

Contribuições Químicas para Análise de Efluentes Fármacos: Comparação entre Método Colorimétrico e Titulométrico para Determinação da Demanda Química de Oxigênio de Antipsicótico e Antidepressivo

Nathany P. A. de Freitas¹, Siomara D. da Rocha², Carlos Matheus Nunes de Assis¹ e Abgail Rege Maia¹

¹Discente do Curso de Engenharia de Bioprocessos - Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica – FUCAPI, Manaus – AM – Brasil

²Docente do Curso de Engenharia de Bioprocessos - Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica – FUCAPI, Manaus – AM – Brasil

nathanyalvest@gmail.com, sissarocha26@gmail.com,
kratoscarlos16@gmail.com, abgailrege@gmail.com

Abstract. *Knowing the accumulation of antipsychotic and antidepressant drugs in effluents, due to their exponential increase in recent years, it is necessary to apply alternative methods for surface water monitoring. Therefore, this work presents a proposal of comparison between methods for determination of Chemical Oxygen Demand (COD) of two drugs: fluoxetine and risperidone through the titration and colorimetric method (Standard Methods, closed reflux), the results showed that the concentration of COD obtained by the colorimetric method was the closest to the literature values for both fluoxetine and risperidone (510,50 and 765,50 mg O₂ mL⁻¹), while for the titration showed respectively lower values (354,25 and 322,20 mg O₂ mL⁻¹).*

Resumo. *Sabendo-se do acúmulo de drogas antipsicóticas e antidepressivas em efluentes, devido ao seu exponencial aumento nos últimos anos, se faz necessário aplicar métodos alternativos para realização de monitoramento das águas superficiais. Diante disso, este trabalho apresenta uma proposta de comparação entre métodos para determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) de dois fármacos: fluoxetina e risperidona através do método titulométrico e colorimétrico (Standard Methods, refluxo fechado), os resultados evidenciaram que a concentração de DQO obtida pelo método colorimétrico foi a mais próxima dos valores da literatura tanto para a fluoxetina como a risperidona (510,50 e 765,50 mg O₂ mL⁻¹), enquanto que para o titulométrico apresentou valores respectivamente inferiores (354,25 e 322,20 mg O₂ mL⁻¹).*

Introdução

Atualmente, uma ampla gama de compostos químicos, muitos deles provenientes das indústrias de fármacos, são utilizados e descartados de modo direto ou indireto no meio ambiente, causando sérios impactos ambientais. Sendo também denominados de compostos emergentes e grande parcela não é detectada pelas estações de tratamento de água.

Os restos de substâncias ilícitas e fármacos que não são completamente assimilados pelo organismo humano são lançados em aquíferos por meio dos efluentes domésticos. Além das drogas são exemplos: os hormônios, pesticidas, aditivos de gasolina, produtos de higiene pessoal, que devido ao seu aumento de uso nos últimos anos, estão recebendo demasiada atenção quanto aos seus impactos causados em solos e efluentes aquosos por serem biologicamente ativos e bioacumulados no meio em que permanecerem.

Estes compostos são produzidos de forma a apresentarem um mecanismo de ação específico, o que muitas vezes poderá prolongar o seu efeito no organismo em comparação com outros micropoluentes farmacêuticos (WILDE et al., 2016). Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 44% dos 123 medicamentos com venda controlada no Brasil, são utilizados para tratamento de transtornos mentais. Os antipsicóticos correspondem a 16,1% dos medicamentos controlados pela Anvisa, já os antidepressivos correspondem a 15,4% (ANVISA, 2011).

Antipsicóticos e Antidepressivos.

Agentes antipsicóticos são usados em pacientes psiquiátricos a gestão de episódios psicóticos, bem como para outros sintomas comportamentais, como agitação (ZHANG & BARTLETT, 2007). Outros usos incluem tratamento de manias e transtornos delirantes. Antipsicóticos também podem ser usados em transtornos de humor (por exemplo, transtorno bipolar), mesmo quando nenhum sinal de psicose está presente (ZHAN & BARTLETT, 2008).

