b>
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 ENSAIOS COM <i>T. longicaudatus</i> .....	52
<b>5.1.1 Sobrevivência e tamanho</b>	<b>52</b>
<b>5.1.2 Comportamento</b>	<b>58</b>
5.2 ENSAIO COM <i>A. salina</i> (Linnaeus, 1758).....	69
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	75
ANEXO A- GRÁFICOS COM AS VARIÁVEIS DISTÂNCIA DO CENTRO (A), VELOCIDADE INSTANTÂNEA(B), VELOCIDADE MÉDIA TOTAL (C), ACELERAÇÃO INSTANTÂNEA (D), VELOCIDADE ANGULAR (E), MEANDRO (F) E MEANDO MÉDIO (G), ONDE AS CLASSES COMPORTAMENTAIS GERADAS PELA NNA ESTÃO INSERIDAS DENTRO DO MESMO GRUPO.....	91

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação mundial da comunidade científica com os contaminantes emergentes (KHALIL et al., 2020) se deve ao fato do potencial tóxico que esses compostos têm no ambiente, bem como a dificuldade para remover seus resíduos da água, uma vez tratamentos convencionais nas estações de efluentes não são eficazes nesse aspecto (TORDIN, 2018). Entre esses contaminantes de preocupação emergente (*contaminants of emerging concern- CECs*), destacam-se os produtos farmacêuticos e produtos de higiene pessoal, que são comumente encontrados em níveis baixos nas águas superficiais (EPA, 2023).

No grupo dos fármacos, as drogas psiquiátricas, como a venlafaxina (VEN), são classificadas como contaminantes de preocupação emergente (BRASIL, 2020). Apesar de desempenharem um papel importante na sociedade, ainda existem escassas informações sobre seus efeitos na vida aquática, quando seus resíduos são liberados no ambiente (LOPES et al., 2020). A VEN, pertencente à classe dos antidepressivos, e pode apresentar riscos aos ambientes aquáticos, especialmente quando associada aos estressores das mudanças climáticas, como diminuição do oxigênio dissolvido e aumento da temperatura da água (LUU et al., 2021).

Outro contaminante emergente relevante é o ácido perfluorooctanóico (PFOA), solúvel em água e que não se liga facilmente ao solo ou sedimentos. Estudos com animais indicaram efeitos tóxicos do PFOA, incluindo alterações no desenvolvimento das glândulas mamárias de camundongos. A agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos o classificou o PFOA como carcinogênico para humanos. Devido ao seu alto poder de mobilidade, as substâncias per e polifluoroalquil (PFAS) estão amplamente distribuídas em ambientes físicos naturais, além da água, como ar, solo e sedimentos, além de estarem presentes em produtos e objetos utilizados no cotidiano (CETESB, 2018).

A presença de contaminantes emergentes no ambiente aquático pode afetar o equilíbrio do ecossistema. Embora muitas pesquisas tenham sido realizadas sobre esses contaminantes, a maioria delas visa apenas identificar o tipo de contaminante e seu potencial tóxico (HARTMANN et al., 2018). Para compreender mais abrangentemente o impacto dessas substâncias, é necessário realizar testes biológicos que permitam uma completa caracterização do efeito de um determinado tóxico sobre um organismo (GONZÁLEZ et al., 2012).

Para a obter dados ecotoxicológicos acerca de um composto se faz necessário realizar testes em diferentes organismos a fim de entender os efeitos dos compostos nos ecossistemas (CAMPBELL et al., 2022). Nesse contexto, o *Triops longicaudatus* e *Artemia salina* são crustáceos considerados bons modelos para ensaios ecotoxicológicos, uma vez que podem ser facilmente criados em laboratório, possuem ciclo de vida relativamente curtos, e pela facilidade de se implantar e manter uma cultura em laboratório (FRY et al., 1994; ZHANG et al., 2012; PAPADOPOULOS, 2004).

Este estudo sobre o comportamento ecotoxicológico com VEN e PFOA buscou preencher uma lacuna de dados sobre a forma como estes contaminantes emergentes podem influenciar nos organismos aquáticos não visados, como os *Triops longicaudatus*.

Diante das questões abordadas, o presente trabalho justifica-se pela urgência da criação de uma legislação de qualidade da água, com concentrações permitidas de venlafaxina (VEN) e ácido perfluorooctanóico (PFOA), a fim de tornar o critério de qualidade mais preciso (UMBUZEIRO, 2010). Além disso, esses dados ecotoxicológicos são importantes para a conservação do ecossistema aquático, uma vez que no Brasil há deficiência nas políticas públicas e problemas nos serviços de saneamento básico, responsáveis pela diminuição da qualidade dos recursos hídricos (CARTAXO et al., 2020).



A ausência de um planejamento baseado em critérios ecotoxicológicos e a escassez de investimentos financeiros têm permitido o lançamento de esgoto industrial e doméstico não tratado, causando danos significativos aos sistemas de água superficiais. Portanto, é necessário estabelecer padrões mais exigentes de qualidade da água, dada a grande quantidade de contaminantes que podem estar presentes nos ecossistemas aquáticos (CARTAXO et al., 2020).

Diante desses desafios, o presente trabalho propôs a investigação da sensibilidade dos crustáceos *Triops longicaudatus* à VEN e ao PFOA em na *Artemia salina* à VEN em concentrações ambientais relevantes, ou seja, em baixas concentrações frequentemente encontradas no ambiente aquático.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar e determinar efeitos comportamentais, com a exposição de *Triops longicaudatus* (LeConte, 1846) aos compostos venlafaxina (VEN) e ácido perfluorooctanóico (PFOA) em concentrações ambientais relevantes e verificar a respostado microcrustáceo *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) em teste de avaliação de sobrevivência utilizando venlafaxina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar testes de comportamento em *T. longicaudatus* quando expostos a VEN e PFOA;
- Registrar parâmetros ecotoxicológicos tradicionais de alta relevância: sobrevivência e crescimento;
- Realizar teste de sobrevivência em *A. salina* quando expostas a VEN.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 ECOTOXICOLOGIA E SUAS APLICAÇÕES

A ecotoxicologia é uma ciência que se dedica ao estudo dos efeitos das substâncias sobre os organismos vivos e suas interações com o meio ambiente. Os estudos realizados nesse campo abrangem monitoramentos biológicos que investigam os efeitos agudos e/ou crônicos causados por substâncias químicas, sejam elas isoladas ou presentes em efluentes, através de biotestes em organismos vivos (CAMPBELL et al., 2022). O principal objetivo da análise ecotoxicológica é identificar se as substâncias lançadas no meio ambiente são prejudiciais, e entender seus efeitos nos organismos. Para tal, a escolha do organismo utilizado nos testes leva em consideração algumas características importantes, como a duração do ciclo reprodutivo, a disponibilidade e a facilidade de implantação de uma cultura (NADAL e SILVA, 2022).

Conforme destacado por Oliveira e Baldan (2022), os contaminantes são agentes biológicos, químicos ou físicos capazes de produzir alterações na resposta biológica dos organismos. Esses contaminantes são classificados de acordo com suas características, como ilustrado na tabela 1, que apresenta a divisão dos contaminantes em classes e exemplos correspondentes a cada uma delas.

**Tabela 1- Classificação de contaminantes e seus respectivos exemplos.**

CLASSES	EXEMPLOS
Compostos Inorgânicos	Íons metálicos (Cd, Hg, Ag, Br, Ni) Ânions (NO-3, CN-, S-2)
Radionuclídeos	Urânio(U-238), Tório (Th-234), Rádio (Ra-226)

Contaminantes Emergentes

Fármacos (Esteroides, antibióticos, antiinflamatórios, anticoncepcionais, antipsicóticos, antidepressivos)  
Cianotoxinas  
Produtos de beleza  
Nanopartículas  
Conservantes

---

Fonte: Adaptado de Oliveira e Baldan (2022).

A ecotoxicidade é uma propriedade que reflete o potencial de uma substância causar efeitos danosos em um determinado ecossistema. Tais efeitos dependem da concentração/dose, das propriedades dos compostos/estressores trabalhados, do organismo exposto e também do tempo de exposição (RAND et al., 1995). A contaminação provocada pelo ser humano nos ambientes aquáticos, terrestres e atmosféricos tem aumentado significativamente ao longo dos anos. Esse cenário tem gerado uma crescente preocupação e mobilização das autoridades ambientais e da sociedade como um todo para lidar com esse problema (KÜHL et al., 2010).

Muitas pesquisas estão sendo dedicadas à mitigação desses problemas, focando na gestão adequada dos resíduos sólidos, no tratamento eficaz de efluentes e no investimento em energia limpa (QUEIROZ et al., 2019; ZHAO et al., 2020; NEVES et al., 2021; KHAN et al., 2021;). No entanto, em diversos países e municípios, ainda falta a implementação de sistemas de esgotamento sanitário adequado e coleta de resíduos sólidos, o que leva à contaminação dos cursos d'água e consequentes danos ao ecossistema aquático (KÜHL et al., 2010).

Para estabelecer concentrações seguras para a descarga de compostos orgânicos e inorgânicos nos corpos d'água, é necessário ir além das análises físicas e químicas, uma vez que esses poluentes são complexos e apresentam enorme

variabilidade. Além disso, ainda se sabe pouco sobre as interações entre essas substâncias e seus efeitos no ambiente e nos organismos (MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008). Nesse sentido, a avaliação dos impactos sobre os ecossistemas por meio do monitoramento ambiental e testes de ecotoxicidade é o aparato mais eficiente para detectar esses impactos (COSTA, 2001).

Conforme Kühn et al. (2010), os corpos d'água situados em áreas rurais e urbanas recebem grandes quantidades de contaminantes de diferentes fontes. Embora se esperasse que os córregos em áreas rurais fossem menos tóxicos, os estudos revelaram que esses foram os mais afetados por poluentes, embora a poluição também seja evidente em corpos d'água urbanos, principalmente de origem orgânica.

Os testes de toxicidade normalmente utilizam métodos padrão e têm como uma de suas finalidades produzir dados que subsidiem os legisladores na definição de critérios de qualidade para os diversos compartimentos dos ecossistemas. Em relação aos animais, o parâmetro mais comum é a concentração/dose letal que causa a mortalidade de 50% da população (CL<sub>50</sub>). No entanto, as concentrações ambientais de contaminantes raramente são altas o suficiente para causar mortalidade direta, tornando-se comuns os estudos com efeitos subletais, como reprodução, fuga, comportamento, distúrbios metabólicos e alterações na movimentação/natação, entre outros (NIKINMAA, 2014).

Além dos aspectos mencionados anteriormente, os estudos ecotoxicológicos no ecossistema aquático no Brasil assumem grande importância na proteção das reservas de água, principalmente a água doce, uma vez que o Brasil detém 12% da reserva mundial (PINTO, 2017). Essa valorização desses estudos é crucial para a preservação desse recurso essencial para a vida.

### 3.2 *Triops longicaudatus*

As lagoas são definidas como zonas úmidas e possuem importância ecológica na conservação da biodiversidade (LINTON; GOULDER, 2000). Lagoas temporárias têm como característica marcante a alternância de fases de umidade e fases secas. Essa alternância de fases permite que durante a seca ocorra uma renovação de nutrientes, tornando-a um ambiente produtivo. A superficialidade das lagoas temporárias permite que elas aqueçam rapidamente em determinada época do ano, o que possibilita a reprodução de espécies que precisam de temperaturas mais elevadas para a eclosão dos ovos e para indução do crescimento (COLLINSON et al., 1995).

Os organismos que utilizam lagoas temporárias têm um ciclo de vida que inclui um estágio dormente, resistente à dessecação, ou um ciclo de vida que é sincronizado ao padrão de cheia e seca do seu habitat (GRIFFITHS, 1997). *Triops longicaudatus* (Figura 1) pertence ao filo Arthropoda, classe Branchiopoda, ordem Notostraca, família Triopsidae, e são animais que habitam lagoas e charcos temporários, apresentando adaptações para resistir aos períodos de seca entre as inundações (SCOTT; GRIGARICK, 1979).

*Triops* spp. possui ampla distribuição e pode ser encontrado em vários corpos de água doce, na América do Norte, América do Sul, Caribe, Japão e algumas ilhas do Pacífico. Esse camarão girino, como é conhecido popularmente, é comum nos Estados Unidos e no Havaí, mas não no Alasca (SASSAMAN et al., 1997).

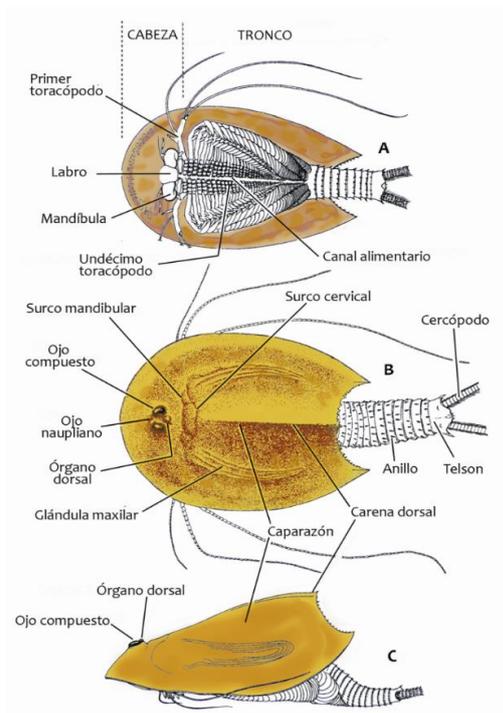
**Figura 1-** *Triops longicaudatus* com 15 dias de vida.



Fonte: o autor.

Quanto às suas características morfológicas, o *T. longicaudatus* possui de 10 a 40 mm de comprimento, largura de 3 a 8mm e massa de 2 a 2,5g. Sua coloração varia de amarelo-acinzentado ou marrom, apresentando segmentos na cabeça, tórax e abdome conforme as figuras 2 e 3. Cerca de 60 apêndices pequenos estão presentes no lado proximal do abdome, e possui um olho medial, além de seus dois olhos compostos. Os sexos diferem em tamanho e morfologia: macho com carapaça ligeiramente maior e antenas secundárias maiores, enquanto as fêmeas possuem bolsas de ovos (FRYER, 1988).

**Figura 2-** Morfologia geral da ordem Notostraca, como exemplo o *Triops* spp. Ventral (A), dorsal (B) e lateral (C).



Fonte: Modificado Miguel Alonso e Damià Jaume / Vol. 7 Serie Fauna Ibérica (MNCN-CSIC).

**Figura 3-** *Triops* spp. Vista dorsal (A), Vista ventral (B).



Fonte: Michigan Science Art (copyright holder)

A reprodução do camarão girino ocorre assexuadamente, resultando em todos os ovos sendo clones do adulto. Embora também possuam o ciclo de vida sexuado, é comum que a reprodução assexuada predomine, levando a uma população composta principalmente por fêmeas, com os machos aparecendo apenas em condições adversas (SASSAMAN et al., 1997).

O *T. longicaudatus* possui um ciclo de vida relativamente curto. Em condições naturais, sua vida média é de 40 a 70 dias, desde que a lagoa temporária não seque. Em laboratório, podem viver em média 70 a 90 dias (FRY et al., 1994), sendo esse um dos motivos pelos quais é considerado um bom modelo para ensaios ecotoxicológicos.

Quanto à alimentação e posição na cadeia trófica, esses camarões são geralmente onívoros e podem se alimentar de larvas de mosquitos. Além disso, servem como alimento para predadores de topo, como peixes. Em épocas de escassez de comida, alguns indivíduos recorrem ao canibalismo (FRYER, 1988).

Devido ao fato de serem predadores, os *T. longicaudatus* desempenham uma função muito importante no seu habitat devido a preferência alimentar por larvas dos mosquitos do gênero *Culex* (FRYER, 1988). Esse comportamento de predação atua no controle da sua oviposição, controlando a população de mosquitos que podem ser vetores de doenças (FRY et al., 1994). O camarão girino também é utilizado no controle biológico de plantas espontâneas aquáticas, pois ao realizar comportamento de oviposição agitam a superfície do solo, impedindo o que plantas ainda jovens desenvolvam raízes. A perturbação do substrato também torna a água mais turva e impede a incidência solar (TAKAHASHI, 1994).

Produtores de arroz do Japão utilizam *T. longicaudatus* como agentes biológicos no controle de pragas em suas plantações, no entanto a reprodução desenfreada desses crustáceos pode provocar prejuízos nas plantas de arroz, uma vez que podem dificultar o seu enraizamento (BLOESE et al., 2020).

### 3.3 *Artemia salina* (Linnaeus, 1758)

*Artemia salina* é um crustáceo primitivo com cerca de 100 milhões de anos, que habita lagos salgados. Essa espécie é endêmica do mediterrâneo, mas é encontrada em todos continentes, e possui capacidade de tolerar diferentes níveis de salinidade na água, podendo suportar até 300g de sal por litro de água (MUNTEANU et al., 2011).

A *Artemia salina*, pertence ao filo Arthropoda, subfilo Crustacea, classe Brachiopoda, ordem, Anostraca e família Artemiidae. O corpo desses organismos é formado por três segmentos: cabeça, tórax e abdome. Essa espécie possui dimorfismo sexual, onde as principais características que diferenciam as fêmeas dos machos são o comprimento da primeira antena, a distância máxima entre os olhos compostos, a largura do terceiro segmento e o comprimento do abdômen, além



diâmetro do olho composto e do indivíduo como um todo (Figura 4). Enquanto as fêmeas possuem cerca de 10-12mm de comprimento, os machos alcançam 8-10mm (MONTEANU et al., 2011; ALMEIDA, 1980).

