

Determinação de antidepressivos por espectrometria UV-VIS no esgoto da UTFPR-FB

Determination of antidepressants by UV-Vis spectrometry in the UTFPR-FB sewage

RESUMO

Anderson Kalinoski

kalinowski@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Francisco Beltrão, Paraná, Brasil

Silvane Morés

mores@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Francisco Beltrão, Paraná, Brasil

Fernanda Batista de Souza

fernandasouza@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Francisco Beltrão, Paraná, Brasil

Adir Silvério Cembranel

adircembranel@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Francisco Beltrão, Paraná, Brasil

Com o aumento significativo de diagnósticos de depressão e ansiedade, ocorre que é cada vez mais comum a presença no meio ambiente de medicamentos para os tratamentos dessas doenças, como o Citalopram. Isso ocorre pois os sistemas de tratamento de esgoto convencionais não são adequados para a remoção de tais poluentes. Para dados que detectam ou quantificam esses medicamentos no meio ambiente e/ou no esgoto não serem contestadas, faz-se necessário o uso da validação da metodologia. Assim, este trabalho visou validar e quantificar a presença de antidepressivos no esgoto da UTFPR-FB por meio de espectrometria UV-Vis. A metodologia utilizada para análise de Citalopram no esgoto foi adaptada da Farmacopeia Brasileira e de Menegola (2007) e mostrou-se exata e precisa. A curva de calibração por adição de padrão teve R^2 igual a 0,99. O limite de quantificação para o método foi de 0,29 mg/L. A concentração encontrada de fluoxetina no esgoto foi de 0,65 mg/L.

PALAVRAS-CHAVE: Citalopram. Efluente. Validação de Metodologia.

ABSTRACT

With the significant increase in the diagnosis of depression and anxiety, it is occurring that the presence of medications in the environment for the treatment of these diseases, such as Citalopram, is increasingly common, because formal sewage treatment systems are not suitable for removal of such pollutants. For data that detect or quantify these drugs in the environment and / or non-sewage other than ceremonies, it is necessary to use the validation of the methodology. Thus, this study aimed to validate and quantify the presence of antidepressants in the UTFPR-FB sewage using UV-Vis spectrometry. The methodology used for the analysis of Citalopram in the sewage was adapted from the Brazilian Pharmacopoeia and Menegola (2007) and proved to be accurate and precise. The standard addition calibration curve had R^2 equal to 0.99. The limit of quantification for the method was 0.29 mg/L. The concentration found of fluoxetine in the sewer was 0.65 mg/L.

KEYWORDS: Citalopram. Effluent. Methodology Valid.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Com o aumento exponencial de diagnósticos de depressão e ansiedade, a ocorrência de antidepressivos e ansiolíticos no meio ambiente é algo comprovado e cada vez mais comum, devido ao descarte incorreto dos medicamentos, e pelo despejo vias de excreção do corpo humano. Em ambos os casos, os medicamentos vão para as estações de tratamento onde não são removidos (ZEPON TARPANI & AZAPAGIC et al., 2018; FANG et al., 2019).

A ocorrência de medicamentos no meio ambiente foi comprovada por estudos como os de Souza (2017) e de Ma *et al.* (2018) que mostraram a ineficiência dos sistemas de tratamento de esgoto na remoção de antidepressivos e ansiolíticos, tanto no Brasil quanto na China, detectando a presença de drogas antidepressivas distintas nos rios onde o efluente tratado era despejado e mananciais.

As estações de tratamento de esgoto têm como objetivo tratar um efluente com caráter poluente e transformá-lo de forma que não agrida o meio ambiente, cumprindo os requisitos de leis municipais, regionais ou nacionais, porém para remoção de micropoluentes como os fármacos se faz necessário o investimento em tratamentos específicos, dos quais as estações de tratamento de efluentes convencionais não são dotadas (NUCASE, 2008; MARINHO, 2017).