A segunda geração de antipsicóticos (ASGs) (tais como olanzapina, ziprasidona e risperidona) e antipsicóticos de primeira geração (APGs) haloperidol e clorpromazina (CPZ) são populares para o tratamento da esquizofrenia e outras psicoses clínicas (ZHANG & BARTLETT, 2007). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma em cada 10 pessoas apresenta algum tipo de transtorno mental (ONU, 2015).

Sendo que no Brasil, 23 milhões de pessoas necessitam de algum atendimento em saúde mental e pelo menos 5 milhões de brasileiros sofrem com transtornos mentais graves (ABP, 2010).

Neste trabalho, será analisado o fármaco risperidona, um antipsicótico de segunda geração, indicado para o tratamento de pacientes esquizofrênicos; tratamento de curto prazo para a mania aguda ou episódios mistos associados com transtorno bipolar I; tratamento de transtornos do comportamento em pacientes com demência, nos quais os sintomas tais como agressividade (explosão verbal, violência física), transtornos psicomotores (agitação, vagar) ou sintomas psicóticos são proeminentes; e no tratamento de irritabilidade associada ao transtorno autista, em crianças e adolescentes, incluindo desde sintomas de agressividade até outros, como autoagressão deliberada, crises de raiva e angústia e mudança rápida de humor (ANVISA).

O advento de medicamentos antidepressivos tornou a depressão um problema médico, passível de tratamento. Nas últimas cinco décadas, a psicofarmacologia evoluiu muito e rapidamente. Medicamentos antidepressivos produzem aumento na concentração de neurotransmissores na fenda sináptica através da inibição do metabolismo, bloqueio de recaptura neuronal ou atuação em auto receptores pré-sinápticos (MORENO et al., 1999). Neste trabalho, também foi analisado o fármaco fluoxetina, que é um dos inibidores seletivos de recaptura de serotonina (ISRS).

A fluoxetina é a única que apresenta metabólito com atividade clínica significativa (inibição da recaptura de serotonina e inibição de isoenzimas do citocromo P 450), a norfluoxetina. A meia-vida prolongada da fluoxetina e da norfluoxetina e o tempo necessário para se atingir o estado de equilíbrio apresentam significado clínico, como a maior latência para o início da ação antidepressiva (GOODNICK & GOLDSTEIN, 1998).

O cloridrato de fluoxetina é destinado ao tratamento da depressão associada ou não com ansiedade, bulimia nervosa (transtorno alimentar), do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) (ansiedade caracterizada por pensamentos obsessivos) e do transtorno disfórico pré-menstrual (TDPM), incluindo tensão pré-menstrual (TPM), irritabilidade e disforia (mudança repentina e passageira de ânimo como sentimento de tristeza, pena, angústia) (ANVISA).

Conforme nota da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre a Legislação dos CE, ainda não foram implementados programas de monitoramento de rotina para testar água

potável para produtos farmacêuticos, como é o caso dos parâmetros químicos e microbianos regulados. Geralmente, os dados sobre a ocorrência de produtos farmacêuticos na água potável resultaram de pesquisas ad hoc ou projetos de pesquisa direcionados e investigações.

Estudos disponíveis relataram que as concentrações de produtos farmacêuticos em águas superficiais, águas subterrâneas e águas parcialmente tratadas são tipicamente inferiores a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou 100 ng L^{-1}), e as concentrações em água tratada são geralmente inferiores a $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ (ou 50 ng L^{-1}). Estudos mais sistemáticos ajudarão a promover nossa compreensão do transporte, ocorrência e destino dos produtos farmacêuticos no meio ambiente, especialmente fontes de água potável.

