



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E GRADUAÇÃO
CURSO DE FARMÁCIA

LUILANNI BRABO CAVALCANTE
MARCUS VINICIUS ALBERTO BALIEIRO DE SOUZA

ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO *Chlorella vulgaris* PARA ANÁLISE
DE ANTI-HIPERTENSIVOS

Macapá
2023

LUILANNI BRABO CAVALCANTE
MARCUS VINICIUS ALBERTO BALIEIRO DE SOUZA

**ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO *Chorella vulgaris* PARA ANÁLISE
DE ANTI-HIPERTENSIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Amapá como
requisição parcial para obtenção de
título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª Dr.^a. Silvia Maria
Mathes Faustino.

Macapá
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
(CIP) Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Mário das Graças Carvalho Lima Júnior – CRB-2 /
1451

C377 Cavalcante, Luilanni Brabo.

Ensaio ecotoxicológico utilizando *Chlorella vulgaris* para análise de anti-hipertensivos /
Luilanni Brabo Cavalcante, Marcus Vinícius Alberto Balieiro de Souza. - Macapá, 2023.
1 recurso eletrônico. 54 folhas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá,
Coordenação do Curso de Farmácia, Macapá, 2023.
Orientadora: Sílvia Maria Mathes Faustino.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Ecotoxicologia. 2. Anti-hipertensivos. 3. *Chlorella vulgaris*. I. Faustino, Sílvia Maria
Mathes, orientadora. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615

CAVALCANTE, Luilanni Brabo, SOUZA, Marcus Vinícius Alberto Balieiro de. **Ensaio ecotoxicológico utilizando *Chlorella vulgaris* para análise de anti-hipertensivos**. Orientadora: Sílvia Maria Mathes Faustino. 2023. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Coordenação do Curso de Farmácia. Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2023.

LUILANNI BRABO CAVALCANTE
MARCUS VINICIUS ALBERTO BALIEIRO DE SOUZA

**ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO *Chorella vulgaris* PARA ANÁLISE
DE ANTI-HIPERTENSIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Amapá como
requisição parcial para obtenção de
título de Bacharel em Farmácia.

Data de Aprovação: 10/04/2023.



Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Silvia Maria Mathes Faustino – UNIFAP



Avaliador: Dr.^a. Jessica Caroline Evangelista Vilhena – UNIFAP



Avaliador: Prof.^a. Dr.^a. Lorane Izabel da Silva Hage Melim – UNIFAP

Em memória de André Ataíde de Lima e Maria Balieiro de Souza.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter proporcionado diversas oportunidades, como o fato de poder cursar esta graduação, por ter dado forças para enfrentar os obstáculos durante essa caminhada, por nos ter capacitado no decorrer do curso e na realização deste trabalho.

Às nossas famílias, que nos apoiaram em todos os momentos, oferecendo-nos carinho, compreensão, companheirismo, amor, união, conselhos, paciência, incentivos e muito mais.

À nossa orientadora Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Mathes Faustino, pelo carinho imensurável, paciência e dedicação em todos os momentos das orientações para elaboração deste trabalho.

Aos nossos amigos e amigas por ter proporcionado suporte, incentivo e companhia durante o decorrer dessa jornada que foi a graduação.

Ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá e a todos os professores do colegiado que proporcionaram nossa formação significativa.

A todos que nos ajudaram, nos aconselharam e nos guiaram pelos diferentes caminhos durante essa jornada.

Nossos profundos e sinceros agradecimentos.

“O cientista não é quem fornece as verdadeiras respostas, é quem faz as verdadeiras perguntas.”

Claude Lévi-Strauss

RESUMO

O crescimento populacional, a falta de saneamento básico e um tratamento da água inadequado são fatores que contribuem para um problema cada vez mais presente que é a poluição por contaminantes emergentes. Estes contaminantes são provenientes de diferentes fontes como produtos de limpeza e higiene, pesticidas e medicamentos que acabam nos ambientes aquáticos e mesmo em concentrações muito pequenas, podem promover alterações na comunidade aquática. A ecotoxicologia é uma área de estudo que permite avaliar este tipo de impacto e seus possíveis efeitos para o ambiente e organismos. Este trabalho teve como objetivo analisar possíveis impactos de anti-hipertensivos, uma classe de medicamento muito utilizada pela população, na biota aquática, utilizando a microalga verde *Chlorella vulgaris* como organismo teste para avaliar possíveis efeitos na sua curva de crescimento. Foram selecionados 5 anti-hipertensivos: Hidroclorotiazida, Atenolol, Maleato de enalapril, Captopril, e Losartana, e a metodologia utilizada para os ensaios ecotoxicológicos foi o protocolo estabelecido pela ABNT. Os resultados dos testes mostraram, de uma forma geral, que tanto na exposição aguda como na exposição crônica, houve uma redução do crescimento quando comparado a amostra controle revelando um efeito inibitório dos anti-hipertensivos no crescimento da *Chlorella vulgaris*. Esta microalga é uma produtora primária e esta redução no crescimento pode indicar uma possível queda na produção de biomassa que serve de alimento principalmente para peixes em seus estágios iniciais de desenvolvimento. A falta desta fonte de alimento pode levar a uma diminuição na produção dos peixes afetando diretamente seu crescimento. Dessa forma é de extrema importância que novos estudos sobre a presença de poluentes emergentes sejam realizados. O profissional farmacêutico tem uma função essencial para auxiliar na prevenção desse problema pois pode orientar a população a fazer o descarte adequado desses medicamentos e alertar sobre os problemas que o descarte indevido pode promover no meio ambiente e na saúde humana.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Anti-hipertensivos. *Chlorella vulgaris*. Poluentes emergentes.

ABSTRACT

Population growth, inadequate basic sanitation and poor water treatment are factors that contribute to the presence of emerging contaminants. These contaminants come from different sources such as cleaning and hygiene products, pesticides and medicines that go to aquatic environments and even very small concentrations can promote changes in the aquatic community. Ecotoxicology studies impacts and their possible effects on the environment and organisms. This study analyzed possible effects of antihypertensive drugs, a class of medication widely used by the population, on the aquatic biota. The chosen test organism was *Chlorella vulgaris* and the effects on its growth curve were evaluated. Five antihypertensive drugs were selected: Hydrochlorothiazide, Atenolol, Enalapril maleate, Captopril and Losartan and the methodology used for ecotoxicological tests was the protocol established by ABNT. The results of the tests showed, in general, that both in acute and chronic exposure, there was a reduction in growth when compared to the control sample, revealing an inhibitory effect of antihypertensive drugs on the growth of *Chlorella vulgaris*. This microalgae is a primary producer and the reduction in growth may indicate a possible decrease in the production of biomass that serves as food mainly for fish in their early stages of development. The lack of this food source can lead to a decrease in fish production, directly affecting their growth. [In this way, it is extremely important that new studies on the presence of emerging pollutants are carried out. Pharmaceutical has a essential function in helping to prevent this problem, as they can guide the population to properly dispose of these medications and warn about the problems that improper disposal can cause in the environment and human health.

Keywords: Ecotoxicology. Antihypertensives. *Chlorella vulgaris*. Emerging pollutants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Células de <i>Chlorella vulgaris</i> em Câmara de Neubauer.....	17
Figura 2 –	Estrutura e composição da <i>C. vulgaris</i>	18
Figura 3 –	Tipo de alvo para ação de fármacos.....	22
Figura 4 –	Medicamentos utilizados para a avaliação de toxicidade.....	23
Figura 5 –	Cultivos de <i>C. vulgaris</i>	25
Figura 6 –	Fluxograma do preparo experimental para cada medicamento.....	26
Figura 7 –	Amostras de cultivo <i>C. vulgaris</i> com as concentrações teste para cada medicamento junto com o controle.....	27
Figura 8 –	Câmara de Neubauer.....	27
Figura 9 –	Vista da área de contagem da Câmara de Neubauer.....	28
Figura 10 –	Diagrama da área de contagem da câmara de Neubauer, sendo E a área central utilizada para contagem das células de <i>Chlorella vulgaris</i>	28
Figura 11 –	Fluxograma da preparação e visualização da amostra na Câmara de Neubauer.....	29
Figura 12 –	Padrão utilizado para contagem das células de <i>C. vulgaris</i>	29
Figura 13 –	Padrão de quadrados contados.....	30
Figura 14 –	Fórmula estrutural da Hidroclorotiazida.....	34
Figura 15 –	Fórmula estrutural do Atenolol.....	38
Figura 16 –	Fórmula estrutural do Maleato de enalapril.....	41
Figura 17 –	Fórmula estrutural do Captopril.....	45
Figura 18 –	Fórmula estrutural da Losartana.....	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Gráfico apresentando o crescimento de <i>C. vulgaris</i> em amostra controle.....	31
Gráfico 2 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Hidroclorotiazida 25 mg na concentração teste e controle algal.....	32
Gráfico 3 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Hidroclorotiazida 50 mg na concentração teste e controle algal.....	33
Gráfico 4 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Hidroclorotiazida 100 mg na concentração teste e controle algal.....	34
Gráfico 5 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Atenolol 25 mg na concentração teste e controle algal.....	35
Gráfico 6 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Atenolol 50 mg na concentração teste e controle algal.....	36
Gráfico 7 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Atenolol 100 mg na concentração teste e controle algal.....	37
Gráfico 8 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Maleato de enalapril 5 mg na concentração teste e controle algal.....	39
Gráfico 9 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Maleato de enalapril 10 mg na concentração teste e controle algal.....	40
Gráfico 10 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Maleato de enalapril 15 mg na concentração teste e controle algal.....	41
Gráfico 11 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Captopril 25 mg na concentração teste e controle algal.....	43
Gráfico 12 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Captopril 50 mg na concentração teste e controle algal.....	44
Gráfico 13 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Captopril 100 mg na concentração teste e controle algal.....	45
Gráfico 14 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Losartana 50 mg na concentração teste e controle algal.....	46
Gráfico 15 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Losartana 100 mg na concentração teste e controle algal.....	47
Gráfico 16 –	Gráfico apresentando crescimento celular de <i>C. vulgaris</i> em Losartana 150 mg na concentração teste e controle algal.....	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	CONCEITO DE ECOTOXICOLOGIA.....	15
3.2	TESTES ECOTOXICOLÓGICOS E ORGANISMOS-TESTE.....	16
3.3	MICROALGA <i>Chlorella vulgaris</i> E SUAS APLICAÇÕES.....	16
3.4	MEDICAMENTOS COMO POLUENTES EMERGENTES.....	19
3.5	HIPERTENSÃO ARTERIAL E CONSUMO DE ANTI-HIPERTENSIVOS.....	19
3.6	CLASSE MEDICAMENTOSA DOS ANTI-HIPERTENSIVOS.....	20
3.6.1	Beta-bloqueadores.....	21
3.6.2	Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina.....	21
3.6.3	Diuréticos.....	21
3.6.4	Bloqueadores do Receptor de Angiotensina.....	21
3.7	DESCARTE DE ANTI-HIPERTENSIVOS.....	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	SELEÇÃO DOS MEDICAMENTOS-TESTE.....	23
4.2	CULTIVO DE <i>Chlorella vulgaris</i>	25
4.3	PREPARO EXPERIMENTAL.....	25
4.4	MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO ALGAL.....	27
4.5	EXPOSIÇÃO AGUDA E CRÔNICA.....	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1	HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG.....	32
5.2	HIDROCLOROTIAZIDA 50 MG.....	33
5.3	HIDROCLOROTIAZIDA 100 mg.....	34
5.4	ATENOLOL 25 MG.....	35
5.5	ATENOLOL 50 MG	36
5.6	ATENOLOL 100 MG	37
5.7	MALEATO DE ENALAPRIL 5 MG	39

5.8	MALEATO DE ENALAPRIL 10 MG.....	40
5.9	MALEATO DE ENALAPRIL 15 MG.....	40
5.10	CAPTOPRIL 25 MG.....	42
5.11	CAPTOPRIL 50 MG.....	44
5.12	CAPTOPRIL 100 MG	44
5.13	LOSARTANA 50 MG	46
5.14	LOSARTANA 100 MG	46
5.15	LOSARTANA 150 MG.....	47
6	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

A ecotoxicologia é definida como uma forma de monitorar os ecossistemas, baseando-se nos organismos para garantir uma resposta adequada objetivando estudar o fenômeno da intoxicação ambiental. É conhecida também como a ciência dos contaminantes da biosfera e seus efeitos nela, incluindo os seres humanos (ZHOU et al., 2018).

Com isso, uma das principais aplicações são os testes de toxicidade ambiental aos quais visam avaliar as possíveis transformações químicas ou biológicas que ocorrem no referido ambiente. Na ecotoxicologia, utilizam-se organismos bioindicadores de toxicidade causado pelos poluentes (ou contaminantes) emergentes, aos quais incluem drogas tais como antimicrobianos e analgésicos, produtos de cuidados pessoais, aditivos a gasolina, surfactantes, disruptores endócrinos e farmacêuticos, entre outros (CABEZA et al., 2012), evidenciando a importância da ecotoxicologia para a detecção desses poluentes. Desse modo, como principais contaminantes emergentes, há produtos de higiene pessoal como shampoo's, sabões, esteroides, aditivos, e medicamentos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Dentre as categorias de medicamentos mais utilizadas pela população, estão os anti-hipertensivos, de modo que cerca de 93,8% dos hipertensos, utilizam o tratamento medicamentoso (MENGUE et al., 2016).

Por conseguinte, os medicamentos ou seus metabólitos são excretados pelo organismo e, através do descarte nas águas residuais, que em sua maioria, não se realiza tratamento adequado, podem causar impactos na biota aquática, sendo classificados portanto, como poluentes emergentes (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Nesse caso, uma comunidade importante que pode ser afetada são as algas, que constituem a base da cadeia alimentar aquática. Se o seu crescimento for alterado de alguma forma, outros organismos que dependem delas para sobreviver, direta ou indiretamente, também sentirão os efeitos dessas mudanças. Algumas espécies de algas já foram bem estudadas e outras tem seu padrão de crescimento bem definido, como é o caso da *Chlorella vulgaris*, uma microalga verde muito utilizada como suplemento alimentar e também como organismo teste em ensaios ecotoxicológicos. Vale ressaltar que esses ensaios permitem simular determinadas condições em um ambiente controlado no laboratório e avaliar os efeitos das substâncias em que se pretende conhecer (LOURENÇO, 2006).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo, avaliar se concentrações de anti-hipertensivos afetam o crescimento da microalga *C. vulgaris*, a qual é uma produtora primária

e, por isso, qualquer alteração no seu desenvolvimento afeta diretamente toda cadeia aquática produtiva.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar possíveis impactos de medicamentos anti-hipertensivos, na biota aquática, utilizando a microalga verde *Chlorella vulgaris* como bioindicadora dos níveis de toxicidade causados pelo descarte inadequado desses medicamentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar quais os medicamentos anti-hipertensivos mais usados pela população;
- b) Avaliar e comparar os efeitos dos diferentes medicamentos e sua influência no crescimento microalgal;
- c) Avaliar alterações na curva de crescimento algal no período de exposição aguda e crônica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONCEITO DE ECOTOXICOLOGIA

À medida que a humanidade avança nos mais diversos âmbitos sociais com o passar dos anos, sua capacidade tecnológica de intervir na natureza para satisfazer seus desejos também aumenta, desencadeando em conflitos quanto ao uso de recursos naturais e da disposição de resíduos no meio ambiente (LOURENÇO, 2006). Desse modo, a industrialização está atrelada a poluição, na qual os contaminantes atingem a biosfera podendo causar efeitos negativos no local.