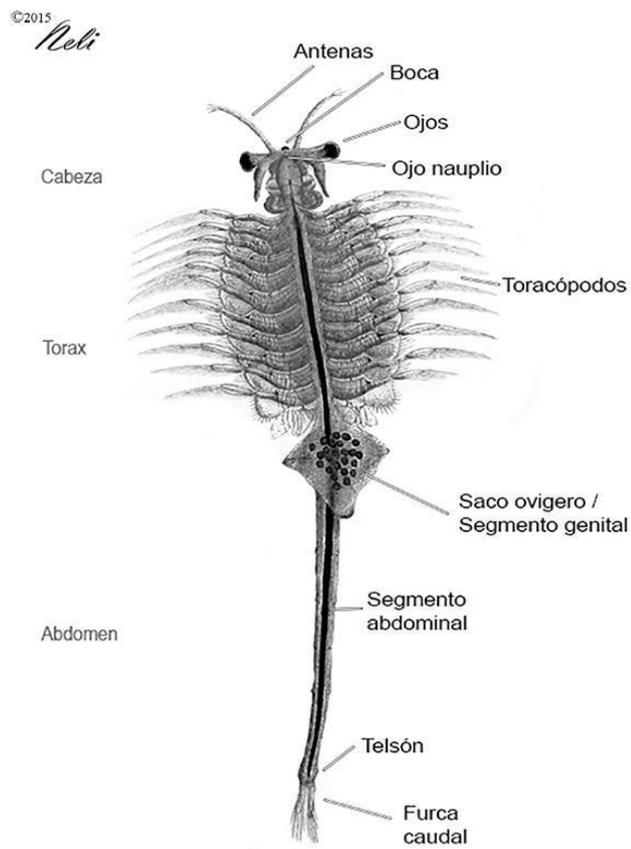
Os adultos (Figura 5) possuem 3 olhos e 11 pares de pernas. Quanto à coloração, na vida adulta, essa característica pode variar de acordo com a salinidade da água, podendo variar do esverdeado ao vermelho em altas concentrações (MUNTEANU et al., 2011).

**Figura 4-** *A. salina* macho (esquerda) e fêmea (direita).



Fonte: <http://biologiaacontecendo.blogspot.com/2012/04/artemia-salina.html>

**Figura 5-** Morfologia da *A. salina*.



Fonte: <https://www.bioartemia.com/2017/03/03/biologia-de-la-artemia-sp/>

Quando o ambiente possui condições consideradas adequadas para a espécie, como calor, luz solar e amplas concentrações de sal, as populações de artêmias são numerosas devido à ausência de competição. Os cistos desses organismos são capazes de resistir a longos períodos de seca até que as condições sejam adequadas para o seu desenvolvimento e reprodução. As artêmias apresentam

reprodução tanto sexuada quanto assexuada. Na reprodução sexuada, os machos copulam com as fêmeas para fertilizar os embriões. Já na reprodução assexuada, os machos são ausentes, e as fêmeas se reproduzem sem necessidade de copulação. Na reprodução sexuada, existem dois métodos reprodutivos: oviparidade e ovoviviparidade (MUNTEANU et al., 2011).

Na oviparidade, ocorre a fecundação interna ou externa, com a liberação de ovos no ambiente, os quais ficam encistados. Esse modo de reprodução se apresenta quando as condições ambientais são adversas para a população, como alta salinidade, baixos teores de oxigênio dissolvido e escassez de alimento. Já a ovoviviparidade tem como característica a produção de náuplios (primeiro estágio larval) e é mais comum quando as condições ambientais são favoráveis para o animal, como alto teor de oxigênio, salinidade moderada e abundância de alimento. Em condições naturais no ambiente, as artêmias alimentam-se de protozoários, algas e detritos, sendo organismos filtradores não seletivos, captando partículas suspensas menores de 40-60  $\mu\text{m}$  (MUNTEANU et al., 2011).

Os ovos das artêmias são resistentes e permanecem viáveis por muitos anos (NTUNGWE et al., 2020). Além disso, o uso de artêmias em testes de toxicidade inclui vantagens, como rapidez para a eclosão dos ovos até o estágio de náuplios (28-72h), disponibilidade de larvas provenientes de cistos comerciais duráveis (homogeneidade e disponibilidade durante todo o ano sem necessidade de cultivo) e custo-benefício. Dependendo das condições naturais ou de cultivo, os indivíduos adultos de *A. salina* conseguem viver de 1 a 6 meses (LIBRALATO et al., 2016).

As artêmias são usadas frequentemente na aquicultura para alimentação de peixes e em testes ecotoxicológicos. São utilizadas em áreas como ecologia,

genética e fisiologia. Além disso os ensaios ecotoxicológicos com artêmias são rápidos de baixo custo (NTUNGWE et al., 2020).

### 3.4 COMPORTAMENTO DOS ORGANISMOS TESTE

O monitoramento de animais aquáticos tem sido amplamente utilizado por pesquisadores em diversas áreas da biologia, com o objetivo de compreender os efeitos de certos compostos nos organismos. Para alcançar esse propósito, é fundamental traçar a trajetória desses animais para investigação posterior. Embora as observações feitas por humanos ainda sejam bastante empregadas, é importante ressaltar que esse método não é totalmente confiável devido à dificuldade de manter o foco humano em um determinado alvo durante um longo período. Por essa razão, as tecnologias que envolvem o rastreamento por vídeo na análise de comportamento têm se mostrado cada vez mais relevantes (FEIJÓ, 2015).

Um sistema de rastreamento por vídeo oferece a possibilidade de estudar o comportamento dos animais de maneira eficaz e confiável, mesmo quando os períodos de observação são mais longos. Nesse tipo de sistema, um vídeo analógico é digitalizado, e uma análise dos pixels resultantes é realizada para determinar a localização dos animais rastreados, bem como outros dados relevantes. Os cálculos são executados em uma sequência de quadros para derivar um conjunto de descritores quantitativos do movimento do animal (SPINK et al., 2001).

Sistemas de rastreamento como a ZebraBox realizam análise de alto rendimento do peixe zebra e outras espécies relacionadas. Esta análise de comportamento (locomoção e quantificação) pode ser realizada com 6, 12, 24 ou 96 larvas em placas com múltiplos poços. O suporte de placas permite que as placas de micropoços se mantenham na mesma posição, este sistema é capaz de analisar 288 indivíduos simultaneamente em tempo real (View point, 2023).

### 3.5 CONTAMINANTES EMERGENTES

Os contaminantes emergentes são definidos como compostos que apresentam potencial para causar danos à saúde e ao meio ambiente, mesmo em baixas concentrações. Esses contaminantes representam um desafio para a comunidade científica nas pesquisas que buscam desenvolver padrões de qualidade da água para o consumo humano, uma vez que o tratamento convencional realizado pela maioria das estações de tratamento de água (ETA) é ineficiente na remoção desse tipo de contaminante (CARTAXO et al., 2020).

Segundo Pescara (2014), o Brasil apresenta entre 100 e 10.000 vezes mais compostos emergentes em suas nascentes e na água tratada do que os países da Europa. Para mudar esse cenário, é necessário aprofundar o conhecimento sobre três fatores: a fonte, a rota e o receptor final dos contaminantes emergentes. É, portanto, relevante considerar que o termo "emergente" está relacionado à preocupação de que esses compostos possam impactar negativamente a vida aquática (BRASIL, 2020).

Alguns produtos químicos têm formas complexas com outras substâncias do meio aquático ou mesmo substâncias internas de determinados organismos. Essas interações podem afetar a disponibilidade do composto para um organismo e a capacidade da substância atingir, de fato, o seu alvo de toxicidade. Vale ressaltar que qualquer produto pode se tornar tóxico, dependendo da quantidade, do tempo de exposição e do organismo afetado (NIKINMAA, 2014).

Micropoluentes, como também são denominados os contaminantes emergentes, tornaram-se uma questão de preocupação ambiental mundial, especialmente no ambiente aquático. Esses contaminantes químicos podem ser naturais ou sintéticos, sendo constantemente introduzidos no ambiente em larga escala, podendo causar impactos ao ambiente por períodos relativamente longos (PETRIE et al., 2015).

Suas propriedades físicas e químicas podem ser apresentadas como lipofilicidade, volatilidade e persistência, o que pode afetar tanto o ecossistema quanto a saúde humana. São frequentemente encontrados em baixas concentrações, variando de ng/L a µg/L. A variedade e presença de contaminantes em concentrações ambientais dificultam os processos de tratamento de água e esgoto para sua remoção, bem como os processos de detecção e análise desses compostos (RODRIGUEZ et al., 2011).

Os micropoluentes têm sido classificados em vários grupos de substâncias (conforme tabela 2), incluindo fármacos, compostos perfluorados (PFCs), estrogênios, drogas lícitas, agrotóxicos, produtos de higiene pessoal, alquilfenóis e seus derivados, alguns subprodutos provenientes do processo de desinfecção de água, protetores solares, siloxanos, benzotriazol, percloratos, naftênicos, dioxinas, entre outros (RICHARDSON e TERNES, 2011; SOARES e LEÃO, 2015).

**Tabela 2 – Micropoluentes orgânicos com suas subclasses e fontes.**

<b>Categoria</b>	<b>Subclasse</b>	<b>Fonte</b>
Fármacos	Drogas (antiinflamatórios, anticonvulsivos, estimulantes, entre outros), antibióticos, analgésicos,	Esgoto doméstico, efluentes de hospital, clínicas veterinárias, escoamento CAC*, agricultura.
Produtos de cuidado pessoal	Fragrâncias, filtros solares, insetos e outros, desinfetantes, repelentes de	Esgoto doméstico
Hormônios esteróides	Estrogênios	Esgoto doméstico, escoamento CAC*

Surfactantes	Surfactantes não iônicos	Esgoto doméstico, efluentes industriais
Químicos industriais	Retardantes de chama	Esgoto doméstico, efluentes industriais
Agrotóxicos	Inseticidas, herbicidas, fungicidas e outros	Esgoto doméstico, escoamento superficial em áreas agrícolas

Fonte: Luo et al. (2014).

\*CAC: Criadouros de animais confinados.

Portanto, o conhecimento acerca dos riscos relacionados à exposição por essa variedade de contaminantes emergentes permite antecipar e mitigar seus possíveis efeitos aos organismos (PETRIE et al., 2015).

### 3.5.1 Venlafaxina (VEN)

Os produtos farmacêuticos no meio ambiente são motivo de grande preocupação por várias razões. Os medicamentos são estáveis e pouco degradados, e como esses compostos não são absorvidos completamente pelo organismo, acabam sendo liberados nos esgotos. Diante disso, não há nenhum tratamento que remova esses compostos de forma eficaz e totalmente da água, e passam pelo tratamento de água inalterados, especialmente se o tratamento da água for ineficiente (NIKINMAA, 2014).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) estima que, embora existam estudos recentes sobre os fármacos e seus possíveis efeitos no meio ambiente, apenas 22% desses medicamentos possuem estudos ecotoxicológicos, e desses, apenas 54% trazem dados sobre seus efeitos de toxicidade aguda (efeitos tóxicos que se apresentam em até 96h de exposição). Além disso, no Brasil, existem 226 fármacos de uso psiquiátrico liberados para consumo pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA - RDC nº 06/2014) (BRASIL, 2014), mas somente 11% têm estudos ecotoxicológicos (Souza-Moura, 2016).

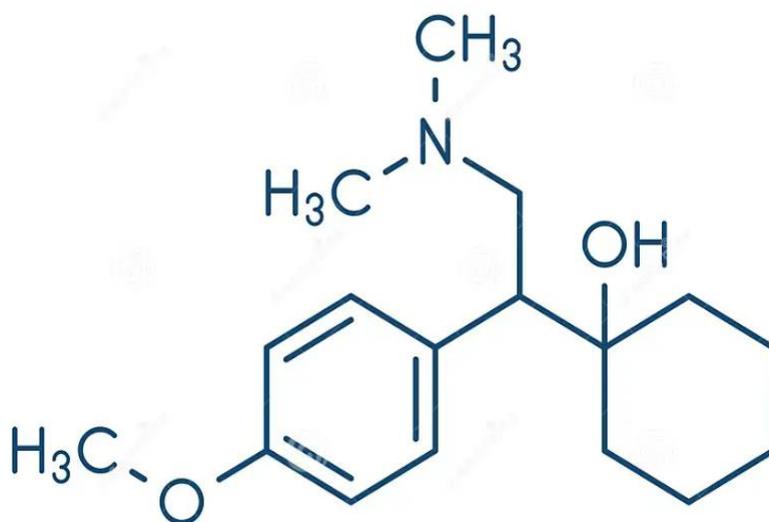
Esta ausência de dados ecotoxicológicos mostra a importância de estudos na elucidação dos efeitos de fármacos como a venlafaxina em espécies não-alvo, uma vez que já foi detectada a presença desse medicamento em no meio aquático, tanto dissolvido quanto acumulado em sedimentos (FERNANDES et al., 2020; MA et al., 2018) e em organismos vivos (MARTÍNEZ-MORCILLO et al., 2020). Média de 205 ng/L<sup>-1</sup> de venlafaxina em efluentes de tratamento de esgoto (VERGEYNST et al., 2014). Em Portugal, foi registrada a presença de 235 ng/L de venlafaxina na água do rio Leça (FERNANDES et al, 2020).

A venlafaxina (Figura 6) é um fármaco inibidor da recaptação da serotonina e da noradrenalina, seu uso é amplamente difundido (HOLLIDAY e BENFIELD, 1995), por esse motivo é comum encontrar essa substância em ambientes aquáticos. Atua na junção sináptica para prevenir a recaptação da serotonina e, em menor extensão, da noradrenalina, e tem um efeito fraco na recaptação da dopamina (ASNIS et al., 2004), ou seja, o cloridrato de venlafaxina aumenta a quantidade de serotonina, norepinefrina e dopamina no sistema nervoso levando à melhora sintomática dentro das indicações feitas para o uso deste medicamento (EUROFARMA, 2019). Também é considerado um composto emergente e com bastante interesse de estudo na União

Europeia, pois é um fármaco amplamente prescrito para controlar a depressão e ansiedade (VASWANI et al., 2003).

De acordo com a Eurofarma (2019), o cloridrato de venlafaxina é indicado para o tratamento da depressão, incluindo depressão com ansiedade associada e para prevenção de recaídas e recorrência da depressão. Também está indicado para o tratamento, incluindo tratamento a longo prazo, do transtorno de ansiedade generalizada, do transtorno de ansiedade social (também conhecido como fobia social) e do transtorno do pânico. Esse medicamento se apresenta comercialmente em cápsulas de 37,5mg, 75mg e 150mg (embalagens com 30 cápsulas).

**Figura 6-** Estrutura química da venlafaxina.



Fonte: <https://pt.dreamstime.com/mol%C3%A9cula-de-venlafaxina-antidepressiva-da-classe-snri-f%C3%B3rmula-esquel%C3%A9tica-image187166957>

Os resíduos provenientes de fármacos são encontrados tanto na água não tratada quanto na água potável, devido à constante liberação em efluentes de águas residuais, podendo trazer malefícios ao meio ambiente e à saúde humana

(SCHUSTER ET AL., 2008). Os fármacos psicoterápicos estão entre os que geram maior preocupação devido ao seu potencial de agir diretamente no sistema nervoso central (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

A venlafaxina é eliminada do organismo principalmente por via renal, com cerca de 87% da dose excretada na urina. Aproximadamente 5% da dose ingerida pode ser detectada na urina, na forma inalterada, e seu tempo de meia-vida é de 4h (BASELT, 2004; WILLE, 2008).

Os animais tendem a ser mais sensíveis à exposição de contaminantes nos estágios iniciais do desenvolvimento, no entanto, poucos estudos trouxeram resultados sobre os efeitos adversos causados pela exposição persistente de venlafaxina. Thompson e Vijayan (2020) utilizaram o peixinho gordo (*Pimephales promelas*) em estudos ecotoxicológicos, onde os embriões foram expostos à venlafaxina de origem aquosa nas concentrações de 0, 0,06, 0,33, 0,66, 1,37 ou 3 µg/L por 7 dias. Apesar de não alterar a taxa de sobrevivência, taxa de eclosão ou frequência cardíaca de embriões e larvas, as concentrações ambientais de venlafaxina reduziram o crescimento das larvas de *Pimephales promelas* mesmo em concentrações baixas como 0,06 mg/L.

Lopes et al. (2020) observaram variação na fecundidade em grupos de crustáceos com o aumento das concentrações de antidepressivos, no entanto, é preciso que sejam realizadas mais pesquisas, pois outros fatores associados também podem ter contribuído para essa alteração. Galus et al. (2013) observaram diminuição na atividade reprodutiva do peixe-zebra (*Danio rerio*) em concentração ambientalmente relevante (10 µg/L) de venlafaxina.

Concentrações ambientais da venlafaxina de 2,19 µg/L foram encontradas em Saint Paul Minnesota, EUA (SCHULTZ E FURLONG, 2008). Um estudo realizado por Rúa-Gomez e Püttmann, (2012) mostrou a presença de venlafaxina em diferentes rios e riachos alemães em concentrações que variaram de 18-122 ng/L.

Concentrações de venlafaxina foram medidas em 0,253 µg/L em uma estação terciária de tratamento de águas residuais em Guelph, no Canadá (Ings, 2011).

### 3.5.1.1 Pandemia do Covid-19 e o Uso de Antidepressivos

A COVID-19, causada pelo vírus Sars-CoV-2, também conhecido como novo coronavírus, é uma doença infecciosa que se destaca por causar uma síndrome respiratória aguda grave em seus infectados. O primeiro caso foi detectado em 2019 na China e, após rápida disseminação pelo mundo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou-a uma pandemia em março de 2020 (BROOKS et al., 2020).

Devido à sua taxa considerável de transmissibilidade, capacidade de sofrer mutações e a falta inicial de informações sobre tratamentos, uma das medidas de controle adotadas foi o isolamento social. O principal objetivo dessa medida é evitar a disseminação do vírus entre os infectados, sejam eles sintomáticos ou assintomáticos (RAFAEL, 2020).

No entanto, a pandemia da COVID-19 teve um impacto significativo na saúde mental da população, agravando ainda mais as patologias mentais já recorrentes na sociedade nos últimos anos. A depressão, ansiedade, transtorno do pânico e transtorno bipolar foram algumas das patologias destacadas por Nascimento (2022) como problemas de saúde pública durante esse período.

O isolamento social teve consequências emocionais nos indivíduos, levando a um sentimento de desestabilização emocional em algumas pessoas. A sensação de impotência diante dos acontecimentos da pandemia e a restrição parcial da liberdade podem causar ou agravar danos psicológicos na sociedade em geral (FIORILLO, 2020).

No enfrentamento da pandemia e nas medidas restritivas adotadas, como o lockdown, o consumo de antidepressivos aumentou, como mostrou o estudo de Yavuz-Guzel et al. (2022) em 11 cidades da Turquia. A análise das águas residuais dessas cidades durante a pandemia revelou maior quantidade de venlafaxina, seguida por amitriptilina, clomipramina, citalopram, moclobemida e mirtazapina.

