

TELMA CHAVES LELES

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA TÉCNICA
MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA
DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM
ÁGUA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

TELMA CHAVES LELES

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA TÉCNICA
MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA
DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM
ÁGUA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 31 de março de 2005

Prof. Antônio Augusto Neves
(Conselheiro)

Prof. César Reis
(Conselheiro)

Prof. Cláudio Ferreira Lima

Prof^a. Raquel Andrade

Prof^a Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Orientadora)

Aos que compartilharam dos meus ideais principalmente à minha amada mãe Cida, ao meu pai Antônio, aos meus irmãos Tatiana, Taline e Thiago e ao Marcelo, meu rumo, companheiro, amigo, quem sempre transmitiu segurança necessária para enfrentar meu caminho e seguir...

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof^a. Maria Eliana de Queiroz, pela oportunidade, incentivo, orientação e acima de tudo, por ter se tornado mais que uma orientadora, uma verdadeira amiga.

Ao Prof. Antônio Augusto, pela orientação, disponibilidade, pela atenção, sugestões, muito mais pela amizade.

Ao Prof. César Reis, pelas sugestões, aconselhamentos e orientação.

Aos Professores Cláudio Ferreira Lima e Raquel Andrade pela participação na banca avaliadora.

Ao Prof. Júlio M. A. Araújo por ceder equipamento indispensável para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Fábio Augusto e à Prof^a. Susanne Rath da Unicamp, pela doação das fibras utilizadas neste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Química Analítica Aplicada (LAQUA), com quem tive a oportunidade e felicidade em conviver: Heulla, Raquel, Adalberto, Leila, Gevany, Róbson e Lucimara. Obrigada pela ajuda!

Aos amigos “ex-Laqua”, Anízio, Simone, Fabrícia e Patrícia, que estarão sempre no meu coração.

À estudante Leila Bittencourt pelo auxílio na condução dos experimentos e pela amizade.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

TELMA CHAVES LELES, filha de Antonio Leles Teixeira e Maria Aparecida Chaves Teixeira, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 13 de Abril de 1976.

Em 1998, ingressou no Curso de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV), diplomando-se com o título de Licenciada em química em maio de 2002 e de Bacharel em Química em Março de 2003.

Em abril de 2003, ingressou no programa de Mestrado em Agroquímica, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em março de 2005.

ÍNDICE

Resumo	vii
Abstract	ix
1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura	3
2.1. Considerações Gerais.....	3
2.2. Trihalometanos	9
2.2.1. Efeitos tóxicos dos Trihalometanos	12
2.2.2. Controle dos níveis de THMs em águas tratadas	14
2.2.3. Técnicas de extração e análise	15
3. Materiais e Métodos.....	23
3.1. Soluções padrão e amostras de água	23
3.1.1. Soluções padrão.....	23
3.1.2. Amostras de água usadas na otimização e validação da técnica HS/SPME	23
3.1.3. Amostras de águas naturais	23
3.2. Condições cromatográficas.....	24
3.3. Otimização da técnica de extração de THM em água por HS/SPME	25
3.3.1. Planejamento multifatorial das condições de extração	26
3.3.2. Estudo univariado	28
3.4. Validação do método analítico	30
3.4.1. Seletividade	30
3.4.2. Linearidade de resposta do detector.....	31
3.4.3. Limite de detecção e limite de quantificação do método.....	31
3.4.4. Precisão.....	32
3.4.5. Exatidão.....	33
4. Resultados e Discussão.....	36

4.1.	Soluções padrão	36
4.2.	Amostras de água e análise de THMs por CG.....	36
4.3.	Otimização da metodologia.....	38
4.3.1.	Estudo multifatorial	39
4.3.2.	Estudo unifatorial	41
4.4.	Validação do método analítico	46
4.4.1.	Seletividade	46
4.4.2.	Linearidade e faixa de aplicação	47
4.4.3.	Limite de detecção e limite de quantificação	49
4.4.4.	Precisão.....	50
4.4.5.	Exatidão.....	52
4.5.	Quantificação de THMs em amostras do sistema de abastecimento da Universidade Federal de Viçosa	55
5.	Conclusão	58
6.	Referências bibliográficas	60

RESUMO

LELES, Telma Chaves, M. S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2005.
Otimização e validação da técnica microextração em fase sólida para determinação de Trihalometanos em água. Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Conselheiros: Antônio Augusto Neves e César Reis.

Os trihalometanos (THMs), compostos organoclorados formados no processo de cloração da água, apresentam potencial carcinogênico, que tornam a sua presença indesejável, na água potável. Em razão dos riscos à saúde humana, várias técnicas de extração e análise vêm sendo utilizadas no monitoramento destes compostos, dentre eles a microextração em fase sólida (SPME). Essa técnica consiste em colocar em contato uma fibra revestida com material adsorvente com os vapores do analito obtidos pelo aquecimento de certo volume da amostra mantida em um recipiente hermeticamente fechado. Como são estabelecidos equilíbrios entre o analito gasoso e as matrizes (água e fibra), alguns fatores podem influenciar quantitativamente nas extrações. Numa primeira etapa foi realizado um experimento, baseado num planejamento fatorial, em que foram avaliados os efeitos da força iônica, do tempo e da temperatura de aquecimento na extração de quatro THMs em água, tendo como resposta as áreas dos picos no cromatograma. Verificou-se a inexistência de um efeito de interação estatisticamente significativo entre os fatores estudados. A influência do tipo de fibra, volume da amostra e do tempo de “splitless” do analito foram estudados por procedimento univariado. Uma vez otimizada a técnica de extração de THMs em água e da análise dos mesmos por cromatografia gasosa, procurou-se determinar os principais parâmetros de validação da técnica: Limite de detecção, limite de quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão. Os parâmetros da validação da técnica de SPME de THMs em água apresentaram uma faixa de

linearidade, precisão e exatidão adequadas, além de um LD de 0,010; 0,005; 0,001 e 0,020 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 , respectivamente, bem inferior aos limites estabelecidos pela legislação. A técnica foi aplicada a um conjunto de amostras coletadas na rede de distribuição de água potável da UFV. Os resultados mostraram teores de THMs bem abaixo do limite estabelecido pela legislação, permitindo concluir que o manancial que abastece a UFV está em boa condição e que o tratamento convencional é adequado.

ABSTRACT

LELES, Telma Chaves, M.S. Universidade Federal de Viçosa, March, 2005. **Solid phase micro-extraction technique optimization and validation to determine trihalomethanes in water.** Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Committee members: Antônio Augusto Neves and César Reis.

The trihalomethanes (THMs), organic-chlorated compounds, formed in the water chlorination process, have carcinogenic potential, what makes its presence undesirable in drinking water. In view of the risks to human health, many extraction and analysis techniques have been made in the monitoring of these compounds among which the SPME, the solid phase of micro-extraction, that consists of putting in contact a fiber covered by absorvent material with vapors of analyte kept in the headspace. This steam is obtained by heating a certain volume of the sample in a hermetically closed container. As balance between the gaseous analyte and the matrixes (water and fiber) is established, some factors can quantitatively influence the extractions. In a first stage, an experiment based on a factor planning was carried out, in which the heating temperature of the extraction of four THMs in water, time and ionic force effects were evaluated and resulted in peak areas in the chromatography. It was not found to exist a statistically meaningful interaction effect between the factors studied. The influences of the kind of fiber, the sample volume and the time of analyte's desorption were studied by the same procedure. Having the extraction of THMs in water and their analysis by a gas chromatography, one tried to determine the technique's main parameters of validation: detection limit, quantification limit, precision (replicability and intermediate precision) and accuracy. The SPME technique validation parameters of THMs in water presented a linear area, suitable precision and accuracy, besides a detection limit (DL) of 0,010; 0,005; 0,001 and 0,020 $\mu\text{g L}^{-1}$ for CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2

and CHBr_3 , respectively, inferior to the limits required by the legislation. The technique was applied to a set of samples collected at UFV's distribution system of drinking water. The results showed THMs levels below the limit required by the legislation, what leads to the conclusion that the water fountain that supplies UFV is in good condition and the conventional treatment is suitable.

1. INTRODUÇÃO

Águas destinadas ao consumo humano devem apresentar características físicas e químicas que atendam aos padrões de potabilidade exigidos pela legislação vigente. Para isso, estas águas passam por diversas etapas de tratamento: floculação, decantação, filtração, desinfecção, dentre outras. A desinfecção é talvez a mais importante de todas por ser responsável pela eliminação ou inativação dos agentes patogênicos que poderiam causar sérios danos à saúde humana. Um bom agente desinfetante deve ser eficiente no combate a todos os agentes patogênicos, não oferecer riscos aos homens ou animais nas quantidades aplicadas na água, fornecer uma quantidade remanescente que proteja a água de posteriores contaminações e apresentar baixo custo de aquisição e aplicação.

Por reunir todas estas características, o cloro e seus derivados são os agentes desinfetantes mais empregados nas estações de tratamento de água (ETAs). Porém, o emprego de desinfetantes clorados deve ser criterioso, pois os mesmos são responsáveis pela contaminação da água com subprodutos de desinfecção, como os trihalometanos (THMs). Os THMs são compostos de fórmula geral CHX_3 , onde X pode ser um halogênio ou uma combinação de halogênios. O grupo compõe-se principalmente dos seguintes compostos: clorofórmio (CHCl_3), bromofórmio (CHBr_3), bromodiclorometano (CHCl_2Br) e o dibromoclorometano (CHClBr_2).

A presença dos THMs na água destinada ao consumo humano é indesejável devido ao potencial carcinogênico apresentado pelos mesmos, oferecendo, portanto, sérios riscos à saúde humana. No Brasil o valor máximo de $\text{THM}_{\text{Totais}}$ (trihalometanos totais) permitido em águas potáveis é de $100,00 \mu\text{g L}^{-1}$, segundo a Portaria número 1469 de 29/12/2000 do Ministério da Saúde, que estabelece normas e padrão de potabilidade das águas destinada

ao consumo humano. Essa portaria exige que as estações de tratamento de águas monitorem, dentre outros, a presença de trihalometanos em águas tratadas.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) sugere que a determinação de trihalometanos em água tratada seja feita por extração líquido-líquido e quantificação por cromatografia gasosa acoplada a um detector de captura de elétrons. Apesar de ser uma técnica simples e relativamente barata, a sua aplicabilidade vêm diminuindo nos últimos anos devido a grande geração de resíduo. No entanto, para análise de THMs em amostras de água, outras técnicas alternativas de extração vêm sendo empregadas, desde que sejam cientificamente reconhecidas. Podem ser citadas a microextração em fase sólida e “headspace”, sendo geralmente a análise destes compostos feita por cromatografia gasosa.