Uma das ferramentas que são utilizadas para avaliar o impacto de diferentes substâncias no ambiente, é através da ecotoxicologia. Esta, é definida como a “ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado” (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006), ou seja, é uma forma de monitorar o ecossistema, baseando-se nos organismos para garantir uma resposta adequada.

Desse modo, pode ser considerada uma ciência cujo objetivo é estudar o fenômeno da intoxicação ambiental, sendo compreendida como o estudo dos efeitos de produtos químicos tóxicos em diferentes escalas, desde a biomolécula, célula, órgão, sistema, organismo como um todo, população, comunidade, ecossistema, entre outros, conhecida como a ciência dos contaminantes da biosfera e seus efeitos nela, incluindo os seres humanos (ZHOU et al., 2018).

É uma ferramenta usada para analisar determinado ambiente, visando a manutenção do mesmo após os impactos causados pelos produtos químicos e estimando a toxicidade após testes realizados (SILVA et al., 2015). Com isso, essa ciência pode ser aplicada em diversos campos (CARVALHO; PIVOTO, 2015) e no descarte de efluentes domésticos que apresentam substâncias químicas, como resíduos farmacêuticos e cosméticos, que poderão atingir os meios aquáticos afetando o ambiente (CURADO et al., 2018), utilizando testes ecotoxicológicos para verificar as possíveis alterações no ambiente.

Os estudos que usam a toxicologia aquática como fundamento são classificados em qualitativos e quantitativos usando os efeitos tóxicos sobre os organismos como referência. A toxicologia aquática está relacionada com as concentrações dos agentes químicos no ambiente aquático como água, sedimento, alimentos e fármacos (RAND; PRETOCELLI, 1985).

3.2 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS E ORGANISMOS-TESTE

A aplicação de testes de toxicidade ambiental tem o seu percentual aumentado na medida em que as transformações químicas ou biológicas ocorrem no meio ambiente (BOTTA et al., 2006). É válido ressaltar que os testes toxicológicos não conseguem expressar o real impacto que esses poluentes geram nos meios. Só o que pode gerar respostas em relação aos sistemas biológicos são os organismos, pois somente eles podem analisar os efeitos tóxicos de cada substância (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

Os testes de toxicidade se dividem em agudos e crônicos – a diferença entre eles se dá através da duração e repostas finais. O teste de toxicidade aguda representa apenas uma margem dos níveis em que as substâncias tóxicas podem estar presentes em ambientes aquáticos. Já os testes crônicos são realizados com os organismos expostos as concentrações baixas da substância (agente), que tem sua liberação feita após semanas, meses ou até anos (COSTA et al., 2008).

Na avaliação da toxicidade de alguns ambientes, a realização dos testes depende dos locais em que serão analisados. Ademais, a utilização de bioindicadores é bastante comum – a qual organismos vivos são utilizados para verificar o nível de toxicidade, e no caso dos ambientes aquáticos, os testes mais comuns utilizam organismos como crustáceos, peixes e algas. Destes, os mais frequentemente utilizados são *Allium cepa* (nome científico da cebola), da qual se utiliza preferencialmente suas raízes, a *Daphnia similis*, um crustáceo muito pequeno conhecido como “pulga d’água”, e *Chlorella vulgaris*, uma microalga verde (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

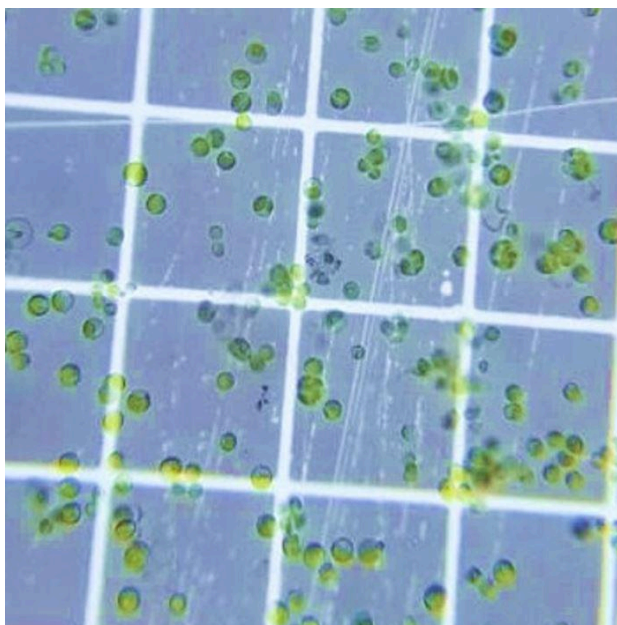
Dentre esses organismos, as algas são bastante utilizadas por serem organismos que possuem a característica marcante de armazenamento de energia solar, elas também apresentam níveis elevados de sais minerais, vitaminas, aminoácidos, proteínas e ainda são consideradas compostos biologicamente ativos (HADJ-ROMDHANE et al., 2012).

As microalgas estão ganhando espaço nas pesquisas em volta do mundo todo, elas apresentam uma grande importância devido as suas características de crescimento rápido, biomassa e cultivo simples (CHEW et al., 2017), principalmente, a *C. vulgaris*. (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

3.3 MICROALGA *Chlorella vulgaris* E SUAS APLICAÇÕES

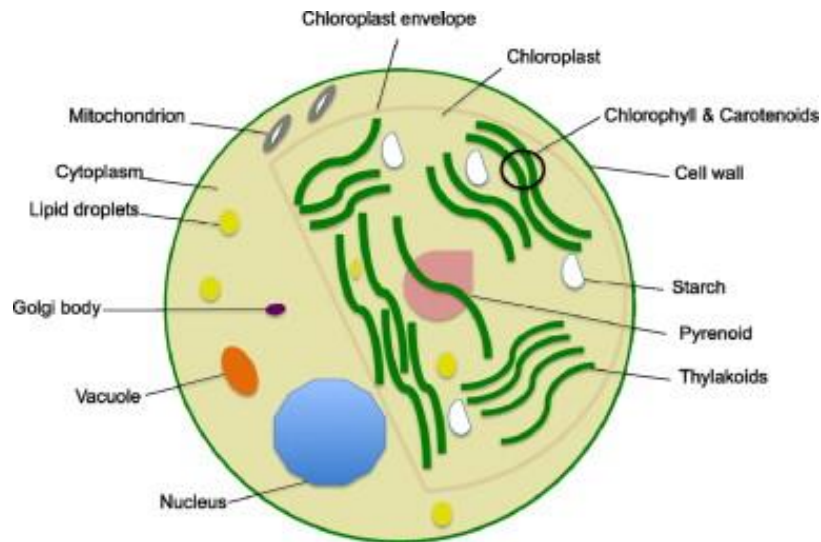
A *Chlorella vulgaris* (Figura 1) tem característica unicelular, e pode ser encontrada em água doce e sua origem se dá a partir da classe Chlorophyceae, ordem Chlorococcales e família Oocystaceae (HOEK et al., 1995). Por ser uma microalga eucariótica, esta se mostra uma das mais notáveis, possui forma esférica e tem 2-10 µm de diâmetro, inclusive, sua estrutura pode ser comparada com a das plantas pois também tem presença de mitocôndria, e cloroplasto, local onde a clorofila se encontra em abundância (Figura 2). Reproduz-se de forma assexuada, e é uma das mais fáceis de ser cultivada (SAFI et al., 2014).

Figura 1 – Células de *Chlorella vulgaris* em Câmara de Neubauer



Fonte: CORONADO-REYES, 2020.

Figura 2 – Estrutura e composição da *C. vulgaris*



Fonte: SAFI et al., 2014.

Além disso, a *C. vulgaris*, apresenta valor nutricional bastante elevado, o que desenvolveu e aumentou seu consumo como suplemento alimentar, além de seu uso em fármacos, ração animal, aquicultura e cosméticos (SAFI et al., 2014). Pesquisas apontam que nos dias atuais, o Japão é o principal consumidor mundial de *C. vulgaris*, usando-a para tratamento médico, por ter apresentado propriedades imunomoduladoras e anticancerígenas (KITADA et al., 2009).

Ademais, possui uma quantidade significativa de metabólitos como proteínas, carboidratos e lipídios, aos quais conferem seu alto valor nutricional (CORONADO-REYES et al., 2020). Essa microalga verde possui um papel importante na cadeia alimentar aquática, pois assim como as outras, é comercialmente cultivada para uso de dietas convencionais de outras formas de vida aquática, tais como: zooplânctons, camarão, crustáceos.

Desse modo, como é uma microalga bastante conhecida e descrita na literatura, seu crescimento tem um padrão que auxilia na observação de situações de alterações do ambiente em que estão inseridas. Sendo assim, esse crescimento é avaliado para analisar a exposição aguda, a qual consiste em avaliar os efeitos severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao contaminante em um curto período de tempo, geralmente de 1 à 4 dias. Além disso, utiliza-se a *C. vulgaris* para analisar também a exposição crônica, a qual consiste em avaliar o crescimento dos organismos expostos ao agente, em um período de tempo mais longo, permitindo analisar os efeitos adversos mais sutis mesmo em níveis subletais (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006) – sendo muito importantes para a detecção de poluentes emergentes e seus efeitos na comunidade aquática.

3.4 MEDICAMENTOS COMO POLUENTES EMERGENTES

Segundo Zhou et al. (2018), existem fármacos que ganham destaque quando são submetidos a concentrações elevadas e quando estes estão presentes em meio aquático. Outro destaque da pesquisa deste autor revela a possibilidade de existir mais de um fármaco em uma única biota aquática, o que gera consequências e agrava o impacto dos fármacos no meio ambiente.

Os contaminantes emergentes incluem drogas (por exemplo, antibióticos e analgésicos), produtos de diagnóstico (como agentes de contraste de raios-X) esteroides e hormônios, antissépticos, produtos de cuidados pessoais, aditivos e gasolina, surfactantes, disruptores endócrinos e farmacêuticos, entre outros (CABEZA et al., 2012).

Os fármacos são atualmente a classe de emergentes que mais se destaca entre todas, pelo aumento no consumo e pelos efeitos tóxicos que podem ser atribuídos e que são pouco conhecidos (LAPWORTH et al., 2012). Geralmente, os fármacos entram no meio ambiente na forma de metabólitos, sendo a excreção renal sendo a sua principal via de excreção. Algumas dessas substâncias têm difícil degradação nas estações de tratamento residual (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006; EVGENIDOU, KONSTANTINOU, LAMBROPOLOU 2015; SUBEDI; KANNAN, 2015). Desse modo, as redes de esgoto são citadas como uma das principais fontes de contaminação dos meios aquáticos (LI, 2014).

Além disso, uma das classes de medicamentos mais consumidas pela população, são os anti-hipertensivos, em decorrência da incidência e prevalência da hipertensão arterial (HA).

3.5 HIPERTENSÃO ARTERIAL E CONSUMO DE ANTI-HIPERTENSIVOS

Hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial caracterizada pela elevação da pressão sanguínea nos endotélios. Esta doença faz parte do grupo que apresenta a maior porcentagem de mortes relacionadas ao acidente vascular encefálico (AVE) e infartos. Ademais, ela é classificada em primária e secundária: na hipertensão primária, as causas são desconhecidas, e na condição de hipertensão arterial secundária, esta deve ser investigada pois existem grandes chances de tratamento efetivo e controle da doença (FONSECA et al., 2009).

Desse modo, é uma das principais doenças que acometem a população brasileira e mundial, sendo comumente associada a fatores de risco como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (MALACHIAS et al., 2016). Diante da prevalência elevada de pessoas acometidas com esta doença, o Governo Federal teve a iniciativa de criar um programa que

tem como objetivo auxiliar, prevenir, diagnosticar e tratar a hipertensão arterial e diabetes, sendo fundamentado em reuniões voltadas para esses pacientes, acompanhados em unidades de saúde aos quais recebem orientações e tratamento medicamentoso – este programa leva o nome de HIPERDIA (GOMES et al., 2010).

Estima-se que a hipertensão arterial atinge mais de 38 milhões de pessoas no país, de modo que o Sistema Único de Saúde (SUS), oferece diagnóstico, acompanhamento, tratamento, incluindo a distribuição de medicamentos para o controle da doença de forma gratuita – sendo que em 2019, foram realizadas mais de 28 milhões de consultas na Atenção Primária e registradas 52 mil internações relacionadas à hipertensão (BRASIL, 2021). No Amapá, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde, realizada pelo IBGE (2019), cerca de 18,2% da população de 18 anos ou mais (101 mil pessoas) receberam diagnóstico de hipertensão arterial no mesmo ano.

Com isso, é perceptível que a classe dos medicamentos anti-hipertensivos é bastante utilizada por brasileiros em todos os estados e por esse motivo, garantir a adesão do paciente ao tratamento é essencial (LEITÃO et al., 2020).

Segundo estudos realizados, cerca de 93,8% dos pacientes declaram ter indicação médica para tratar a HA com medicamentos. Também existem relatos que o uso dos medicamentos tem relação com o aumento da idade, entretanto pode variar de pessoa para pessoa (MENGUE et al., 2016).

Sendo assim, nos últimos anos, o consumo desses medicamentos para tratar a hipertensão arterial apresentou crescimento elevado. A prevalência de HA e de uso de anti-hipertensivos na população adulta brasileira foi de 21,4% e de 81,4%, respectivamente (LEITÃO et al., 2020), demonstrando a preocupação tanto com a população de um modo geral, como os impactos causados por esse consumo, nos ambientes aquáticos, por exemplo.

3.6 CLASSE MEDICAMENTOSA DOS ANTI-HIPERTENSIVOS

Os medicamentos que tratam desta condição clínica, atuam na resistência vascular, as classes mais utilizadas durante o acompanhamento do tratamento são: beta bloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos e os bloqueadores do receptor de angiotensina (MACHADO et al., 2021).

Com o objetivo de melhorar a eficácia destes medicamentos, o tratamento indicado é o de associação de fármacos. Segundo estudos, esse método tem prevalência positiva em

pacientes com risco cardiovascular, doenças crônicas e diabetes (GRADMAN et al., 2010; MALAQUIAS et al., 2016).

3.6.1 Beta-bloqueadores

Esses fármacos agem reduzindo a contratilidade do miocárdio e a frequência cardíaca. Os betabloqueadores do complexo justaglomerular reduzem a atividade do sistema renina angiotensina e, também, interferem na secreção de renina, reduzindo-a. Dessa forma, conseguem reduzir a hipertensão (MACHADO et al., 2021).

3.6.2 Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina

Esses anti-hipertensivos são eficazes no tratamento da HA, reduzindo a morbimortalidade cardiovascular e têm como ação principal a inibição da enzima conversora de angiotensina I, impedindo a transformação de angiotensina I em angiotensina II a qual possui ação vasoconstritora (MALAQUIAS et al., 2016).

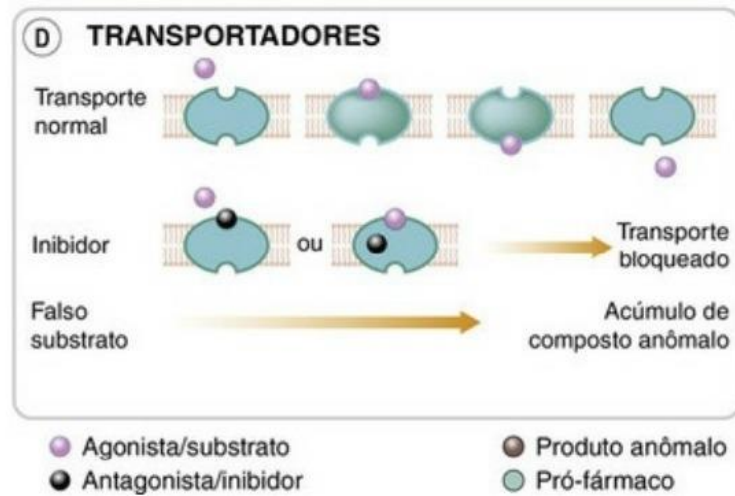
3.6.3 Diuréticos

A ação desses fármacos se baseia na diminuição do líquido extracelular, por meio da influência de um co-transportador de NaCl, o SLC12A3, que reduz o débito cardíaco através do aumento da eliminação de Na⁺ na urina, além da redução da volemia (MACHADO et al., 2021).