Para os dados de uma dada pesquisa, como a de Souza (2017) e a de Ma *et al.* (2018) serem considerados confiáveis e não comprometerem as conclusões do estudo, é necessária a validação da metodologia de análise, que para Skoog et al. (2014) é composta pelas seguintes etapas: exatidão, precisão, sensibilidade, limite de detecção e faixa linear de trabalho.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi o de propor e validar uma metodologia para detecção e quantificação do medicamento antidepressivo Citalopram no esgoto da UTFPR-FB por espectrometria UV-VIS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes, vidrarias e equipamento necessários para realizar a pesquisa estão descritos no quadro 1.

Quadro 1 – Materiais utilizados para pesquisa

Vidrarias	Equipamentos	Reagentes
Béquer	Espectrofotômetro UV-VIS	HCl 0,1 mol/L
Proveta	Agitador Magnético	Citalopram 20 mg
Micropipeta	Centrifuga	

Fonte: Autoria própria (2020).

Inicialmente foi realizado um levantamento dos medicamentos mais utilizados no tratamento da depressão e ansiedade, em escala nacional e internacional, através de artigos publicados. Com o levantamento foi possível selecionar o medicamento Citalopram, sendo este um dos mais citados nos estudos. Com isto, foi realizado uma busca por metodologias na literatura para validar e depois realizar as análises para determinação da presença do medicamento no esgoto. Assim, foram utilizadas metodologias propostas pela Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA, 2010), adaptando-a com a metodologia proposta por Menegola (2007).

Para análise do Citalopram foi dissolvido um comprimido de 20 mg em 200 mL de ácido clorídrico 0,1 mol/L, deixando-o em agitação leve por 20 minutos para homogeneizar o preparo, obtendo solução estoque de concentração 100 mg/L. Após essa etapa foi medido a absorvância da solução em espectro UV-Vis no comprimento de onda 239 nm, como informado pela metodologia de Menegola (2007). A partir da solução estoque, foram feitas diluições em matriz esgoto (método de adição de padrão) obtendo-se concentrações na faixa de 40 mg/L à 0,1 mg/L para se realizar a validação da metodologia adaptada e, consecutivamente, determinar a quantidade do medicamento no esgoto bruto.

O esgoto bruto utilizado foi coletado na fossa séptica da estação de tratamento de esgoto sanitário da UTFPR-FB, com auxílio de um recipiente plástico e EPI's adequados para evitar contaminação. O mesmo foi armazenado em geladeira a 20 °C.

A etapa de validação de metodologia foi realizada seguindo os seguintes critérios:

- i. Regressão linear;
- ii. Coeficiente de Pearson;
- iii. Sensibilidade;
- iv. Linearidade;
- v. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ):

$$LD = \frac{3,3s}{a} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10s}{a} \quad (2)$$

Quando s é o desvio-padrão de 10 medidas do branco e a é o coeficiente angular da curva de calibração;

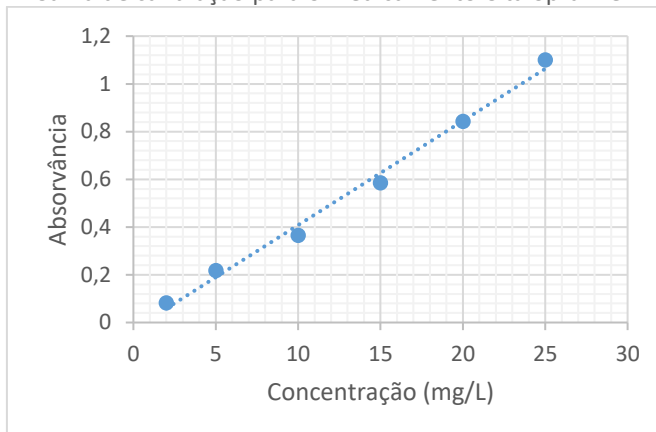
- vi. Precisão: dez medidas da mesma solução em três níveis diferentes de concentração; e
- vii. Exatidão: foi medida pela recuperação.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Con. medida}}{\text{Con. adicionada}} \times 100 \quad (3)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos valores de absorvâncias médias obtidos das análises do medicamento Citalopram no esgoto, foi obtida a curva de calibração exposta na Figura 1. Com a curva de calibração definida, foi possível extrair as informações necessárias para realizar a validação de metodologia, como exposto no Quadro 2.