A microextração em fase sólida é uma técnica em que os analitos de uma amostra aquosa são adsorvidos sobre uma fibra de sílica fundida coberta com uma fase estacionária. A fibra é então inserida diretamente dentro do injetor do CG para dessorção térmica. Esta técnica tem sido indicada como o processo que reduz o tempo de preparo da amostra, elimina os erros da extração líquido-líquido e erros provenientes de injeção.

Outra técnica utilizada para análise dos THMs em água é o “headspace” que consiste em aquecer a amostra contida em um frasco hermeticamente fechado, provocando a volatilização destes compostos que se concentram na parte superior do frasco. Uma alíquota da fase gasosa é coletada e injetada em um cromatógrafo a gás. Estas técnicas são bastante eficientes e apresentam alta sensibilidade, sendo suas principais vantagens a rapidez e a manipulação mínima de solventes.

Visto a importância de se viabilizar uma técnica para o monitoramento dos níveis de trihalometanos em águas destinadas ao consumo humano, o objetivo principal deste trabalho foi otimizar e validar a técnica de microextração em fase sólida (SPME), e quantificar THMs em águas por cromatografia gasosa, e empregá-la na quantificação destes compostos em amostras de água tratada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações Gerais

A água é um recurso natural indispensável, seja como componente bioquímico de seres vivos ou como meio de vida de animais e vegetais. É considerada também como fator limitante ao desenvolvimento econômico de muitos países.

Em relação à distribuição da água, estima-se que sua ocupação corresponda a 70% da superfície do planeta. Desta porção, 97% corresponde à água salgada, ou seja, imprópria para o consumo humano, a não ser que seja realizado um processo de dessalinização, o que requer um investimento muito alto. Do total de 3% de água doce restante, 77% está retida nas geleiras e calotas polares, 22% como águas subterrâneas e apenas 1% corresponde a água de superfície, disponível em rios e lagos, como mostra a figura 1, mas não totalmente aproveitados por questões de inviabilidade técnica e econômica (IGM, 2001).

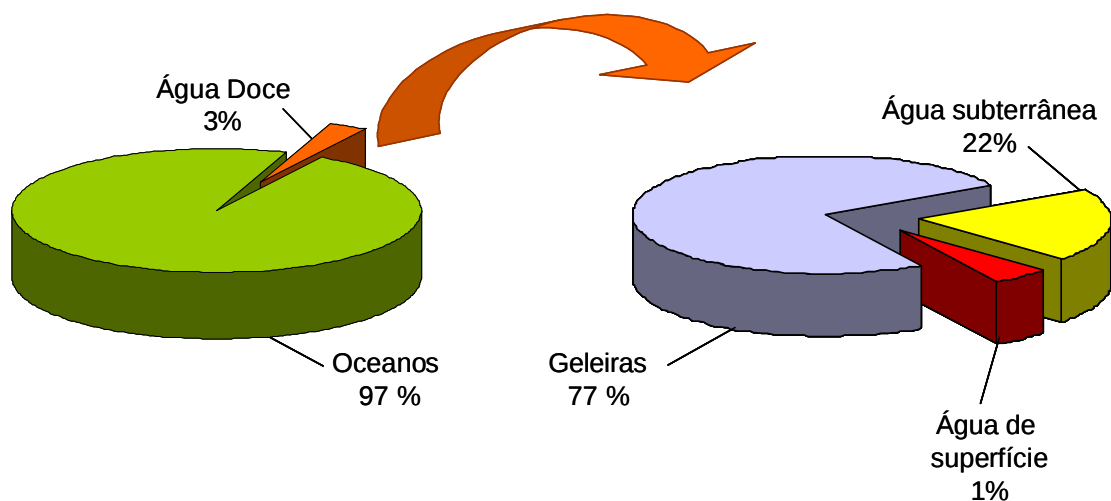


Figura 1 - Distribuição da água no planeta

Esses dados ressaltam a grande importância de se preservar os recursos hídricos e de se evitar a contaminação da pequena fração mais facilmente disponível.

Infelizmente, este recurso natural encontra-se cada vez mais limitado e exaurido pelas ações impactantes do homem, como o lançamento de efluentes industriais, de esgotos domésticos e de atividades agrícolas nas bacias hidrográficas, degradando a sua qualidade e prejudicando o ecossistema.

Atualmente, vários países enfrentam problemas com a falta de água. Mesmo sendo um dos países mais ricos em água doce disponível, concentrando 18% do potencial de água da superfície do planeta, observa-se, no Brasil, uma enorme desigualdade regional na distribuição dos recursos hídricos, sendo que a ocorrência mais freqüente de seca reside na região Nordeste, enquanto problemas sérios de abastecimento em outras regiões já são identificados e conhecidos. Organizações internacionais alertam para o fato de que nos próximos 25 anos cerca de 2,8 bilhões de pessoas poderão viver em regiões com extrema falta de água, inclusive para o próprio consumo (PAZ, 1996).

Embora seja essencial para a sobrevivência e o desenvolvimento de praticamente todas as atividades desenvolvidas pelo homem, nem toda a água disponível é adequada para o consumo humano.

Quando uma água destinada ao consumo humano não se enquadra nos padrões de potabilidade, a mesma deve ser submetida a um tratamento que remova não só os organismos patogênicos e substâncias prejudiciais à saúde, mas que também a proteja de novas contaminações (TOMINAGA, 1998).

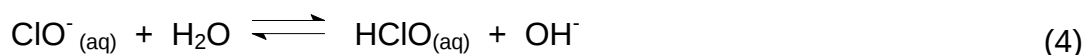
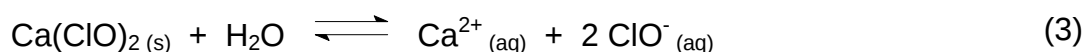
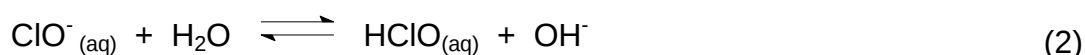
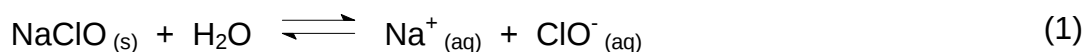
Neste contexto, o sistema de abastecimento de água apresenta-se como grande responsável pela manutenção da qualidade de vida de uma população.

No Brasil, de acordo com normas e padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), a água levada às estações de tratamento, deve ser submetida a uma série de etapas destinadas a torná-la potável, como: floculação, decantação, filtração, desinfecção, dentre outras.

Das operações de potabilização processadas nas estações de tratamento, a desinfecção destaca-se como uma das etapas mais importantes, por garantir a qualidade sanitária da água distribuída à população. Desta forma, principalmente esta etapa, deve seguir rigorosos critérios para garantir a segurança dos consumidores.

Em solução diluída e pH acima de 4,0, o equilíbrio da reação é deslocado no sentido da formação do o íon hipoclorito (ClO^-), ficando pouco $\text{Cl}_{2(g)}$ em solução. Em valores de pH mais baixos, a hidrólise do $\text{Cl}_{2(g)}$ é reprimida permanecendo o cloro em sua forma molecular, (MEYER, 1994).

Os derivados clorados ao entrarem em contato com água se dissociam, conforme as equações 1, 2, 3 e 4, (SILVA et. al., 1999).



O equilíbrio entre as espécies HClO e ClO^- é dependente do pH do meio. Por exemplo, para um pH igual a 8,0 tem-se cerca de 22% de HClO e 78% de ClO^- , tendo ambos os compostos ação desinfetante e oxidante. A tabela 1 contém os teores de HClO , ClO^- , e Cl_2 encontrados em água, em função do pH (HADAD,1971).

Tabela 1 - Teores de HClO e ClO^- , em água tratada com Cl_2 , em função do pH

pH = 1,0	Formam-se: 15% Cl_2 e 85% HClO
pH = 5,0	Forma-se quase exclusivamente HClO
pH = 7,0	Formam-se: 73,3% HClO e 26,7% ClO^-
pH = 8,0	Formam-se: 22,2% HClO e 77,8% ClO^-
pH = 10,0	Forma-se quase exclusivamente ClO^-

Fonte: HADAD, 1971

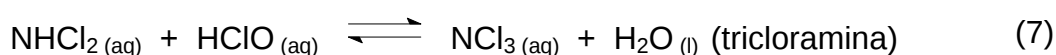
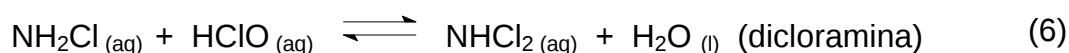
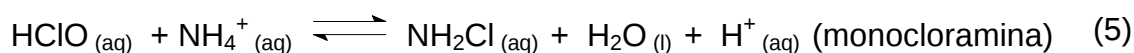
A ação do cloro como agente desinfetante envolve uma série de fatores, de maneira que não é possível se determinar com precisão sua atuação sobre as bactérias e outros microorganismos. Uma das teorias mais difundidas se refere a reação do ácido hipocloroso (HClO) com um sistema enzimático que é essencial na oxidação da glicose, portanto, para o metabolismo celular

bacteriano. Sendo o vírus desprovido de enzimas, a sua destruição só é possível por oxidação direta da matéria protéica, o que exige dosagens mais elevadas de cloro, (SOUZA, 2002).

Experimentalmente é comprovado que o ácido hipocloroso exerce maior ação desinfetante que o íon hipoclorito, o que se explica não somente pela sua forte capacidade de oxidação, mas também ao pequeno tamanho de sua molécula e sua neutralidade elétrica, que permitem uma rápida penetração nas células (MEYER, 1994).

Portanto, os compostos clorados são mais efetivos em valores de pH baixos quando a presença de ácido hipocloroso é dominante, ou seja, em pH acima de 9,0, a concentração de HClO em solução é tão pequena que já não teríamos uma ação sanificante eficiente (USEPA, 1999).

A adição de cloro, em águas que contêm amônia ou compostos amoniacais, poderá levar à formação de compostos clorados ativos, denominados de cloraminas, conforme as equações 5, 6 e 7 (JOHNSON, 1977).



As cloraminas também apresentam ação bactericida, com exceção da tricloramina. A ação bactericida da dicloramina é, em certos casos, três vezes maior do que da monocloramina (MACÊDO, 2000).

Quando um derivado clorado é adicionado à água ocorre, em primeiro lugar, a reação de oxidação da matéria orgânica. A quantidade de cloro consumida nesta oxidação é chamada de “demanda de cloro”. Satisfeita a demanda, o derivado clorado reage com a amônia, formando as cloraminas. A quantidade de cloramina formada corresponde ao chamado “cloro residual combinado”. Após a formação das cloraminas, tem-se a presença do chamado “cloro residual livre” que é constituído do ácido hipocloroso e do íon hipoclorito,

livres na água. O fluxograma da figura 2, representa as diversas fases do cloro adicionado a água, (MACÊDO 1997).

O cloro residual total (**CRT**) é a soma das concentrações do cloro residual livre (**CRL**) e do cloro residual combinado (**CRC**) (MACÊDO, 1997).