3.6.4 Bloqueadores do Receptor de Angiotensina

Esses fármacos proporcionam redução da morbimortalidade cardiovascular em populações de alto risco (MALAQUIAS et al., 2016). A ação desses medicamentos dá-se de maneira a antagonizarem a ação da angiotensina II por meio do bloqueio específico dos receptores AT1 (Figura 3), aos quais são responsáveis por ações vasoconstritoras, proliferativas e estimuladoras da liberação de aldosterona, próprias da angiotensina II.

Figura 3 – Tipo de alvo para ação de fármacos



Fonte: RANG; DALE, 2016.

3.7 DESCARTE DE ANTI-HIPERTENSIVOS

Por conseguinte, como foi exposto, é indubitável que o fato do descarte de medicamentos nas águas residuais demonstra-se preocupante, pois, como se sabe, uma das fases da farmacocinética dos medicamentos é a eliminação (RANG; DALE, 2016), ou seja, muitos anti-hipertensivos consumidos, são metabolizados e excretados pelo organismo alcançando as águas através do sistema de esgoto, e dentre eles pode-se citar o metoprolol, ao qual é rapidamente absorvido pelo organismo e cerca de 95% é excretado pelos rins em forma de metabólitos como o alfa-hidroximetoprolol e 5% é eliminado sem alteração (OSAWA et al., 2015).

Sendo assim, este trabalho, tem como objetivo avaliar de forma experimental a possibilidade dos medicamentos anti-hipertensivos afetarem a produtividade da cadeia aquática.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas pesquisas em literatura, e a metodologia utilizada, foi a NBR 12648: Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlophyceae) (2018). Além disso, também é descrita por Lourenço (2006) no livro Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações, e também por Zagatto e Bertoletti (2006) no livro Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações.

4.1 SELEÇÃO DOS MEDICAMENTOS-TESTE

Para a realização dos testes de exposição à toxicidade aguda e crônica e análise experimental, foram selecionados 5 medicamentos anti-hipertensivos (Figura 4) mais consumidos na população brasileira de acordo com a literatura, sendo eles: Hidroclorotiazida, pertencente à classe dos diuréticos, Atenolol, um anti-hipertensivo betabloqueador, Maleato de enalapril e Captopril, ambos pertencentes aos inibidores da enzima conversora de angiotensina, e por fim, Losartana, um bloqueador do receptor de angiotensina (MENGUE et al., 2016; MACHADO et al., 2021).

Além disso, realizou-se a pesagem dos referidos medicamentos para a determinação do peso médio da apresentação e os respectivos excipientes, como pode-se observar na tabela 1.

Figura 4 – Medicamentos utilizados para a avaliação de toxicidade



Fonte: Autores.

Tabela 1 – Medicamentos utilizados para avaliação ecotoxicológica com o laboratório apresentação farmacêutica, peso médio da apresentação e os respectivos excipientes.

Medicamento	Laboratório	Apresentação farmacêutica	Peso médio da apresentação	Excipientes
Hidroclorotiazida	Cimed	Comprimido de 25 mg	118 mg	Laurilsulfato de sódio, croscarmelose sódica, amidoglicolato de sódio, lactose, celulose microcristalina, estearato de magnésio e dióxido de silício.
Atenolol	EMS	Comprimido de 25 mg	164 mg	Talco, croscarmelose sódica, lactose monoidratada, laurilsulfato de sódio, estearato de magnésio, carbonato de magnésio, celulose microcristalina, dióxido de silício, ácido esteárico
Maleato de Enalapril	Germed	Comprimido de 5 mg	211 mg	Fosfato de cálcio dibásico di-hidratado, estearato de magnésio, celulose microcristalina, lactose monoidratada, amido pré-gelatinizado, croscarmelose sódica
Captopril	EMS	Comprimido de 25 mg	167 mg	Lactose monoidratada, celulose microcristalina, amido pregelatinizado, ácido esteárico e estearato de magnésio.
Losartana Potássica	Prati Donaduzzi	Comprimido revestido de 50 mg	167 mg	Amido, celulose microcristalina, lactose monoidratada, estearato de magnésio, copolímero de álcool polivinílico e macrogol, dióxido de titânio e macrogol.

Fonte: Bulas dos medicamentos; Autores.

4.2 CULTIVO DE *Chlorella vulgaris*

Foi realizado o cultivo de *C. vulgaris* como bioindicador no Laboratório de Cultivo de Algas (LACAL), localizado na Universidade Federal do Amapá, no estado do Amapá. Este cultivo foi realizado em Erlenmeyer de vidro com capacidade aproximada de 2000 mL (VIDROLABOR LABOR QUIMI®), fluxo contínuo e temperatura média de 24° C e luminosidade artificial constante, cultivo o qual foi utilizado como solução controle, representado na Figura 5.

Figura 5 – Cultivos de *C. vulgaris*



Fonte: Autores.

4.3 PREPARO EXPERIMENTAL

Para o preparo experimental deste trabalho, foram definidas 3 concentrações de medicamentos, sendo consideradas doses: baixa, média e alta, respectivamente. Para a dose baixa de cada medicamento, foi selecionado um comprimido a ser utilizado nos testes. Nas doses consideradas médias, foram utilizados 2 comprimidos, e em doses altas, 3 a 4 comprimidos.

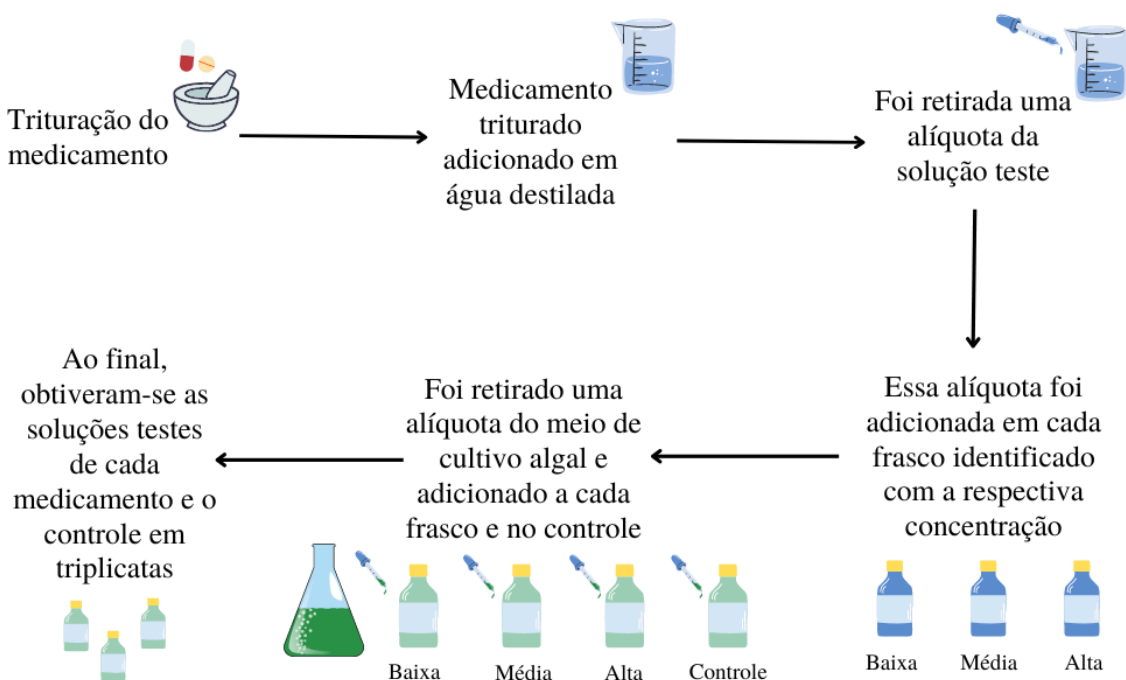
Para cada teste e concentração, os comprimidos foram selecionados e triturados em gral e pistilo. Após a trituração, o pó resultante foi adicionado a 100 mL de água destilada em um béquer de vidro, dissolvendo-os o máximo possível. Os testes foram realizados em

triplicatas em cada uma das 3 concentrações dos medicamentos selecionados, a fim de obter melhores análises e minimizar os erros.

Após a dissolução dos medicamentos, com o auxílio de pipetas automáticas, as concentrações teste definidas foram pipetadas: 10 µl em cada frasco (recipientes de acrílico com tampa rosqueada respirável devidamente identificados para cada medicamento e concentrações teste). Posteriormente, foi adicionado 40 mL de cultivo algal em cada frasco com concentração teste.

Além disso, o cultivo de algas também foi pipetado nos frascos controle (em triplicata), contendo somente a biomassa algal, sem adição de nenhum medicamento, visualizando a ilustração na Figura 6.

Figura 6 – Fluxograma do preparo experimental para cada medicamento



Fonte: Autores.

Desse modo, para cada medicamento obtiveram-se 9 recipientes em concentrações diferentes (baixa, média e alta) e em triplicatas com o cultivo de *Chlorella vulgaris* como organismo bioindicador de toxicidade. Todos os recipientes foram mantidos em fluxo estático, com temperatura média de 24° C e luminosidade artificial constante (luz fria fluorescente) de intensidade leve (Figura 7).

Figura 7 – Amostras de cultivo *C. vulgaris* com as concentrações teste para cada medicamento junto com o controle



Fonte: Autores.

4.4 MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO ALGAL

Finalizado o preparo experimental, utilizou-se o método para avaliação do crescimento algal durante o período de exposição em toxicidade aguda e crônica para cada medicamento nas devidas concentrações teste. O método utilizado foi o de contagem direta por microscopia, descrita por Lourenço (2006) no livro “Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações”.

Nesse método, utiliza-se a câmara de Neubauer (Figura 8), um hemocitômetro, ou seja, um dispositivo originalmente projetado para a contagem de células sanguíneas. Além desse dispositivo, utiliza-se o microscópio óptico para a visualização e contagem das células de *C. vulgaris*.

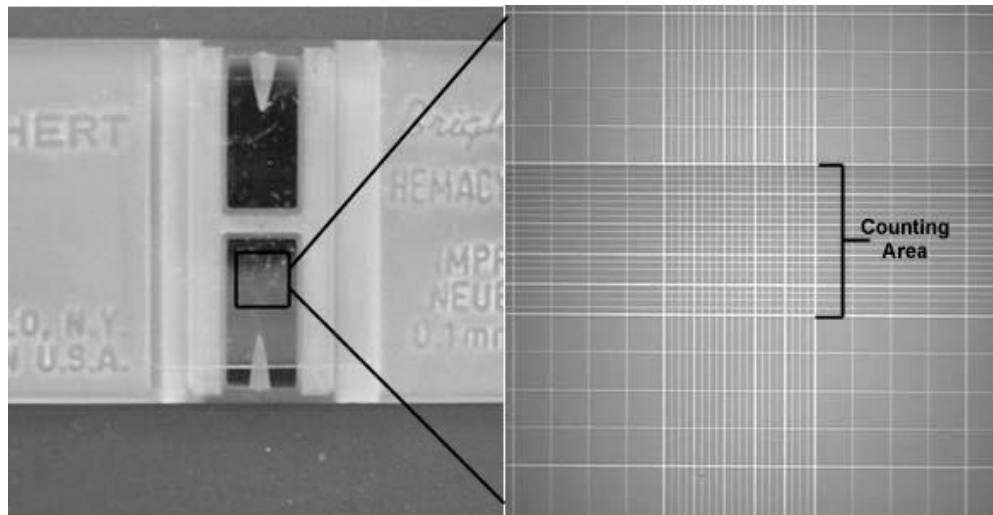
Figura 8 – Câmara de Neubauer



Fonte: Autores.

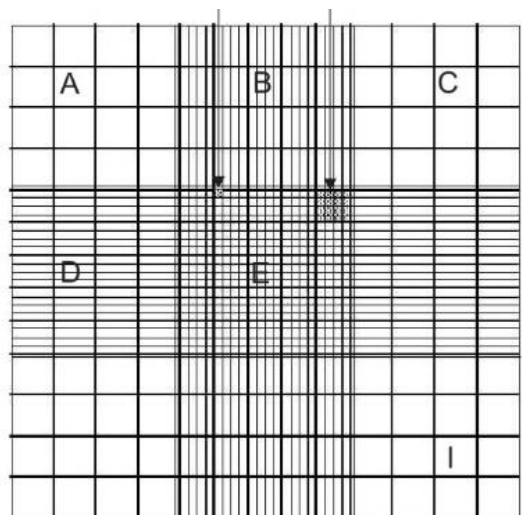
Para a contagem, deve-se observar o quadrante central ao qual é dividido em 25 quadrados, sendo cada um subdividido em outros 16 quadrados menores, representado nas figuras abaixo.

Figura 9 – Vista da área de contagem da Câmara de Neubauer



Autor: ROUGE, 2002.

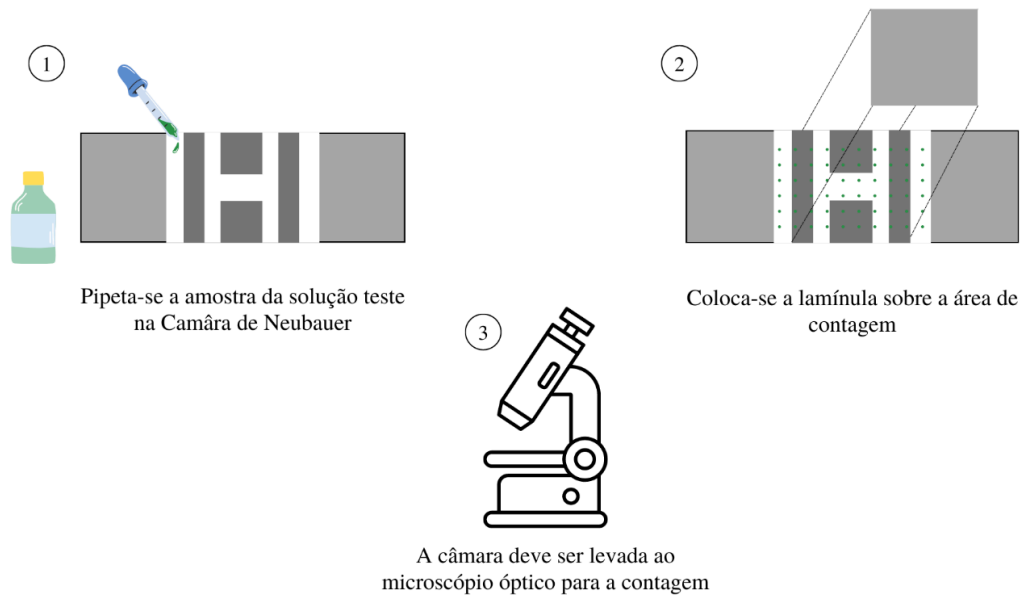
Figura 10 – Diagrama da área de contagem da câmara de Neubauer, sendo E a área central utilizada para contagem das células de *Chlorella vulgaris*



Autor: LOURENÇO, 2006.

Para realizar a contagem, com auxílio de pipeta Pasteur, foi retirado uma quantidade das amostras controle e das soluções testes, preenchendo por completo a câmara. Posteriormente, uma lamínula foi fixada sob a câmara de Neubauer para a visualização no microscópio, ilustrado na Figura 11.