Pesquisa realizada pelo IQVIA revelou que, no período de janeiro a julho de 2020 em comparação com o mesmo período de 2019, houve um crescimento de cerca de 14% na venda de antidepressivos e estabilizadores de humor. Esses medicamentos são utilizados no tratamento de transtorno bipolar, depressão e distímia. Esse aumento nas vendas pode ser justificado pelo maior percentual de casos de ansiedade (86,5%), depressão (16%) e estresse pós-traumático (45,5%) observados nesse período, o que levou as pessoas a buscarem medicamentos que proporcionam uma sensação de bem-estar após sua ingestão (CFF, 2020).

### **3.5.2 Ácido Perfluorooctanóico (PFOA)**

Os PFASs representam o grupo de substâncias perfluoralquilada e polifluoralquiladas, sendo compostos com cadeias lineares total ou parcialmente saturadas por átomos de flúor. São substâncias de origem antropogênica, somando cerca de 5000 substâncias químicas, consideradas poluentes emergentes, amplamente utilizadas em muitos produtos de consumo e em processos industriais. Moléculas bastante estáveis, podem conter dezenas de átomos de flúor, ligados a grupos como carboxílico sulfônico e sulfonila (PFOS), por exemplo (CETESB, 2018, p. 1).

A preocupação comum é que as substâncias per e polifluoroalquil (PFAS) têm o potencial de acumular-se no ambiente, seres humanos e outros animais ao longo do tempo. Isso ocorre devido ao fato de que esses produtos se decompõem muito lentamente. O PFOA é um dos produtos químicos mais utilizados e estudados no grupo PFAS, e, devido à comprovação de sua toxicidade, foi substituído nos Estados Unidos por outros PFAS nos últimos anos (EPA, 2022).

A produção comercial e o uso do PFOA como revestimento protetor em produtos industriais e de consumo começaram em meados da década de 1950. Esse composto perfluorado orgânico feito pelo homem é composto por uma cadeia de sete carbonos e um grupo funcional carboxila (EPA, 2019).

O PFOA não possui funções biologicamente importantes, secundárias ou propriedades benéficas para a vida aquática. Tanto o PFOA quanto o PFOS têm potencial de bioacumulação e podem persistir no organismo humano por um longo período de tempo. Evidências e estudos epidemiológicos em laboratório indicam que a exposição ao PFOA e/ou PFOS pode causar câncer, problemas de reprodução, desenvolvimento (por exemplo, baixo peso ao nascer), efeitos cardiovasculares, hepáticos, renais e imunológicos tanto em humanos quanto em outros animais (EPA, 2019).

Os PFAS têm sido usados na indústria e em produtos de consumo desde a década de 1940. Esses compostos são utilizados em painéis antiaderentes, roupas, cosméticos, ceras, materiais de higiene pessoal, embalagens de papel em contato com alimentos, espumas de combate a incêndios, aplicações industriais têxteis, entre outros. Dentre os compostos desse grupo, o PFOA é o mais produzido e estudado (CETESB, 2018).

O PFOA é um contaminante antropogênico que difere de várias maneiras da maioria dos outros produtos químicos orgânicos já conhecidos e encontrados na água potável. Devido à sua distribuição global, persistência ambiental e natureza bioacumulativa, o PFOA tem sido alvo de estudo e preocupação (JI et al., 2008), inclusive para a União Europeia.

Esse composto é solúvel em água e não se liga bem ao solo ou sedimentos. O PFOA persiste em humanos com meia-vida de vários anos e é encontrado na água de quase todos os residentes nos EUA e em populações em todo o mundo. As fontes de exposição incluem alimentos, embalagens de alimentos consumidos, produtos, poeira e água potável (POST et al., 2012).

Na Baía de Bohai, China, a concentração mediana de PFOA na água foi de 12,15 ng/L (WANG et al., 2015). Em Hyannis Port, Massachusetts, a maior concentração de PFOA detectada foi de 22 ng/L (SCHAIKER et al., 2010). Em outro estudo realizado um ano após, Schneider et al. (2011) testaram 20 poços e encontraram concentrações mais baixas quando comparadas com a anterior, onde as amostras variaram de (3-7 ng/L) de PFOA.

Kovachev et al. (2012) coletaram de água em rios de 41 cidades de 15 países. O PFOA foi detectado em todas as 41 cidades, tanto em áreas industriais quanto as que não são, evidenciando a ocorrência do transporte a longa distância destes compostos no ambiente. A concentração média de PFOA em cada cidade foi de 0,2-1.630,2 ng/L.

A concentração de PFOA foi elevada em Osaka (1.630,2 ng/L), no entanto a concentração média de PFOA nas outras cidades foi inferior a 100 ng/L. Os resultados apresentados indicaram uma concentração muito elevada de PFOA no Japão, que foi duas vezes mais elevada do que a segunda mais elevada (Inglaterra).

Foram detectadas concentrações elevadas de PFOA em Okinawa (29 ng/L), Osaka (mediana: 50 ng/L), Nara (30 ng/L), e Quioto (27 ng/L) (KOVACHEV et al., 2012).

Muitos parâmetros de pesquisas em saúde estão relacionados com a exposição humana ao PFOA na população em geral. Alguns efeitos do PFOA em humanos são semelhantes às respostas fisiológicas em animais, e outros são diferentes, como o metabolismo de lipídios. Esse composto já foi classificado como cancerígeno em humanos (POST et al., 2012).

Em estudos com animais, já foram observados impactos no desenvolvimento, mostrando que esses se apresentam mais sensíveis à toxicidade do que à carcinogenicidade ou efeitos hepáticos muito evidentes. Em camundongos, a exposição a uma água contaminada em concentrações ambientais causou efeitos adversos no desenvolvimento da glândula mamária (POST et al., 2012).

Estudos de Jantzen et al. (2016) mostraram que a exposição a compostos polifluorados, incluindo o PFOA, em uma faixa baixa de concentrações (0,02-2,0 M; 20-2000 ppb) nos primeiros 5 dias pós-fertilização (dpf) resultou em problemas no desenvolvimento e redução da sobrevivência pós-nascimento do peixe-zebra. De maneira geral, os peixes-zebra expostos ao PFOA apresentaram alterações nos parâmetros morfométricos (5 dpf, 14 dpf), comportamento locomotor (14 dpf) e parâmetros de expressão gênica direcionada (5 dpf, 14 dpf), que podem se manifestar em teleósteos expostos no ambiente natural (JANTZEN et al., 2016).

O Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia trazem, através da Diretiva 2020/2184, os parâmetros referentes à qualidade da água destinada ao consumo humano, sendo 0,50 µg/l a quantidade de PFAS totais e 0,10 µg/l a soma de PFAS. O parâmetro total de PFAS é a totalidade das substâncias

perfluoroalquiladas e polifluoroalquiladas. A soma de PFAS inclui as substâncias perfluoroalquiladas e polifluoroalquiladas consideradas preocupantes para a água destinada ao consumo humano, enumeradas no anexo III, parte B, ponto 3 como o Ácido perfluorooctanóico, Ácido perfluorotridecanóico, Ácido perfluorobutano sulfônico, Ácido perfluoropentano sulfônico, Ácido perfluorohexano sulfônico, Ácido perfluoroheptano sulfônico, Ácido perfluorooctano sulfônico, Ácido perfluorononano sulfônico, Ácido perfluorodecano sulfônico, Ácido perfluorotridecano sulfônico. Esse grupo total de PFAS inclui as substâncias que contêm uma fração perfluoroalquilada com três ou mais átomos de carbono ou uma fração de éter perfluoroalquilado com dois ou mais átomos de carbono (EUR-Lex, 2020).

Até janeiro de 2024, a Comissão estará elaborando orientações técnicas sobre os métodos de análise para realizar o monitoramento das substâncias perfluoroalquiladas e polifluoroalquiladas, utilizando os parâmetros "total de PFAS" e "soma de PFAS". Essas orientações irão abordar especificamente os limites de quantificação, os valores paramétricos e a frequência de amostragem (EUR-Lex, 2020).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ENSAIOS COM *Triops longicaudatus* (LeConte, 1846)

#### 4.1.1 Criação de *T. longicaudatus*

Os *T. longicaudatus* pertencem a culturas mantidas na Faculdade de Ciências do Porto (FCUP) durante várias gerações. As adaptações no protocolo seguiram metodologia baseada e descrita por Chessa (2021), onde 12,5g de areia com cistos de *T. longicaudatus* foram homogeneizados com água aerificada (AA) em recipientes plásticos com 110mm de diâmetro e após isso foram mantidos a  $25.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$  com um

fotoperíodo de 12h:12h (luz: escuridão). Nos primeiros dias, a dieta necessária para cada recipiente consistiu em 25mg de granulado de algas dissolvidos em 10mL de AA (figura 7), sem necessidade de trocar o meio. A partir do 3º dia o meio passou a ser renovado todos os dias para repor os níveis de oxigênio e remover metabólitos como amônia. A partir do 4º dia, os animais passaram de filtradores para detritívoros e a dieta passou a ser com 1 pellet de granulado de peixe por animal (Tropical Vitality & Color Granulat). O número de pellets dados aumentou em um por animal por dia até ao 10º dia (idade adulta): 2 pellets no 5º dia, 3 pellets no 6º dia, e assim sucessivamente.

**Figura 7 – A:** Granulado de algas utilizados nos primeiros dias do desenvolvimento de *T. longicaudatus* (fase em que são filtradores). **B:** Tropical Vitality & Color Granulat utilizado na alimentação a partir do 4º dia de desenvolvimento (quando os animais passam a ser detritívoros).



#### 4.1.2 Plano experimental

Para avaliação da toxicidade e comportamento utilizando os contaminantes venlafaxina e ácido perfluorooctanóico, foram realizados ensaios com *T. longicaudatus* (com 7 dias de vida), no laboratório de Ecotoxicologia Aquática da FCUP.

Um total de 70 animais foram selecionados aleatoriamente com aproximadamente o mesmo tamanho dos recipientes de eclosão disponíveis e agrupados em 10 animais por recipiente. Para os ensaios, foram utilizados recipientes de vidro com 500mL da solução nas concentrações indicadas (figura 8). Os animais foram expostos por tratamento em réplicas de 10 animais por recipiente. As concentrações de teste foram 0; 0,004; 0,04; 40 e 400 $\mu$ g/L, para PFOA e 0; 0,0265; 0,265; 26,5; 2,65; 265 e 2650 $\mu$ g/L para VEN. Os animais foram alimentados normalmente durante o experimento. As soluções de teste foram trocadas diariamente.

**Figura 8** – Modelo do recipiente de vidro utilizado para durante a exposição dos *T. longicaudatus*.



Fonte: o autor.

As soluções utilizadas nos ensaios foram previamente preparadas (24h antes) e os recipientes com a soluções foram mantidos na mesma temperatura do ensaio e abrigadas da luz. Os animais foram expostos aos contaminantes durante 96 horas.

As tabelas 3 e 4 apresentam as diluições e preparo de soluções estoque utilizadas nas exposições para a venlafaxina e PFOA, respectivamente.

**Tabela 3 - Diluições das soluções de venlafaxina para exposição de *T. longicaudatus*.**

Solução estoque 1 (S1) (10600 µg 0,1060g)		
Estoque	Água	Concentração

---

1		
125mL	375mL	2650µg/L
12,5mL	487,5mL	265µg/L
1,25mL	498,5mL	26,5µg/L

---

**Nova solução estoque(S2) 26,5µg/L (1,25mL da S1 em 498,5mL de água)**

---

Estoque	Água	Concentração
2		
100mL	400mL	2,65µg/L
10mL	490mL	0,265µg/L
1mL	499mL	0,0265µg/L

---

Fonte: o autor.

**Tabela 4- Diluições das soluções de PFOA para exposição dos animais**

**Solução estoque 1 (S1) (8000 µg/L 0,008g)**

---

Estoque	Água	Concentração
1		
25mL	475mL	400µg/L
2,5mL	497,5mL	40µg/L
0,25mL	499,75mL	4µg/L

---

**Nova solução estoque (S2) 4µg/L (0,25mL da S1 em 499,75mL de água)**

---

Estoque	Água	Concentração
2		
50mL	450mL	0,4µg/L

---

5mL	495mL	0,04µg/L
0.5mL	499,5mL	0,004µg/L

Fonte: o autor.

As diluições feitas no preparo das soluções utilizadas nas gravações estão descritas nas tabelas 5 e 6.

**Tabela 5 - Diluições das soluções de venlafaxina para gravações com 48h e 96h de exposição. Para gravações nos tempos 48h e 96h de exposição (recipientes/arenas com 220mL de solução)**

<b>Estoque 1</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
55mL	165mL	2650µg/L
5,5mL	214,5	265 µg/L
0,55mL	219,45	26,5 µg/L
<b>Estoque 2</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
22mL	198mL	2,65 µg/L
2,2mL	217,8mL	0,265 µg/L
0,22mL	219,78mL	0,02265 µg/L

Fonte: o autor.

**Tabela 6. Diluições das soluções de PFOA para gravações com 48h e 96h de exposição. Para gravações nos tempos 48h e 96h de exposição (recipientes/arenas com 220mL de solução)**

<b>Estoque 1</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
11mL	209mL	400µg/L
1,1mL	218,9mL	40µg/L
0,11mL	219,89	4µg/L
<b>Estoque 2</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
22mL	198mL	0,4µg/L
2,2mL	217,8mL	0,04µg/L
0,22mL	219,78mL	0,004µg/L

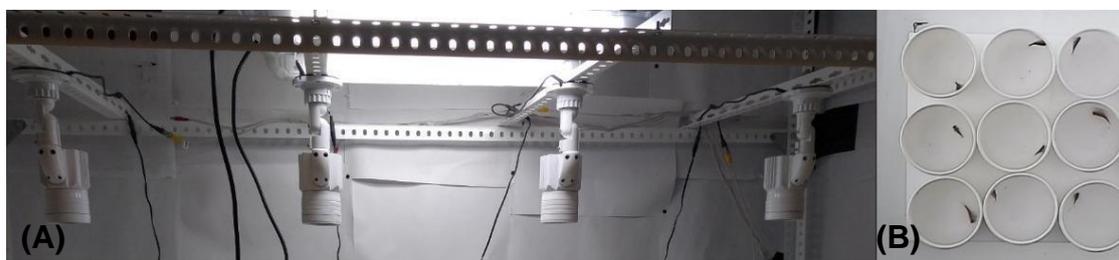
Fonte: o autor.

O sistema usado para gravações dos vídeos foi semelhante ao descrito por Teles et al. (2015). As gravações para realização da análise do comportamento de

*Triops longicaudatus* foram realizadas com 48h e 96h de exposição aos tóxicos, os organismos filmados durante um total de 30 minutos, sendo que 5 minutos finais e 5 iniciais foram retirados, analisando então 20 minutos de gravação. Cada organismo foi introduzido em um recipiente de polipropileno opaco (arena) com 220mL de água com a solução usada na exposição. Apenas o movimento horizontal foi registado, uma vez que a profundidade das arenas foi reduzida a um valor mínimo (5cm). Nove animais de cada condição experimental foram selecionados aleatoriamente e utilizados na avaliação comportamental. As gravações foram feitas utilizando um sistema com quatro câmeras Flow Electronics 540L IR (modelo: CACO0008) ligadas a um dispositivo de captura Camtronics DVR 38 AHD PLUS (figura 9).

Todos os animais foram distribuídos aleatoriamente pelas quatro câmeras (9 arenas por câmera) para evitar fenômenos potencialmente enviesados, como o mau seguimento periférico. O processamento de vídeo foi realizado num computador com CPU Intel® Core™ i7-2600K (@3.40GHz, 16,00 GB RAM) com Windows 10Pro. A área de gravação foi rodeada por uma cortiça expandida (2 cm de espessura), para minimizar o ruído externo e as vibrações.

**Figura 9- A:** Conjunto de câmeras Flow Electronics 540L IR (modelo: CACO0008) utilizadas para gravação dos vídeos. **B:** Arenas com 110mm utilizadas nas gravações.



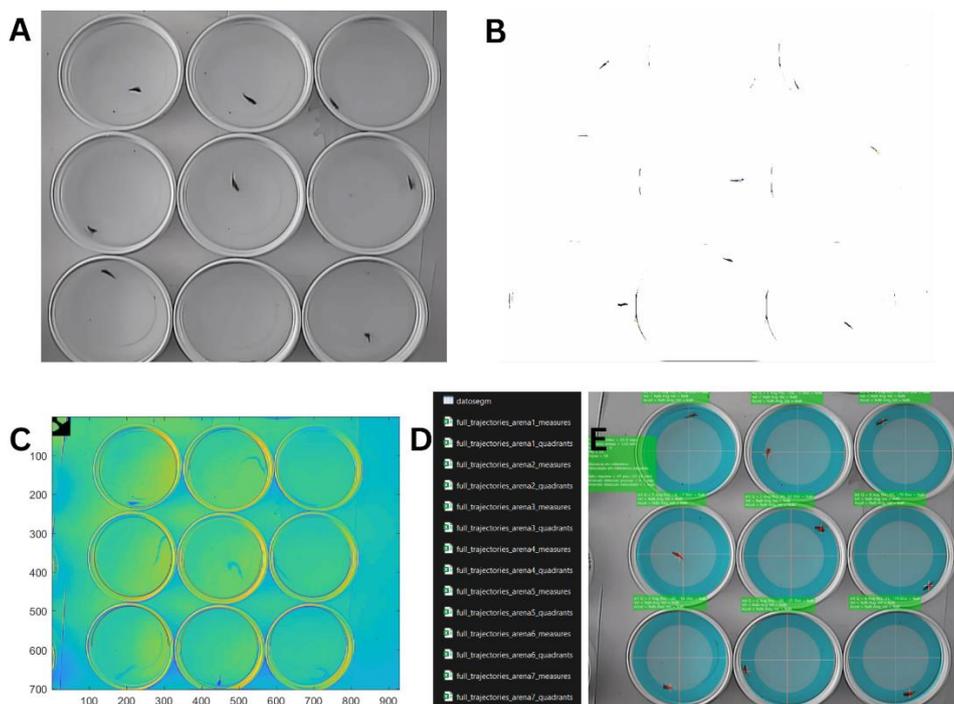
Fonte: o autor.