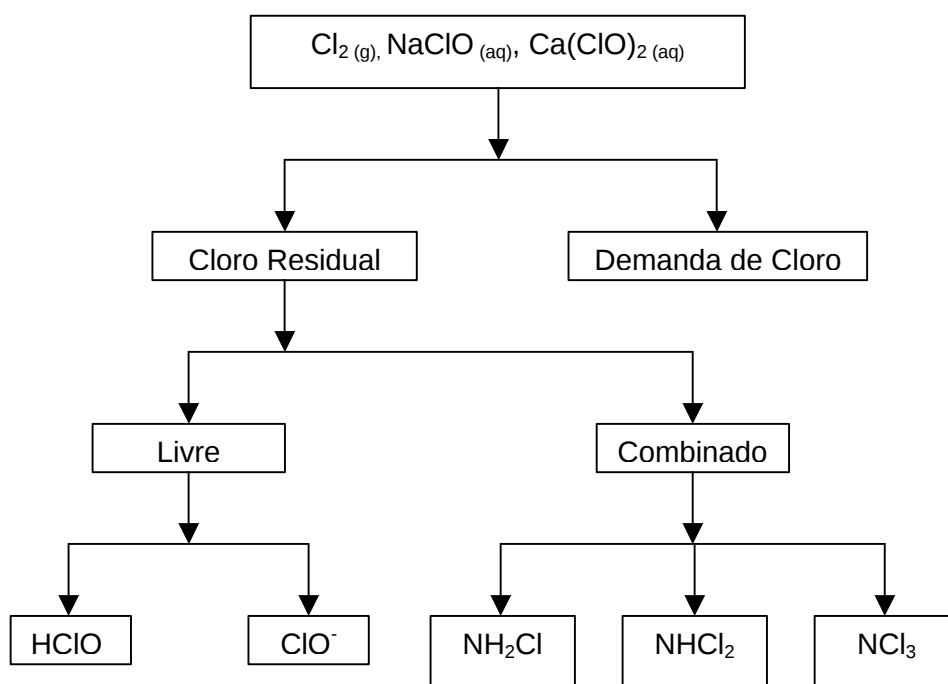


Figura 2 - Distribuição dos compostos clorados formados na desinfecção de água com cloro (Cl_2) ou derivados clorados (MACÊDO, 1997).

O cloro é normalmente adicionado à água em quantidade suficiente para que um nível residual acompanhe a água por todo sistema de distribuição. Este cloro residual protegerá a água de uma possível recontaminação, garantindo que a mesma chegue em seu destino final livre de agentes patogênicos (USEPA, 1999).

Segundo a Portaria 1469 do Ministério da Saúde, a água após a desinfecção deve conter um teor mínimo de cloro residual livre de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, sendo obrigatória a manutenção de, no mínimo, $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ em qualquer ponto de rede de distribuição. O teor máximo de cloro residual livre, em qualquer ponto do sistema de abastecimento, recomendado por esta portaria é de $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 2001).

A grande desvantagem do uso do cloro como agente desinfetante em águas destinadas ao consumo humano é a formação de alguns subprodutos não desejados, dentre eles os trihalometanos.

2.2. Trihalometanos

O processo de desinfecção de água para abastecimento público com produtos a base de cloro colaborou muito para a erradicação de doenças transmitidas pela água. Apesar de contribuir para a melhoria da saúde da população, a adição de cloro em estações de tratamento de água promove a formação de alguns subprodutos tóxicos e potencialmente carcinogênicos. Dentre estes subprodutos destacam-se os trihalometanos (THMs), (PARREIRA et. al. 2002).

Os trihalometanos são compostos orgânicos derivados do metano (CH_4), de fórmula geral CHX_3 , onde X pode ser cloro, bromo ou iodo ou combinações dos mesmos (SOUZA, 2002). Destas combinações é possível a formação de 10 diferentes compostos, porém apenas 4 ocorrem de maneira mais significativa na água de abastecimento: triclorometano ou clorofórmio (CHCl_3), tribromometano ou bromofórmio (CHBr_3), bromodiclorometano (CHCl_2Br) e o dibromoclorometano (CHClBr_2), figura 3.

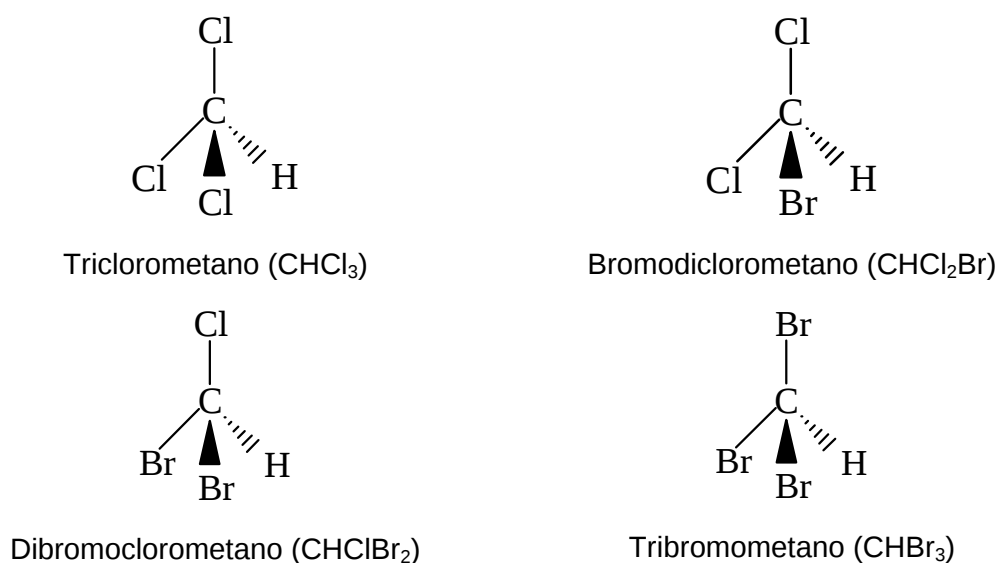


Figura 3 - Principais trihalometanos encontrados em águas de abastecimento público.

A soma das concentrações dos quatro THMs encontrados com maior frequência, expresso em $\mu\text{g L}^{-1}$ é denominado de trihalometanos totais ($\text{THM}_{\text{Totais}}$), (TOMINAGA e MIDIO, 1999).

Os THMs são formados pela reação química entre o cloro residual livre (HClO) e as substâncias derivadas da decomposição da matéria orgânica vegetal, os ácidos húmicos e fúlvicos, naturalmente dissolvidos na água. Estas substâncias são denominadas de “precursores dos trihalometanos” e em geral só têm significado sanitário devido à formação de THMs.

O mecanismo de produção de clorofórmio em água potável, através da reação entre o HClO e um grupo fenólico de matéria orgânica está representado na figura 4, (BAIRD, 2001).

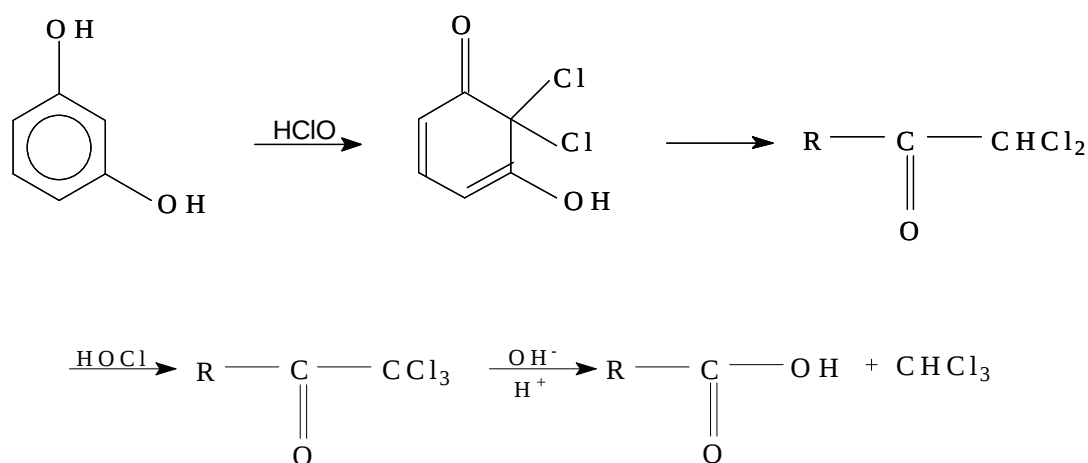


Figura 4 - Mecanismo de formação do clorofórmio a partir da reação do ácido hipocloroso com um grupo fenólico da matéria orgânica (BAIRD, 2001).

A presença de THMs bromados, detectados na água potável se deve ao fato de que o cloro oxida o brometo, convertendo-o em uma espécie de bromo reativo (HBrO – Ácido hipobromoso), o qual reagirá com a matéria orgânica formando o correspondente THM. Situação semelhante ocorre com iodetos, porém sua presença é menos comum (SOUZA, 2002).

A reação de formação dos THM pode ser influenciada por alguns fatores, como a quantidade do derivado clorado empregado, o tempo de contato, a temperatura, as concentrações de halogênios no meio, como também, características e concentrações dos precursores (TOMINAGA, 1998).

A formação dos THM, sob condições normais não é instantânea. Mesmo que sob algumas condições de reação a formação destes compostos pode ser completada em menos de 1 hora, em outras circunstâncias, podem ser necessários vários dias para que ocorra a máxima produção dos mesmos (FIGUEIREDO, 1999).

A taxa de formação de trihalometanos em função do tempo e dosagem de cloro manifesta-se em três intervalos seqüenciais. No primeiro intervalo ocorre a demanda imediata de cloro, devido principalmente à reação deste com compostos inorgânicos, tais como sulfetos, ferro e amônia. No segundo intervalo o cloro adicional começa a reagir com a matéria orgânica (precursores) presente. Neste intervalo, a relação entre a dosagem de cloro e a produção de THMs é quase linear. Mantendo-se a concentração de cloro residual, após as demandas anteriores, verifica-se um terceiro intervalo onde a produção de THMs é insignificante. Segundo MOHAMED e RIZKA, 1995 a produção de THMs pode alcançar valores altos com aumento da dosagem de cloro, podendo ultrapassar o limite estabelecido pela legislação.

FIGUEIREDO (1999), estudando a relação existente entre o tempo de contato e a temperatura, mantendo-se constante o pH do meio e a dosagem de cloro, constatou que a elevação destes fatores propiciou uma maior produção de THM, sendo o tempo de contato o que apresentou maior significância.

Da mesma forma, um aumento da concentração dos precursores (o que é mais comum em grandes mananciais protegidos e que possuem maior quantidade de vegetação em suas margens) maiores serão as possibilidades de formação de trihalometanos (SOUZA, 2002).