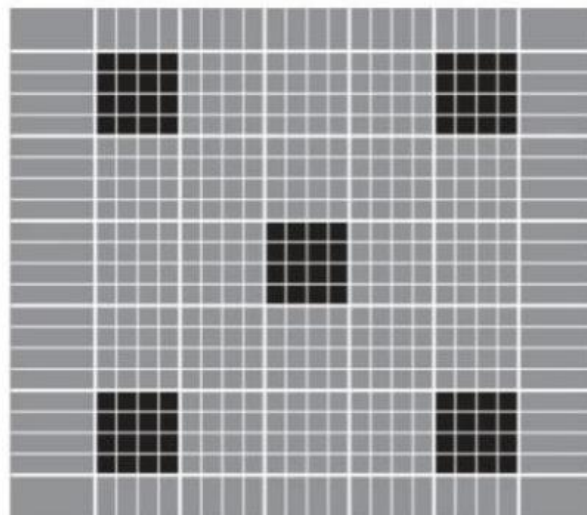
Figura 11 – Fluxograma da preparação e visualização da amostra na Câmara de Neubauer



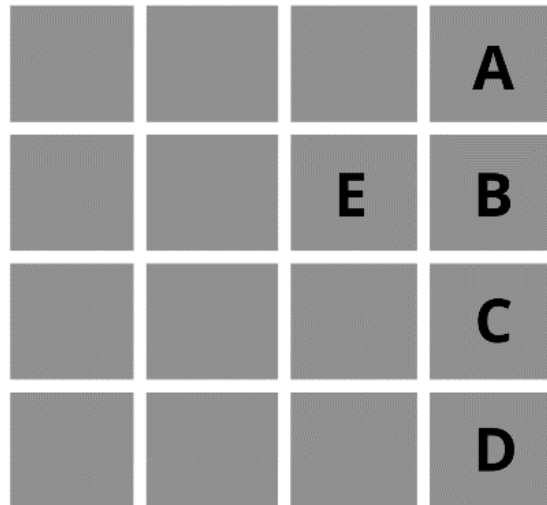
Fonte: Autores.

A contagem foi efetuada na área central, em apenas 5 quadrados, seguindo um padrão exemplificado, realizada em triplicata utilizando a objetiva de 40x no microscópio óptico, representada nas Figuras 12 e 13.

Figura 12 – Padrão utilizado para contagem das células de *C. vulgaris*



Autor: LOURENÇO, 2006.

Figura 13 – Padrão de quadrados contados

Fonte: Autores.

Após contar quantas células algais estavam presentes em cada um dos 5 quadrados (A, B, C, D e E) do quadrante de leitura, esse número foi somado e o fator de multiplicação 50.000 foi aplicado para estimar o número real de células para cada mL, que é o volume da câmara de Neubauer. Desse modo, utilizou-se como fórmula:

$$A + B + C + D + E = N^{\circ} \text{ de células} \times 50.000 = N^{\circ} \text{ estimado de células por mL}$$

Essa metodologia foi realizada para cada medicamento e concentrações teste com controle. As soluções preparadas foram utilizadas para os dois períodos de exposição (aguda e crônica) e para a avaliação do crescimento algal nas respectivas exposições.

4.5 EXPOSIÇÃO AGUDA E CRÔNICA

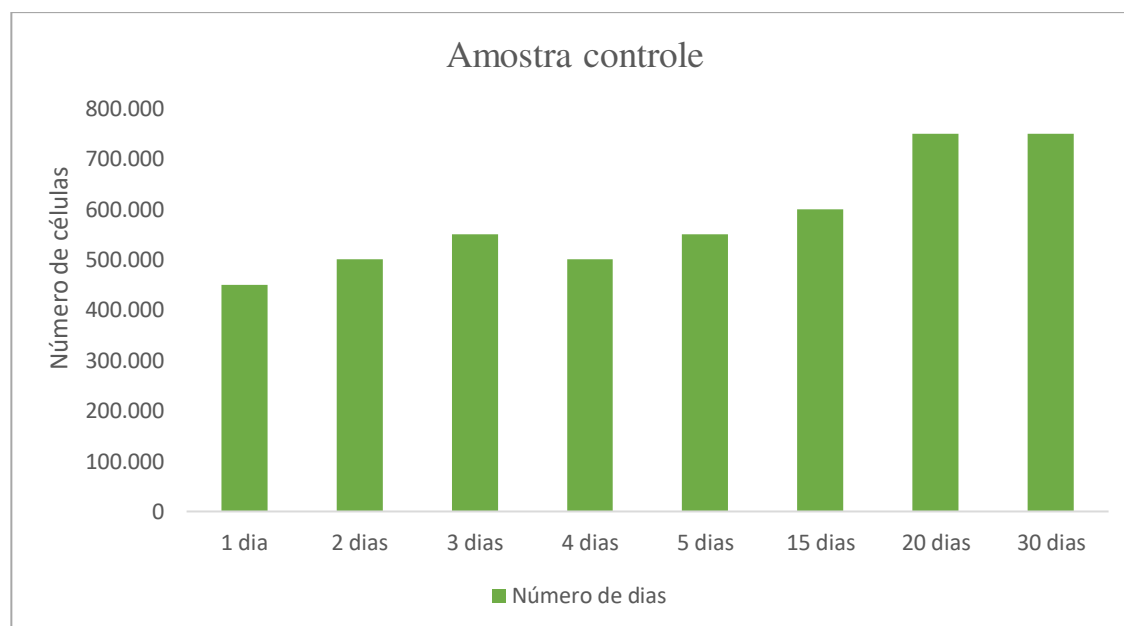
A análise da exposição crônica aos medicamentos foi iniciada no dia posterior ao preparo experimental e ocorreu durante 30 dias. A contagem direta por microscopia foi realizada nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 15, 20 e 30 para avaliar o grau do crescimento celular em relação ao medicamento (contaminante) no meio, para as 3 concentrações teste (baixa, média e alta) e controle de cada medicamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os medicamentos utilizados no experimento foram: Hidroclorotiazada, Atenolol, Maleato de enalapril, Captopril e Losartana. Para a construção dos resultados foram feitos cálculos que verificassem o crescimento do número de células algais – a partir desses cálculos foram criados gráficos que expressassem os resultados das contagens realizadas para o controle e para cada medicamento e suas diferentes concentrações. Foram adicionados aos gráficos o erro padrão e porcentagem em relação ao crescimento quando comparados com a amostra controle.

A leitura dos gráficos foi dividida em duas partes, buscando analisar a exposição aguda e crônica. Na exposição aguda foram analisados os 5 primeiros dias do comportamento das células algais em relação ao crescimento e na exposição crônica a análise foi feita após o 5º dia. Todos os medicamentos foram testados em forma de triplicata.

Gráfico 1 - Gráfico apresentando o crescimento de *C. vulgaris* em amostra controle



Fonte: Autores.

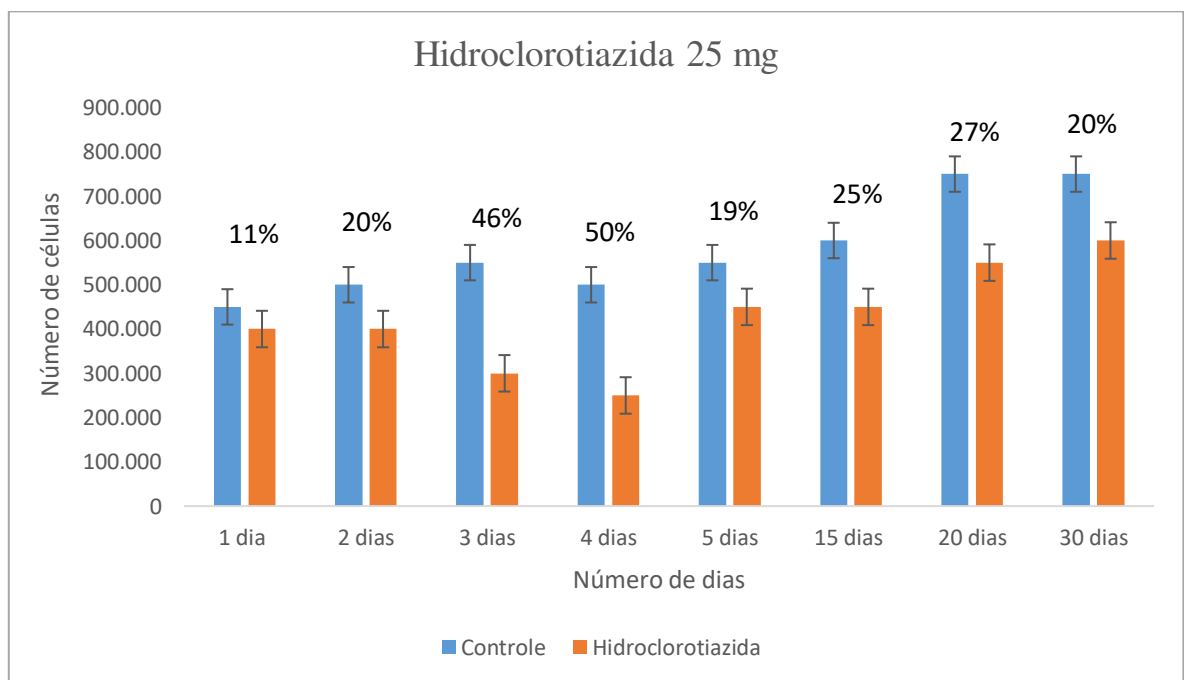
Como representado no gráfico 1 da amostra controle, é possível verificar um padrão linear de crescimento das células algais. A amostra controle é composta apenas das células algais, sem a presença de medicamentos e a curva de crescimento linear observada durante o experimento corresponde ao encontrado na literatura (SAFI et al ,2014).

Os próximos gráficos foram referentes ao crescimento algal na presença dos medicamentos escolhidos em diferentes concentrações, e primeiramente têm-se o gráfico do crescimento da *Chlorella vulgaris* na presença da Hidroclorotiazida, posteriormente Atenolol, Maleato de enalapril, Captopril e Losartana, respectivamente:

5.1 HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG

Os resultados expressos no gráfico da Hidroclorotiazida 25 mg mostraram que tanto na exposição aguda como na exposição crônica o crescimento foi menor do que o do controle, sendo que a maior diferença foi encontrada no quarto dia, com metade do número de células do controle. Entretanto, posteriormente essa diferença foi ficando menor no decorrer dos dias e no final do experimento a diferença foi de 20% a mais de células na amostra controle (Gráfico 1).

Gráfico 2 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Hidroclorotiazida 25 mg na concentração teste e controle algal



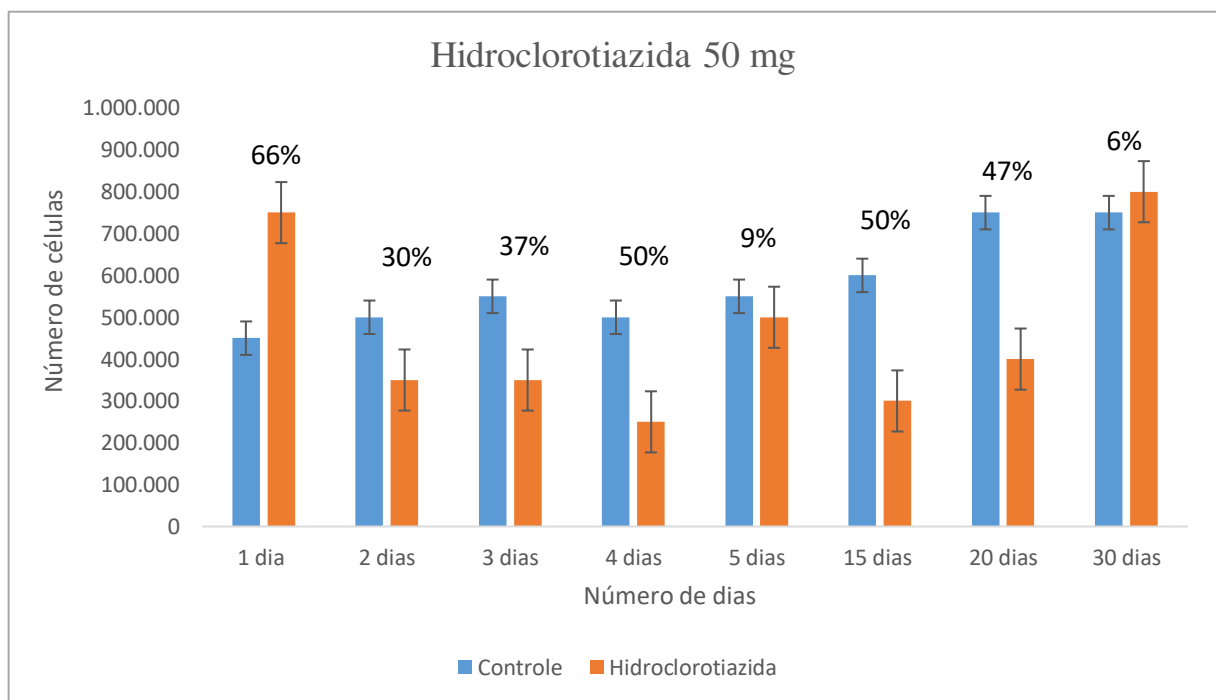
Fonte: Autores.

5.2 HIDROCLOROTIAZIDA 50 MG

Como pode-se observar no gráfico 3, na exposição aguda inicialmente houve um crescimento de 66% de células na amostra com medicamento, mas que posteriormente foi oscilando entre aumento e decréscimo. No último dia de experimento o número de células da amostra com medicamento estava apenas 6% maior do que o número de células do controle.

É importante destacar que tanto no final da exposição aguda, no 5º dia como no último dia da exposição crônica, no 30º dia, o número de células da amostra teste estava bem aproximado da amostra controle, demonstrando que apesar das oscilações, o crescimento no final das exposições foi retomado.

Gráfico 3 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Hidroclorotiazida 50 mg na concentração teste e controle algal



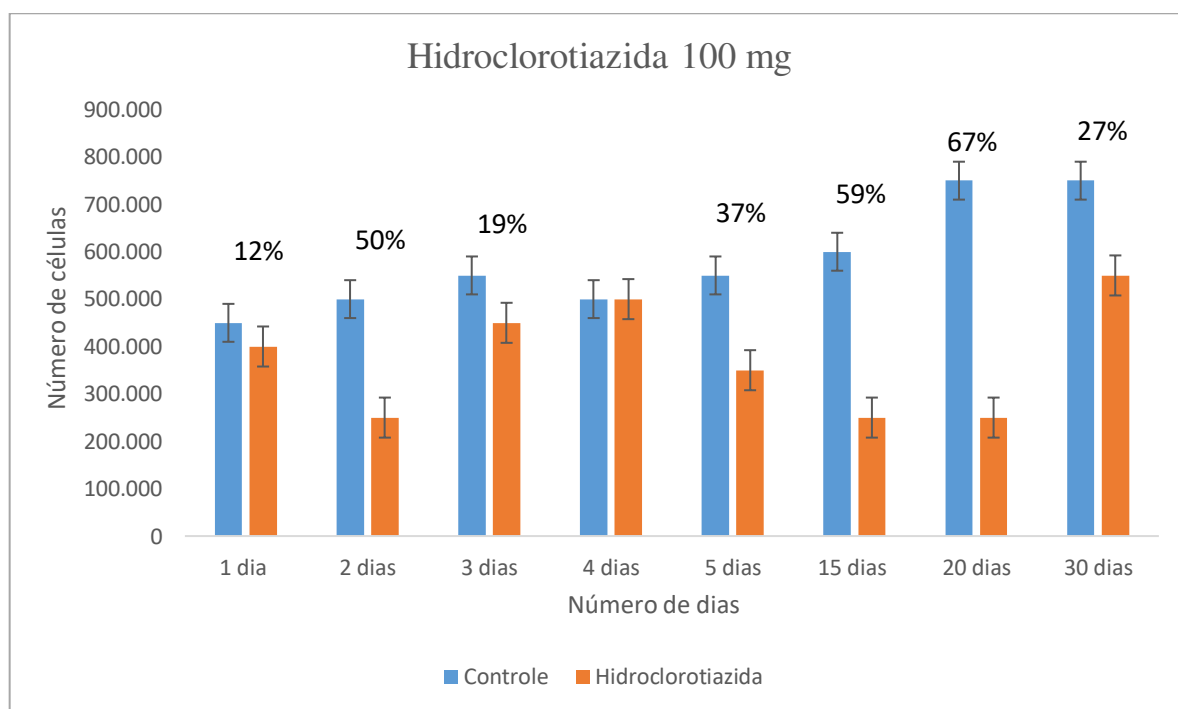
Fonte: Autores.