#### 4.1.3 Processamento de imagens

Os vídeos gravados foram processados no software Matlab (2017a) utilizando o algoritmo Biotracker desenvolvido internamente. Para analisar os vídeos, o algoritmo funciona de forma autônoma para seguir um objeto escuro em um fundo claro e para isso percorre três etapas, como mostrado na Figura 10. Na fase de pré-processamento, os vídeos originais são preparados para serem analisados, onde o algoritmo corrige distorções da lente e aplica filtros ao vídeo com objetivo de retirar a cor e aumentar o contraste entre o objeto seguido e o fundo, facilitando a visualização do animal e o trajeto percorrido. A detecção das trajetórias é a segunda fase, nesta etapa o algoritmo detecta no vídeo o número de arenas circulares, delimita-as e identifica as trajetórias formadas pelo organismo em movimento dentro de cada arena. Por último, no pós-processamento ocorre a análise e refinamento das trajetórias detectadas anteriormente, extraíndo a posição do animal em cada fotograma de vídeo e convertendo-a em coordenadas XY, o que permite calcular os parâmetros do descritor de movimento. Estes dados são armazenados em arquivos 'csv', para serem analisados via Excel.

**Figura 10-** Etapas do algoritmo para análise dos vídeos. A: Captura do vídeo original. B: 1ª fase- pré-processamento. C: 2ª fase- detecção de trajetórias. D:

3ª fase- pós-processamento. E. Captura do vídeo de verificação com a detecção de arenas e detecção dos animais.



Fonte: o autor.

#### 4.1.4 Análises estatísticas

As variáveis utilizadas para a análise comportamental englobam a trajetória no eixo X (mm/s), trajetória no eixo Y (mm/s), a distância ao centro (mm), a distância total percorrida (mm), a velocidade instantânea e média (mm/s), aceleração instantânea (mm/s), velocidade angular instantânea e média (graus/s), meandro e meandro médio (grau de curvatura por unidade de deslocamento).

Em seguida foi realizado um teste do qui-quadrado triplo para avaliar possíveis diferenças comportamentais de acordo com tratamento. Uma diferença significativa foi considerada quando  $p < 0.05$ . O qui-quadrado dividido pelo total de

observações é igual a inércia total (MAHIEU et al., 2021). Para interpretar os dados obtidos com o estudo comportamental do animal foi usada uma ferramenta baseada *Network Neural Artificial* do tipo Kohonen (NNA - Kohonen, 2001). Os dados de entrada para essa análise foram organizados em grupos (*clusters*), de acordo com as frequências das classes comportamentais. O NNA classifica padrões de comportamento e os organiza automaticamente no mesmo grupo (*Self Organizing Feature Maps: SOFM* – QIAO; HAN, 2010, FERNANDES et al., 2016, AMORIM et al., 2018).

A análise das diferenças entre as classes comportamentais foi realizada com o Statistica v13 (StatSoft, 2012) para Windows, utilizando a ANOVA com o teste Tukey Unequal N HSD. Quando  $p < 0,05$ , diferenças significativas foram consideradas.

#### **4.1.5 Processamento dos parâmetros: tamanho e sobrevivência**

Durante a exposição, o número de animais mortos foi verificado e registrado diariamente. Quanto ao tamanho, este parâmetro foi analisado ao fim das 96h de exposição, onde os organismos foram fotografados e medidos usando a ferramenta *ImageJ*.

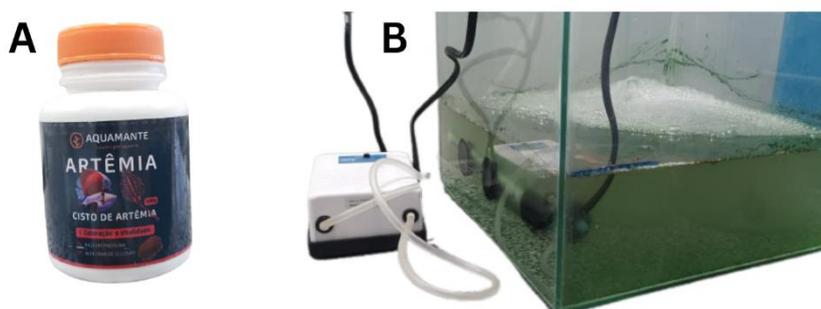
## **4.2 ENSAIOS COM *Artemia salina***

### **4.2.1 Criação de *A. salina***

A metodologia seguida para a criação de artêmias seguiu metodologia adaptada de Harada, 2009. Um meio de água salgada

artificial (salinidade 38%) foi preparado utilizando água aerificada e sal marinho. Para cada litro de água salgada foram adicionadas 80mg de cistos de *A. salina* adquiridos comercialmente (Figura 11). O aquário utilizado para eclosão dos cistos foi mantido com aeração constante, temperatura de 26°C +/- 1°C e luz artificial constante durante 48 horas para que houvesse a eclosão dos mesmos.

**Figura 11 – A:** Cistos de *A. salina* adquiridos comercialmente. **B:** Aquário durante o processo de criação das artêmias.



Fonte: o autor.

Como as artêmias são filtradoras durante todos os estágios de do seu desenvolvimento, a alimentação foi feita exclusivamente com spirulina em pó durante todo o experimento. Até o 6º dia de cultivo, a quantidade de spirulina foi de 0,2 g/L e a partir do 7º dia, a quantidade de alimento aumentou para 0,35g/L.

#### 4.2.2 Exposição e teste de sobrevivência com venlafaxina

O ensaio com *A. salina* foi realizado a partir do 7º dia pós eclosão dos cistos. As artêmias foram agrupadas em 20 por recipiente de polipropileno com 110mm de diâmetro (80 animais no total) de 250mL com

a solução controle ou contaminante. A exposição foi feita durante 72h e a quantidade de animais mortos foram registradas diariamente.

Os recipientes foram mantidos com aeração durante toda exposição, houve renovação do meio e alimentação diariamente (Figura 12).

**Figura 12** – Recipientes de polipropileno onde foram realizados testes de toxicidade com *A. salina*.



Para esse teste, as concentrações utilizadas de venlafaxina foram: 0 µg/L, 0,0265 µg/L, 26,5 µg/L e 2650 µg/L. A tabela 6 apresenta as diluições a partir da solução estoque para o teste de mortalidade com venlafaxina.

**Tabela 6.** Diluições para teste de toxicidade com venlafaxina (recipientes com 250mL de solução).

---

**Solução estoque 1 (S1) (200mg/L)**

---

<b>Estoque 1</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
33,12mL	216,88mL	2650 µg/L
33,12 µg	249,96mL	26,5 µg/L
<b>Solução estoque 2 (26,5 µg/L)</b>		
<b>Estoque 2</b>	<b>Água</b>	<b>Concentração</b>
250µg	249,75mL	0,0265 µg/L

Fonte: o autor.

#### 4.2.3 Processamento de Dados

Ao final das 72h foram calculadas a média dos organismos mortos e os organismos que permaneceram vivos foram descartados.

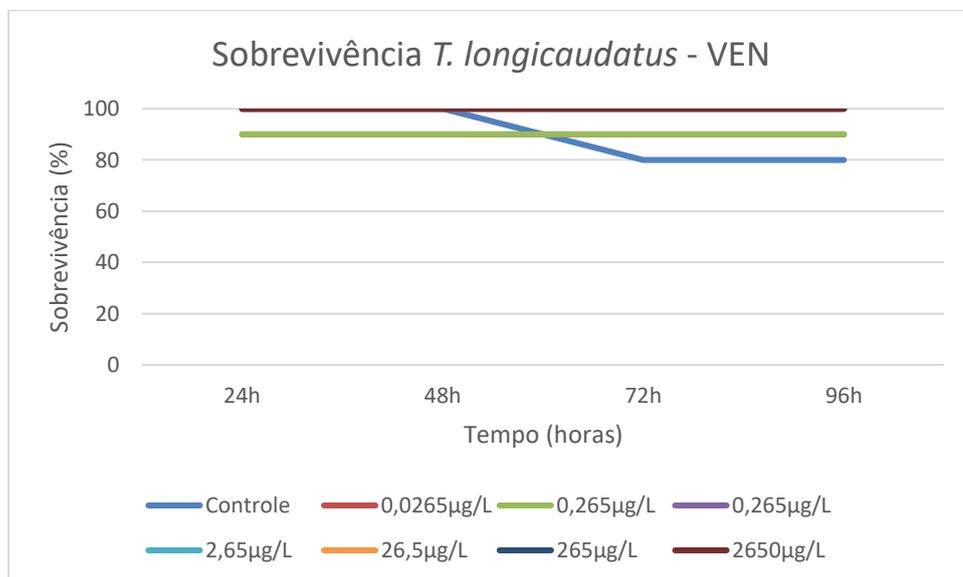
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ENSAIOS COM *T. longicaudatus*

#### 5.1.1 Sobrevivência e tamanho

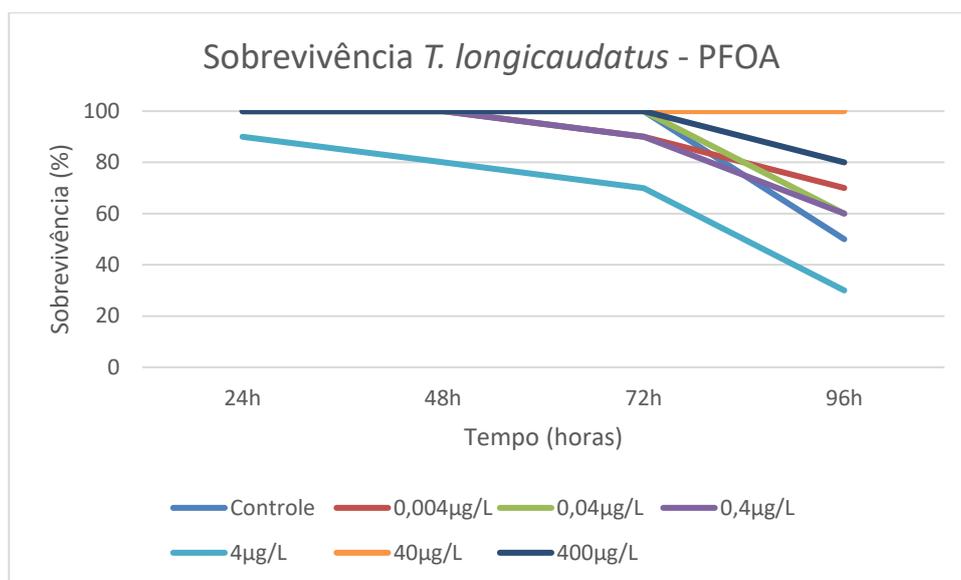
Durante 96h de exposição foi observada sobrevivência dos *T. longicaudatus* nos tratamentos com a venlafaxina e ácido perfluorooctanóico. A Figura 13 apresenta um gráfico de sobrevivência para VEN e a Figura 14 para PFOA de acordo com as concentrações e tempo de exposição. Sendo inicialmente 10 animais em cada recipiente.

**Figura 13-** Gráfico da sobrevivência de *T. longicaudatus* por concentração de Venlafaxina ao longo de 96h de exposição.



Fonte: o autor.

**Figura 14-** Gráfico da sobrevivência do *T. longicaudatus* por concentração de Ácido Perfluorooctanóico ao longo de 96h de exposição.



Fonte: o autor.

O percentual de sobrevivência dos *T. longicaudatus* não se apresentou de forma homogênea nos tratamentos. A morte de animais no controle pode ser consequência de fatores externos como a manipulação dos animais para gravações.

De forma geral, a sobrevivência dos *T. longicaudatus* nos tratamentos com VEN não apresentou um declínio abrupto. Podendo-se inferir que a morte de dois animais nas duas concentrações mais baixas pode ser devido a condições de aclimatação no início do experimento.

Luna et al. (2013) testaram outro antidepressivo inibidor da recaptação da serotonina em *Physa pomilia*. Quando expostos a 0,01 µg/L de fluoxetina, os caracóis apresentaram conchas mais compridas do que os expostos a concentrações mais

altas como 1,0 µg/L ou 100 µg/L de fluoxetina. Por outro lado, as concentrações de fluoxetina não afetaram significativamente a mortalidade. No nosso trabalho, as concentrações de venlafaxina não interferiram significativamente na diferença entre os animais do controle e os expostos ao fármaco.

Em contrapartida, a exposição de *Ceriodaphnia cornuta* com sertralina a provocou efeito de inibição da defesa morfológica induzida, mas também não influenciou no crescimento e reprodução. Nesse caso, a redução da defesa morfológica fez com que *Ceriodaphnia cornuta* fosse predada facilmente por larvas de *Chaoborus* (ZHU et al., 2020).

Chen et al. (2021) testaram o composto orgânico sintético Bisfenol A (BPA) nas concentrações 6,00; 9,00; 12,50 ou 18,75 mg/L e relataram diminuição significativa da sobrevivência de *Daphnia magna* em 86,67%, 30,00%, 13,33% e 0,00%, respectivamente. Em concentrações mais baixas como 2,67 e 4,00 mg/L não observaram alterações significativas quando comparada ao controle.

Em concentrações relativamente baixas, alguns fármacos da classe dos antidepressivos não costumam provocar mortalidade em algumas espécies de animais aquáticos, mas podem provocar alterações na reprodução (STANLEY et al., 2007; BROOKS et al., 2003; BRINGOLF et al., 2010), comportamento alimentar (STANLEY et al., 2007; MENNIGEN et al., 2009) e no desenvolvimento (FORAN et al., 2004; GALUS et al., 2013; Stanley 2007; PELLI, 2011).

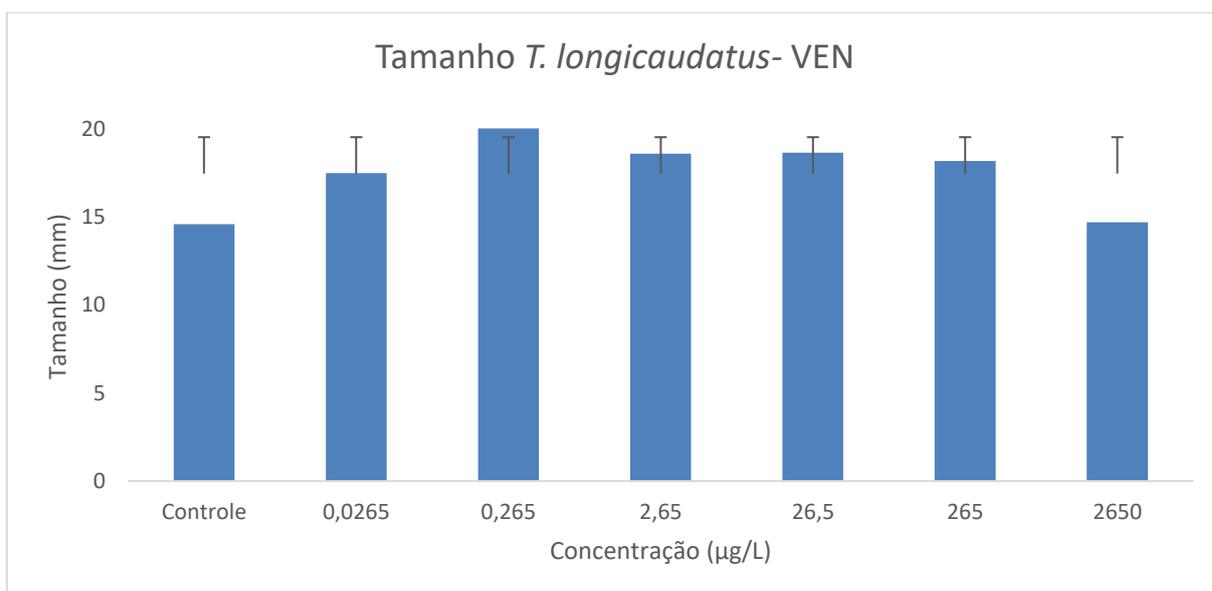
Nos tratamentos com PFOA, a sobrevivência dos *T. longicaudatus* também não se apresentou de maneira homogênea, no entanto, os testes com esse contaminante resultaram em um número declínio maior na sobrevivência. A menor taxa de sobrevivência durante a exposição foi observada em uma concentração intermediária (4µg/L), onde somente 40% organismo sobreviveram, seguido pelo controle com 50% de sobrevivência e 0,04 e 0,4 µg/L ambas com 60% e as demais

concentrações apresentaram percentual de sobrevivência acima de 70%. É importante destacar que o declínio na sobrevivência ocorreu em sua maioria com 96h de exposição. Já foi relatado em *Moina macropa* a LC<sub>50</sub> para PFOA foi de 199,51 mg/L e de 17,95 mg/L para PFOS. Essa espécie mostrou ser mais sensível que a *D. magna* para ambos os compostos perfluorados tanto em exposições agudas quanto em crônicas (JI et al., 2008)

Em teste com *Daphnia magna* realizado por LU et al. (2016) não foi observado morte no grupo de controle no teste de toxicidade aguda com PFOA. No nosso trabalho, a concentração máxima foi de 400 µg/L de PFOA com 80% de sobrevivência dos *T. longicaudatus*. Para *D. magna* foi observado aumento do efeito de imobilização e mortalidade à medida que as concentrações foram elevadas, onde os valores de EC<sub>50</sub> (concentração de efeito associada a 50% de redução no crescimento ou reprodução) e LC<sub>50</sub> (concentração letal associada a 50% de mortalidade) do PFOA foram 110,7 mg/L e 139,0 mg/L, respectivamente (LU et al., 2016).

Os dados com a média do comprimento dos *T. longicaudatus* estão apresentados Figuras 15 e 16, e essas medidas foram feitas com os animais ao fim de 96 horas de exposição a venlafaxina e ácido perfluorooctanóico nas concentrações indicadas.