Outro fator que influencia na quantidade e no tipo dos THMs é a presença de brometos e iodetos que facilitam a formação dos THMs, em cuja constituição entram o bromo e o iodo. Em águas superficiais brasileiras a maior presença, depois do clorofórmio, tem sido do bromodiclorometano (16%) e do dibromoclorometano (3%) (MACÊDO, 1997)

A importância dos THMs prende-se ao fato de que, além de serem considerados carcinógenos, são também indicadores de possível presença de outros compostos organoclorados (ácido acético clorado, haloacetoneitrilos, clorofenóis, cloropropanonas) também resultantes do processo de cloração das águas e mais perigosos que os próprios THMs, (MACÊDO, 2000).

Para evitar riscos à saúde humana, diversos países adotaram valores guia com a finalidade de controlar os níveis de THMs em águas destinadas ao consumo humano.

A Comissão das comunidades europeias estabeleceu o valor máximo permitido de $40,00 \mu\text{g L}^{-1}$ para o clorofórmio e $15,00 \mu\text{g L}^{-1}$ para o bromodiclorometano. O valor máximo de bromodiclorometano pode ser aumentado para $25,00 \mu\text{g L}^{-1}$ se o valor de clorofórmio estiver abaixo de $30,00 \mu\text{g L}^{-1}$ (KUIVINEN e JOHNSON, 1999).

No Brasil, o valor máximo permitido de $\text{THM}_{\text{Totais}}$ é de $100,00 \text{ g L}^{-1}$, segundo a Portaria 1469 de 29 de dezembro de 2000 do ministério da saúde, (BRASIL, 2001).

2.2.1. Efeitos tóxicos dos Trihalometanos

A exposição humana a águas contendo THMs não ocorre apenas pela ingestão mas também quando estas são utilizadas para trabalhos domésticos e de higiene. Isso ocorre em virtude da volatilidade e lipossolubilidade desses compostos (TOMINAGA e MIDIO, 1999).

Águas recreativas, especialmente em piscinas, também são fontes potenciais de THMs haja visto o grande aporte de material orgânico transportado pelos próprios banhistas, além dos altos teores de cloro com que normalmente se trabalha neste tipo de água.

Constatada a presença de THMs em água, diversos estudos epidemiológicos têm sido realizados com a finalidade de encontrar uma correlação existente entre o consumo de água tratada e a contaminação dos consumidores por estes compostos.

Com relação a toxicidade, esta refere-se principalmente ao clorofórmio, por ser o composto mais estudado e encontrado em maior concentração que os demais (TOMINAGA, 1998). Resultados de experimentos com mamíferos expostos a altas doses de clorofórmio, variando de $30,00$ a $350,00 \text{ mg kg}^{-1}$, incluem efeitos sobre o sistema nervoso central, toxicidade hepática e

nefrológica, sendo que a intensidade de resposta está diretamente relacionada com o aumento da dose aplicada nos animais (SOUZA, 2002).

Alguns estudos realizados no Canadá, considerando a cloração de água bruta, indicaram uma associação entre a dosagem de cloro e o câncer de estômago. Também houve associações positivas entre clorofórmio na água tratada e o risco de morte por câncer de cólon e câncer de estômago (MEYER, 1994).

Outras pesquisas também sugerem que a ingestão regular de água com altos teores de subprodutos da cloração pode estar relacionada ao desenvolvimento de câncer retal e de bexiga (GIBBONS e LAHA, 1999).

Segundo a National Academy of Sciences, na sua publicação relativa à água de abastecimento e saúde, o clorofórmio apresentou resultados negativos no ensaio de mutagenicidade utilizando *Salmonella typhimurium* TA-100. Sob as mesmas condições os outros THMs apresentaram resultados positivos (TOMINAGA, 1998).

Estudos realizados no Instituto Nacional do Câncer, nos Estados Unidos, mostraram aumento nos tumores de ratos quando os THMs foram ministrados, utilizando óleo de milho como veículo (FAWELL, 2000).

Os levantamentos epidemiológicos relacionando a concentração dos THMs com mobilidade e mortalidade por câncer não são estatisticamente conclusivos, mas apresentam um elevado risco. Não obstante, os estudos definitivos continuam sendo conduzidos pela EPA (Environmental Protection Agency), através do Nacional Câncer Institute. De concreto sabe-se que até agora não se identificou nenhum efeito tóxico observável à exposição com curta duração proveniente do clorofórmio existente comumente em pequenas concentrações no ar, alimentos ou na água dos sistemas públicos de abastecimento (SOUZA, 2002).

2.2.2. Controle dos níveis de THMs em águas tratadas

A contaminação por THMs pode ser controlada pela redução da concentração dos precursores, uso de processos alternativos para a desinfecção e remoção dos THMs já formados.

A redução da concentração dos precursores pode ser conseguida principalmente pelo uso de carvão ativado granular. Porém há necessidade de controle técnico da saturação do carvão ativado, pois sua ação só é eficiente quando ele está pouco saturado. O alto custo e a pequena disponibilidade desta matéria prima no mercado inviabiliza a utilização desta tecnologia (USEPA, 1999).

GIBBONS e LAHA (1999), analisaram diversas amostras de água potável e observaram que as amostras de água clorada que receberam um tratamento adicional (filtração com carbono ativado) apresentaram teores de THMs bem menores do que aquelas que não receberam nenhum tratamento adicional. Este estudo indica a eficiência do carbono ativado na remoção de THMs da água.

Outras opções para controlar a formação de THMs, inclui o controle de qualidade do manancial, aplicando medidas adequadas para abaixar as concentrações de matéria orgânica e íon brometo na água destinada ao abastecimento da ETA. Algumas medidas sugeridas pela USEPA consistem no controle de formação de algas no manancial (controlando assim a concentração dos precursores dos THMs), e também na prevenção da intrusão de água salgada no manancial (controlando a concentração de íons brometo), em caso de regiões litorâneas.

Outra forma de reduzir a presença de precursores de THMs é por meio de um rígido controle do processo de coagulação, que ocorre pela eliminação da turbidez dos efluentes nas unidades de decantação. Com o monitoramento do pH, da quantidade de floculante e do auxiliar de coagulação a serem utilizados, obtém-se redução nos níveis de turbidez e das substâncias húmicas, mostrando a eficiência deste processo no controle da formação dos THMs (MACÊDO, 1997).

MACÊDO (1997), comparou a formação de THMs em amostras de água que foram desinfetadas com hipoclorito de sódio por meio da pré-cloração e em amostras de água que foram desinfetadas com o mesmo agente, porém desta vez por meio da pós-cloração. Na pré-cloração a concentração média de THM_{totais} foi de 117,52 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor superior ao nível máximo permitido pela legislação brasileira. Já a pós-cloração originou concentrações de THM_{totais} mais baixas, em média 56,67 $\mu\text{g L}^{-1}$. Assim, uma forma de controlar a formação de THMs é a adoção da pós-cloração ao invés da pré-cloração.

Atualmente, tem havido um crescente interesse pelo uso de desinfetantes alternativos que minimizem a formação dos THMs, dentre eles destacam-se o dióxido de cloro, ozônio e a radiação ultravioleta. Porém, o fator econômico é o principal impedimento para implantação destes processos alternativos, sendo que estes vêm sendo utilizados somente em universidades, para fins de pesquisa (SANCHES et. al., 2003).

Depois de formados, os processos mais utilizados para retirada dos THMs são a aeração e o uso do carvão em pó. Por serem voláteis, se a água for armazenada a temperatura ambiente, em recipientes abertos por um período de tempo de 3 dias, ocorrerá a volatilização de parte dos THMs. A ressalva que se faz a este processo é em relação ao seu caráter prático, que deixa muito a desejar, pois favorece a recontaminação da água. Além disso, o uso de aeradores também é descartado, em função do custo dos equipamentos e manutenção dos mesmos. A remoção dos THMs através de carvão ativo em pó tem se mostrado eficiente, mas os fatores já citados têm inviabilizado o seu uso (SANCHES et. al., 2003).

2.2.3. Técnicas de extração e análise

Desde que estudos comprovaram a existência de riscos à saúde humana causada pelos trihalometanos, métodos analíticos mais práticos, rápidos, seguros e de baixo custo vêm sendo desenvolvidos para a determinação destes compostos em água.

Dentre os métodos analíticos empregados para extração e determinação de THMs em amostras de água, destacam-se: extração líquido-líquido (TOMINAGA, 1998), “headspace” (CARLOS, 2002; KUIVINEM e JONHSSON, 1999) e micro extração em fase sólida (PARREIRA et al., 2002; STACK et al., 2000).

No Brasil, a Portaria 1469 de 29 de dezembro de 2000, do ministério da saúde, sugere a adoção de metodologia analítica para análise de água proposta pela edição mais recente da publicação Standard Methods for examination of water and wastewater (BRASIL, 2001). Esta metodologia utiliza a extração líquido-líquido como técnica de extração e a cromatografia gasosa, equipada com detector de captura de elétrons (ECD), como técnica de quantificação. O pentano é o solvente extrator empregado na extração de THM, sendo sugeridos também o hexano, o metilciclohexano e o 2,2,4 trimetilpentano como solventes extratores alternativos.

A extração líquido-líquido de compostos orgânicos voláteis presentes em água é provavelmente a técnica mais amplamente empregada e um dos procedimentos mais simples de concentração de amostras. Os compostos orgânicos (solutos) tendem a se distribuir entre duas fases líquidas imiscíveis, normalmente por agitação em um funil de separação, até atingirem o estado de equilíbrio, (MAJORS, 1997).

Segundo TOMINAGA (1998) a técnica de extração líquido-líquido mostrou-se precisa e exata para a quantificação dos THMs em água de abastecimento público.

Embora seja uma técnica simples e de baixo custo, o uso de solventes orgânicos (normalmente tóxicos), utilizados nas extrações líquido-líquido (ELL), impulsiona o uso de outras técnicas de extração de compostos orgânicos que apresentem menor impacto sobre o homem e o meio ambiente (QUINTEIRO, 1983).

Assim, técnicas alternativas poderão ser utilizadas desde que sejam cientificamente reconhecidas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

Uma técnica comumente usada para extração dos THMs em água é a extração por “headspace”, que estabelece um equilíbrio de partição entre as fases gasosa e líquida, facilitando a extração.

Existem dois tipos de “headspace”: dinâmico e estático. O “headspace” estático é um método rápido e simples de extração, onde uma pequena quantidade de amostra é colocada em um frasco que é hermeticamente fechado de modo que parte do frasco contenha um espaço vazio. Então, as condições de equilíbrio de fases dentro do frasco são alteradas para que os analitos se desloquem e se concentrem na fase vapor. Após o equilíbrio ser estabelecido, uma fração da fase gasosa é retirada, como representado na figura 5, e transferida para o cromatógrafo a gás para ser analisada (KNUPP, 2004).