O presente trabalho tem por objetivo contribuir para a padronização de protocolos destinados à detecção e quantificação de produtos farmacêuticos por meio da aplicação de métodos alternativos e clássicos de análises. Nesse sentido realizou-se ensaios para determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) por dois métodos: colorimétrico e titulométrico. O colorimétrico utilizando Dicromato de Potássio, como agente redutor e o titulométrico utilizando o permanganato de Potássio na presença de dois medicamentos, Fluoxetina e Risperidona, largamente encontrados em estações de tratamento de água e esgoto nas grandes Capitais.

Materiais e Métodos

Preparo das soluções

As soluções utilizadas foram preparadas utilizando água destilada, proveniente de um sistema de destilação QUIMIS[®]. Com as vidrarias devidamente estéreis, prosseguiu-se para a preparação das soluções através da pesagem dos reagentes na balança analítica, seguindo-se da dissolução dos mesmos.

As soluções padrão foram preparadas com o uso de balões volumétricos de 1.000 mL, pipetas graduadas de 1 mL, 5 mL e 50 mL, aparato de titulação, Erlenmeyers e Béckers. O procedimento de preparo das soluções do método colorimétrico foi adaptado com base na descrição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (5220 D, refluxo fechado - APHA, 2005). Enquanto o método do oxigênio consumido foi baseado no procedimento descrito pela CETESB (2010) e ilustrado no Esquema da Figura 1.

A solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) para a confecção da curva de calibração foi preparada com a prévia secagem do reagente em estufa a $103^\circ C$, durante 2 horas. Dissolvendo 0,2944g do reagente em 500mL de água destilada, completou-se para 1.000 mL, com concentração final de 1.000 ppm. A solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) foi diluída por 60 mL do reagente em água deionizada, completando-se para 500 mL, tendo concentração de 24%. A solução de permanganato de potássio ($KMnO_4$) 0,01 N foi preparada com a dissolução de 3,16 g do sal, diluído em água destilada e completando o volume para 1.000 mL. A solução de biftalato de potássio ($C_8H_5KO_4$) 5.000 ppm foi preparada pela dissolução de 2,5 g do reagente, diluído para 500 mL.

As soluções de Risperidona (Risperidona Sandoz[®] 1 mg mL⁻¹ solução oral) e Fluoxetina (20 mg mL⁻¹ solução oral), foram preparados por diluição em água destilada das formulações comercialmente disponíveis.

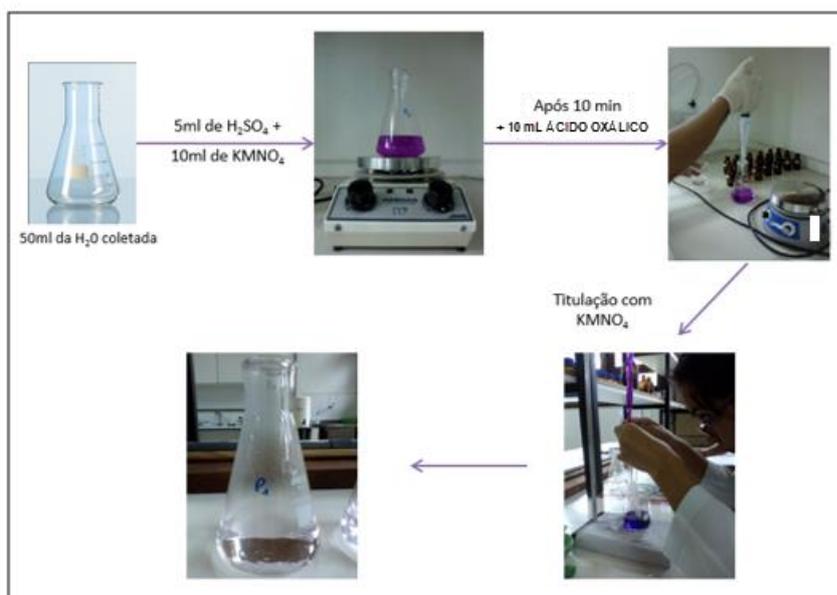


Figura 1. Esquema ilustrativo do Método do Oxigênio Consumido (DQO).