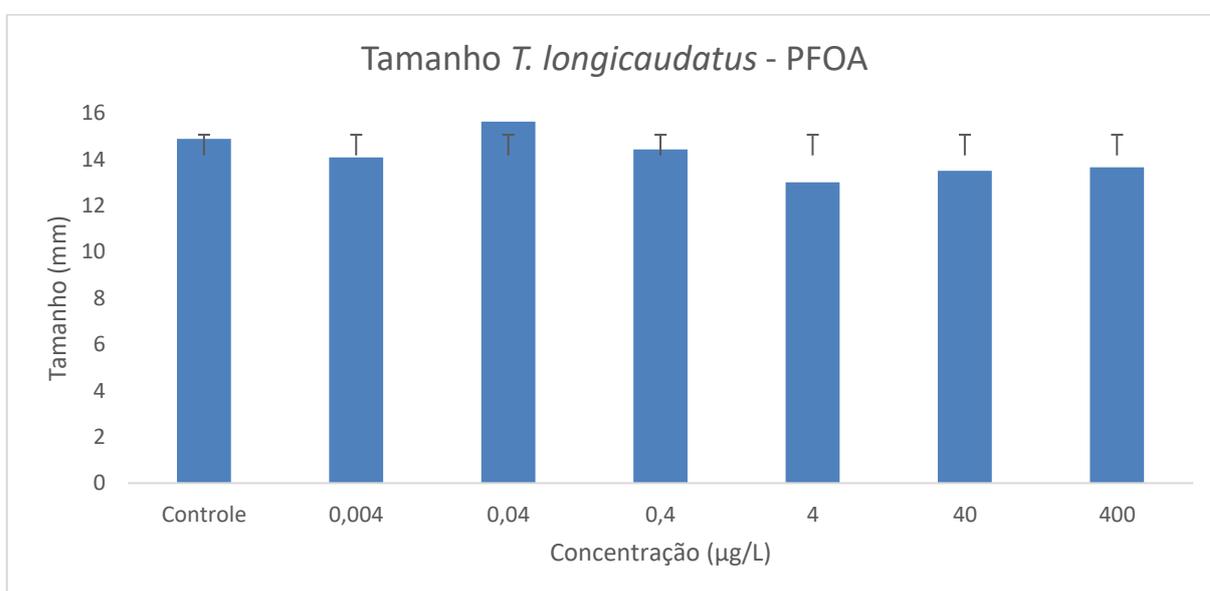
**Figura 15-** Média tamanho (mm) e desvio padrão de *T. longicaudatus* por concentração ao fim de 96h de exposição a Venlafaxina. *T* test com  $p < 0,05$  indicando que a diferença entre as médias foi significativa.



Fonte: o autor.

Nos tratamentos com a venlafaxina a média de tamanho variou de 14,58mm (controle) a 20,02mm (0,26µg/L). Com o PFOA a média variou de 13,02mm (4 µg/L) a 15,64mm (0,004µg/L).

**Figura 16-** Média de tamanho (mm) e desvio padrão de *T. longicaudatus* por concentração ao fim de 96h de exposição ao PFOA. *T test* com  $p < 0,05$  indicando que a diferença entre as médias foi significativa.



Fonte: o autor.

Nesse estudo, as médias dos tamanhos nos tratamentos de *T. longicaudatus* com PFOA também não apresentaram diferenças significativa entre si, no entanto quando comparado ao tratamento com venlafaxina, os *T. longicaudatus* tratados com PFOA apresentaram um tamanho menor. Fazendo uma comparação entre os dois contaminantes que trabalhamos, o tamanho dos *T. longicaudatus* e a quantidade de animais mortos durante os testes parece estarem relacionadas, uma vez que nas exposições com PFOA resultou em um percentual maior de mortalidade.

O tamanho médio de *T. longicaudatus* no tratamento com VEN 14,18mm enquanto no PFOA 17,46mm.

Shi et al. (2008) que demonstraram comprimentos corporais inferiores de embriões de peixe-zebra expostos a 3 e 5 mg/L de PFOS. Hagenars et al. (2011) também observaram que comprimento de *Danio rerio* às 120 hpf o foi menor em embriões expostos a compostos perfluorados que possuem comprimento de cadeia mais longos como PFOS e PFOA, quando comparados ao controle. Esses efeitos com PFOS foram encontrados em embriões expostos a concentrações a partir de 1mg/L, os efeitos do PFOA foram encontrados a 100 mg/L e 250 mg/L. Já nos achados de Yang et al. (2014) o comprimento e o peso do corpo de *Pseudorasbora parva* e *Bufo gargarizans* expostos a PFOS e PFOA não foram significativamente afetados.

### 5.1.2 Comportamento

O modelo estatístico de NNA identificou e criou seis classes de comportamento (classe 1 a 6), ao agrupar e compilar os dados da exposição às diferentes concentrações de VEN e de PFOA por similaridade. As classes comportamentais geradas pela NNA são baseadas nas diferentes variáveis que descrevem o movimento e são apresentadas no Tabela 7.

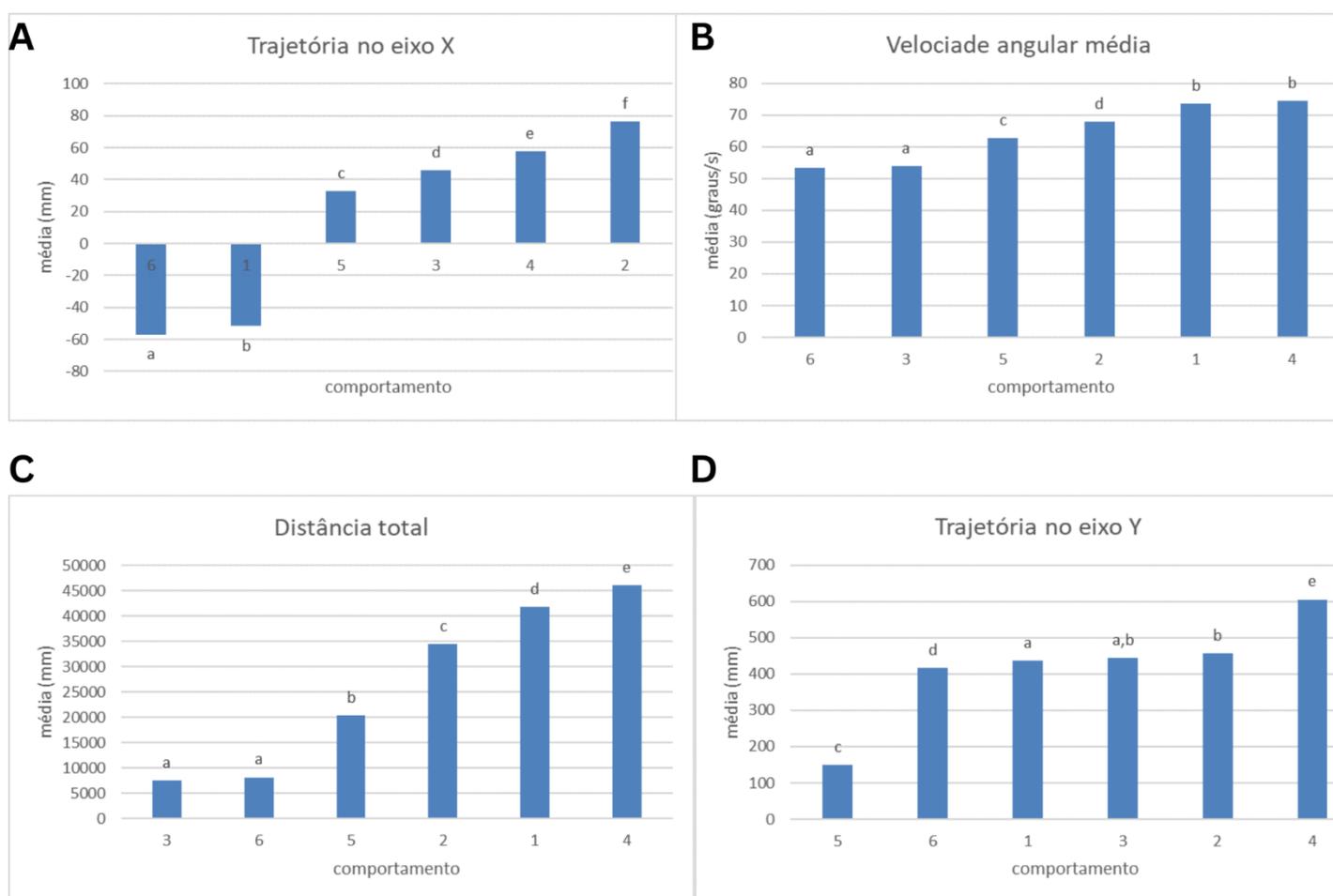
Ao analisar cada uma das diferentes variáveis de descrição do movimento verificamos que as variáveis distância do centro, velocidade instantânea, velocidade média total, aceleração instantânea, velocidade angular, meandro e meando médio colocam os comportamentos todos num mesmo grupo (ver Anexo A), a variável trajetória no eixo X (A), colocou cada comportamento num grupo distinto (Figura 17) e as variáveis velocidade angular média (B), distância total (C) e trajetória no eixo Y(D) são colocadas em 4 ou 5 grupos.

**Tabela 7 – Descrição do comportamento do *T. longicaudatus* durante exposição com VEN e PFOA dividida em classes de comportamentais geradas pela NNA.**

Variável	Classe de comportamento					
	1	2	3	4	5	6
Trajétória no eixo X (mm/s)	51.53 ± 30.08	76.49±1 8.46	45.59±31 .63	57.61±22. 66	32.58±39.7 0	- 57.07±24 .30
Trajétória no eixo Y (mm/s)	435.91±1 78.01	456.89± 101.70	443.59±1 78.06	605.30±1 00.87	150.42±91. 66	415.94±2 00.53
Distância do centro (mm)	42.28±7.5 8	46.88±5 .01	5.88±428 4.93	44.06±5.6 5	40.07±10.0 4	42.54±24 .54
Distância total (mm)	41812.55 ±6595.74	34471.7 9 ±6911.2 9	7589.64± 6801.57	46090.57 ±6088.68	20441.15± 12517.67	8201.11± 7618.26
Velocidade instantânea (mm/s)	39.15 ± 19.72	36.24±1 9.74	43.12±52 29.33	41.05±21. 19	28.04±20.2 1	17,95±20 .17
Velocidade média total (mm/s)	41.89±6.3 8	37.70±7 .599	- 138.98±8 427.19	43.90±5.3 3	27.51±14.3 3	- 88.75±73 .48
Aceleração instantânea (mm/s)	-- 0.53±15.9 7	0.02±16 .92	- 34.05±42 14.66	0.73±18.9 7	0.72±14.73	0.89±21. 10
Velocidade angular (graus/s)	7.98±76.7 3	14.04±7 7.17	- 41.76±54 08.85	4.53±82.9 4	5.98±80.57	- 39.44±48 69.95
Velocidade média (graus/s)	73.43±12. 70	67.98±1 4.02	53.92±47 .93	74.46±8.2 6	62.85±22.9 9	53.41±51 .39
Meandro (grau de curvatura/ mm)	- 0.35±19.0 6	1.03±24 .05	- 34.76±43 10,42	0.11±29.0 7	0.44±29.56	1.65±53. 91
Meandro médio (grau de curvatura/ mm)	1.78±0.32	1.84±0. 44	6.51±30. 00	1.70±0.16	2.94±1.80	- 54.60±50 27.34

Fonte: o autor.

**Figura 17-** Gráficos com descrição dos valores médios em quatro variáveis de locomoção e agrupamento por classe comportamental (letras minúsculas). Letras diferentes identificam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. A: trajetória no eixo x. B: velocidade angular média. C: distância total. D: trajetória no eixo y.



Fonte: o autor.

Na Figura 17, quando analisada a trajetória do *T. longicaudatus* no eixo do x (A), o comportamento 2 apresenta a maior média com 76,49 mm/s e o comportamento 6 apresenta a menor média neste eixo com -57,07 mm/s. No que se refere ao agrupamento desses comportamentos de acordo com a média, se apresentaram em grupos distintos.

A velocidade angular média (B) apresentou médias com valores mais uniformes e próximas umas das outras, o que contribuiu para uma formação de quatro grupos diferentes onde o comportamento 6 e 3 estão inseridos no grupo (a), 5 (c), 2 (d), 1 e 4 no grupo (b).

A maior média da distância total (C) percorrida pelo *T. longicaudatus* foi no comportamento 4 com aproximadamente 46090 mm e a menor encontra-se no comportamento 3 com aproximadamente 7589 mm. Neste parâmetro, grupos distintos foram formados a partir dos valores médios, onde 1 (d), 2 (c), 3 e 6 (a), 4 (e), 5 (b).

No gráfico com a trajetória no eixo do y (D) os comportamentos também se apresentaram em grupos distintos, no entanto o comportamento 3 está inserido tanto no grupo (a) quanto no grupo (b) devido ao fato da sua média estar próxima de ambos os grupos. A maior média nesse parâmetro foi para o comportamento 4 com aproximadamente 600,30 mm/s e a menor média no comportamento 5 com cerca de 150,42 mm/s.

O comportamento 1 apresentou valor da média de velocidade angular média baixa, distância total percorrida alta, meandro próximo de 0 e distância ao centro com valor mediano quando comparado aos outros comportamentos do parâmetro. Valores medianos para distância ao centro e meandro próximos de 0 podem sugerir que nesse comportamento os animais circulavam fazendo curvas consideravelmente abertas e nadando mais ao centro da arena. Em estudos de

comportamento com peixes zebra expostos ao PFOA a 0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L durante 7 dias onde não foi observada uma alteração significativa no ângulo das voltas, distância percorrida, a velocidade máxima, episódios de imobilidade e a duração da imobilidade. Em contrapartida, 0,5 e 1,0 mg/L de PFOA reduziram acentuadamente o número de transições para a área superior e o tempo passado na área superior em comparação com o controle, sem alterar a latência para entrar na área superior e alterações na atividade vertical do peixe zebra exposto a 0,5 e 1,0 mg/L de PFOA (ADEDARA et al., 2022).

O comportamento 2 é caracterizado principalmente por apresentar altas médias em todos os parâmetros e a combinação de valores elevados para distância do centro e meandro próximo de 0 indicam curvas abertas e organismos nadando por toda arena. Em larvas de peixe zebra, a diferença significativa na distância total e na velocidade média de movimento indicou um distúrbio do comportamento locomotor (YU et al., 2021). Em peixes a natação errática indica perda de equilíbrio (ÇELEBI E GÖK, 2018).

No comportamento 3, a média para distância total percorrida foi baixa, o meandro negativo, distância ao centro baixa e velocidade instantânea negativa indicando um comportamento com natação fluida, lenta, com poucas pausas e/ou mudança de direção. Nesse comportamento pode-se inferir que os *T. longicaudatus* se movimentaram menos no espaço da arena. Em seu estudo com os fármacos fluoxetina (0,1 µg/L) e sertralina (0,01 µg/L) foram observados efeitos significativos na velocidade de *Echinogammarus marinus* em concentrações ambientalmente relevantes com efeitos observados 24h após a exposição (BOSSUS et al., 2014).

Çelebi e Gök (2018) realizaram testes com triclosan nas espécies de peixe *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* onde nas concentrações mais baixas (0,001-0,002-

0,005-0,01 mg/L) a velocidade média foi de 38,8 mm/s para 42,1 mm/s no *Danio rerio* e de 42,8 mm/s para 52,1 mm/s na *Poecilia reticulata*. Já nas concentrações mais altas (0,02 mg/L entre 1,0 mg/L) aumentou de 44 mm/s para 53,8 mm/s no *Danio rerio* e de 56,2 mm/s para 58,4 mm/s na *Poecilia reticulata*, respectivamente. Como observado por Çelebi e Gök (2018), as exposições com triclosan em *Danio rerio* aumentaram, no entanto, o presente trabalho não apresentou alterações significativas para esse este parâmetro em *T. longicaudatus* mostrado no Anexo A, gráfico B.

O comportamento 4 apresenta médias de distância ao centro e velocidade instantânea altas e meandro e aceleração instantânea próximas de 0. Como a distância total percorrida também foi alta, isso sugere um comportamento com animais nadando em toda arena sem realizar muitas paradas ou mudanças de direção.

O comportamento 5 apresentou média alta na distância do centro, velocidade instantânea intermediária quando comparada com valores referentes aos outros comportamentos, e também mostrou baixa aceleração.

Já no comportamento 6 uma alta média apenas para distância ao centro indicando movimentação mais próxima da extremidade da arena, no entanto a média para o meandro e aceleração instantânea foram negativos e uma baixa velocidade instantânea. Aceleração instantânea e velocidade baixa indicam um comportamento de natação reduzida e o meandro negativo indica realização de curvas mais acentuadas. KULIKOV et al. (2023) demonstraram em seus estudos que o tratamento com TC 2153 (0,125 mg/L) e fluoxetina (0,125 mg/L) em água durante 14 dias reduziu a distância percorrida pelo *Danio rerio*. Já na espécie *Carassius auratus*, Dong et al. (2019) mostraram que os movimentos de indivíduos juvenis diminuíram à medida que a concentração do PFOA aumentava (0,2, 10, 500 e 25000µg/L), apresentando atividade de natação significativamente suprimida (46,3%-56,8%).

De forma geral, os comportamentos 1, 2 e 4 mostram um padrão de médias mais altas em grande parte dos parâmetros enquanto os comportamentos 5 e 6 se apresentam de medianos para baixos. Os valores mais altos podem indicar rapidez, muitas paradas e mudanças de direção enquanto os comportamentos com valores de intermediários a baixos indicam movimentos constantes e uniformes. O triclocarban aumentou a atividade das fêmeas na espécie de *Gammarus locusta*, onde observou-se um aumento significativo da distância percorrida na concentração de 500 ng/L (BARROS et al. 2017). Yu et al. (2021) realizaram exposições do peixe zebra a com PFOA (0, 10, 100, 1000 µg/L) durante 7 dias e observaram a diminuição significativa ( $p < 0.05$ ) no movimento espontâneo da cauda indicando que essa substância pode interromper o neurodesenvolvimento durante o estágio inicial de desenvolvimento.

As seis classes comportamentais definidas pela NNA, têm um perfil de frequência com um valor de inércia de apenas 4,4% e 4,6%, respectivamente para VEN e PFOA, com as condições experimentais testadas (14 concentrações e 2 tempos de exposição). Os valores do teste qui-quadrado foram muito significativos para ambos os compostos (VEN: qui-quadrado = 5809; df (graus de liberdade) = 65;  $p = 0,0000$  / PFOA: qui-quadrado = 4193; df (graus de liberdade) = 65;  $p = 0,0000$ ).

Com base nestes resultados podemos classificar e explicar o comportamento dos *T. longicaudatus* pelos valores residuais qui-quadrado padronizados (Tabela 8) das seis classes comportamentais, em relação às condições de exposição. Uma análise hierárquica de agrupamento foi conduzida para entender a similaridade do relacionamento entre as classes comportamentais. Os resultados mostraram quatro clusters isolados para VEN e três para PFOA. Para VEN o cluster A foi formado pelas classes 1, 2 e 5, o cluster B com a classe 6, o cluster C com a classe 4 e o cluster D com a classe 3. Para PFOA o cluster A foi formado pelas classes 1, 2 e 5 o cluster B pelas classes 3 e 6 e o cluster C pela classe 4 (Figura 18).