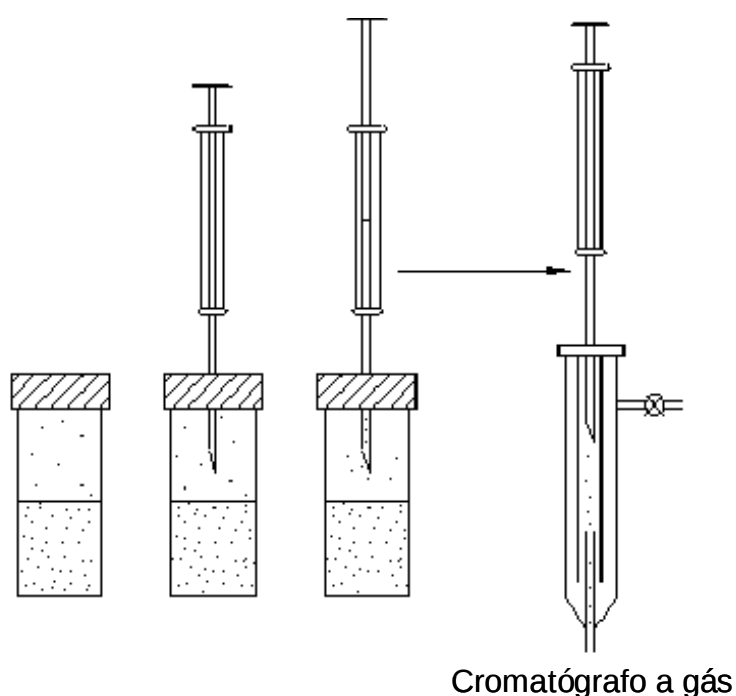


Figura 5 – Esquema representativo do procedimento básico de extração por “headspace” estático (QUINTEIRO, 1983).

A técnica “headspace” dinâmico, conhecida também como “purge and trap” é recomendada pelo United States Environmental Protection Agency (WANG e CHEN, 2001).

Neste sistema, os analitos são removidos ativamente através do borbulhamento de um gás inerte pela amostra. Os analitos removidos são pré-concentrados em uma coluna contendo adsorvente, logo após dessorvidos por

aquecimento e fluxo de gás inerte e depois, separados e quantificados por cromatografia gasosa, (MAJORS, 1997).

As leis da termodinâmica regulam a distribuição das substâncias entre a fase vapor e a matriz. Portanto, características como pressão de vapor, coeficiente de partição e características moleculares de grupos funcionais irão determinar uma melhor ou pior transferência dos analitos para a fase vapor (KNUPP, 2004).

CARLOS (2002), KUIVINEM e JONHSSON (1999), empregaram "headspace" estático na extração de THMs e outros compostos clorados em amostras de água para posterior análise por cromatografia gasosa. Utilizando esta técnica, foram obtidos resultados que atenderam com eficiência aos objetivos propostos, apresentando vantagens como a não utilização de solventes e uma maior rapidez de análise.

ALLONIER et al. (2000), em estudos sobre determinação de THMs em águas do mar cloradas, utilizaram um sistema de "purge-and-trap" (armadilha: coluna contendo sílica gel e carvão ativado) acoplado a um cromatógrafo a gás, equipado com ECD. Após a adição de sulfato de sódio à matriz de água, durante o borbulhamento, foram observados aumentos na eficiência de extração dos THMs devido ao efeito da força iônica.

A microextração em fase sólida (SPME, do inglês solid phase microextraction) tem sido extensamente investigada como uma alternativa simples, versátil e de baixo custo para a extração ou pré-concentração de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis, sem a utilização de solventes. Entre os estudos relatados na literatura encontram-se os de análises dos THMs, em níveis de pg L^{-1} , (VALENTE e AUGUSTO, 2000; ARAÚJO, 1999).

O esquema mostrado na figura 6 ilustra o dispositivo básico de SPME, que é composto por um corpo cilíndrico, denominado de amostrador, com fenda (em “Z”), pela qual o pino travador desliza. Esse apresenta em sua extremidade superior um lançador e na inferior uma agulha oca de aço inoxidável. A agulha forma o canal que armazena toda a extensão da fibra e parte do tubinho inox. A outra extremidade do tubinho é envolta por uma pequena mola, e fica em contato com o lançador, obedecendo ao mecanismo da seguinte forma: o lançador, ao ser pressionado, empurra o tubinho, comprimindo a mola e, como consequência, a fibra desliza pela agulha e se expõe ao meio externo, ou se esconde, quando é puxada. O pino travador, fixado no lançador acompanha esse movimento, na extensão da fenda em “Z”. Quando posicionado no centro dessa fenda impede a subida do lançador, mantendo, assim, a fibra exposta (VALENTE e AUGUSTO, 2000).

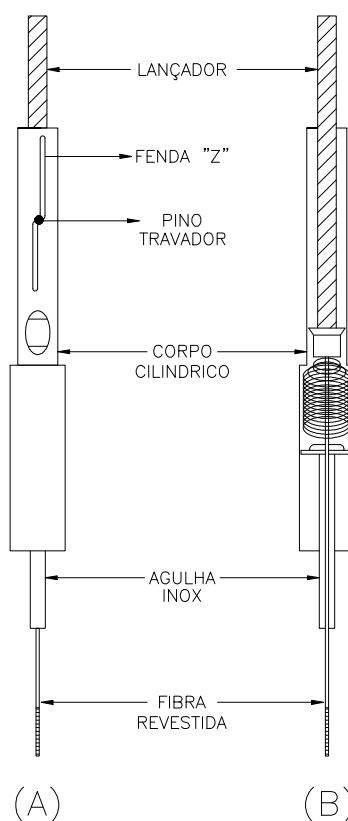


Figura 6 – Dispositivo de SPME: (A) vista externa do amostrador com a fibra exposta e o êmbolo travado pelo pino no centro da fenda em “Z”; (B) Vista interna do amostrador de SPME com a fibra exposta, (QUINTEIRO, 1983).

A parte móvel do dispositivo de SPME, apresentado na figura 7, composto pela agulha, pela fibra revestida e pela mola que envolve uma das extremidades do tubinho de inox, é projetado para que as fibras sejam retraídas para dentro da agulha durante as operações que possam danificá-las, como as de transporte, perfuração do septo do frasco de amostra e do injetor do cromatógrafo. O conjunto pode ser trocado de acordo com seu estado de uso e com a natureza do analito que se deseja extrair (QUINTEIRO et. al., 1983).

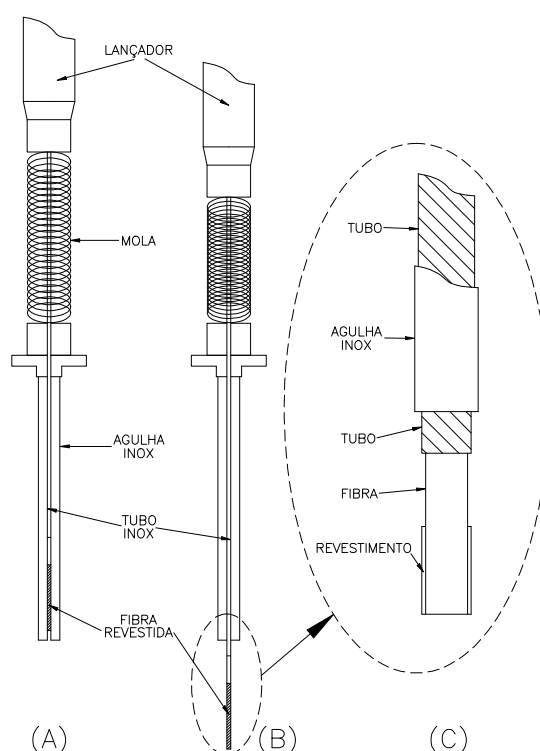


Figura 7 – Parte móvel do dispositivo de SPME: (A) Dispositivo com a fibra retraída na agulha; (B) Posição com a fibra exposta; (C) Vista detalhada da seção com recobrimento (QUINTEIRO, 1983).

A fase estacionária polimérica que reveste a fibra consiste de um bastão de sílica fundida (10 mm de comprimento, diâmetro de 110 a 160 μm) recoberto com filmes de até 100 μm de espessura de polímeros sorventes (polidimetilssiloxano-PDMS, Carbowax-CW, Poliacrilato-PA) ou sólidos adsorventes (Carvão ativo microparticulado, divinilbenzeno-DVB, carboxen-CAR) ou misturas destes materiais (LOPES, 2004).

Basicamente, a operação de microextração em fase sólida (SPME) é realizada em duas etapas: extração e dessorção. Na extração por SPME as moléculas do analito têm de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento e, para isto, resistências a transferências de massa devem ser vencidas, até que se estabeleça um equilíbrio de partição ou de adsorção do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. No final da extração o amostrador é levado para a segunda etapa do processo. A dessorção ocorre quando os analitos adsorvidos na fase estacionária são termicamente dessorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica (PAWLISZYN, 2000).

A figura 8 representa o esquema da seqüência operacional para a extração e dessorção por SPME dos analitos no injetor do cromatógrafo a gás.

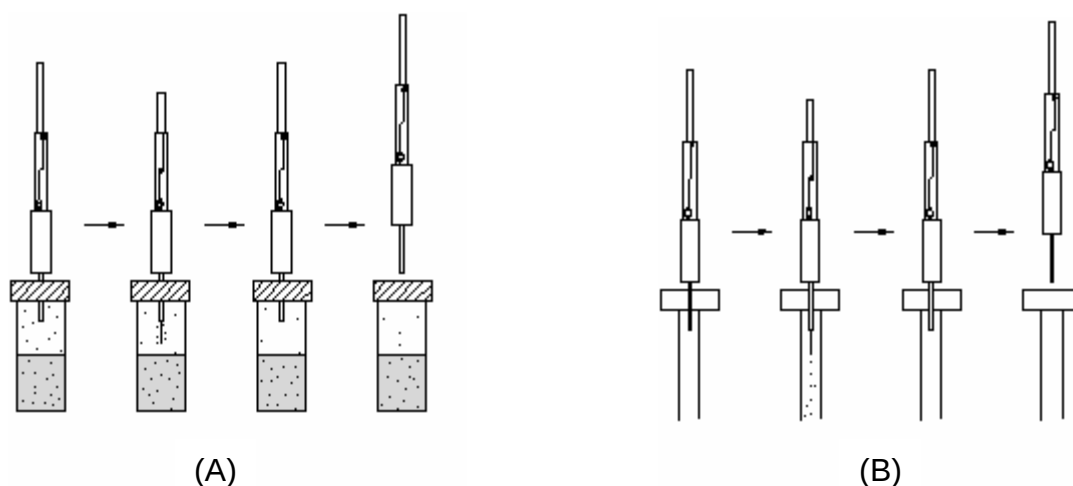


Figura 8 – Procedimento básico para microextração em fase sólida: (A) Processo de extração (B) Processo de dessorção, (QUINTEIRO, 1983).