Fonte: Próprio Autor, 2019.

Digestão

Para a realização da digestão, foi preparada uma solução padrão de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, uma solução de ácido sulfúrico 24%, e as amostras preparadas de Risperidona e Fluoxetina. Foi utilizado um digestor da marca, com 8 tubos para a digestão. Adicionou-se em cada tubo, 1,5 mL da solução de digestão dicromato de potássio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 3,5 mL de ácido sulfúrico 24%, e 2,5 mL das amostras de Risperidona e Fluoxetina, sendo assim, 7 amostras de cada fármaco. O bloco digestor foi

previamente ligado, e esperou-se o mesmo atingir a temperatura de 150°C. Após o reator alcançar esta temperatura, colocou-se os tubos no bloco de aquecimento e aguardou-se duas horas de digestão. Após o fim da digestão, esperou-se que os tubos esfriassem e realizou-se a leitura das amostras no espectrofotômetro (Modelo 4802 UV/VIS DOUBLE BEAM). Para a curva analítica de (500-5000 ppm) usou-se o comprimento de onda de 620 nm. A Figura 2 ilustra as etapas aplicadas durante a execução do método colorimétrico.

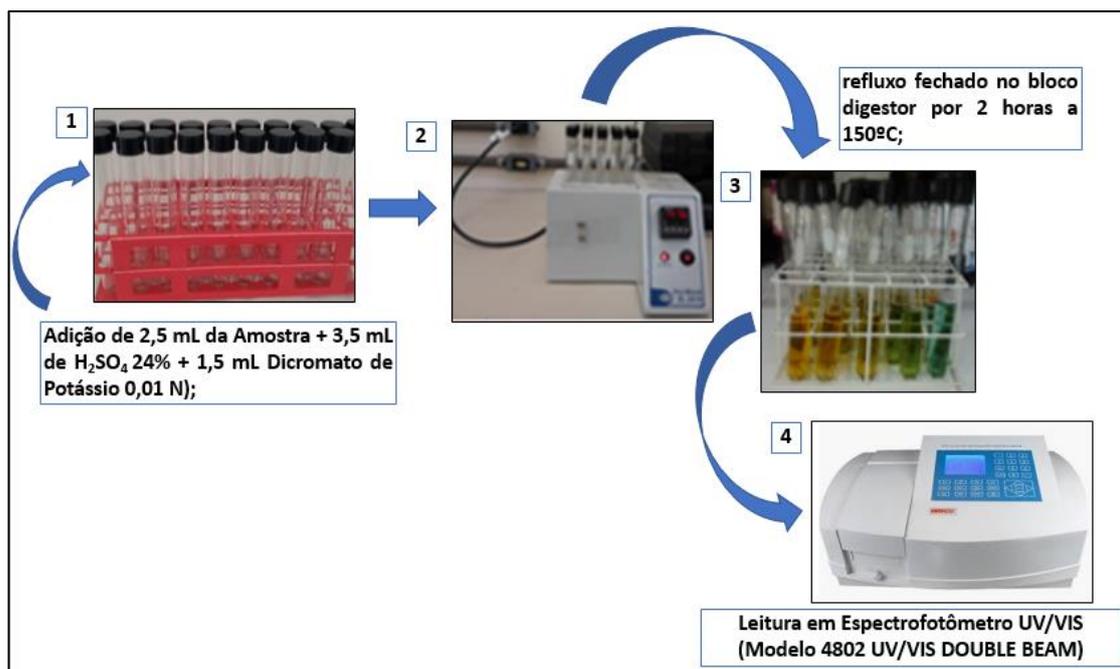


Figura 2. Esquema ilustrativo do Método Colorimétrico (DQO). Fonte: Próprio Autor, 2019.