5.3 HIDROCLOROTIAZIDA 100 mg

Durante a exposição aguda houve queda no crescimento nos dois primeiros dias mas no terceiro o crescimento foi retomado e no quarto dia o número de células foi igual ao do controle (Gráfico 4).

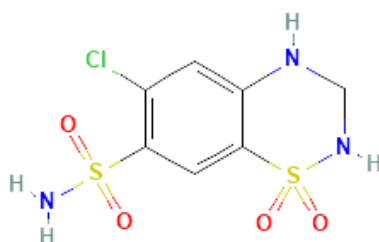
Durante a exposição crônica o crescimento se manteve sempre abaixo, finalizando o último dia com uma diferença de 27% menor em células na amostra com Hidroclorotiazida na concentração 100 mg.

Gráfico 4 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Hidroclorotiazida 100 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

Figura 14 – Fórmula estrutural da Hidroclorotiazida



Fonte: PubChem, 2023.

A composição molecular da Hidroclorotiazida pode ser considerada um fator importante em relação ao crescimento posterior presente na exposição crônica em que as células algais apresentaram. O elemento nitrogênio está presente na composição na fórmula estrutural (Figura 14) e é considerado essencial no ecossistema aquático, com capacidade de atuar na formação de proteínas, que pode ser considerada como elemento indispensável para formação da biomassa, como fonte de crescimento para microalgas (SILVA, 2006).

Desse modo, o crescimento apresentado pela *Chlorella* em determinados momentos, pode ser justificado pela presença do nitrogênio e o decréscimo pelo medicamento. Esta condição pode ser constatada pela diferença do número de células no final do experimento, na concentração mais baixa, de 25 mg, houve um decréscimo do número de algas de 20%, desse modo pode-se supor que quanto menor a quantidade de Hidroclorotiazida, menor será a presença de nitrogênio.

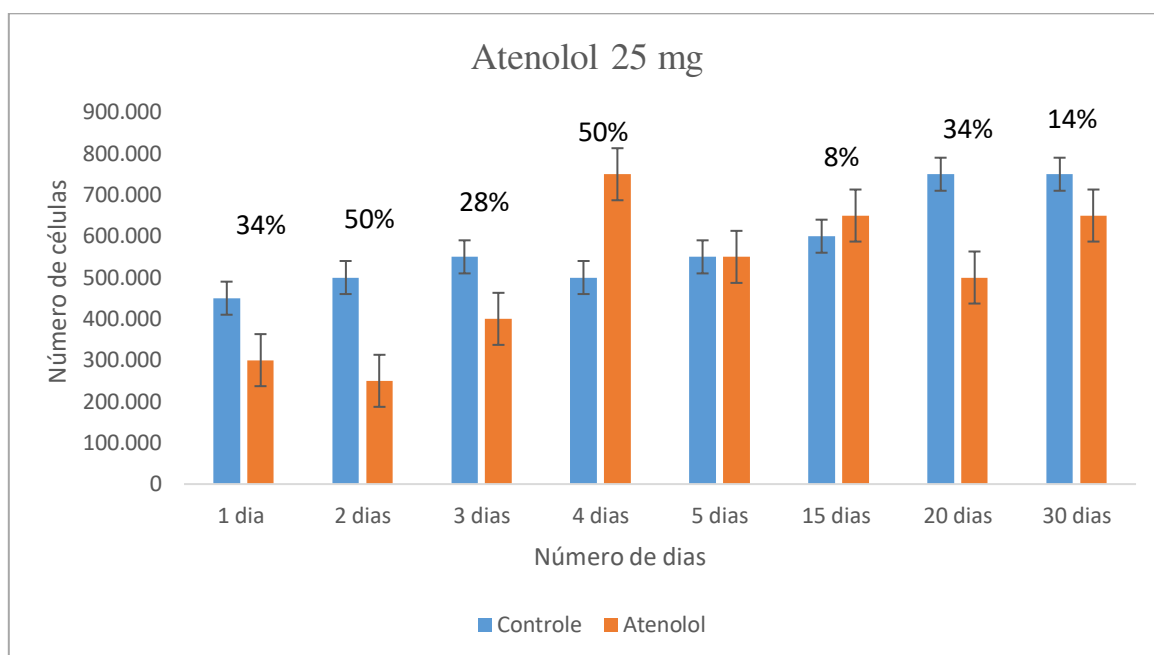
Na concentração de 50 mg a diferença foi de 6% a mais, ou seja, com mais Hidroclorotiazida, mais nitrogênio. Na concentração de 100 mg, mesmo com mais nitrogênio disponível, a concentração do medicamento interferiu no crescimento, apresentando um decréscimo de 27% quando comparado a amostra controle.

5.4 ATENOLOL 25 MG

Os resultados apresentados através do Gráfico 5 apontaram que na exposição aguda o crescimento apresentou decréscimo de 40% nos 2 primeiros dias, com crescimento sendo retomado a partir do terceiro dia, sendo que no 4º dia o número de células da amostra com Atenolol foi 50% maior que do controle. No 5º dia a amostra com Atenolol 25 mg apresentou número de células igual ao do controle.

A exposição crônica dessa concentração apresentou oscilação no crescimento. No 15º dia referente a exposição crônica, o número de células na amostra teste estava 8% maior que no controle, mas no 20º dia houve uma diminuição com uma diferença de 34% a menos e no último dia voltou a crescer novamente, entretanto ainda ficou 14% menor do que o número de células da amostra controle.

Gráfico 5 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Atenolol 25 mg na concentração teste e controle algal



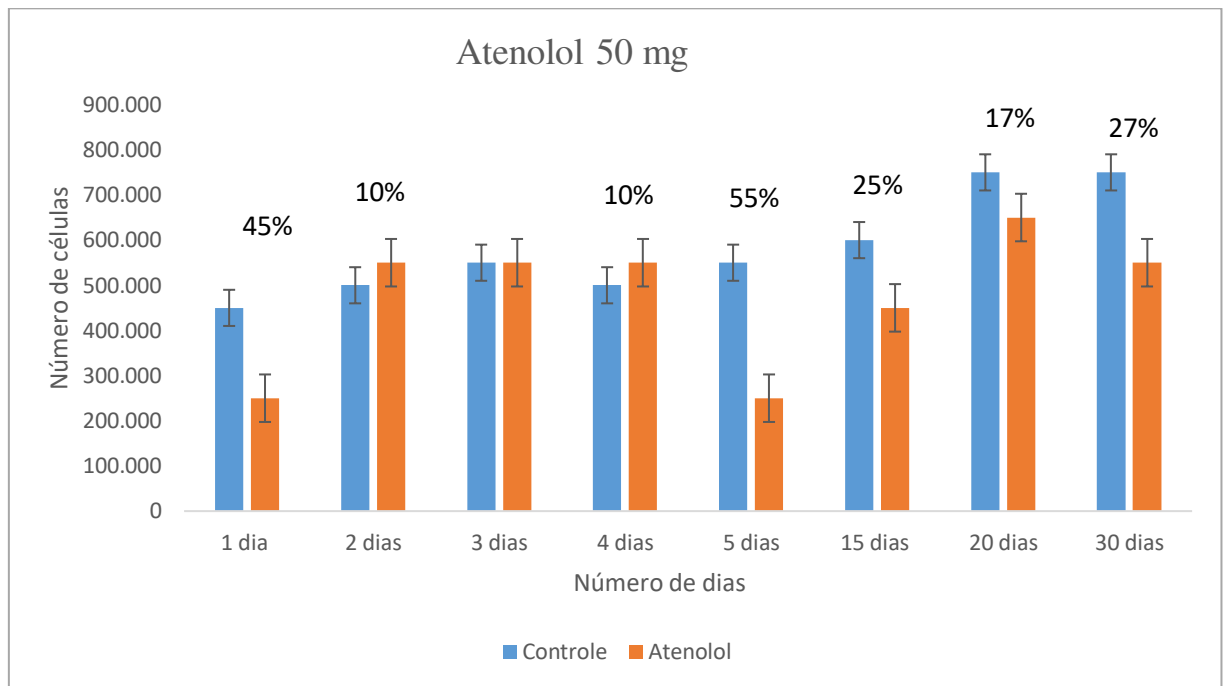
Fonte: Autores.

5.5 ATENOLOL 50 MG

Nesta concentração teste, o Gráfico 6 demonstra que durante a exposição aguda houve uma diminuição bem significativa no primeiro dia de contagem, com uma diferença de 45% menos células do que na amostra controle. A partir do segundo dia, o número de células voltou a crescer e a diferença entre a amostra teste e a controle foi de 10% a mais para a amostra teste. No 3º dia o número de células foi igual no controle e na amostra teste e no 4º dia a diferença foi de 10% a mais de células na amostra teste. É interessante observar que essas oscilações ocorreram quando comparadas com a amostra controle, mas se observar-se somente o que ocorreu na amostra teste, a mesma manteve-se com o mesmo número de células no 2º, 3º e 4º dias.

No último dia da exposição aguda, ocorreu uma diminuição significativa, 55% menos células na amostra teste. Na exposição crônica, houve oscilação entre aumento e diminuição do número de células, mas sempre menor do que o número de células observadas no controle.

Gráfico 6 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Atenolol 50 mg na concentração teste e controle algal

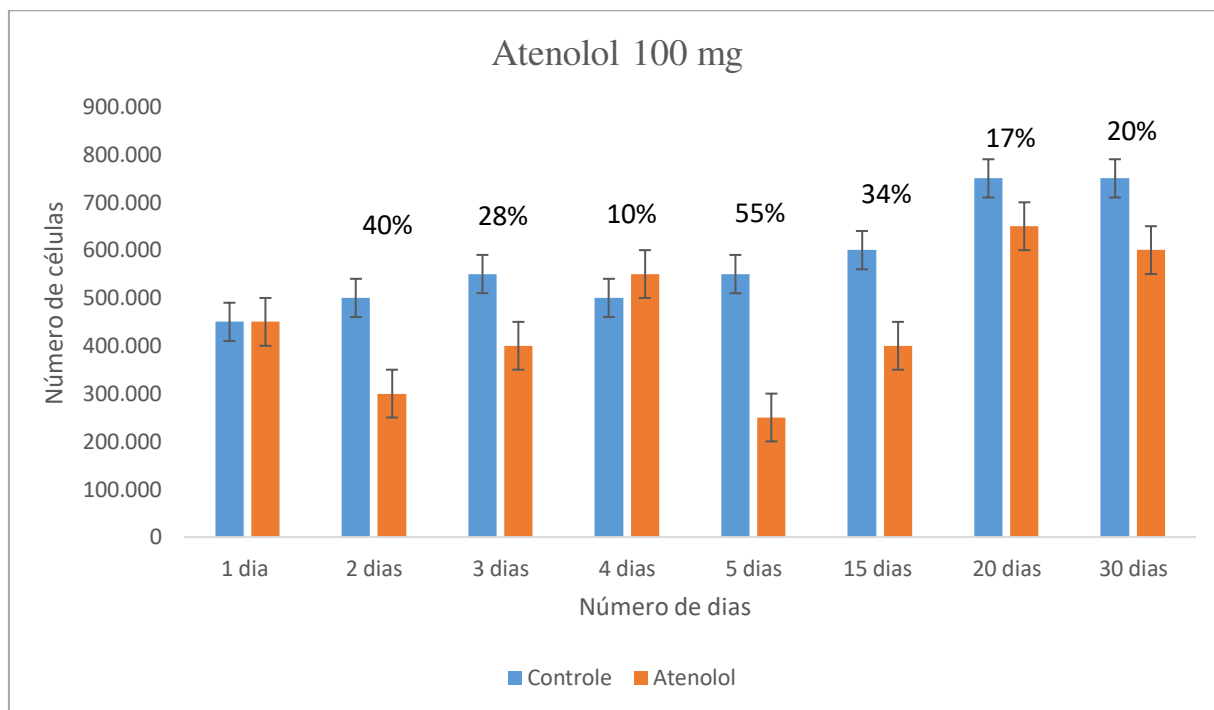


5.6 ATENOLOL 100 MG

O Gráfico 7 mostra no 1º dia que os valores foram iguais ao controle. A partir do 2º dia houve uma diminuição de 40% quando comparado ao controle e do 3º ao 5º dia os valores oscilaram, aumentando e diminuindo, terminando o período de exposição aguda com 55% menos células na amostra teste do que no controle.

Na exposição crônica, os valores também oscilaram para mais e para menos, mas sempre ficaram abaixo do número de células do controle.

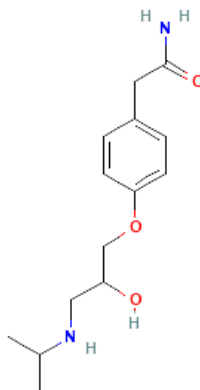
Gráfico 7 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Atenolol 100 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

O Atenolol assim como a Hidroclorotiazida apresenta na sua composição molecular a presença de nitrogênio (Figura 15), que como citado anteriormente, pode ser sugerida como justificativa para o crescimento apresentado pelas células quando expostas a exposição aguda. O nitrogênio apresenta nutrientes que garantem as microalgas um desenvolvimento saudável e possibilitando a capacidade das células de retomarem o crescimento de forma contínua sem que ocorra grandes danos (SILVA, 2006).

Figura 15 – Fórmula estrutural do Atenolol



Fonte: PubChem, 2023.