A quantidade extraída de um analito é influenciada por diferentes fatores, dentre eles a escolha adequada do recobrimento da fibra extratora, modo de extração (contato direto com os analitos ou com a fase gasosa acima da amostra - “headspace”), temperatura, tempo de extração, força iônica da amostra, pH e agitação da amostra. É de fundamental importância a otimização destas variáveis para obter-se o desempenho máximo da técnica, (LOPES, 2004).

Desde que a técnica de SPME foi desenvolvida, entre 1989 e 1990, pelo Prof. Janusz Pawliszyn da Universidade de Waterloo em Ontário (Canadá), para análise de poluentes orgânicos voláteis e semivoláteis em águas, vários tratamentos teóricos que fundamentam a técnica e trabalhos sobre sua aplicação foram publicados.

MACÊDO (1997), quantificou THMs em amostras de água potáveis de Juiz de Fora – MG, por cromatografia em fase gasosa, utilizando microextração em fase sólida. Segundo o autor, a técnica se mostrou muito eficiente na análise de THM, permitindo uma redução significativa no tempo de análise, se comparado com processo tradicional de extração líquido-líquido, reduzindo ainda em níveis consideráveis o erro de injeção.

PARREIRA et al. (2002), utilizaram a técnica de SPME e cromatografia gasosa para a determinação de Trihalometanos em água potável de diversas cidades do estado de Minas Gerais. Os resultados dos estudos de otimização e validação foram considerados adequados, atendendo aos limites estabelecidos pela portaria 1469 do Ministério da Saúde, Brasil.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Soluções padrão e amostras de água

3.1.1. Soluções padrão

Uma mistura de THMs, constituída por: CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 , contendo $2.000,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada componente, em metanol, foi diluída neste mesmo solvente (Mallinckrodt / HPLC), para obtenção de uma solução estoque a $200,00 \mu\text{g L}^{-1}$.

As demais soluções padrão de THMs empregadas na otimização e validação da técnica de microextração em fase sólida foram preparadas a partir de diluições sucessivas da solução estoque, em água mineral.

3.1.2. Amostras de água usadas na otimização e validação da técnica HS/SPME

Na primeira etapa deste trabalho que consistiu na otimização e validação da técnica de microextração em fase sólida (SPME), para extração e quantificação de THMs em água, foram empregadas amostras de água mineral fortificadas com concentrações conhecidas dos padrões de THMs.

3.1.3. Amostras de águas naturais

Na etapa de aplicação da técnica otimizada, foram empregadas amostras de água potável coletadas, em triplicata, em vários pontos no campus

universitário utilizados pela Divisão de Água e Esgotos da Universidade Federal de Viçosa, ETA – UFV, para controle de rotina da qualidade da água nos extremos da rede de distribuição, conforme descritos na tabela 2. A coleta foi feita segundo normas técnicas da ABNT.

Tabela 2 – Localização dos pontos de coleta na rede de distribuição de água tratada da ETA-UFV.

Amostras de água	Descrição/Localização
1	Reservatório 1 – ETA -UFV
2	Reservatório 2 – ETA -UFV
3	Capela – a 0,3 km da ETA -UFV
4	Veterinária – a 1,0 km da ETA -UFV
5	Celulose – a 3,0 km da ETA -UFV
6	Vila 7 casas – a 2,0 km da ETA -UFV
7	Vila Gianetti – a 2,0 km da ETA -UFV

Para a coleta das amostras, foram utilizados frascos (vidro transparente) de 44,0 mL de capacidade, com tampa equipada com septo de silicone, previamente aquecidos durante 1 hora a ± 105 °C. A esses frascos foram adicionados 2,0000 g de sulfito de sódio para conservar as amostras e melhorar a eficiência da extração. Os recipientes de coleta foram preenchidos totalmente sem que houvesse a formação de bolhas de ar em seu interior e armazenados a ± 5 °C até o momento de extração e análise.

3.2. Condições cromatográficas

As condições cromatográficas foram otimizadas por injeções do analito, adsorvido em uma fibra de SPME, em um cromatógrafo a gás Shimadzu (CG – 17 A), equipado com detector de captura de elétrons (ECD).

Para obtenção das condições cromatográficas ideais para separação e quantificação simultânea de THMs foi utilizada a coluna Supelcowax 10, com fase estacionária composta por 100 % de polietilenoglicol, 30 m de

comprimento, 0,25 mm d. i., 0,25 μm de espessura de filme. A temperatura do injetor foi fixada em 200 °C e a do detector foi variada em 200, 220 e 250 °C. A temperatura da coluna durante a corrida cromatográfica, também foi otimizada.

As melhores condições analíticas determinadas, que proporcionaram uma melhor separação entre os picos dos compostos de interesse e menor tempo de análise, foram as seguintes:

- Temperatura da coluna: 40 °C (7min) $\xrightarrow{30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}}$ 180 °C (1 min)
- Tempo total de análise: 12,7 min
- Temperatura do injetor: 200 °C
- Temperatura do detector: 250 °C
- Gás de arraste: Nitrogênio
- Vazão do gás de arraste: 1,8 mL/min
- Divisão de fluxo: 1:5

3.3. Otimização da técnica de extração de THM em água por HS/SPME

Para a determinação das melhores condições de extração de THMs, amostras de água mineral foram fortificadas com concentrações conhecidas desses padrões.

Frascos de vidro transparente de 44,0 mL de capacidade, contendo sulfito de sódio, foram preenchidos totalmente com a amostra fortificada, contendo 10,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM, tomando o cuidado para não haver formação de bolhas. Em uma extremidade da tampa (equipada com septo de silicone) foi introduzida uma agulha de ponta longa (40x8) e na outra uma agulha de ponta curta (13x3). À agulha de ponta longa foi acoplada uma seringa hipodérmica de 50,0 mL e retirada uma alíquota de 10,0 mL da solução. As agulhas foram retiradas e o frasco levado para um sistema de aquecimento para a obtenção de vapores de THMs no espaço vazio do frasco de vidro ("headspace"), de acordo com a figura 9.

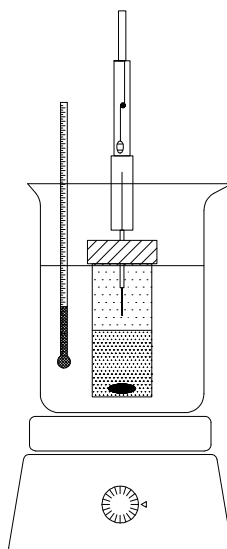


Figura 9 – Sistema de aquecimento monitorado na extração de THMs em água por HS/SPME.

Para a extração, a fibra foi colocada em contato com a parte gasosa da amostra (“headspace”) até atingir o equilíbrio de adsorção entre os analitos, a matriz e o headspace. Durante o período de extração, foi utilizada agitação magnética. Realizada a extração, a fibra foi retirada do frasco da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo a gás, onde os analitos foram termicamente dessorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica.

3.3.1. Planejamento multifatorial das condições de extração

A extração e análise de THMs em água por HS/SPME têm como variáveis os fatores força iônica, tempo e temperatura de extração. Assim, com o objetivo de estudar o comportamento simultâneo dos três fatores, utilizando poucos experimentos, foi realizado um experimento obedecendo a um planejamento fatorial 2^3 . Para cada ensaio foram realizadas duas repetições totalizando 16 experimentos.

Os sinais (+) e (-), descritos na tabela 3, correspondem aos níveis máximos e mínimos dos parâmetros: força iônica (1,0000 e 2,0000 g de sulfato de sódio), tempo de extração (5 e 10 min) e temperatura de extração (30 e 40 °C).

Os resultados obtidos, pela variação simultânea dos fatores, foram interpretados através das estimativas dos efeitos para cada um dos THMs estudados.

Tabela 3 - Planejamento multifatorial para otimização das condições de extração de THMs em amostras de água.

Ensaio	Fatores codificados			Fatores originais		
	F(1)	F(2)	F(3)	(1) Tempo (min)	(2) Temperatura (°C)	(3) Massa do sal (g)
1 e 2	-	-	-	5	30	1
3 e 4	+	-	-	10	30	1
5 e 6	-	+	-	5	40	1
7 e 8	+	+	-	10	40	1
9 e 10	-	-	+	5	30	2
11 e 12	+	-	+	10	30	2
13 e 14	-	+	+	5	40	2
15 e 16	+	+	+	10	40	2

3.3.1.1. Planejamento “estrela”

A partir dos resultados obtidos com o planejamento fatorial 2^3 , foi realizado um planejamento tipo estrela, com cinco níveis para os fatores força iônica e tempo de extração, mantendo-se constante a temperatura de extração (30 °C).

Na tabela 4, estão representados os níveis máximos e mínimos dos fatores em estudo.

Os sinais (+) e (-) descritos, correspondem aos níveis testados para a força iônica (1,0000 e 2,0000 g de sulfito de sódio) e o tempo de extração (5 e 10 min). A variável codificada “0” corresponde à média entre os níveis máximos e mínimos dos fatores em estudo, e estão representadas pelos ensaios 9, 10 e 11. Já a variável codificada $\pm 2^{1/2}$, indica que os novos pontos, representados pelos ensaios 5, 6, 7 e 8, estão a uma distância $2^{1/2}$ do ponto central (em variáveis codificadas), correspondendo aos níveis máximos e mínimos das variáveis.

Tabela 4 - Planejamento fatorial em estrela para otimização das condições de extração de THMs em amostras de água.

Ensaio	Fatores codificados		Fatores originais	
	F(1)	F(2)	(1) Tempo (min)	(2) Força iônica (g)
1	-	-	5	1
2	+	-	10	1
3	-	+	5	2
4	+	+	10	2
5	$-2^{1/2}$	0	4	1,5
6	$+2^{1/2}$	0	11	1,5
7	0	$-2^{1/2}$	7,5	0,8
8	0	$+2^{1/2}$	7,5	2,2
9	0	0	7,5	1,5
10	0	0	7,5	1,5
11	0	0	7,5	1,5

Os resultados obtidos, na variação simultânea dos fatores, foram interpretados, com auxílio do programa Statistica 6.0 (Stat-Soft), através das estimativas dos efeitos para cada um dos THMs estudados

3.3.2. Estudo univariado

Após a otimização do método de extração de THMs em água por HS/SPME, avaliou-se os efeitos dos fatores, tipo de fibra, volume da amostra e tempo de “splitless”, mantendo-se constantes o tempo de extração, temperatura de extração e força iônica.

Nestas avaliações, frascos de vidro transparente de 44,0 mL de capacidade, contendo 2,0000 g de sulfito de sódio, foram preenchidos totalmente com soluções padrão de THMs preparadas em água mineral a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$. Em uma extremidade da tampa (equipada com septo de silicone) foi introduzida uma agulha de ponta longa (40x8) e na outra uma agulha de ponta curta (13x3). À agulha de ponta longa foi acoplada uma seringa hipodérmica de 50,0 mL para retirada de alíquotas da amostra.