Construção da Curva de Calibração

Antes da leitura das amostras foi preparada uma curva analítica no espectrofotômetro. Para tanto utilizou-se o padrão biftalato de potássio da marca Merck, seco em estufa por 2 horas a 120°C. A curva analítica foi preparada a partir da solução estoque de 5000 ppm com sucessivas diluições com água deionizada em balão volumétrico de 50 mL para as seguintes concentrações: 500, 1.000, 1.500, 2000, 2.500, 3.000, 3.500, 4.000, 4.500 e 5000 ppm. Além da solução digestora preparada, para cada tubo foram adicionados 2 mL de água destilada e 2 mL de cada padrão (solução analítica) iniciando pelo padrão de 500 até 5000 ppm. Também foi preparado um tubo (branco) com a mesma proporção de solução digestora e água nas mesmas condições das demais

soluções analíticas. Posteriormente, todos os tubos com as soluções e água (branco) foram tampados e levados ao bloco digestor pré-aquecido para a digestão por 2 horas a temperatura de 150°C. Ao seu término, deixou-se esfriar e iniciou-se a respectiva leitura das absorvâncias e implantação das curvas analíticas no espectrofotômetro. Para a curva analítica foram lidas as absorvâncias e então construída a curva para obtenção dos valores de DQO das amostras dos fármacos fluoxetina e risperidona, conforme apresentado na Figura 3.

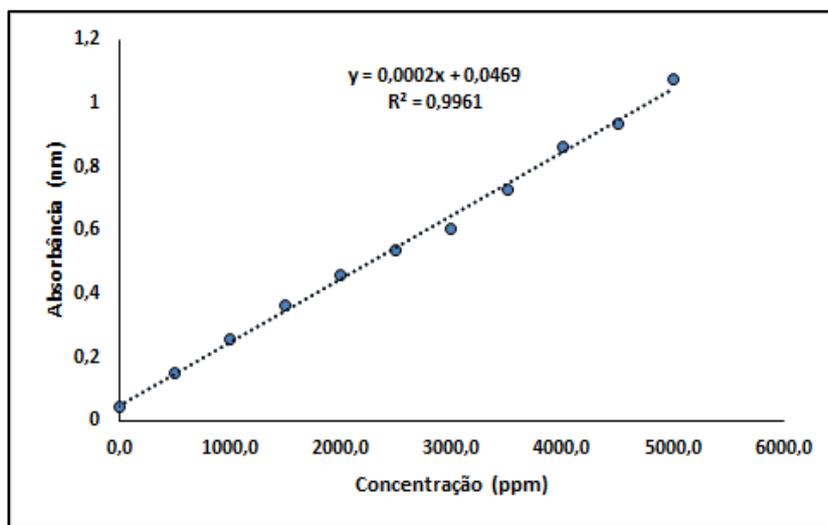


Figura 3. Curva de Calibração da DQO no espectrofotômetro. Fonte: Próprio Autor, 2019.

O tratamento dos resultados do método titulométrico foi obtido através da Equação 1 a seguir:

$$\text{DQO (mg O}_2\text{ L}^{-1}\text{)} = (\text{C.KMnO}_4) \cdot (\text{V}_a - \text{V}_b) \cdot 8.000 / (\text{V}_t + \text{V}_p) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde: C. KMnO₄ = Concentração da Solução Padronizada de permanganato de potássio (0,0160 N)

V_a = volume da amostra

V_b = Volume do branco

Fator de correção = 8.000

V_t = Volume titulado

V_p = Volume padronizado

Resultados e Discussão

O monitoramento dos parâmetros de qualidade de águas superficiais constitui-se em uma das ferramentas básicas para avaliar possíveis alterações ambientais. A Demanda Química de Oxigênio nos fornece uma medida indireta de matéria orgânica suficiente para mensurar o gradiente entre baixas e altas concentrações da mesma. A legislação ambiental, segundo a Resolução CONAMA 357/05, fornece a classificação de corpos hídricos e disponibiliza valores de referências para os indicadores de qualidade da água. A investigação de determinada contaminação, ou alteração da qualidade da água pode seguir esta Resolução. Para amenizar a contaminação em meio aquoso surgem estudos envolvendo os parâmetros físicos e químicos que são úteis na avaliação da qualidade da água.