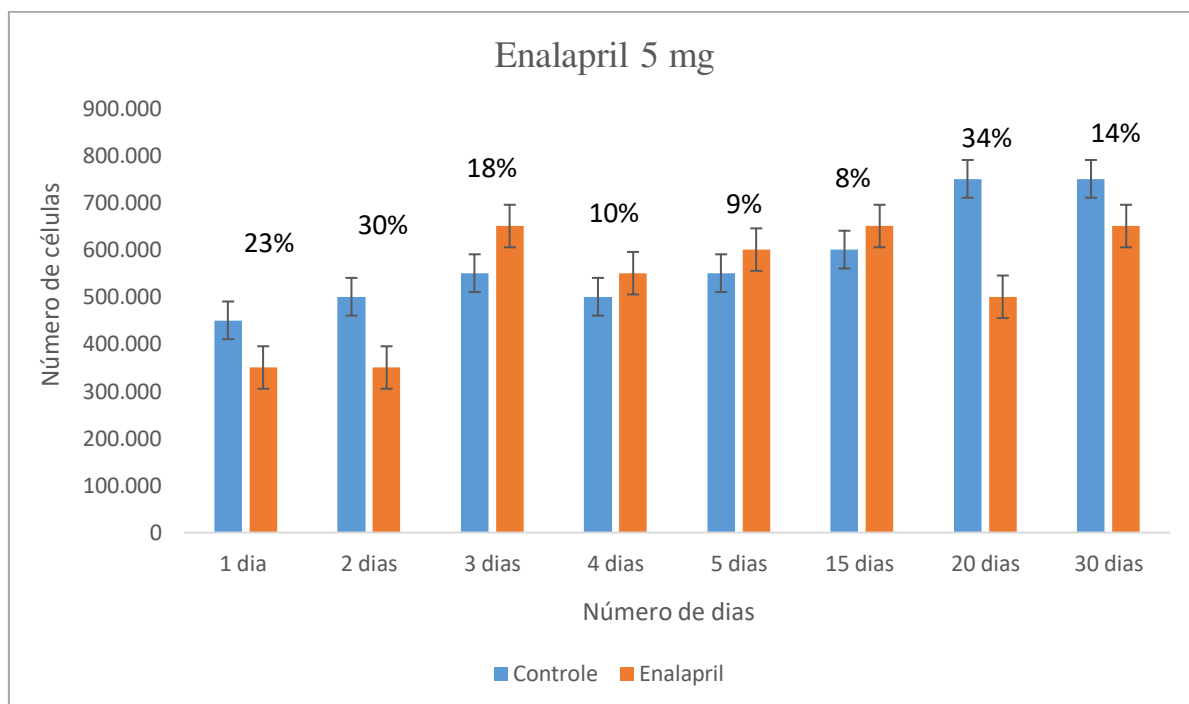
Procopio et al (2021), realizaram testes de crescimento de *C. vulgaris* e *Raphidocelis subcapitata* na presença de Carbamazepina, Ibuprofeno, Cafeína e Atenolol. As concentrações utilizadas no trabalho foram semelhantes àquelas deste trabalho e eles também constataram um efeito inibitório do crescimento de *C. vulgaris* corroborando com os dados apresentados neste trabalho.

5.7 MALEATO DE ENALAPRIL 5 MG

O Gráfico 8 representa o Maleato de enalapril 5 mg que na exposição aguda apresentou queda no número de células de 23% no primeiro dia e de 30% no segundo dia quando comparado ao controle. No terceiro dia o número de células aumentou 18% acima do controle, e até o 5º dia o número de células se manteve um pouco maior na amostra teste.

Na exposição crônica, no 15º dia o número de células estava 8% maior na amostra teste do que no controle e do 20º dia ao 30º dia o número de células ficou menor na amostra teste.

Gráfico 8 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Maleato de enalapril 5 mg na concentração teste e controle algal

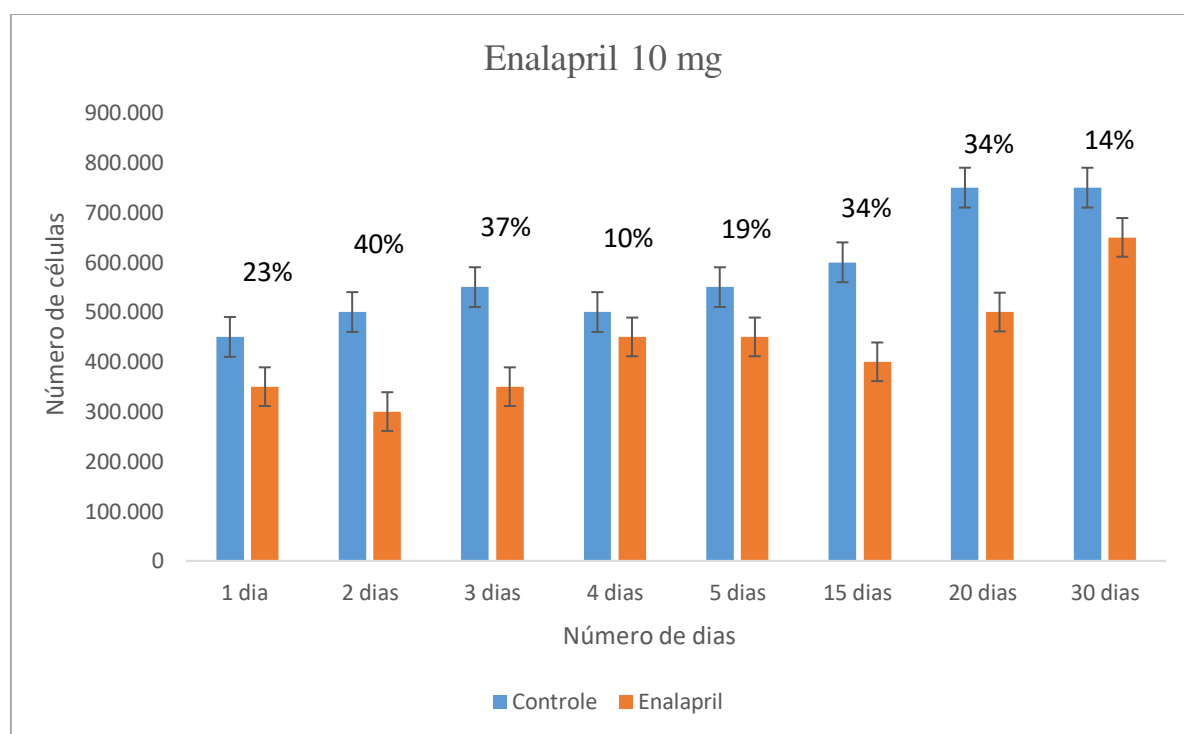


Fonte: Autores.

5.8 MALEATO DE ENALAPRIL 10 MG

O Gráfico 9 representa o crescimento algal na presença de Maleato de enalapril 10 mg e tanto na exposição aguda como na crônica o número de células da amostra teste sempre foi menor do que no controle, sendo a maior diferença observada no segundo dia no qual a amostra teste tinha 40% menos células algais e a menor diferença foi verificada no quarto dia, pois o número de células estava 10% menor no teste do que no controle.

Gráfico 9 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Maleato de enalapril 10 mg na concentração teste e controle algal



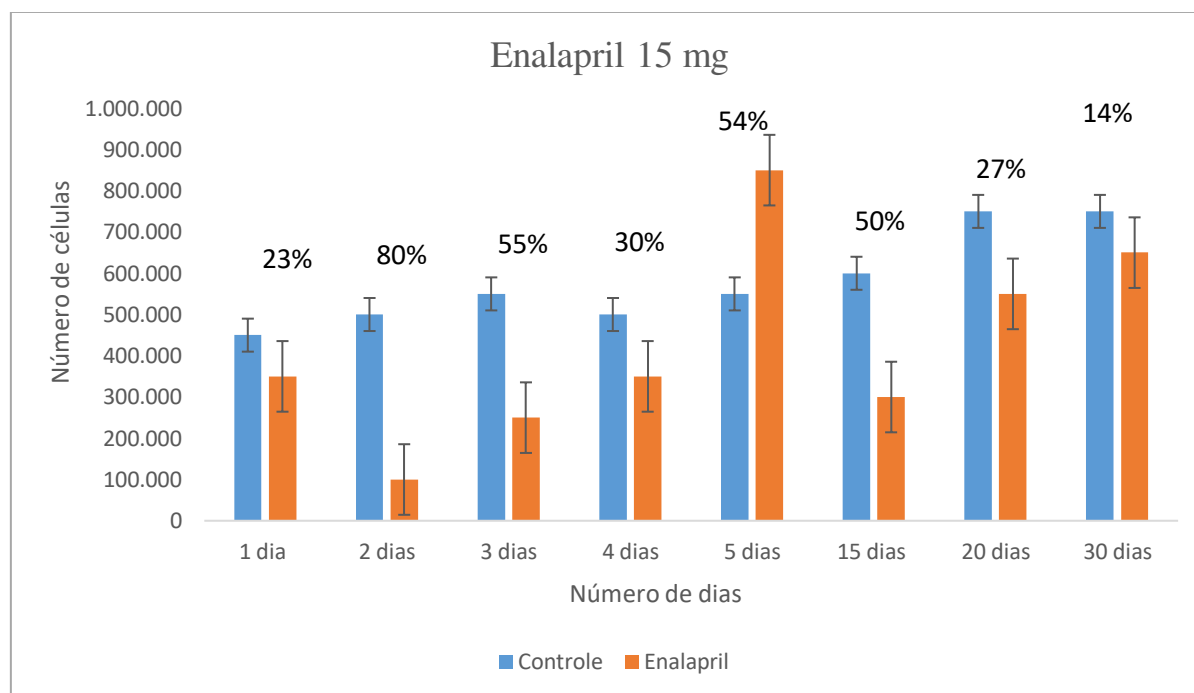
Fonte: Autores.

5.9 MALEATO DE ENALAPRIL 15 MG

O Gráfico 10 configura a contagem realizada da amostra teste de Maleato de Enalapril 15 mg. Na exposição aguda, no primeiro dia, a amostra teste ficou 23% com menos células que na amostra controle e no segundo dia a queda foi maior ainda, de 80%. No 3º e 4º dias o número de células foi aumentando na amostra teste, mas sempre abaixo do número de células do controle. Já no 5º dia o crescimento celular da amostra teste ultrapassou em 54% o controle.

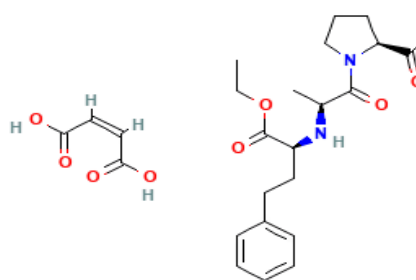
Na exposição crônica os valores da contagem das células na amostra teste sempre ficaram inferiores aos encontrados na amostra teste.

Gráfico 10 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Maleato de enalapril 15 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

Figura 16 – Fórmula estrutural do Maleato de enalapril



Fonte: PubChem, 2023.

As várias mudanças no comportamento do maleato de enalapril, podem ser justificadas pelo padrão de excipientes utilizados para a sua formulação final. Os excipientes são utilizados nas formulações dos medicamentos como forma de melhorar a sua absorção, estabilidade e liberação (PIFFERI, 1999; WASAN, 2001; WILLIAMS e BARRY, 2004;

GURSOY e BENITA, 2004; DANNENFELSER, 2004), e podem gerar impactos diretos nas células algais. Neste medicamento os excipientes presentes são: fosfato de cálcio dibásico, estearato de magnésio, celulose microcristalina, óxido de ferro vermelho, lactose, amido pré gelatinizado, croscarmelose sódica (Tabela 1).

Considerando os excipientes citados acima, pode-se levantar a hipótese de que o óxido de ferro tenha possível relação com o crescimento apresentado pelas células algais na exposição crônica, uma vez que o Ferro é considerado um nutriente importante e que envolve-se diretamente na transferência de elétrons, além de regular o processo de fotossíntese e metabolismo do nitrogênio (FERRAREZI, 2006), levando em consideração a presença de nitrogênio na forma molecular do maleato de enalapril (Figura 16).

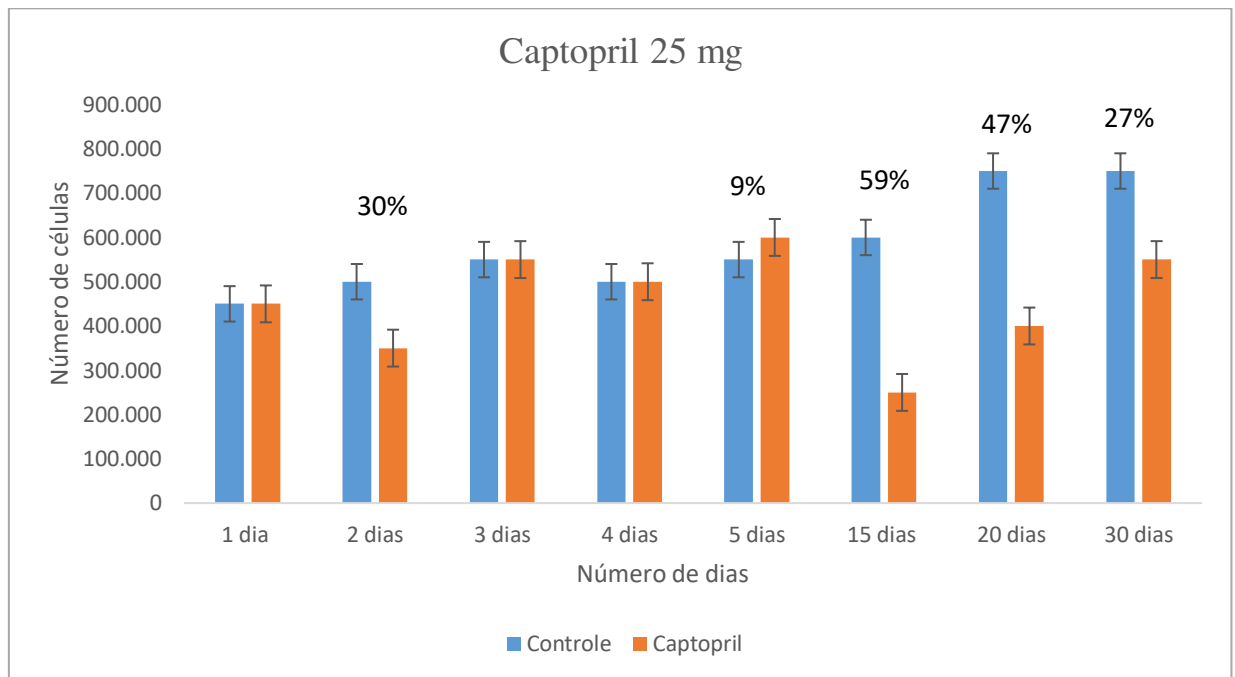
Desse modo, uma suposição é que as células algais (Figura 1) podem ter usado o ferro como meio de nutrição para fortalecimento das mesmas, conseguindo assim estabilizar seu crescimento na fase de exposição crônica do experimento. Mas um fato que chama a atenção para o Maleato de enalapril é que somente no 3º dia da concentração 5 mg e no 5º dia da concentração 15 mg é que o número de células foi maior na amostra teste do que no controle.

5.10 CAPTOPRIL 25 MG

A exposição aguda indicou queda de 30% no segundo dia, com crescimento retomado no terceiro dia que se mostrou igual ao controle sem presença de alteração relevante e seguiu continuo até o quinto dia (Gráfico 11).

No gráfico é possível analisar a exposição crônica apontando queda no crescimento no 15º dia, chegando a 59% menos células na amostra teste quando comparada ao controle. O crescimento foi retomado apenas no penúltimo dia de experimento mas mesmo com essa retomada, o número de células ainda ficou abaixo do encontrado no controle.