**Tabela 8 - Classificação do comportamento dos *T. Longicaudatus* a partir da análise dos valores do qui-quadrado de cada classe comportamental (1- 6).**

**Tabela A: VEN; Tabela B: PFOA.**

**A- VENLAFAXINA**

Condição		Neuron ID: Standardized Deviates ao quadrado					
		1	2	3	4	5	6
48h	Controle	0	0	0	0	0	0
48h	0.0265 µg/L	-228*	-218*	-58*	-84*	-192*	741*
48h	0.265 µg/L	481*	5	-397*	0	724*	0
48h	2.65 µg/L	131*	12	-33*	3	826*	-225*
48h	26.5 µg/L	115*	0	0	0	917*	-396*
48h	265 µg/L	-280*	-256*	844*	-69*	-71*	-102
48h	2650 µg/L	-298*	-179*	113*	-131*	-167*	98*
96h	Controle	0	0	0	0	0	0
96h	0.0265 µg/L	-89*	74	119*	-55*	-55*	0
96h	0.265 µg/L	1141*	880*	-435*	35*	913*	-103*
96h	2.65 µg/L	0	0	0	19*	12	0
96h	26.5 µg/L	189*	182*	94*	239*	0	-286*
96h	265 µg/L	1097*	65*	-106*	408*	143*	-66*
96h	2650 µg/L	-191*	57	0	-81*	-704*	358
Total		214	313.9561	2830.199	97.30468	1991.689	515.4667

Valores residuais padronizados qui-quadrado observados nas seis classes de comportamento (1-6) definidas pela NNA tipo Kohonen dadas as condições experimentais (tempo de exposição e concentração). Diferenças relevantes ( $p < 0,01$ ) são destacadas de acordo com o controle em cada dia (\*). A intensidade da cor representa desvios positivos (cores vermelhas) e desvios negativos (cores verdes).

Fonte: o autor.

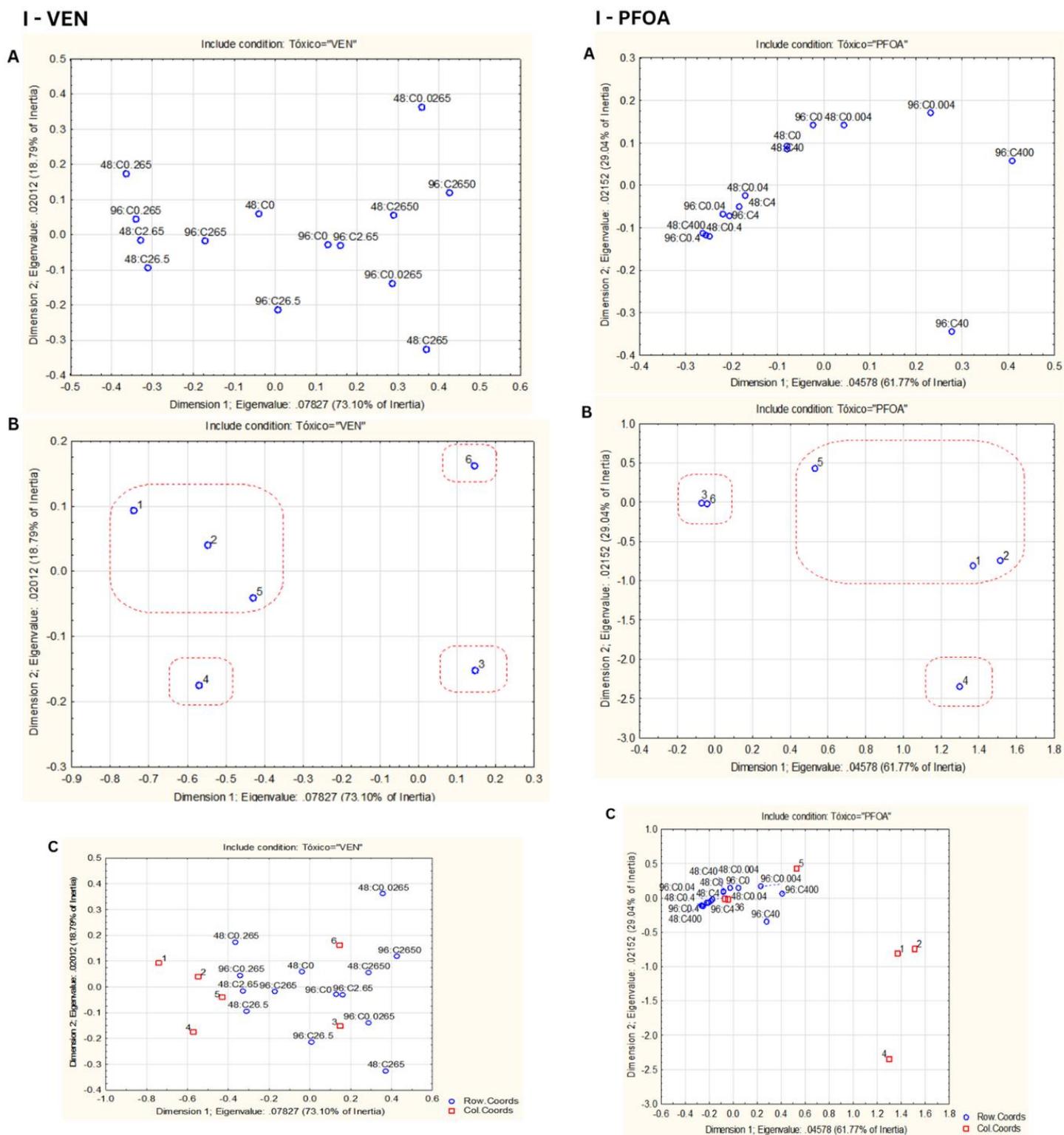
### B- PFOA

Condição		Neuron ID: Standardized Deviates ao quadrado					
		1	2	3	4	5	6
48h	Controle	0	0	0	0	0	0
48h	0.004 µg/L	2558*		-119*		103*	64*
48h	0.04 µg/L			-41*		-179*	180*
48h	0.4 µg/L			-31*		-172*	148*
48h	4 µg/L			-106*		-167*	320*
48h	40 µg/L			-22*			35*
48h	400 µg/L					-113*	
96h	Controle	0	0	0	0	0	0
96h	0.004 µg/L	4707*	2477*	-24*		171*	-10*
96h	0.04 µg/L			84*		-331*	
96h	0.4 µg/L					-279*	
96h	4 µg/L					-283	84*
96h	40 µg/L	54377*	20753*		697*	-189*	
96h	400 µg/L	21025*	17343*	-139		224*	
Total		214	313.9561	2830.199	97.30468	1991.689	515.4667

Valores residuais padronizados qui-quadrado observados nas seis classes de comportamento (1-6) definidas pela NNA tipo Kohonen dadas as condições experimentais (tempo de exposição e concentração). Diferenças relevantes ( $p < 0,01$ ) são destacadas de acordo com o controle em cada dia (\*). A intensidade da cor representa desvios positivos (cores vermelhas) e desvios negativos (cores verdes).

Fonte: o autor.

**Figura 18-** Gráficos de análise de correspondência indicando o comportamento para *T. longicaudatus* onde os grupos foram formados de acordo a similaridade entre as categorias de classes comportamentais (1-6) em relação ao pontos que indicam os diferentes tratamentos e tempo de exposição. I – VEN; II – PFOA.



Os comportamentos representados nos gráficos indicam aproximadamente 91% do comportamento de *T. longicaudatus*, sendo 61,77% na Dimensão 1 e 18,79% na Dimensão 2, tanto para a VEN quanto para o PFOA (Figura 18, I e II). Em estudo com peixe zebra, Kokel et al. (2010) utilizaram uma abordagem de agrupamento para interpretar dados comportamentais de elevada dimensão e separar compostos com funções semelhantes.

Ao analisar os valores residuais de qui-quadrado padronizados apresentados na Tabela 7, a VEN é possível observar que as respostas se distribuem por todas as classes de comportamento não havendo uma distinção entre concentrações, os seus níveis, tempos de exposição ou concentrações idênticas em tempos distintos. O mesmo é observado para PFOA embora seja evidente que o cluster B (classes 3 e 6) parece responder para o fator tempo de exposição e o cluster C (classe 4) parece responder exclusivamente à concentração de 40 µg/L após 96h de exposição de uma forma pouco marcada.

No PFOA, quanto maior o tempo de exposição os comportamentos 3 e 6 se mostraram mais próximos, pois foram agrupados no mesmo cluster. Os comportamentos do cluster B com classes 3 e 6 apresentaram médias com valores de intermediário a baixo em todos os parâmetros indicando movimentos mais lentos e constantes na arena. Esse padrão de movimentação mostrou ser mais evidente a medida que o tempo de exposição aumentava.

Menger et al. (2020) observaram mudanças na atividade locomotora nas larvas embrião de peixe zebra para seis PFAS como PFOA, PFNA e PFOS. Em contraste, a exposição de larvas do peixe zebra com 144h pós fertilização ao PFOA (12 µM e 150 µM) provocou um aumento significativo da distância de natação das larvas durante o período de escuridão. Uma diferença significativa na movimentação

e diminuição na distância total de natação das larvas do peixe zebra também foram observadas a 25µg/L de PFOA, além disso a exposição também inibiu a natação das larvas de peixe-zebra durante o período de transição claro-escuro (YU et al., 2022).

Adedara et al. (2022) expuseram peixe zebra adulto ao PFOA em concentrações ambientais realistas e relataram comportamentos que se assemelhavam a ansiedade e agressividade. Indicando que a exposição ao PFOA provoca um comportamento defensivo dos peixes, e também impactou na sobrevivência.

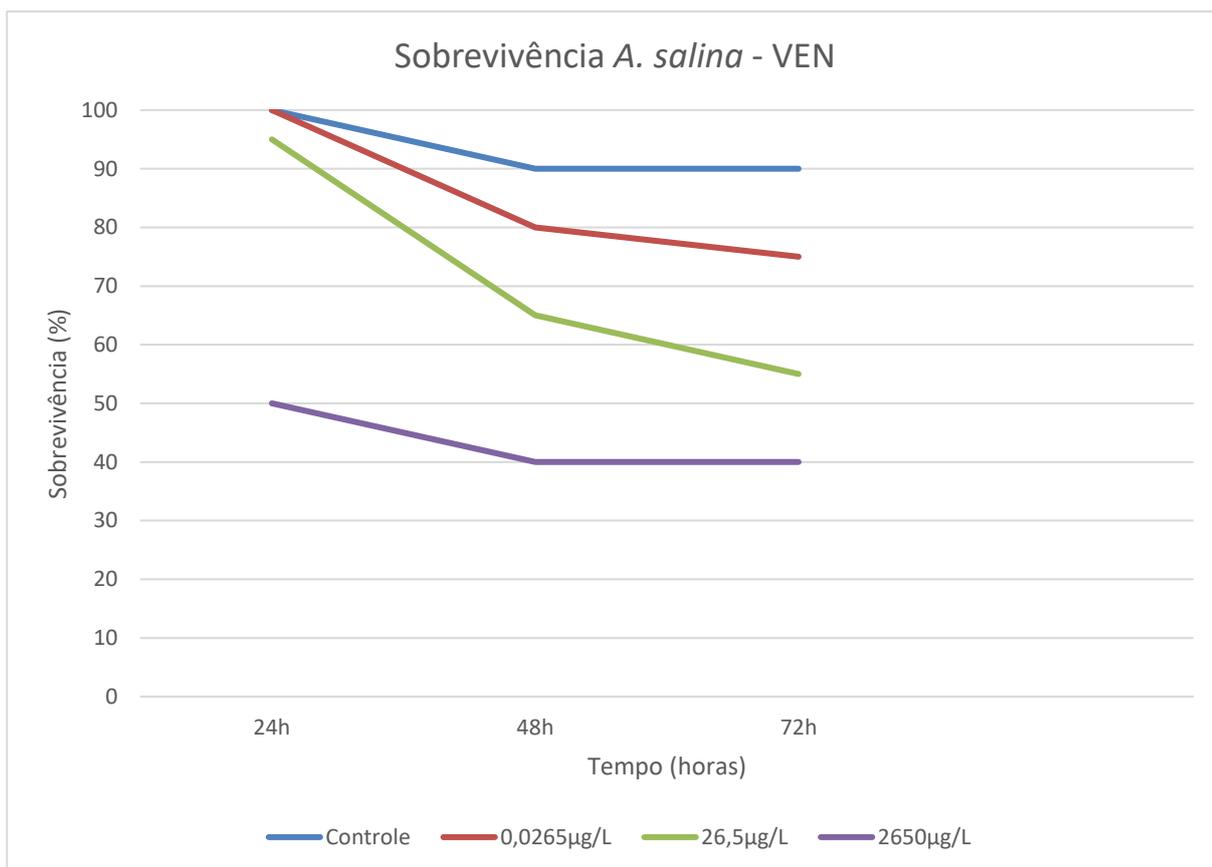
Fazendo um comparativo entre os agrupamentos com venlafaxina e ácido perfluorooctanóico. Na exposição com com VEN o agrupamento dos comportamentos não mostrou um padrão de associação, enquanto no PFOA duas classes se descacaram com o fatos tempo de exposição e a classe à concentração de 40 µg/L.

Em peixinhos gordos, a venlafaxina a 500 ng/L altera o comportamento de fuga dos peixinhos gordos (Painter et al., 2009). Ainda em estudos com venlafaxina, Fong e Hoy (2013) registaram o desprendimento do substrato dos caracóis de água doce *Lantzia carinata* e *Stagnicola elodes* em baixas concentrações do fármaco como 313 pg/L e 31,3 ng/L, respectivamente.

## 5.2 ENSAIO COM *A. salina*

O número de mortes foi registrado diariamente até o fim de 96h de exposição (Figura 19), após esse período os organismos foram descartados.

**Figura 19-** Sobrevivência de *A. salina* quando expostas a VEN com n=20 por concentração no início do experimento.



Fonte: o autor.

Nessa investigação sobre a toxicidade a venlafaxina para *Artemia salina* observamos que sobrevivência dos organismos diminuiu progressivamente à medida que as concentrações da venlafaxina aumentaram e também com o tempo de exposição, onde o menor percentual de sobrevivência ocorreu com a concentração de 2650µg/L e 26,5µg/L, representando 40% e 55% de sobrevivência respectivamente.

Testes ecotoxicológicos realizados com *Artemia parthenogenetica* mostraram que o diazepam (12,16 mg/L) foi o composto mais tóxico, seguido de Dodecil sulfato de sódio (SDS), clofibrato e ácido clofíbrico (NUNES et al., 2005). No presente estudo, a *Artemia salina* revelou uma sensibilidade progressiva as concentrações e tempo de exposição da VEN, o que pode indicar algum tipo de impacto sobre os organismos de outros níveis tróficos presentes nos ambientes salinos.

Outros antidepressivos também são utilizados em estudos ecotoxicológicos utilizando organismos em testes e relatam a capacidade destes de afetarem o ambiente aquático, como por exemplo: fluoxetina em *Phimephales promelas* (SCHULTZ et al., 2011), sertralina em *Carassius auratus* (XIE et al., 2015), verapamil em *Cyprinus carpio* (STEINBACH et al., 2013), amitriptilina em *Danio rerio* (YANG et al., 2014) e citalopram em *Daphnia magna* (DUAN et al., 2022).

Corroborando com nossos achados, Henry et al. 2004 a exposição o citalopram e a sertralina provocaram mortalidade de *Ceriodaphnia dubia* à medida que as concentrações aumentaram, onde os valores de LC<sub>50</sub> de 48h foi de 3,90 mg/L para sertralina e 0,12 mg/L para citalopram.

A *Daphnia magna* foi testada com farmacêuticos de exposição aguda (6 dias) e crônica (30 dias). Onde a exposição a uma mistura de fluoxetina (36 µg/L) e ácido clofíbrico (100 µg/L) causou uma mortalidade significativa dos organismos (FLAHERTY E DODSON, 2005).

Vale ressaltar que em condições ambientais os organismos aquáticos são expostos a vários contaminantes e não a somente um isoladamente, de forma que a toxicidade aquática das misturas de fármacos pode ser imprevisível e complexa em



comparação com os efeitos e modo de ação dos fármacos individuais (FLAHERTY E DODSON, 2005).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foi realizado um estudo ecotoxicológico com a venlafaxina e o ácido perfluorooctanóico, ambos contaminantes emergentes que são bastante difundidos no ambiente aquático. As espécies trabalhadas aqui foram *Triops longicaudatus*, um crustáceo de água doce e *Artemia salina*, um microcrustáceo de ambientes salinos. Essas as espécies se apresentam como bons modelos para ensaios ecotoxicológicos, no entanto ainda são poucos os trabalhos utilizando como organismos teste o *T. longicaudatus*, enquanto já se sabe que as *A. salinas* são bastante usadas com esses fins.

Aqui mostramos que o *T. longicaudatus* apresenta alterações no comportamento quando expostos a concentrações ambientalmente relevantes de venlafaxina (0,0265 – 2650 µg/l) e ao ácido perfluorooctanóico (0,004- 400 µg/l), uma vez que foi possível obter dados com alterações no comportamento padrão desses organismos, mostrando 6 classes de comportamento nas diferentes concentrações trabalhadas.

Com base nas análises realizadas, foi possível perceber que os *Triops longicaudatus* são sensíveis as concentrações de venlafaxina e PFOA estudadas. Apesar do comportamento não se apresentar de maneira uniforme, foi possível observar que para alguns descritores houveram comportamentos distintos quando comparamos os dois os contaminantes. Além disso, foi observada menor sobrevivência nos tratamentos com PFOA. Em adição a esse fator, os animais expostos a esse contaminante também apresentaram um menor tamanho, indicando uma possível relação entre tamanho e sobrevivência.

Nos testes de sobrevivência com *Artemia salina*, os organismos se mostraram sensíveis a exposição com venlafaxina. O declínio da sobrevivência ficou



cada vez mais visível à medida que o eram aumentados concentração e tempo de exposição, onde venlafaxina a 2650 µg/L diminuiu a sobrevivência em 50% da *A. salina* às 24h de exposição.

Os resultados obtidos acerca da exposição tendo como modelos ecotoxicológicos o crustáceo de água doce *T. longicaudatus* e de ambientes salinos a *A. salina*, mostraram que o fármaco da classe dos antidepressivos aqui utilizados (venlafaxina) provocou alterações no comportamento de *T. longicaudatus* e afetou o percentual de sobrevivência da *A. salina*.