Contudo, a legislação para águas superficiais ainda não abrange a infinidade de compostos químicos que surgem a cada ano e por isso, se faz necessário buscar métodos alternativos para o prévio monitoramento de efluentes industriais, em especial da indústria de fármacos, já que caracterizam-se como compostos emergentes e influenciam negativamente os balanços e interações no ecossistema aquático, além de serem classificados como desreguladores endócrinos, mesmo que detectados em baixas concentrações. Logo, os métodos clássicos de análise, como o titulométrico, se tornam alternativas interessantes e economicamente viáveis para se obter estimativas dessas substâncias no ambiente analisado, antes de se aplicar técnicas instrumentais mais elaboradas e de custo mais elevado. A Figura 4 apresenta os resultados obtidos pelos dois métodos de DQO aplicados na análise dos fármacos.

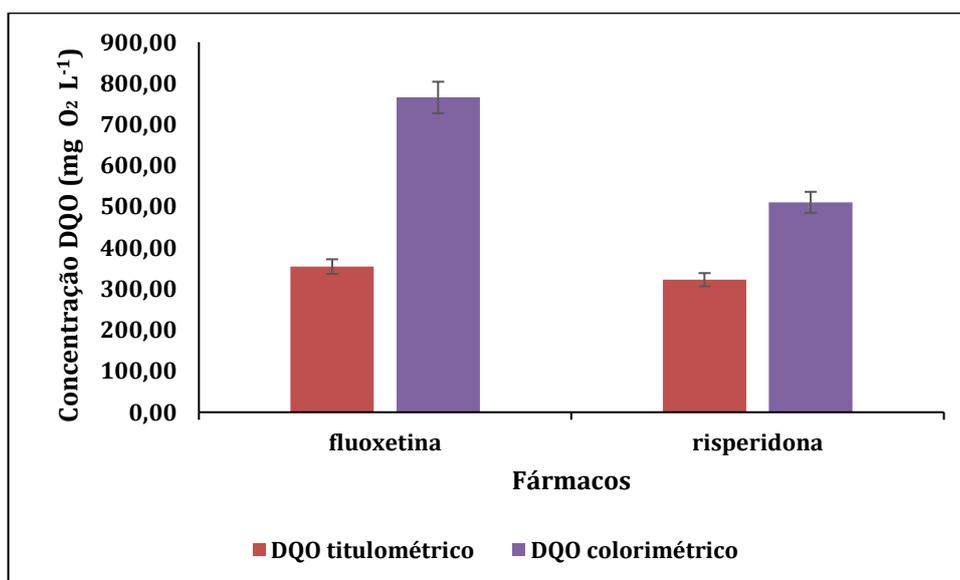


Figura 4. Gráfico de comparação dos resultados da DQO mensurada pelos métodos titulométrico e colorimétrico. Fonte: Próprio Autor, 2019.

Devido ao grau de periculosidade de uma ampla gama de compostos químicos que são lançados no mercado farmacêutico ano após ano, e em parte pela falta de fiscalização adequada no descarte correto dessas substâncias, por meio da comparação de dois métodos: colorimétrico com uso do agente oxidante Dicromato de Potássio (Standard Methods 5220 D, refluxo fechado) e o titulométrico com o uso do Permanganato de Potássio (KMnO₄), foi possível selecionar o mais apropriado para tal finalidade. Os resultados apresentados na Figura 4 apontam para o método colorimétrico, uma DQO de 510,50 mg O₂ L⁻¹ para a Fluoxetina e 765,50 mg O₂ L⁻¹ para a Risperidona. Para o método titulométrico foi mensurada uma DQO de 322,20 para a Fluoxetina e 354,25 mg O₂ L⁻¹ para a Risperidona. Portanto, verifica-se que o método colorimétrico é mais adequado para monitorar águas superficiais, em especial as destinadas para o consumo humano.