Gráfico 11 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Captopril 25 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

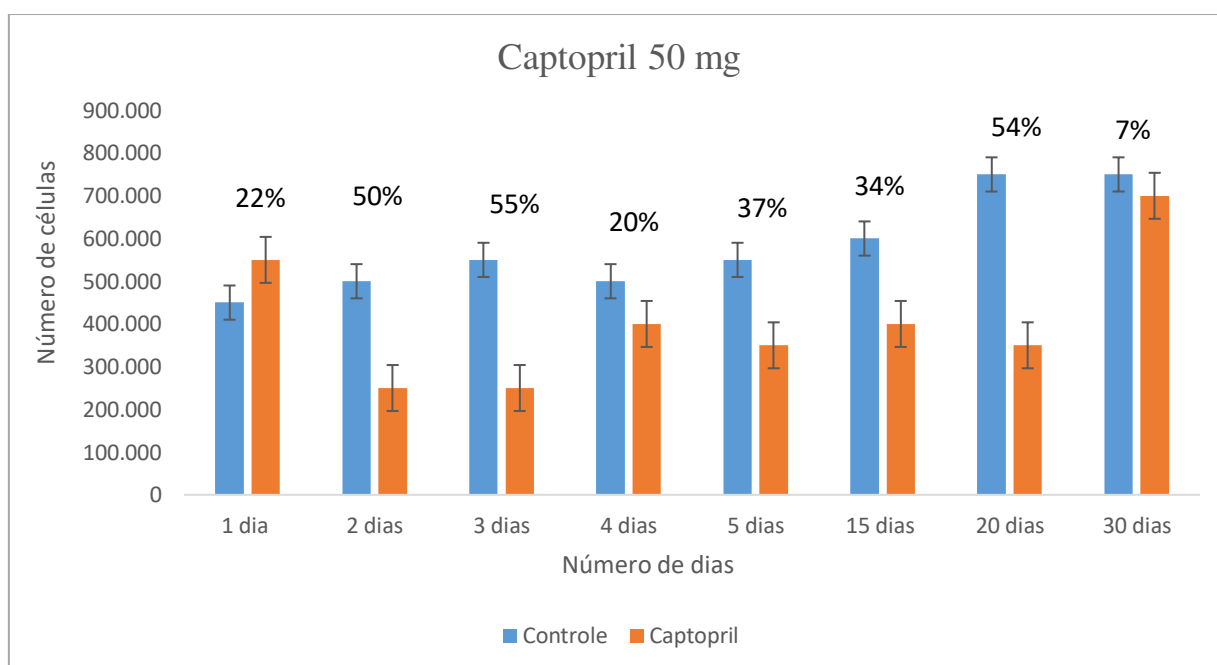
A exposição aguda indicou queda de 30% no segundo dia, com crescimento retomado no terceiro dia que se mostrou igual ao controle sem presença de alteração relevante e seguiu continuo até o quinto dia (Gráfico 11).

No gráfico é possível analisar a exposição crônica apontando queda no crescimento no 15º dia, chegando a 59% menos células na amostra teste quando comparada ao controle. O crescimento foi retomado apenas no penúltimo dia de experimento, mas mesmo com essa retomada, o número de células ainda ficou abaixo do encontrado no controle.

5.11 CAPTOPRIL 50 MG

O gráfico 12 mostra uma oscilação do crescimento algal na concentração Captopril 50 mg e o único período em que este crescimento esteve acima do controle foi no 1º dia e, em seguida, o número de células ficou abaixo do controle, mas uma observação sobre o último dia de experimento foi observada a menor diferença entre o controle e a amostra teste, apenas 7%.

Gráfico 12 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Captopril 50 mg na concentração teste e controle algal

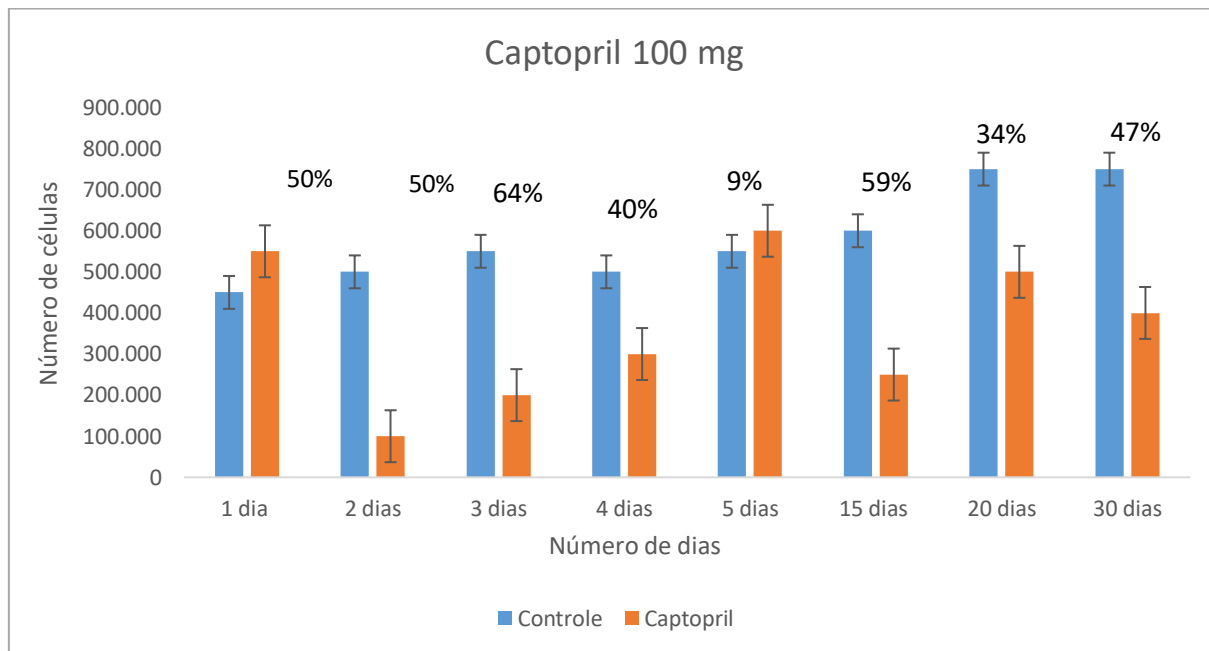


Fonte: Autores.

5.12 CAPTOPRIL 100 MG

Na exposição aguda o crescimento se manteve alto apenas no primeiro dia, a partir do segundo dia o crescimento foi considerado baixo chegando a 50% de diferença em relação ao controle. O crescimento se manteve baixo até o quarto dia, e apenas no quinto dia foi retomado (Gráfico 13). O gráfico mostra que na exposição aguda o crescimento manteve-se relativamente baixo, e finalizou com número menor de células quando comparado ao valor inicial do primeiro dia na exposição aguda. Vale ressaltar a presença de nitrogênio neste medicamento como pode-se observar na Figura 17.

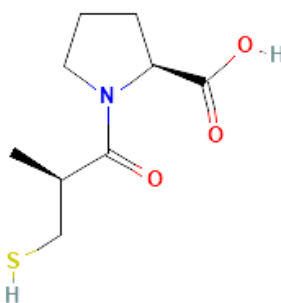
Gráfico 13 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Captopril 100 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

Na exposição aguda o crescimento se manteve alto apenas no primeiro dia, a partir do segundo dia o crescimento foi considerado baixo chegando a 50% de diferença em relação ao controle. O crescimento se manteve baixo até o quarto dia, e apenas no quinto dia foi retomado (Gráfico 13). O gráfico mostra que na exposição aguda o crescimento manteve-se relativamente baixo, e finalizou com número menor de células quando comparado ao valor inicial do primeiro dia na exposição aguda. Vale ressaltar há presença de nitrogênio neste medicamento como pode-se observar na figura abaixo.

Figura 17 – Fórmula estrutural do Captopril



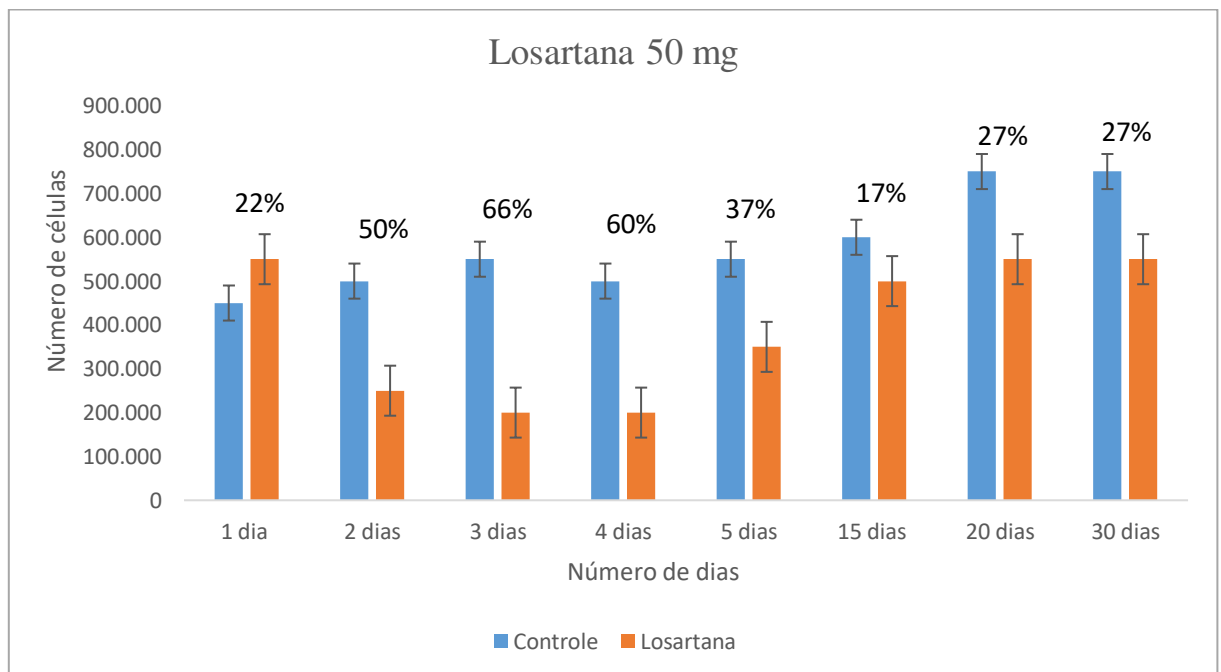
Fonte: PubChem, 2023.

5.13 LOSARTANA 50 MG

Os resultados expressos no Gráfico 14, mostraram que na exposição aguda o crescimento na amostra teste se manteve baixo, sendo superior apenas no primeiro dia. O terceiro dia apresentou a maior queda com cerca de 66% de diferença em comparação ao controle. O crescimento seguiu baixo até o quinto dia, quando foi retomado, mas manteve-se abaixo do controle.

Na exposição crônica o crescimento foi abaixo do controle e se manteve linear e contínuo, não apresentando quedas aparentes até o final do experimento.

Gráfico 14 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Losartana 50 mg na concentração teste e controle algal



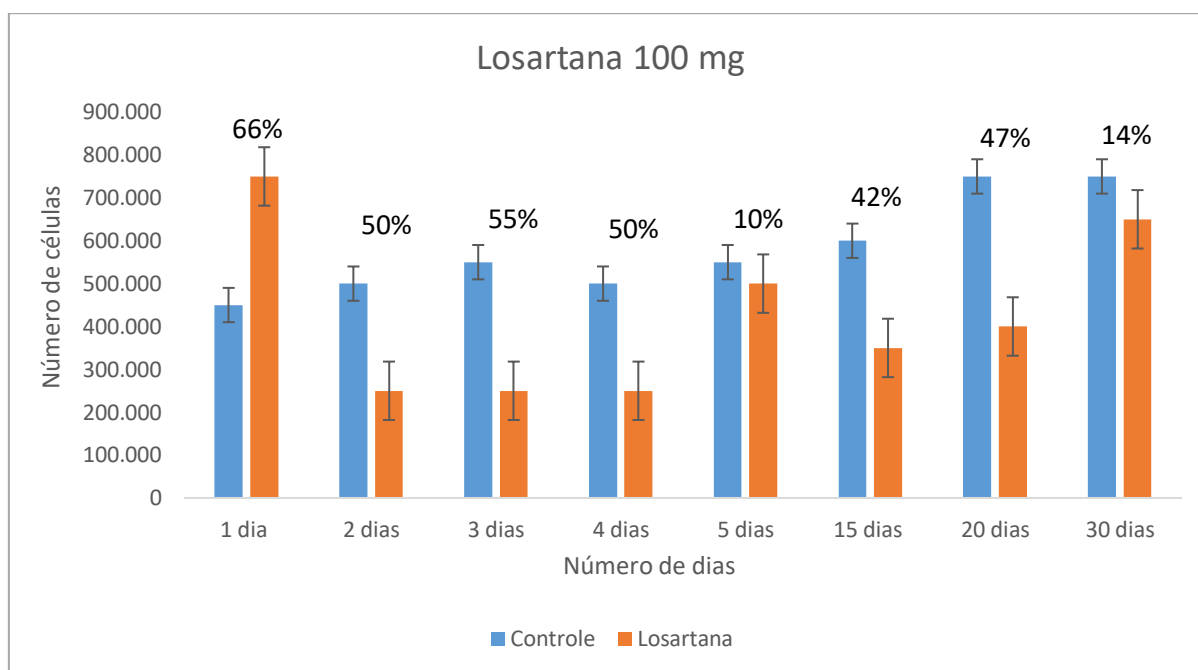
Fonte: Autores.

5.14 LOSARTANA 100 MG

Como representado no Gráfico 15, a exposição aguda apresentou no primeiro dia crescimento alto de 66%, entretanto, no segundo dia o crescimento foi baixo (50%) e seguiu assim até o quinto dia.

Na exposição crônica o crescimento na amostra teste se manteve abaixo do controle, com maior número de células no último dia chegando a porcentagem de apenas 14% de diferença quando comparado com a amostra controle.

Gráfico 15 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Losartana 100 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

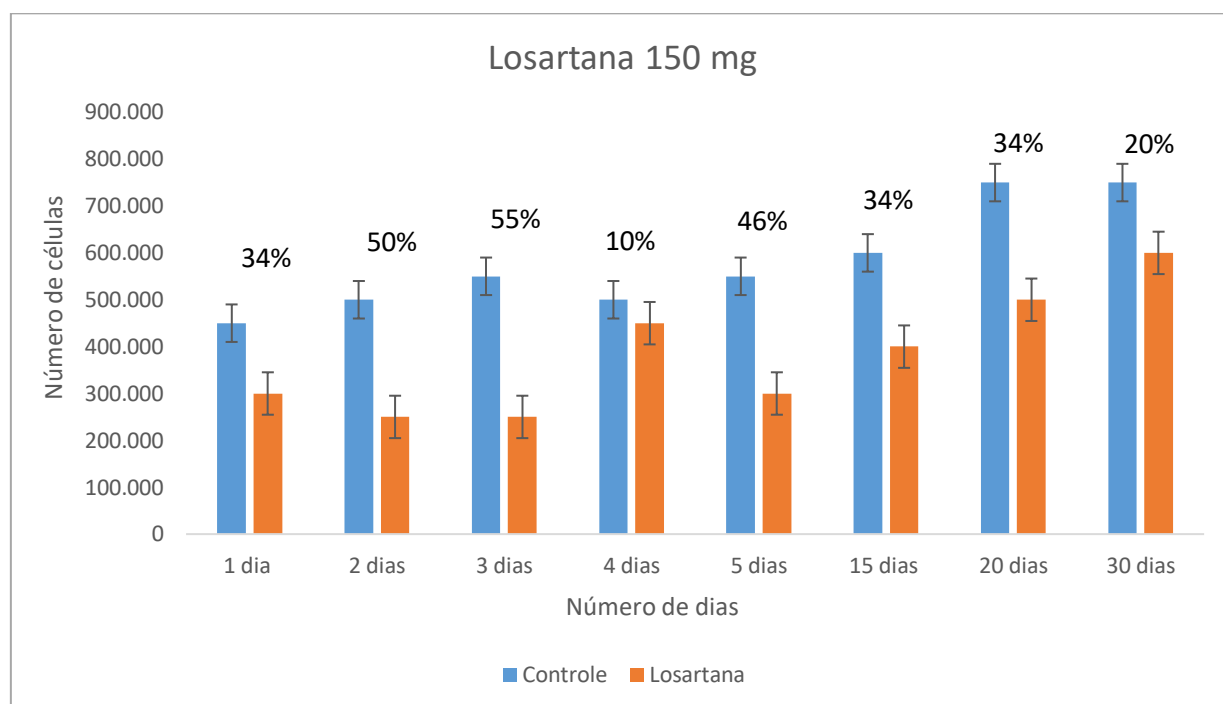
Como representado no Gráfico 15 a exposição aguda apresentou no primeiro dia crescimento alto, entretanto no segundo dia o crescimento foi baixo e seguiu assim até o quinto dia.