Figura 1 - Curva de calibração para o medicamento Citalopram em matriz esgoto.



Fonte: Autoria própria (2020).

Quadro 2 – Parâmetros de validação para solução de Citalopram em esgoto

Parâmetro	Resultado
Regressão Linear	$y = 0,0437x - 0,0285^*$
Coefficiente de Pearson	0,99
Sensibilidade (L/mg)	0,04
Linearidade (mg/L)	2,0 a 25,0
Limite de Detecção (mg/L)	0,13
Limite de Quantificação (mg/L)	0,29
Quantidade de Citalopram no esgoto (mg/L)	0,65

* X representa a concentração e Y representa a absorvância.

Fonte: Autoria própria (2020).

Através do Quadro 2 foi possível extrair várias informações importantes. Inicialmente, pelo coeficiente de Pearson, podemos afirmar que a faixa de trabalho selecionada, 2 a 25 mg/L, para o Citalopram, é linear.

Também foi possível analisar a sensibilidade do método para o medicamento, podendo ser considerada boa, pois quanto maior seu valor, menor o limite de quantificação. E quando se trabalha com medicamentos, quando menor for o limite de quantificação, melhor é o método, pois os medicamentos estão dissolvidos em concentrações muito baixas no esgoto.

Por fim, foi possível determinar a concentração de medicamento no esgoto através do método de adição de padrão. Para tanto, foi determinado o ponto em que a reta ajustada corta o eixo X, ou seja, quando a absorvância é zero. Fazendo isso obtemos a concentração de 0,65 mg/L para Citalopram. Essa concentração é maior que os limites de quantificação e detecção do método, então pode-se afirmar que essa concentração do medicamento no efluente estudado é verdadeira.

A concentração do medicamento no esgoto analisado após seu tratamento, não pôde ser determinada, uma vez que as vazões de saída de esgoto para os sumidouros são extremamente baixas e sazonais, assim a amostragem se torna inviável.

No Quadro 3, temos os resultados da análise de precisão para o método proposto neste trabalho.

Quadro 3 – Parâmetros de precisão para solução de Citalopram em esgoto

Concentração, mg/L	Absorvância Média	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
5	0,177	0,0026	1,48
10	0,370	0,0179	4,85
20	0,837	0,0247	2,96

Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo a AOAC (2016), para um método ser considerado preciso (repetitivo), o desvio-padrão relativo (RSD) deve ser menor que 5% para o nível de concentração avaliado. Ao se observar os dados, os RSD do método estão abaixo de 5%, e, portanto, o método é dito preciso.

No Quadro 4 estão apresentados os valores para os ensaios de recuperação.

Quadro 4 – Parâmetros de precisão para solução de Citalopram em esgoto

Concentração, mg/L	Absorvância Teórica	Absorvância Medida	Recuperação (%)
3	0,111	0,103	92,34
17	0,734	0,714	97,37
22	1,042	0,933	89,50

Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo a AOAC (2016), para um método ser considerado como exato, a recuperação deve estar entre 95% a 105%, para o nível de concentração estudado. Como a recuperação apenas no ensaio com concentração 17 mg/L entrou nessa faixa, o método não seria considerado exato por essa resolução. Porém, na resolução 166/2017 da ANVISA (2017), consta que um método é preciso, caso a recuperação esteja na faixa de 80% a 120%, assim por essa resolução o método é considerado exato.