As agulhas foram retiradas e o frasco levado para um sistema de aquecimento para a obtenção de vapores de THMs no espaço vazio do frasco

de vidro (“headspace”). O tempo e a temperatura de extração utilizados foram de 5 minutos e 30 °C, respectivamente.

As análises foram feitas de acordo com as condições cromatográficas otimizadas no item 3.2.

Para cada análise foram feitas três repetições e um branco.

3.3.2.1. Tipo de fibra adsorvente

A escolha da fibra a ser utilizada na extração é determinada pela massa molecular e pela polaridade da espécie em estudo. Normalmente, os revestimentos mais seletivos, ou seja, com grande afinidade pelo analito e os mais espessos, pela maior quantidade extraída, proporcionam ao método alta sensibilidade.

Levando-se em consideração as características dos compostos estudados, dois tipos de fibras foram avaliados experimentalmente para a seleção da fibra que proporcionasse maior extração: polidimetilssiloxano (100 - PDMS) de 100 µm de espessura e a polidimetilssiloxano-divinilbenzeno (65-PDMS/DVB) de 65 µm de espessura.

As análises foram feitas nas condições cromatográficas e analíticas descritas nos itens 3.2. e 3.3.2.

3.3.2.2. Volume da amostra

As extrações e análises, para a otimização das melhores condições de análise e verificação da relação existente entre o volume de amostra utilizada e a quantidade de THMs extraídos por SPME, foram feitas de acordo com as condições cromatográficas descritas nos itens 3.2. e 3.3.2.

Os volumes de amostras testados para a otimização foram: 34,0; 24,0 e 14,0 mL de solução padrão de THMs a 5,00 µg L⁻¹ (10,0; 20,0 e 30,0 mL de “headspace”).

Neste estudo foi utilizada uma fibra de polidimetilssiloxano (100 - PDMS) de 100 µm de espessura.

3.3.2.3. Tempo de “splitless”

No final da extração, os analitos adsorvidos na fase estacionária foram termicamente dessorvidos sob fluxo do gás de arraste e carreados para a coluna cromatográfica.

A injeção foi realizada no modo splitless, variando-se a purga fechada em 1, 2, 4, 6 e 8 minutos, para obtenção da condição cromatográfica que apresentasse melhor eficiência.

Neste estudo foram utilizados 34,0 mL de solução padrão (10,0 mL de “headspace”).

As extrações e análise foram feitas, em triplicata, nas condições cromatográficas descritas nos itens 3.2. e 3.3.2.

3.4. Validação do método analítico

Para validação do método proposto neste trabalho foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, limite de detecção, limite de quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão.

Todos os experimentos do processo de validação foram realizados, em triplicata, de acordo com as condições, otimizadas descritas nos itens 3.2. e 3.3.

3.4.1. Seletividade

A seletividade foi o primeiro parâmetro analisado na validação do método de microextração em fase sólida.

Este parâmetro foi avaliado comparando-se uma amostra de água mineral isenta dos componentes de interesse (branco), com a mesma amostra de água mineral, porém, fortificada a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.4.2. Linearidade de resposta do detector

No estudo da linearidade de resposta do detector para o CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 , foram empregadas soluções padrão contendo 0,00; 0,05; 0,50; 2,50; 4,50; 6,50 e $8,50 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM em água mineral. Para o CHCl_3 foram empregadas soluções padrão a 0,00; 5,00; 10,00; 20,00; 40,00; 60,00 e $80,00 \mu\text{g L}^{-1}$, preparadas em água mineral. As soluções padrão foram analisadas em triplicata.

Após a análise cromatográfica, as curvas analíticas foram construídas relacionando as concentrações dos THMs ($\mu\text{g L}^{-1}$) com as áreas dos picos dos padrões no cromatograma.

3.4.3. Limite de detecção e limite de quantificação do método

O limite de detecção é a quantidade mínima detectável do composto, capaz de produzir um sinal analítico duas vezes maior que o nível do ruído de fundo (COLLINS et. al, 1990) Os limites de detecção (LD), para o CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 , foram obtidos através da análise cromatográfica de soluções padrão em concentrações decrescentes, 1,00; 0,50; 0,10; 0,05; 0,02; 0,01; 0,005 e $0,001 \mu\text{g L}^{-1}$.

Foram consideradas como limites de quantificação (LQ), as concentrações de cada THM capaz de gerar um sinal analítico dez vezes maior que o nível de ruído de fundo, aumentando assim a precisão das medidas realizadas.

Os experimentos foram realizados em triplicata, acompanhados de um branco.

3.4.4. Precisão

Segundo o INMETRO (2003), precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, em condições definidas.

A precisão pode ser determinada em condições de repetibilidade e de precisão intermediária.

3.4.4.1. Repetibilidade

A repetibilidade das medidas foi avaliada através do cálculo do desvio padrão relativo entre as medidas de 7 replicatas de uma solução padrão de THMs a $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, em água mineral, submetidas aos procedimentos de análise otimizados nos itens 3.2. e 3.3.

As análises foram realizadas no mesmo dia e sob as mesmas condições.

3.4.4.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária indica o efeito de variações dentro do laboratório, devido a eventos como diferentes dias. A precisão intermediária foi realizada em três dias consecutivos e sob as mesmas condições de análises, empregando três replicatas de uma solução padrão de THM a $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, em água mineral. Todas as análises foram acompanhadas de um branco.

A precisão foi expressa em termos de percentagem, sob a forma de coeficiente de variação (CV).

3.4.5. Exatidão

A exatidão é, usualmente, determinada comparando-se os resultados obtidos pelo método a validar com os obtidos por intermédio de um método estabelecido como referência (LANÇAS, 2004).

Para a realização deste estudo, uma solução padrão de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ contendo os THMs estudados (amostra teste), foi analisada pelo método de extração SPME e pelos métodos de referência, extração líquido-líquido e “headspace”.

As condições cromatográficas ideais utilizadas para a separação e quantificação simultânea dos THMs, foram as mesmas otimizadas no item 3.2.

3.4.5.1. Extração por SPME

Para extração e análise dos THMs da solução padrão de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando SPME, foi utilizado as condições ideais otimizadas e descritas nos itens 3.2. e 3.3.

3.4.5.2. Extração líquido-líquido

Amostras de água mineral fortificadas com $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM, foram analisadas (em triplicata) pela metodologia proposta pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), descrita na norma 13407, para quantificação de THMs em amostras de água. A metodologia emprega extração líquido-líquido e cromatografia gasosa equipada com detector de captura de elétrons, como mostra o procedimento descrito a seguir.

Frascos de vidro transparente de 44,0 mL de capacidade, contendo 3,0000 mg de sulfito de sódio, foram preenchidos totalmente com a amostra, tomando o cuidado para não haver formação de bolhas. Em uma extremidade da tampa (equipada com septo de silicone) foi introduzida uma agulha de ponta longa (40x8) e na outra uma agulha de ponta curta (13x3). À agulha de ponta

longa foi acoplada uma seringa hipodérmica de 50,0 mL e retirados 10,0 mL da solução. Em seguida, uma seringa hipodérmica de 5,0 mL, contendo 4,0 mL de hexano, foi acoplada à agulha de ponta longa, o solvente foi injetado no frasco cuidadosamente. As agulhas foram retiradas e o frasco, com 34,0 mL de amostra e 4,0 mL de solvente orgânico, foi agitado vigorosamente durante 60 segundos. Após a separação das fases, foi coletado 1,00 μL da fase orgânica (com microseringa Hamilton de 10,00 μL) e injetado em cromatógrafo a gás.

A metodologia proposta pela ABNT foi empregada para construir as curvas analíticas dos THMs estudados e para avaliar a linearidade de resposta do método. As curvas analíticas foram obtidas empregando soluções padrão de THMs a 0,00; 5,00; 25,00; 45,00; 65,00 e 85,00 $\mu\text{g L}^{-1}$, em água mineral. As soluções padrão foram analisadas em triplicata, acompanhadas de um branco do método.

As curvas padrão foram obtidas relacionando as concentrações dos THMs ($\mu\text{g L}^{-1}$) com as áreas dos picos no cromatograma.

3.4.5.3. Extração por “headspace”

Esta metodologia foi utilizada por CARLOS (2002), para quantificação de THMs em águas.

Frascos de vidro transparente de 44,0 mL de capacidade, contendo 3,0000 de sulfito de sódio, foram preenchidos totalmente com a amostra tomando o cuidado para não haver formação de bolhas. Em uma extremidade da tampa (equipada com septo de silicone) foi introduzida uma agulha de ponta longa (40x8) e na outra uma agulha de ponta curta (13x3). À agulha de ponta longa foi acoplada uma seringa hipodérmica de 20,0 mL e retirados 10,0 mL da solução. As agulhas foram retiradas e o frasco, com 34,0 mL de amostra, foi aquecido a 60 °C, durante 20 minutos, sendo em seguida retirado e mantido por 60 segundos em repouso (tempo de equilíbrio). Uma alíquota de 300 μL da fase gasosa (parte superior do frasco) foi coletada com microseringa para coleta de amostra gasosa (“gastight”) Hamilton de 500,0 μL e 200 μL desta alíquota foi injetada em um cromatógrafo a gás.

A técnica de extração por headspace foi empregada para construir curvas analíticas das soluções padrão de THMs a 0,00; 5,00; 25,00; 45,00; 65,00 e 85,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água mineral e para avaliar a linearidade de resposta do método. As análises foram realizadas em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Soluções padrão

Segundo a ABNT (1995), a água utilizada para a execução de um ensaio pode ser obtida em um sistema de ultrafiltração com resinas, para remoção de componentes orgânicos ou também pode ser preparada fervendo-se a água destilada e deionizada por 15 min.

Durante o procedimento inicial de análise, foi constatado que os processos de destilação e deionização empregados, não foram suficientes para a remoção de todos os interferentes na faixa de trabalho empregada. CARLOS (2002), já havia relatado a contaminação da água destilada por clorofórmio e outros solventes freqüentemente usados no Laboratório de Química Analítica (LAQUA), Universidade Federal de Viçosa.

Em razão do grande volume de água a ser empregado durante todo o experimento e a possível contaminação do ambiente, o uso de água fervida também foi descartado. Optou-se então pela utilização de água mineral, isenta dos compostos em estudo, para o preparo das soluções empregadas na otimização e validação da técnica SPME.

4.2. Amostras de água e análise de THMs por CG

As amostras empregadas na etapa de aplicação da técnica otimizada foram coletadas de acordo com as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1995).

Estas normas recomendam para a coleta de amostras o uso de frascos de vidro, com tampa equipada com septo de silicone, previamente aquecidos

durante 1 hora a 105 °C. A estes frascos foram adicionados 2,0000 mg de sulfito de sódio para melhorar a eficiência da extração e conservação das amostras, impedindo assim, a reação do cloro residual e a matéria orgânica presente na água (formação adicional de THMs), após a coleta da amostra.