Nos estudos de Pereira et al. (2018) foi realizada uma análise de DQO similar em antipsicóticos pelo método SIA (injeção sequencial) e titulométrico com o uso de Sulfato Ferroso Amônico após a digestão dos fármacos. O fármaco Risperidona apontou uma DQO de 166 mg O₂ L⁻¹ no método de injeção sequencial, enquanto no método titulométrico, foi apontado uma DQO de 787 mg O₂ L⁻¹ para o mesmo fármaco.

Conclusão

A metodologia do Oxigênio Consumido utilizando o permanganato de potássio como agente oxidante mostrou-se pouco satisfatória para quantificar os dois fármacos (Fluoxetina e Risperidona) existente em matriz líquida. Com base na literatura, este método dar uma estimativa indireta da quantidade de matéria orgânica presente no meio aquoso. Em relação a comparação de métodos o (KMnO₄) pode ser utilizado para mensurar baixos níveis de matéria orgânica, enquanto o método colorimétrico utilizando o Dicromato como agente oxidante é mais efetivo para estimar altos níveis de DQO, mostrando-se como uma atrativa alternativa para a determinação de compostos emergentes, fármacos e compostos parentais derivados presentes em efluentes industriais e domésticos.

Referências

ABP. Estimativas apontam que mais de 450 milhões de pessoas sofrem com transtornos mentais. Disponível em: <<http://abp.org.br/portal/clippingsis/exibClipping/?clipping=12532>>. Acesso em: 23 ago. 2019.

ANVISA. Cloridrato de fluoxetina. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=10_5742017&pIdAnexo=4507427>. Acesso em: 20 ago. 2019.

- ANVISA. Risperidona. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=55_11712015&pIdAnexo=2698267>. Acesso em: 23 ago. 2019 CETESB – Companhia Ambiental do estado de São Paulo, Secretaria do meio ambiente. 2010. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>.
- Eaton, A., et al., 2017. Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater. American Public Health Association, New York.
- Fent, K.; Weston, A.; Caminada, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic Toxicology 76 (2006) 122-159.
- Goodnick PJ, Goldstein BJ. Selective serotonin reuptake inhibitors in affective disorders – I: Basic pharmacology. J Psychopharmacol 1998;12 (3 suppl B): S3-S20.
- Kostich, M.; Lazorchak, J. Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use. Science of the total environment 389 (2008) 329-339.
- MORENO, Ricardo Alberto.; MORENO, Doris Hupfeld.; SOARES, Márcia Britto de Macedo. Psicofarmacologia de antidepressivos. Rev. Bras. Psiquiatr., São Paulo, v. 21, supl. 1, p. 24-40, May 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151644461999000500006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 24 set. 2019.
- ONU. Uma em cada 10 pessoas sofre de doença de saúde mental, afirma OMS (2015). Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/uma-em-cada-10-pessoas-sofre-de-doenca-desaude-mental-oms/>>. Acesso em: 23 ago. 2019.
- PEREIRA, S.A.P.; COSTA, S.P.F.; CUNHA, E.; PASSOS, M.L.C.; ARAÚJO, A.R.S.T.; SARAIVA, M.L.M.F.S. Manual or automated measuring of antipsychotics' chemical oxygen demand. Ecotoxicol Environ Saf. 2018 May 15;152:55-60. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st edition.
- Wilde, M.L., et al., 2016. Environmental fate and effect assessment of thioridazine and its transformation products formed by photodegradation. Environ. Pollut. 213, 658–670.
- Zhang, G.; Jr; A., Bartlett, M. Bioanalytical methods for the determination of antipsychotic drugs. Biomedical Chromatography 22 (2008) 671-687.
- Zhang, G.; Jr, A.; Bartlett, G. Simultaneous determination of five antipsychotic drugs in rat plasma by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences 856 (1-2) (2007) 20-28.