Na exposição crônica o crescimento na amostra teste se manteve abaixo do controle, com maior número de células no último dia chegando a porcentagem de apenas 14% de diferença quando comparado com a amostra controle.

5.15 LOSARTANA 150 MG

O Gráfico 16 da amostra teste de Losartana 150 mg na exposição aguda e na exposição crônica, demonstra que o crescimento da *Chlorella vulgaris* sempre foi inferior quando comparado ao controle.

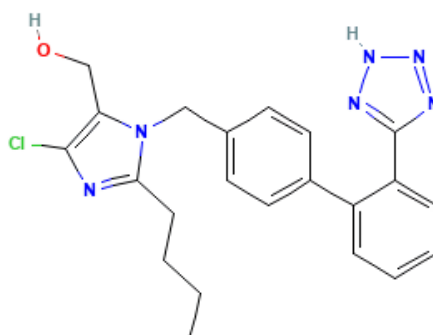
Gráfico 16 - Gráfico apresentando crescimento celular de *C. vulgaris* em Losartana 150 mg na concentração teste e controle algal



Fonte: Autores.

O Gráfico 16 da amostra teste de Losartana 150 mg na exposição aguda e na exposição crônica, demonstra que o crescimento da *Chlorella vulgaris* sempre foi inferior quando comparado ao controle.

Figura 18 – Fórmula estrutural da Losartana



Fonte: PubChem, 2023.

A Losartana apresenta na sua composição de excipientes a presença de dióxido de titânio (Tabela 1). Este pode ser prejudicial as células algais, pois quando expostas à este material, as algas podem ter seu metabolismo alterado, considerando que as algas possuem uma parede celular semipermeável permitindo a entrada de substâncias, podendo causar morte celular (DALAI, 2014; ELSAESSER e HOWARD 2012; NAVARRO., 2008). Desse modo, a diminuição das células algais durante a exposição aguda e crônica pode ter sido efeito do dióxido de titânio.

Na estrutura molecular do medicamento Losartana, a presença de nitrogênio é observada (Figura 18), e como citada anteriormente nas discussões das concentrações acima pode ser considerada uma hipótese de explicação para o crescimento posterior das células na exposição crônica uma vez que o nitrogênio pode ser uma fonte de nutriente para as microalgas.

A curva de crescimento de cada espécie de alga depende de vários fatores como, intensidade de luz, temperatura, pH, nutrientes e agitação (MIAO e WU, 2004).

Essa curva de crescimento é essencial para se avaliar o desenvolvimento da população de microalgas e principalmente observar alterações nas propriedades fisiológicas e morfológicas (LOURENÇO, 2006) e após a análise dos gráficos acima, foi possível observar um padrão de interferência na curva de crescimento da *Chlorella vulgaris* na presença de determinados medicamentos anti-hipertensivos quando comparado a curva de crescimento da amostra controle, demonstrando dessa forma que os medicamentos, mesmo em baixas concentrações, promoveram um crescimento diferente do controle. Em todos medicamentos foi observado um crescimento reduzido nos primeiros dias e depois o crescimento aumentou, mas manteve-se abaixo do crescimento observado no controle.

6 CONCLUSÃO

Foram testados cinco medicamentos em concentrações diferentes utilizando *Chlorella vulgaris* como bioindicadora para avaliação da toxicidade e impactos ecotoxicológicos dos medicamentos em ambientes aquáticos. Os testes utilizados para avaliação dos resultados foram os de toxicidade aguda e crônica, através de gráficos que expressassem os resultados de forma clara e ampla. A partir disso, foram levantados estudos que justificassem os resultados expostos por esses gráficos, utilizando a literatura e comparação com trabalhos publicados para dar início a discussão principal dos resultados.

Como citado anteriormente, os excipientes e componentes moleculares presentes nas formulações dos medicamentos podem ter gerado efeito sobre o decréscimo e crescimento das células algais. Entretanto, mesmo com o crescimento sendo retomado na exposição crônica, o mesmo se mostrou inferior se comparado a amostra controle utilizada como base para os testes. Desse modo, fica claro que são necessários mais estudos sobre os efeitos que estes componentes podem ter, não só em relação as algas e sistemas aquáticos, mas também no impacto que podem causar ao meio ambiente visto que estão presentes em medicamentos com alta taxa de consumo pela população e seu descarte ainda é inadequado.

O descarte inadequado desses medicamentos leva-se a pensar que são necessárias ações que gerem conscientização com o objetivo de diminuir a “farmacopoliuição” do meio ambiente aquático, como forma de amenizar a poluição ambiental causada pelo descarte dos resíduos farmacêuticos, que devem receber destinos adequados.

O farmacêutico pode adquirir papel importante nesta etapa de descarte, auxiliando e informando os seus pacientes na hora das compras dos medicamentos, sobre como devem fazer o descarte adequado e também dar ênfase na importância de se usar de forma racional os medicamentos para que não haja desperdício, aumentando as chances de um possível descarte inadequado.

Desse modo, conclui-se que a informação e mais estudos são essenciais para evitar que esses descartes gerem impactos negativos, afetando não só os ecossistemas aquáticos, como também a vida humana.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlopyceae)**. Rio de Janeiro. 2018.

AHMAD, M. T.; SHARIFF, M.; YUSOFF, F. MD.; GOH, Y. M.; BANERJEE, S. Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 328-346, 19 dez. 2018.

ANDRADE, D. S., FILHO, A. C. **Microalgas de Águas Continentais: Potencialidades e Desafios do Cultivo**. Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, 2014.

BORGHETTI, I. A. **Avaliação do crescimento de *Chlorella minutíssima* em meio de cultura com diferentes concentrações de manipueira**. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos), UFPR, Curitiba, 2009.

BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILO, A. B. Pharmaceuticals as priority water contaminants. **Toxicological & Environmental Chemistry**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 549–565, 2010.

BOTTA, C.M.R.; ARAUJO, R.P.A.; SILVÉRIO, P.F.; ALMEIDA, F.V. & MOZETO A.A. Avaliação ecotoxicológica de sedimentos de ecossistemas aquáticos. p.135-159. In: A.A. Mozeto, G.A. **Umbuzeiro & W.F. Jardim (eds), Métodos de Coleta, Análises Físico-químicas e Ensaios Biológicos e Ecotoxicológicos de sedimentos de água doce**. Editora Cuba, São Carlos, SP, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde (SAPS). **Hipertensão arterial: hábitos saudáveis ajudam na prevenção e no controle da doença**. Brasília. 2021.

CABEZA, Y.; CANDELA, L.; RONEN, D.; TEIJON, G. Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 239–240, p. 32–39, 2012.

CARVALHO, N. L.; PIVOTO, T. S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agronômica. **Revista Monografias Ambientais**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 176–192, 2011.

CARVALHO, E. V.; PENTEADO, C. S. G. Aspectos Legais e Toxicológicos do Descarte de Medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**. [s. l.], v. 22, n. 1-2, p. 1-8, 2009.

CORONADO-REYES, J. A. SALAZAR-TORRES, J. A.; JUÁREZ-CAMPOS, B.; GONZÁLES-HERNÁNDEZ, J.C. *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. **Food Science and Technology**, 6 Nov. 2020.

COSTA, C. R.; OLIVEIRA, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L.G. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, 2008. v. 31, n. 7, p. 1820–1830.

CURADO, A. L.; OLIVEIRA, C. C.; COSTA, W. R.; ANHÊ, A. C. B. M.; SENHUK, A. P. M. S. Urban influence on the water quality of the Uberaba River basin: an ecotoxicological assessment. **Revista Ambiente & Água**, [s. l.], v. 13, n. 1, 2018.

CHEW, K. W.; YAP, J. Y.; SHOW, P. L.; SUAN, N. H.; JUAN, J. C.; LING, T. C.; LEE, D.; CHANG, J. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53-62, 2017.

DALAI, S., ISWARYA, V., BHUVANESHWARI, M., PAKRASHI, S., CHANDRASEKARAN, N., MUKHERJEE, A., 2014. **Different modes of TiO₂ uptake by Ceriodaphnia dubia: relevance to toxicity and bioaccumulation**. *Aquatic Toxicology* 152, 139 - 146.

DANTAS, D. M. M. **Atividade biológicas das preparações obtidas das clorofíceas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* Chodat e suas potenciais aplicações biotecnológicas**. 2013. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

FENT, K. WENSTON, AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol*. 2006. 76:122-59.

FERRAREZI, R.S. **Fontes de ferro no desenvolvimento de porta-enxertos cítricos produzidos em substrato**. Orientador: Ondino Cleante Bataglia. 2006. Dissertação (Mestre em Agronomia) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, SP, 2006.

GRADMAN, A. H.; BASILE, J. N.; CARTER, B. L.; ROY, L.; LUCILLE, A.; BAKRIS, G. L. Combination therapy in hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**, v.4, n.2, p.90-98, 2010.

GOMES, T. J. O.; SILVA, M. V. R.; SANTOS, A. A. Controle da pressão arterial em pacientes atendidos pelo programa hiperdia em uma unidade de saúde da família / Blood pressure control in patients seen by hiperdia program at a family health unit. **Revista Brasileira de Hipertensão**. Alagoas. v. 17, n. 3, p. 132-139, jul./set. 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde: Percepção do estado saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

KITADA, K.; MACHMUDAH, S.; SASAKI, M.; GOTO, M.; NAKASHIMA, Y.; KUMAMOTO, S.; HASEGAWA, T. Supercritical CO₂ extraction of pigment components with pharmaceutical importance from *Chlorella vulgaris*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2009. v. 84, n. 5, p. 657–661.

LAPWORTH, D. J.; BARAN, N.; STUART, M. E.; WARD, R.S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environmental Pollution*, v. 163, p. 287–303, Apr. 2012.

LEITÃO, V. B. G.; LEMOS, V. C.; FRANCISCO, P. M. S. B.; COSTA, K. S. Prevalência de uso e fontes de obtenção de medicamentos anti-hipertensivos no Brasil: análise do inquérito telefônico VIGITEL. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, p. 1-14, 2020.

LOURENÇO, O. S. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. 1ª ed. São Carlos: RiMa, 2006. 606 p.

MACHADO, L. C.; SANTOS, J. F.; BARROS, E. M. S.; PAULA, R. A.; PIRES, J. G. P. Critérios de escolha de fármacos anti-hipertensivos em adultos / Criteria for choosing anti-hypertensive drugs in adults. **Brazilian Journal of Health Review**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 6756-6775, 2021.

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

MALACHIAS, M. V. B.; SOUZA, W. K. S. B.; PLAVNIK, F. L.; RODRIGUES, C. I. S.; BRANDÃO, A. A.; NEVES, M. F. T.; BORTOLOTO, L. A.; FRANCO, R. J. S.; POLI-DE-FIGUEIREDO, C. E.; JARDIM, P. C. B. V.; AMODEO, C.; BARBOSA, E. C. D.; KOCH, V.; GOMES, M. A. M.; PAULA, R. B.; PÓVOA, R. M. S.; COLOMBO, F. C.; FERREIRA FILHO, S.; MIRANDA, R. D.; MACHADO, C. A.; NOBRE, F.; NOGUEIRA, A. R.; MION JÚNIOR, D.; KAISER, S.; FORJAZ, C. L. M.; ALMEIDA, F.A.; MARTIM, J. F. V.; SASS, N.; DRAGER, L. F.; MUXFELDT, E.; BODANESE, L. C.; FEITOSA, A. D.; MALTA, D.; FUCHS, S.; MAGALHÃES, M. E.; OIGMAN, W.; MOREIRA FILHO, O.; PIERIN, A. M. G.; FEITOSA, G. S.; BORTOLOTO, M. R. F. L.; MAGALHÃES, L. B. N. C.; SILVA, A. C. S.; RIBEIRO, J. M.; BORELLI, F. A. O.; GUS, M.; PASSARELI JÚNIOR, O.; TOLEDO, J. Y.; SALLES, G. F.; MARTINS, L. C.; JARDIM, T. S. V.; GUIMARÃES, I. C. B.; ANTONELLO, I. C.; LIMA JUNIOR, E.; MATSUDO, V.; SILVA, G. V.; COSTA, L. S.; ALESSI, A.; SCALA, L. C. N.; COELHO, E. B.; SOUZA, D.; LOPES, H. F.; GOWDAK, M. M. G.; CORDEIRO JUNIOR, A. C.; TORLONI, M. R.; KLEIN, M. R. S. T.; NOGUEIRA, P. K.; LOTAIF, L. A. D.; ROSITO, G. B. A.; MORENO JUNIOR, H. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 107, n. 3, p. 1–6, 2016.

MENGUE, S. S.; BERTOLDI, A. D.; RAMOS, L. R.; FARIAS, M. R.; OLIVEIRA, M. A.; TAVARES, N. U. L.; ARRAIS, P. S. D.; LUIZA, V. L.; PIZZOL, T. S. D. Acesso e uso de medicamentos para hipertensão arterial no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, [s. l.], v. 50, 2016.

MIAO, X.; WU, Q. **High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides***. *Journal of Biotechnology*, v.110, p.85-93, 2004.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, [S.L.], v. 40, n. 9, p. 1094-1100, 11 jul. 2017.

OLIVEIRA, L. L. D. **Biomarcadores enzimáticos e testes ecotoxicológicos na avaliação da toxicidade de fármacos em invertebrados aquáticos**. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil, 2014.

OSAWA, R. A.; IDE, A. H.; SAMPAIO, N. M. F. M.; AZEVEDO, J. C. R. Determinação de fármacos anti-hipertensivos em águas superficiais na região metropolitana de Curitiba/Determination of antihypertensive drugs in surface water in the metropolitan region of Curitiba. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 1039–1050, 2015.

PIFFERI, G; SANTORO, P.; PEDRANI, M. **Quality and functionality of excipients.** *Farmaco*, v. 54, p. 1-14, 1999.

PUBCHEM. Atenolol. **National Library of Medicine**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2249>>. Acesso em: 13 mar. 2023.

PUBCHEM. Captopril. **National Library of Medicine**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44093>>. Acesso em: 24 mar. 2023.

PUBCHEM. Enalapril maleate. **National Library of Medicine**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5388961>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

PUBCHEM. Hydrochlorothiazide. **National Library of Medicine**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3639>>. Acesso em: 7 mar. 2023.

PUBCHEM. Losartan. **National Library of Medicine**, 2023. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Losartan>>. Acesso em: 27 mar. 2023.

RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. Introduction. In: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisphere, 1985. P.1-28.

RANG, H.P; DALE, M.M. *Farmacologia*. 8ª edição. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2016.

ROUGE, M. Counting Cells with a Hemacytometer. 2022. Disponível em: <<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/hemacytometer.html>>. Acesso em: 20 nov de 2022.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2014. v. 35, p. 265–278.

SILVA, F. **Biorremocão de nitrogênio, fósforo e metais pesados (Fe, Mn, Cu, Zn) do efluente hiropônico, através do uso de *Chlorella vulgaris***. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrária, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. p. 87. 2006.

SILVA, D. C. V. R.; POMPÊO, M.; PAIVA, T. C. B. Capítulo 22 Ecotoxicologia: A ECOTOXICOLOGIA NO CONTEXTO ATUAL NO BRASIL. In: POMPÊO *et al.* **Ecologia de reservatórios e interfaces**. 1ª ed. São Paulo: Instituto de Biociências, 2015. p. 340-353.

ZAGATTO, A. P.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2ª ed. São Carlos: RiMa, 2006. p. 486.

ZHOU, H.; XIANG, N.; XIE, J.; DIAO, X. **Ecotoxicology: The history and present direction**. 2. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2018.