Testes de ecotoxicidade como esse são importantes para entender e fornecer dados com intuito monitorar ambientes aquáticos, com objetivo de modificar políticas ambientais nacionais e internacionais sobre contaminantes emergentes. A realização posterior de trabalhos que envolvam uma gama maior de concentrações dos contaminantes aqui trabalhados e outros de preocupação emergente, serão importantes para consolidar e especificar os efeitos provocados nesses organismos. Além disso, a combinação com estudos moleculares irá direcionar para os métodos de ação de cada contaminante e entender o grau de sensibilidade desses crustáceos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEDARA, I.A.; SOUZA, T.P.; CANZIAN, J.; OLABIYI, A.A.; BORBA, J.V.; BIASUZ, E.; SABADIN, G.R.; GONCALVES, F.L.; COSTA, F.V.; SCHETINGER, M.R.; FAROMBI, E.O. **Induction of aggression and anxiety-like responses by perfluorooctanoic acid is accompanied by modulation of cholinergic-and purinergic signaling-related parameters in adult zebrafish.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 239, p.113635. 2022.

ALMEIDA, N. C. **Estudo sobre ecologia de *Artêmia salina*.** São Paulo: Nobel, 1980.

AMORIM, J.; FERNANDES, M.; ABREU, I.; TAVARES, F.; OLIVA-TELES, L. **Escherichia coli's water load affects zebrafish (*Danio rerio*) behaviour.** *Science of the Total Environment* 636:767-774. 2018.

ASNIS, G. M.; KOHN, S. R.; HENDERSON, M.; BROWN, N. L. **SSRIs versus non-ssris in post-traumatic stress disorder: an update with recommendations.** *Drugs* 64 (4), 383e404, 2004.

BARROS, S.; MONTES, R.; QUINTANA, J. B.; RODIL, R.; OLIVEIRA, J. M.; SANTOS, M. M.; NEUPARTH T. **Chronic effects of triclocarban in the Amphipod *Gammarus locusta*: Behavioural and biochemical impairment.** *Ecotoxicol Environ Saf* 135:276–83. 2017.

BASELT, R. C. **Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man.** Foster City: Biomedical Publications. 2004.

BLOESE, J. B., GODING, K. M.; GODFREY, L. D. (2020). **Field and Forage Crops Effect of Rice Winter Cultural Management Practices on the Size of the Hatching Population of *Triops longicaudatus* ( Notostraca : Triopsidae ) in California Rice Fields.** *Journal of Economic Entomology*, 113(January), 1243–1247. 2020.

BOSSUS, M.C.; GULER, Y.Z.; SHORT, S.J.; MORRISON, E.R.; FORD, A.T. **Behavioural and transcriptional changes in the amphipod *Echinogammarus***

**marinus exposed to two antidepressants, fluoxetine and sertraline.** *Aquatic Toxicology*, 151, pp.46-56. 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. **Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de Saúde do Sistema Único de Saúde.** 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 06, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2014.**

BRINGOLF, R.B.; HELTSLEY, R.M.; NEWTON, T.J.; EADS, C.B.; FRALEY, S.J.; SHEA, D.; COPE, W.G. **Environmental occurrence and reproductive effects of the pharmaceutical fluoxetine in native freshwater mussels.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(6), pp.1311-1318. 2010.

BROOKS, B.W., TURNER, P.K., STANLEY, J.K., WESTON, J.J., GLIDEWELL, E.A., FORAN, C.M., SLATTERY, M., LA POINT, T.W. AND HUGGETT, D.B. **Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms.** *Chemosphere*, 52(1), pp.135-142. 2003.

BROOKS, S. K.; WEBSTER, R. K.; SMITH, L. E.; WOODLAND, L.; WESSELY, S.; GREENBERG, N.; RUBIN, G. J. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. **The Lancet**, v. 395, n. 10227, p. 912–920, 2020.

CAMPBELL, P. G.; HODSON, P. V.; WELBOURN, P. M.; WRIGHT, D. A. **Ecotoxicology.** Cambridge University Press. 2022.

CARTAXO, A. D. S. B.; DA CONCEIÇÃO, A. M. V.; DE PAULA, M. C. C.; RODRIGUES, R. M. M.; DE OLIVEIRA RAMOS, R.; SÁTIRO, J. R.; LEITE, V. D. **Contaminantes emergentes presentes em águas destinadas ao consumo humano: ocorrência, implicações e tecnologias de tratamento.** *Brazilian Journal of development*, 6(8), 61814-61827, 2020.

ÇELEBI, H.; GÖK, O. **Effect of triclosan exposure on mortality and behavioral changes of *Poecilia reticulata* and *Danio rerio***. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 24(5), 1327-1341.2018

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. São Paulo: Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental, **Ficha de Informação toxicológica: PFAS (PFOA, PFOS, PFOS F, PFBS e outros)**, 2018. Acesso em: 20/07/2022. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/servicos/informacoes-toxicologicas>.

CFF- Conselho Federal de Farmácia. **Venda de medicamentos psiquiátricos cresce na pandemia**. 2020. Disponível em: <https://www.cff.org.br/noticia.php?id=6015&titulo=Venda+de+medicamentos+psiquiátricos+cresce+na+pandemia>. Acesso em 29 de maio de 2023.

CHEN, S.; LI, X.; LI, H. **Greater toxic potency of bisphenol AF than bisphenol A in growth, reproduction, and transcription of genes in *Daphnia magna***. *Environ Sci Pollut Res* **28**, 25218–25227. 2021.

CHESSA, A. R. C. **Effects of TBT on gene expression, locomotory behaviour and protein affinity prediction of *Triops longicaudatus***. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal, 2021.

COLLINSON, N. H.; BIGGS, J.; CORFIELD, A.; HODSON, M.J.; WALKER, D.; WHITFIELD, M.; WILLIAMS, P.J. **Temporary and permanent ponds: An assessment of the effects of drying out on the conservation value of aquatic macroinvertebrate communities**. *Biol. Conserv.* 74, 125–133, 1995.

COSTA, J. B. **Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior, SP)**. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, SP, 2001.

DONG H.; LU G.; YAN Z.; LIU J.; JI Y. **Molecular and phenotypic responses of male crucian carp (*Carassius auratus*) exposed to perfluorooctanoic acid.** Science of the Total Environment. Feb 25; 653:1395-406. 2019.

DUAN, S.; FU, Y.; DONG, S.; MA, Y; MENG, H.; GUO, R.; LI, Y. **Psychoactive drugs citalopram and mirtazapine caused oxidative stress and damage of feeding behavior in *Daphnia magna*.** Ecotoxicology and Environmental Safety, 230, 113147. 2022.

EPA- Environmental Protection Agency. **Proposed Designation of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctanesulfonic Acid (PFOS) as CERCLA Hazardous Substances.** 2019. Acesso em março de 2023. Disponível em: <https://www.epa.gov/superfund/proposed-designation-perfluorooctanoic-acid-pfoa-and-perfluorooctanesulfonic-acid-pfos>.

EPA- Environmental Protection Agency- United. **Contaminants of Emerging Concern including Pharmaceuticals and Personal Care Products.** 2023. Disponível em: <https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>. Acesso em 06 de março de 2023.

EPA- Environmental Protection Agency. **Drinking Water Health Advisories for PFOA and PFOS- 2022 Interim Updated PFOA and PFOS Health Advisories. 2022.** Disponível em: <https://www.epa.gov/sdwa/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>. Acesso em 15 de março de 2023.

EUR Lex- Jornal Oficial da União Europeia. Parlamento Europeu, Conselho da União Europeia. DIRETIVA (UE) 2020/2184 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA. **Qualidade da água destinada ao consumo humano.** 2020. Acesso em 13 de março de 2023. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32020L2184>.

EUROFARMA. **Cloridrato de Venlafaxina- Medicamento genérico Lei nº 9.787, de 1999.** EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A. Rod. Pres. Castello Branco, Km 35,6 Itapevi – SP, 2019.

FEIJÓ, G. O. **Um algoritmo para o rastreamento em cardumes através da análise de imagens digitais.** Dissertação (mestrado)- Faculdade de Informática, Pontifícia Universidade, 2015.

FERNANDES, M. J.; PAÍGA, P.; SILVA, A.; LLAGUNO, C. P.; CARVALHO, M.; VÁZQUEZ, F. M.; DELERUE-MATOS, C. **Antibiotics and antidepressants occurrence in surface waters and sediments collected in the north of Portugal.** Chemosphere, 239, 124729, 2020.

FERNANDES, M.; AMORIM, J.; VASCONCELOS, V., TELES, L.O. **Resilience assessment of a biological early warning system based on the locomotor behaviour of zebrafish (*Danio rerio*).** Environmental Science and Pollution Research 23: 18858-18868, 2016.

FIORILLO, A.; GORWOOD, P. The consequences of the COVID-19 pandemic on mental health and implications for clinical practice. **European Psychiatry**, v. 63, n. 1, 2020.

FLAHERTY, C.M.; DODSON, S.I. **Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction.** Chemosphere, 61(2), pp.200-207. 2005.

FONG, P. P.; HOY, C. M. **Antidepressants (venlafaxine and citalopram) cause foot detachment from the substrate in freshwater snails at environmentally relevant concentrations.** Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, v. 45, n. 2, p. 145-153, 2012.

FORAN, C. M.; WESTON, J.; SLATTERY, M.; BROOKS, B.W.; HUGGETT, D. B. **Reproductive assessment of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) following a four-week fluoxetine (SSRI) exposure.** Archives of environmental contamination and toxicology, 46, pp.511-517. 2004.

FRY, LISA L.; MULLA, M. S.; ADAMS, C. W. Field Introductions and Establishment of the Tadpole Shrimp, *Triops longicaudatus* (Notostraca: Triopsidae), a Biological Control Agent of Mosquitos. **Biological Control**, 4.2: 113-124, 1994.

FRYER, G. Studies on the functional morphology and biology of the Notostraca (Crustacea: Branchiopoda). Philosophical Transactions of the Royal Society of London. **B, Biological Sciences**, 321.1203: 27-124, 1988.

GALUS, M.; KIRISCHIAN, N.; HIGGINS, S.; PURDY, J.; CHOW, J.; RANGARANJAN, S.; LI, H.; METCALFE, C.; WILSON, J.Y. **Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish**. Aquatic toxicology, 132, pp.200-211. 2013.

GONZÁLEZ, S.; LÓPEZ-ROLDÁN, R.; CORTINA, J. L. Presence and biological effects of emerging contaminants in Llobregat River basin: a review. **Environmental Pollution**, 161, 83-92, 2012.

GRIFFITHS, R.A. Temporary ponds as amphibian habitats. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. **Ecosyst.** 7, 119–126, 1997.

HAGENAARS, A.; VERGAUWEN, L.; DE COEN; W.; KNAPEN, D. **Structure–activity relationship assessment of four perfluorinated chemicals using a prolonged zebrafish early life stage test**. Chemosphere, 82(5), pp.764-772. 2011.

HARADA, T. N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

HARTMANN, J.; VAN DER AA, M.; WUIJTS, S.; DE RODA HUSMAN, A. M.; VAN DER HOEK, J. P. Risk governance of potential emerging risks to drinking water quality: Analysing current practices. **Environmental Science & Policy**, 84, 97-104, 2018.

HENRY, T.B.; KWON, J.W.; ARMBRUST, K.L.; BLACK, M.C. **Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia***.

Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 23(9), pp.2229-2233. 2004.

HOLLIDAY, S.M.; BENFIELD, P. **Venlafaxine**. *Drugs* 49, 280–294, 1995.  
JANTZEN, C. E.; ANNUNZIATO, K. A.; BUGEL, S. M.; COOPER, K. R. PFOS, PFNA, and PFOA sub-lethal exposure to embryonic zebrafish have different toxicity profiles in terms of morphometrics, behavior and gene expression. **Aquatic toxicology**, 175, 160-170, 2016.

INGS, J. S. **Stress and metabolic responses to municipal wastewater effluent exposure in rainbow trout effluent**. (PhD, University of Waterloo). 2011.

JI, K; KIM, Y.; OH, S.; AHN, B.; JO, H.; CHOI, K. Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*) and fish (*Oryzias latipes*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, 2008, 27.10: 2159-2168, 2008.

KHALIL, A. M.; MEMON, F. A.; TABISH, T. A.; SALMON, D.; ZHANG, S.; BUTLER, D. **Nanostructured porous graphene for efficient removal of emerging contaminants (pharmaceuticals) from water**. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125440, 2020.

KHAN, A. H.; LÓPEZ-MALDONADO, E. A.; KHAN, N. A.; VILLARREAL-GÓMEZ, L. J.; MUNSHI, F. M.; ALSABHAN, A. H.; PERVEEN, K. **Current solid waste management strategies and energy recovery in developing countries-State of art review**. *Chemosphere*, 291, 133088, 2022.

KOKEL, D.; BRYAN, J.; LAGGNER, C.; WHITE, R.; CHEUNG, C.Y.J.; MATEUS, R.; HEALEY, D.; KIM, S.; WERDICH, A.A.; HAGGARTY, S.J.; **Rapid behavior-based identification of neuroactive small molecules in the zebrafish**. *Nat. Methods*, 6, 231–237. 2010.

KOVACHEV, C.; FUJII, S.; TANAKA, S.; SENEVIRATNE, S. T. M. L. D.; LIEN, N. P. H., NOZOE, M.; HARADA, H. **Worldwide surveys of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in water environment in recent years**. *Water Science and Technology*, 66(12), 2764-2771. 2012.

KÜHL, A. M.; ROCHA, C. L. M. S. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; LANSAC-TÔHA, F. A. Rural and urban streams: anthropogenic influences and impacts on water and sediment quality. **International Review of Hydrobiology**, v. 95, n. 3, p. 260-272, 2010.

KULIKOV, P. A., SOROKIN, I. E., EVSIUKOVA, V. S., & KULIKOV, A. V. Long-Term **Continuous Computer Registration and Analysis of Motor Activity of a Group of Zebrafish *Danio rerio***. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1-6. 2023.

LIBRALATO, G.; PRATO, E.; MIGLIORE, L.; CICERO, A.M.; MANFRA, L. **A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp.** Ecological Indicators, 69, 35–49, 2016.

LINTON, S.; GOULDER R. Botanical conservation value related to origin and management of ponds. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems** 10: 77–91, 2000.

LOPES, D. G.; DUARTE, I. A.; ANTUNES, M.; FONSECA, V. F. Effects of antidepressants in the reproduction of aquatic organisms: A meta-analysis. **Aquatic Toxicology**, v. 227, p. 105569, 2020.

LU, G.H., MA, B.N., LI, S.; SUN, L.S. **Toxicological effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) on *Daphnia magna***. Material Science and Environmental Engineering. 2016.

LUNA, T.O.; PLAUTZ, S.C.; SALICE, C.J. **Effects of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol, fluoxetine, and the mixture on life history traits and population growth rates in a freshwater gastropod**. Environmental toxicology and chemistry, 32(12), pp.2771-2778. 2013.

LUO, Y.; GUO, H.; NGO, H. HAI, I. F. **Science of the Total Environment A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment**. Science of the Total Environment, The, v. 473-474, p. 619–641, 2014.

LUU, I.; IKERT, H.; CRAIG, P. M. Chronic exposure to anthropogenic and climate related stressors alters transcriptional responses in the liver of zebrafish (*Danio rerio*) across multiple generations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 240, p. 108918, 2021.

MA, X. Y.; LI, Q.; WANG, X. C.; WANG, Y.; WANG, D.; NGO, H. H. **Micropollutants removal and health risk reduction in a water reclamation and ecological reuse system.** *Water Research*, 138, 272–281, 2018.

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

MAHIEU, B.; SCHLICH, P.; VISALLI, M., CARDOT, H. **A multiple-response chi-square framework for the analysis of Free-Comment and Check-All-That-Apply data.** *Food Quality and Preference* 93:104256, 2021.

MARTÍNEZ-MORCILLO, S.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; FERNÁNDEZ-RUBIO, J.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; MÍGUEZ-SANTIYÁN, M. P.; VALDES, M. E.; BARCELÓ, D.; VALCÁRCEL, Y. **Presence of pharmaceutical compounds, levels of biochemical biomarkers in seafood tissues and risk assessment for human health: Results from a case study in North-Western Spain.** *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 223(1), 10–21, 2020.

MENGER, F.; POHL, J.; AHRENS, L., CARLSSON; G. AND ÖRN, S. **Behavioural effects and bioconcentration of per-and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in zebrafish (*Danio rerio*) embryos.** *Chemosphere*, 245, p.125573. 2020.

MENNIGEN, J.A.; HARRIS, E.A.; CHANG, J.P.; MOON, T.W.; TRUDEAU, V.L. **Fluoxetine affects weight gain and expression of feeding peptides in the female goldfish brain.** *Regulatory Peptides*, 155(1-3), pp.99-104. 2009.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, p. 1094-1110, 2017.

MUNTEANU, C.; DUMITRAȘCU, M.; SC, B. **Artemia salina**. Balneo-Research Journal Vol.2, Nr.4, 2011.

NADAL, T. M.; SILVA, L. S. **Ecotoxicologia aquática: da teoria à prática—rotina diária em um laboratório de ecotoxicologia**. *Caderno Intersaberes*, 11(35), 126-141, 2022.

NASCIMENTO, E. S.; DUARTE, A. L. M. Covid e Depressão: o reflexo da pandemia na utilização de antidepressivos na adolescência. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 6, p. 45381-45396, 2022.

NEVES, R. R.; MOREIRA, A. C. N.; DO NASCIMENTO, D. L. G.; BRAGA, R. M. Q. L.; FERNADES, L. L. **Entraves na implementação da gestão dos resíduos sólidos urbanos no Brasil**. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica*, 14(2), 817-828, 2021.

NIKINMAA, M. **An introduction to aquatic toxicology**. Elsevier, 2014.

NTUNGWE N, E.; DOMÍNGUEZ-MARTÍN, E. M.; ROBERTO, A.; TAVARES, J.; ISCA, V., PEREIRA, P.; CEBOLA, M. J.; RIJO, P. **Artemia species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples**. *Current pharmaceutical design*, 26(24), 2892–2908, 2020.