Durante o processo de validação, o qual foi repetido inúmeras vezes, notou-se que a sensibilidade do equipamento utilizado variava com o tempo. Então, toda vez que um experimento era realizado, alguns testes eram feitos para analisar a sensibilidade do equipamento.

Outro fator que variava com o tempo era a composição do esgoto. Assim, todo o procedimento foi realizado com uma mesma amostra coletada para evitar interpretações errôneas.

CONCLUSÃO

Através dos experimentos e métodos aplicados, pode-se concluir que a metodologia adaptada para análise do medicamento Citalopram em matriz esgoto é precisa e exata dentro da faixa de trabalho utilizada. Porém, levando em consideração a composição variante do esgoto, ou seja, este não é uniforme e padrão, se faz necessário realizar a curva de calibração toda vez que análise do medicamento for feita em esgoto, para evitar erros e aumentar a confiabilidade dos resultados.

Um resultado preliminar mostra uma concentração de Citalopram em esgoto de 0,65 mg/L. Mais estudos devem ser feitos em torno do esgoto utilizado, como

a caracterização da composição do mesmo, para que se possa estabelecer a concentração real de Citalopram no esgoto da UTFPR-FB e, portanto, afirmar se esse é ou não um valor preocupante.

Se faz necessária a determinação das concentrações de Citalopram antes e após o tratamento do esgoto, para se conhecer a eficiência do método empregado atualmente neste *campus*, porém devido a sazonalidade do mesmo neste estudo não foi possível, porém o mesmo fica como intenção de estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR, em especial ao campus de Francisco Beltrão pela oportunidade de realizar esse trabalho que auxiliou tanto no meu crescimento profissional quanto pessoal. Agradeço também a Prof.^ª Dr.^ª Silvane Morés, Prof.^ª Dr.^ª Fernanda Batista de Souza e Prof.^ª Dr.^ª Adir Silvério Cembranel pelo apoio incondicional em todas as etapas de desenvolvimento desse projeto.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Org.). **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 899 p. 2 v.

AOAC International, **Official methods of analysis of AOAC International**, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F). Gaithersburg: AOAC International, 2016.

BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, 24/07/2017. **Guia para validação de métodos analíticos** - Julho, 2017

FANG, W.; PENG, Y.; MUIR, D.; LIN, J.; ZHANG, X.. **A critical review of synthetic chemicals in surface waters of the US, the EU and China**. Environ. Int., n. 131, p. 1-11, 2019.

MA, Luo-danet al. **Occurrence and source analysis of selected antidepressants and their metabolites in municipal wastewater and receiving surface water**. Environmental Science: Processes & Impacts, [s.l.], v. 20, n. 7, p.1020-1029, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8em00077h>

MARINHO, Isabela Queiroz. **Tratamento de efluentes da indústria alimentícia**. 2020. 34 p. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

MENEGOLA, Júlia. **Citalopram: Desenvolvimento e Validação de Métodos Analíticos, perfil de dissolução, separação enantiomérica e estudo preliminar de fotoestabilidade para a forma farmacêutica comprimido**. 2007. 178 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

NUCASE – Núcleo Sudeste de Capacitação e Extensão Tecnológica em Saneamento Ambiental. **Processos de tratamento de esgotos : guia do profissional em treinamento : nível 1**. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (org.). – Brasília : Ministério das Cidades, 2008. 72 p.

SOUZA, Raquel Cardoso de. **Determinação de Fármacos em Mananciais do Estado de São Paulo e Estudo da sua Ecotoxicidade sobre a Cianobactéria Microcystis**

aeruginosa. 2020. 179 p.. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

SKOOG, Douglas A. et al. **Fundamentos de Química Analítica.** 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014. p. 1088

ZEPON TARPANI, R. R.; AZAPAGIC, A.. **Life cycle environmental impacts of advanced wastewater treatment techniques for removal of pharmaceuticals and per-sonal care products (PPCPs)**, J. Environ. Manag., N° 215, p. 258-272. 2018.