NUNES, B., CARVALHO, F.; GUILHERMINO, L. **Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: Gambusia holbrooki, Artemia parthenogenetica and Tetraselmis chuii**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(3), pp.413-419. 2005.

OLIVEIRA, F. G.; BALDAN, L. T. **Fundamentos de Ecotoxicologia, Princípios e Aplicações**. Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas. Biblioteca UFPR Palotina-PR. ISBN: 978-65-84565-92-0. 2022.

PAINTER, M. M., BUERKLEY, M. A., JULIUS, M. L., VAJDA, A. M., NORRIS, D. O., BARBER, L. B., ... & SCHOENFUSS, H. L. (2009). Antidepressants at environmentally relevant concentrations affect predator avoidance behavior of larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2677-2684.

PAPADOPOULOS, A.I.; LAZARIDOU, E.; MAURIDOU, G.; TOURAKI, M. **Glutathione S-transferase in the branchiopod *Artemia salina***. *Marine Biology*, 144, 295-301. 2004.

PELLI, M. **Effects of fluoxetine in juvenile guppies, *Poecilia reticulata***. American University. 2011.

PESCARA, I. C. **Ocorrência e remoção de contaminantes emergentes por tratamentos convencionais de água e esgoto**. Tese de Doutorado. [sn]. Universidade estadual de Campinas (UNICAMP)- Instituto de Química. São Paulo. 2014.

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*, 72, 3-27, 2015.

PINTO, E. **Geopolítica da água**. *Revista de Geopolítica*, 8(1), 19-32, 2017.

POST, Gloria B.; COHN, Perry D.; COOPER, Keith R. Perfluorooctanoic acid (PFOA), an emerging drinking water contaminant: a critical review of recent literature. *Environmental research*, 16: 93-117, 2012.

QIAO, J., HAN, H. An **adaptive fuzzy neural network based of Self-Organizing Map (SOM)**. In: Matsopoulos, G.K. (Ed.) *Self-Organizing Maps*. InTech, Shanghai, pp1-14, 2019.

QUEIROZ, M. T. A.; QUEIROZ, C. A.; ALVIM, L. B.; SABARÁ, M. G.; LEÃO, M. M. D.; AMORIM, C. C. D. **Reestruturação na forma do tratamento de efluentes têxteis: uma proposta embasada em fundamentos teóricos**. *Gestão & Produção*, 26, e1149, 2019.

RAFAEL R. M. R.; NETO M.; CARVALHO M. M. B.; DAVID H. M. S. L.; ACIOLI S.; FARIA M. G. A. **Epidemiologia, políticas públicas e pandemia de Covid-19: o que esperar no Brasil?** [Epidemiology, public policies and Covid-19 pandemics in Brazil: what can we expect?] [Epidemiología, políticas públicas y la pandemia de Covid-19 en Brasil: o que podemos esperar?]. *Revista Enfermagem UERJ*, v. 28, p. 49570, 2020.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment**; Rand, G. M., ed.; 2nd ed., cap. 1, Taylor and Francis: Washington, 1995.

RICHARDSON, S. D.; TERNES, T. A. **Water analysis: emerging contaminants and current issues**. *Analytical chemistry*, 86(6), 2813-2848, 2014.

RODRIGUEZ, S.; SANTOS, A.; ROMERO, A. **Effectiveness of AOP's on abatement of emerging pollutants and their oxidation intermediates: Nicotine removal with Fenton's Reagent**. *Desalination*, 2011.

RÚA-GOMEZ, P. C.; PÜTTMANN, W. **Occurrence and removal of lidocaine, tramadol, venlafaxine, and their metabolites in German wastewater treatment plants**. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(3), 689-699. 2012.

SASSAMAN, C.; SIMOVICH, M. A.; FUGATE, M. **Reproductive isolation and genetic differentiation in North American species of Triops (Crustacea: Branchiopoda: Notostraca)**. *Hydrobiology*, 359.1: 125-147, 1997.

SCHAIDER, L.; ACKERMAN, J.; RUDEL, R.; DUNAGAN, S.; BRODY, J. **Emerging Contaminants in Cape Cod Private Drinking Water Wells**. Silent Spring Institute, pg 59. 2011.

SCHAIDER, L.; RUDEL, R.; DUNAGAN, S.; ACHERMAN, J.; PEROVICH, L.; BRODY, J. **Emerging Contaminants in Cape Cod Drinking Water**. Silent Spring Institute: [http://silentspring.org/pdf/our\\_research/DrinkingWaterStudyReport.pdf](http://silentspring.org/pdf/our_research/DrinkingWaterStudyReport.pdf). 2010.

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

SCHULTZ, M. M.; FURLONG, E. T. **Trace analysis of antidepressant pharmaceuticals and their select degradates in aquatic matrixes by LC/ESI/MS/MS**. *Analytical Chemistry*, 80(5), 1756-1762. 2008.

SCHUSTER, A., HÄDRICH, C., KÜMMERER, K. **Flows of active pharmaceutical ingredients originating from health care practices on a local, regional, and nationwide level in Germany-is hospital effluent treatment an effective approach for risk reduction?** *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* 8, 457–471, 2008.

SCOTT, S. R.; GRIGARICK, A. A. **Laboratory studies of factors affecting egg hatch of *Triops longicaudatus* (LeConte) (Notostraca: Triopsidae)**. *Hydrobiology*, 63.2: 145-152, 1979.

SHI, X.; DU, Y.; LAM, P. K.; WU, R. S.; ZHOU, B. **Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS**. *Toxicology and applied pharmacology*, 230(1), 23-32. 2008.

SOARES, A. F. S.; LEÃO, M. M. D. **Contaminação dos mananciais por micropoluentes e a precária remoção desses contaminantes nos tratamentos**

**convencionais de água para potabilização.** De jure: revista jurídica do Ministério Público do Estado de Minas Gerais, 2015.

SOUSA-MOURA, D. **Avaliação ecotoxicológica de fármacos psicotrópicos e suas possíveis interações com nanomateriais usando embriões de peixe-zebra** [Universidade de Brasília]. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/20822>. 2016.

SPINK, A. J., TEGELENBOSCH, R. A. J., BUMA, M. O. S., E NOLDUS, L. P. J. J. The EthoVision video tracking system—a tool for behavioral phenotyping of transgenic mice. *Physiology & behavior*, 73(5), 731-744, 2001.

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

STEINBACH, C., FEDOROVA, G., PROKES, M., GRABICOVA, K., MACHOVA, J., GRABIC, R.; KROUPOVA, H. K. **Toxic effects, bioconcentration and depuration of verapamil in the early life stages of common carp (*Cyprinus carpio* L.).** Science of the total environment, 461, 198-206. 2013.

TAKAHASHI, F. **Use of the tadpole shrimp (*Triops* spp.) as a biological agent to control paddy weeds in Japan.** Sciences-New York, 128–138. <http://www.agnet.org/library/bc/45012/>. 1994.

TELES, L.O.; FERNANDES, M.; AMORIM, J.; VASCONCELOS, V. **Video-tracking of zebrafish (*Danio rerio*) as a biological early warning system using two distinct artificial neural networks: Probabilistic neural network (NN) and self-organizing map (SOM).** Aquatic Toxicology, 2015, 165:241-248

THOMPSON, W. A.; SHVARTSBURD, Z.; VIJAYAN, M. M. **The antidepressant venlafaxine perturbs cardiac development and function in larval zebrafish.** Aquatic Toxicology, v. 242, p. 106041. 2022.

THOMPSON, W. A.; VIJAYAN, M. M. Environmental levels of venlafaxine impact larval behavioural performance in fathead minnows. **Chemosphere**, 259, 127437, 2020.

TORDIN, C., 2018. Contaminantes Emergentes Podem ser uma Ameaça para o Ser Humano. **Embrapa Meio Ambiente**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/>. Acesso em 05 de outubro de 2022.

UMBUZEIRO, G. D. A.; KUMMROW, F.; CARDOZO REI, F. F. **Toxicologia, padrões de qualidade de água e a legislação**. *InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade*, 5(1), 2010.

VASWANI, M.; LINDA, F. K.; RAMESH, S. **Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review**. *Prog. Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27 (1), 85 e102, 2003.

VERGEYNST, L.; HAECK, H.; DE WISPELAERE, P.; VAN LANGENHOVE, H.; DEMEESTERE, K. **Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-magnetic sector mass spectrometry: Method quality assessment and application in a Belgian case study**. *Chemosphere*, 2014.

VIEW POINT. **Zebrabox**. 2023. Acesso em: 02 de setembro de 2023. Disponível em: <https://www.viewpoint.fr/product/zebrafish/fish-behavior-monitoring/zebraboxB>

WANG, S.; WANG, H.; ZHAO, W.; CAO, Y.; WAN, Y. Investigation on the distribution and fate of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in a sewage-impacted bay. *Environmental Pollution*, 205, 186-198, 2015.

WILLE, S. **Quantitative analysis of new generation antidepressants using gas chromatography-mass spectrometry**. Applications in clinical and forensic toxicology. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Ghent University Faculty of Pharmaceutical Sciences, 2008.

XIE, Z., LU, G., LI, S., NIE, Y., MA, B., & LIU, J. **Behavioral and biochemical responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to sertraline**. *Chemosphere*, 135, 146-155. 2015.

YANG, M.; QIU, W.; CHEN, J.; ZHAN, J.; PAN, C.; LEI, X.; WU, M. **Growth inhibition and coordinated physiological regulation of zebrafish (*Danio rerio*) embryos upon sublethal exposure to antidepressant amitriptyline.** Aquatic toxicology, 151, 68-76. 2014.

YANG, S.; XU, F., WU, F.; WANG, S.; ZHENG, B. **Development of PFOS and PFOA criteria for the protection of freshwater aquatic life in China.** Science of the Total Environment, 470, pp.677-683. 2014.

YAVUZ-GUZEL, E.; ATASOY, A.; GÖREN, İ. E.; DAGLIOGLU, N. **Impact of COVID-19 pandemic on antidepressants consumptions by wastewater analysis in Turkey.** Science of The Total Environment, v. 838, p. 155916, 2022.

YU, J.; CHENG, W.; JIA, M.; CHEN, L.; GU, C.; REN, H.Q.; WU, B. **Toxicity of perfluorooctanoic acid on zebrafish early embryonic development determined by single-cell RNA sequencing.** Journal of Hazardous Materials, 427, p.127888.2022.

YU, T., ZHOU, G., CAI, Z., LIANG, W., DU, Y. AND WANG, W., 2021. **Behavioral effects of early-life exposure to perfluorooctanoic acid might synthetically link to multiple aspects of dopaminergic neuron development and dopamine functions in zebrafish larvae.** Aquatic Toxicology, 238, p.105926.

ZHANG, Y.; MU, J.; HAN, J.; GU, X. **An improved brine shrimp larvae lethality microwell test method.** Toxicology mechanisms and methods, 22(1), 23–30, 2012.  
ZHAO, L.; DAI, T.; QIAO, Z.; SUN, P.; HAO, J.; YANG, Y. **Application of artificial intelligence to wastewater treatment: A bibliometric analysis and systematic review of technology, economy, management, and wastewater reuse.** Process Safety and Environmental Protection, 133, 169-182, 2020.

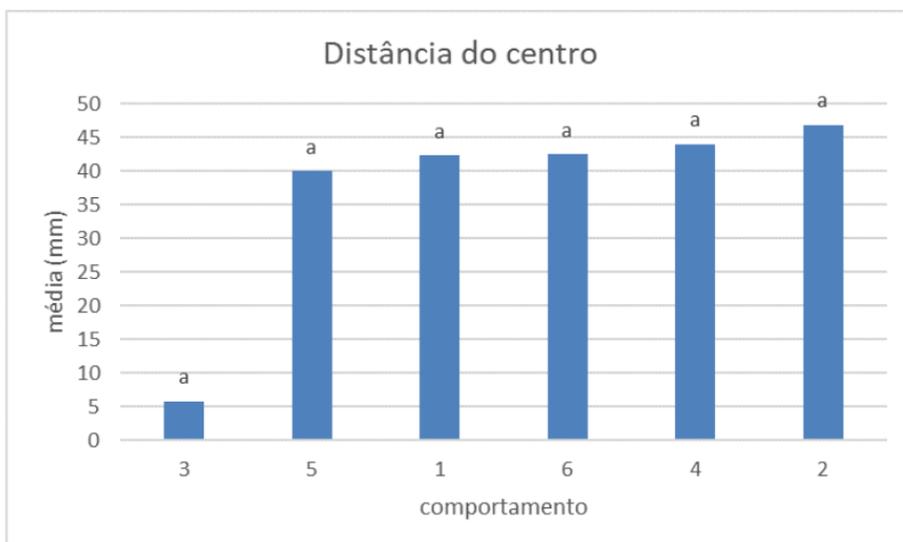
ZHU, S.; WU, G.; GU, L.; SUN, Y.; ZHANG, L.; HUANG, Y.; LYU, K.; YANG, Z. **Antidepressant sertraline impairs the induced morphological defense of**



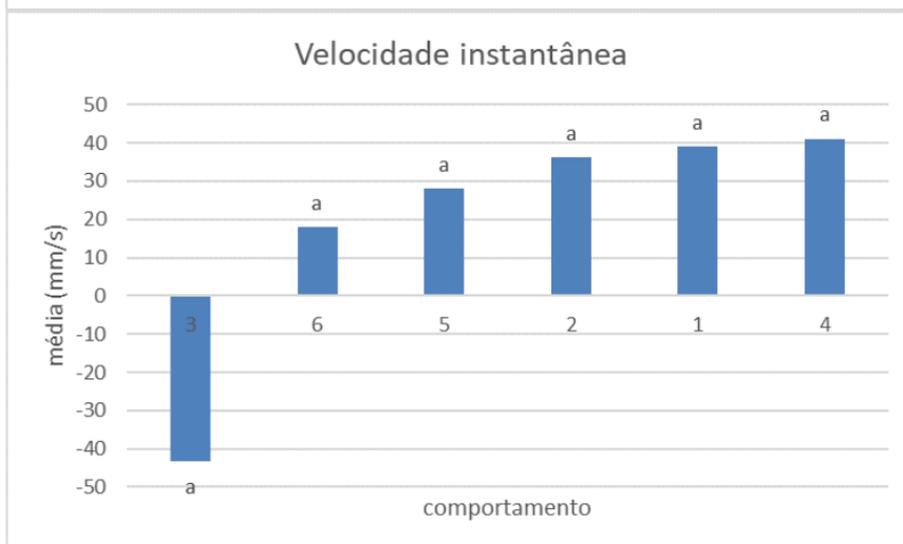
***Ceriodaphnia cornuta* in response to Chaoborus larvae kairomone.**  
Environmental Pollution, 266, p.115092. 2020.

**ANEXO A- GRÁFICOS COM AS VARIÁVEIS DISTÂNCIA DO CENTRO (A), VELOCIDADE INSTANTÂNEA(B), VELOCIDADE MÉDIA TOTAL (C), ACELERAÇÃO INSTANTÂNEA (D), VELOCIDADE ANGULAR (E), MEANDRO (F) E MEANDO MÉDIO (G), ONDE AS CLASSES COMPORTAMENTAIS GERADAS PELA NNA ESTÃO INSERIDAS DENTRO DO MESMO GRUPO.**

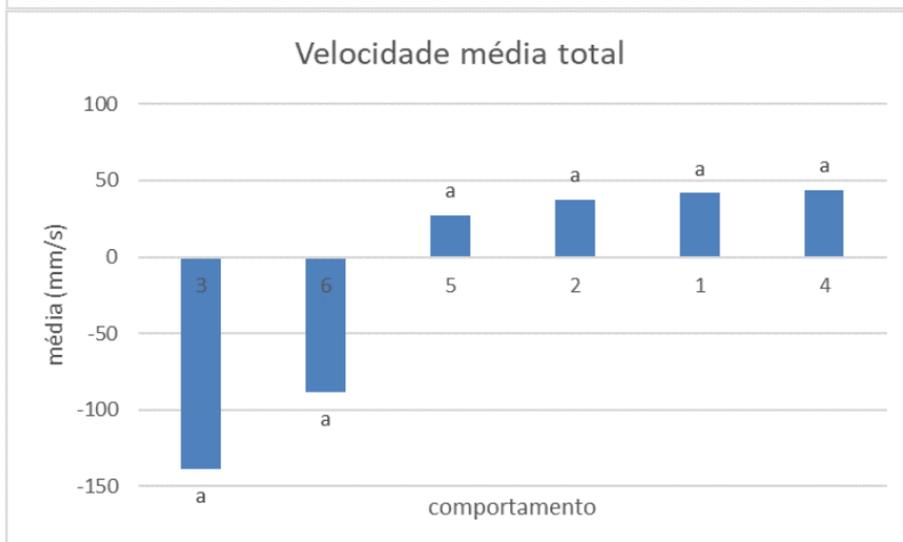
A

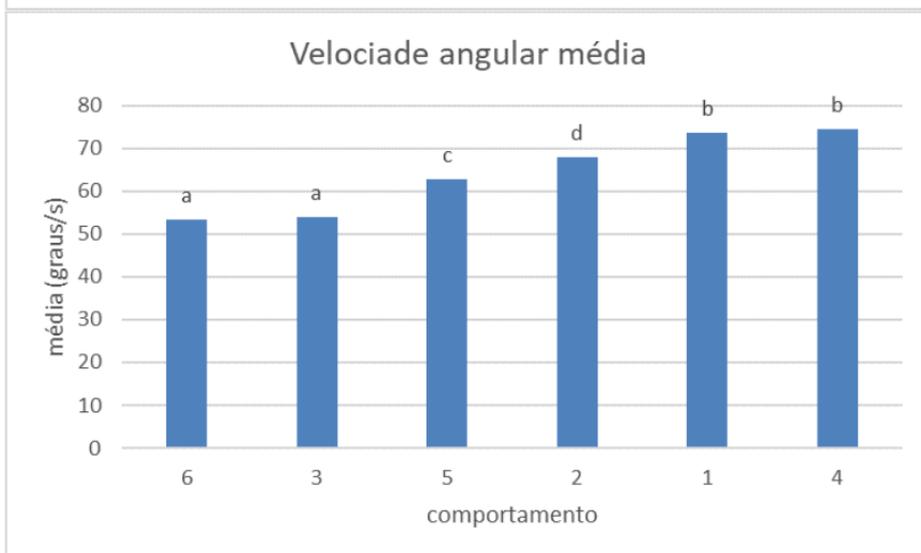


B



C



**D****E****F**