Os recipientes de coleta foram preenchidos totalmente com a amostra sem que houvesse a formação de bolhas de ar em seu interior e armazenados a ± 5 °C, mantendo-se os frascos hermeticamente fechados até o momento de extração e análise. Seguindo as normas da ABNT, as amostras foram mantidas nestas condições por um período máximo de 14 dias.

A identificação e quantificação dos THMs extraídos das amostras de água, foram realizadas em um cromatógrafo a gás, nas condições cromatográficas otimizadas e descritas no item 3.2.

Na figura 10 está representado um cromatograma de uma solução padrão a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, contendo os quatro THMs em estudo.

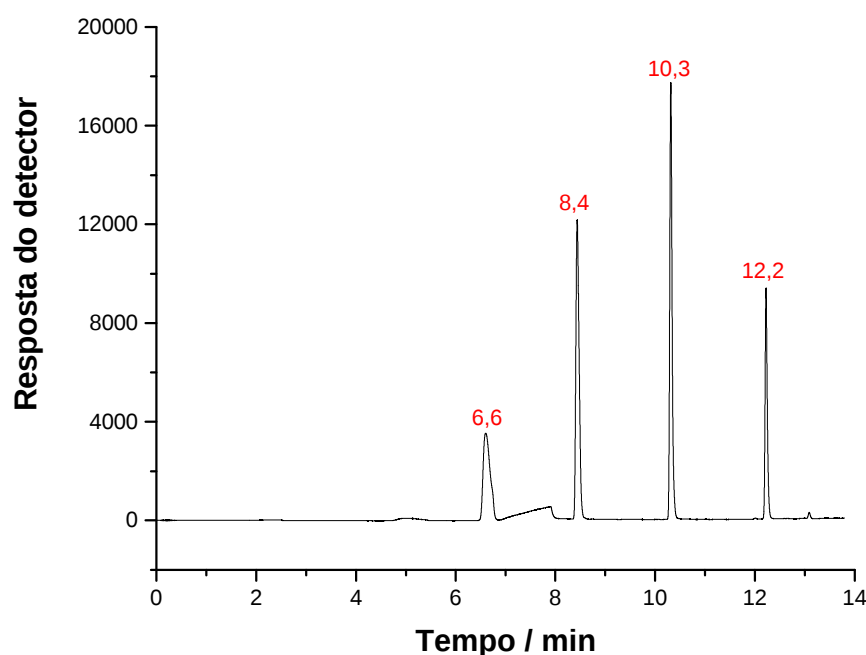


Figura 10 – Cromatograma de uma solução padrão de THM a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, onde: $t_R = 6,6$ min: CHCl_3 , $t_R = 8,4$ min: CHCl_2Br , $t_R = 10,3$ min: CHClBr_2 e $t_R = 12,2$ min: CHBr_3 .

Várias programações de temperatura da coluna foram testadas, porém a programação de temperatura inicial de 40 °C, durante 7 minutos, rampa de 30 °C min^{-1} até 180 °C, mantendo-se a temperatura final durante 1 minuto,

possibilitou uma boa separação dos picos referentes aos quatro THMs estudados, como pode ser observado na figura 10.

Nas condições cromatográficas utilizadas, os compostos foram identificados pelos seus tempos de retenção: 6,6; 8,4; 10,3 e 12,2 minutos para o CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 , respectivamente.

4.3. Otimização da metodologia

Na extração e análise de THMs em água usando a técnica de SPME e CG, algumas variáveis podem influenciar nos resultados. Como a técnica se baseia no processo de transferência destas espécies da fase aquosa para a fase gasosa, “headspace”, variáveis como a força iônica da fase aquosa, a temperatura e o tempo de aquecimento da amostra influenciam neste processo.

As espécies que vão sendo transferidas para a fase gasosa são adsorvidas na superfície da fibra estabelecendo o equilíbrio fase líquida/fase gasosa/fase sólida. O sentido do deslocamento do equilíbrio de adsorção é fortemente influenciado pelas características da fibra.

Na análise cromatográfica, os THMs adsorvidos na fibra devem ser dessorvidos na região do injetor. Essa dessorção é feita pelo aquecimento da fibra e arraste dos voláteis pelo gás através da coluna. A temperatura do injetor e o tempo de “splitless” são dois outros fatores que afetam a resposta do detector.

Em função do número de variáveis que afetam a extração de THM em água por SPME procurou-se fazer um experimento obedecendo a um planejamento fatorial completo.

As extrações foram realizadas conforme a metodologia descrita no item 3.3. A agitação, no momento da extração por SPME, foi necessária para facilitar o transporte dos analitos para a fase estacionária e assim reduzir o tempo de equilíbrio.

4.3.1. Estudo multifatorial

Foi realizado um experimento obedecendo a um planejamento fatorial 2^3 em que foram avaliados os efeitos quantitativos dos fatores: força iônica, temperatura e tempo de extração, em dois níveis. Nesse experimento foram realizados oito ensaios (com uma repetição) sendo os efeitos dos fatores avaliados pelas médias das áreas dos picos no cromatograma relacionadas às concentrações de cada THM em cada ensaio. Os dados obtidos são mostrados na tabela 5.

Tabela 5 – Médias das áreas dos picos atribuídos aos THMs obtidos nos ensaios do experimento.

Ensaio	Trihalometanos			
	CHCl_3	CHCl_2Br	CHClBr_2	CHBr_3
1 e 2	1.859.809	401.249	376.061	152.504
3 e 4	2.010.008	380.309	380.541	154.501
5 e 6	1.836.622	390.808	371.731	160.389
7 e 8	1.961.205	391.477	357.952	154.207
9 e 10	1.881.986	439.776	404.635	175.527
11 e 12	1.639.067	333.827	341.939	163.784
13 e 14	1.747.501	390.092	380.455	175.801
15 e 16	1.947.928	399.722	370.833	169.546

A observação dos dados da tabela 5 revela que não existem grandes variações nas áreas atribuídas a cada um dos trihalometanos. Para o clorofórmio a variação dos resultados não atinge 20 %, o que é aceitável numa análise cromatográfica. Situações semelhantes são encontradas nos resultados dos outros trihalometanos.

Na análise dos resultados do planejamento, não foram observados efeitos de interação estatisticamente significativos entre os fatores estudados. No caso de inexistência de efeitos de interação entre os fatores, efeitos principais podem ser interpretados separadamente.

Desta forma, optou-se por fazer um estudo do comportamento simultâneo entre os fatores força iônica e tempo de extração, mantendo-se constante a menor temperatura de extração em estudo, 30 °C, ou seja,

temperatura na qual as soluções padrão ou amostras são submetidas para que ocorra a partição entre os vapores de THM e a fibra PDMS.

De acordo com LOPES (2004), o aumento da temperatura de extração diminui o tempo necessário para atingir o equilíbrio por que aumenta a difusibilidade do analito na matriz e no recobrimento da fibra. Entretanto, temperaturas superiores a 30 °C geralmente diminuem o coeficiente de partição (k_D) entre a fase extratora (fibra) e o analito, diminuindo a quantidade extraída pela fibra, principalmente para as espécies mais voláteis.

PARREIRA et. al. (2002), na determinação de THMs em água potável de cidades do estado de MG utilizando HS/SPME, utilizou a temperatura de extração de 30 °C, por apresentar maiores valores de resposta (áreas), para a maioria dos compostos, do que as temperaturas de 40 e 45 °C testadas.

Tendo estabelecido 30 °C como a temperatura de extração, um novo planejamento fatorial foi realizado para a determinação do tempo necessário para que o equilíbrio entre as espécies e a fase extratora fosse estabelecido (tempo de extração) e para avaliar uma possível interação com a força iônica do meio. O planejamento fatorial adotado foi o planejamento tipo “estrela”. Nesse experimento foram realizados onze ensaios (sem repetição) sendo os efeitos dos fatores avaliados pelas áreas dos picos atribuídos aos THMs nos cromatogramas obtidos em cada ensaio. Os dados obtidos são mostrados na tabela 6.

Tabela 6 – Áreas obtidas nos ensaios do planejamento fatorial tipo estrela para determinação do tempo de extração e efeito da força iônica.

Trihalometanos				
Ensaios	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
1	1.043.323	245.249	235.232	115.457
2	1.198.046	262.923	237.793	119.121
3	1.234.605	280.345	260.886	130.391
4	1.283.355	282.076	261.524	127.307
5	1.187.782	249.070	239.679	124.125
6	1.283.359	275.298	250.618	126.346
7	1.170.237	247.101	228.869	103.821
8	1.321.509	289.655	269.907	131.786
9	1.220.029	270.958	257.534	124.922
10	1.293.822	280.270	259.758	125.426
11	1.283.191	282.162	260.547	128.007

Os dados da tabela 6 indicam que uma maior quantidade de analitos são extraídos por SPME quando os níveis máximos dos fatores força iônica e tempo de extração foram testados, ou seja, 2,2000 g e 7,5 minutos respectivamente (ensaio 8).

Porém, durante as análises cromatográficas observou-se um efeito de cauda nos picos dos compostos em estudo, prejudicando a quantificação dos mesmos. Este efeito pode ser atribuído à umidade dentro do frasco de análise, uma vez que o tempo de contato da fibra com a fase vapor é maior. Desta forma, optou-se por utilizar o tempo de 5 minutos para a extração, onde o efeito de cauda é minimizado, não interferindo na separação e quantificação dos THMs.

Em relação à quantidade de sal optou-se por empregar 2,0000 g de sulfito de sódio, uma vez que este fator não tem efeito significativo sobre as análises.

4.3.2. Estudo unifatorial

O estudo unifatorial para a otimização da técnica de extração de THMs em águas empregando micro extração em fase sólida, consistiu em fixar todos os fatores otimizados anteriormente, como o tempo e temperatura de extração, temperatura da coluna, do detector, dentre outros, variando apenas os fatores ainda não otimizados: tipo de fibra e volume da amostra.

As condições cromatográficas utilizadas foram as mesmas otimizadas no item 3.2.

4.3.2.1. Seleção do tipo de fibra

Na SPME, a matriz e o revestimento que compõem as fibras competem pelo analito. Assim, a natureza química do analito determinará o tipo de fibra a ser usada. Dois tipos de fibras, polidimetilssiloxano (100 -PDMS) de 100 µm de espessura e a polidimetilssiloxano-divinilbenzeno (65-PDMS/DVB) de 65 µm de

espessura, foram testadas experimentalmente para a seleção da fibra que proporcionasse maior extração. A seleção do tipo de fibra foi realizada empregando amostra de água mineral fortificada contendo $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada composto em estudo.

As respostas do detector em função do tipo de fibra utilizado estão apresentadas na figura 11.

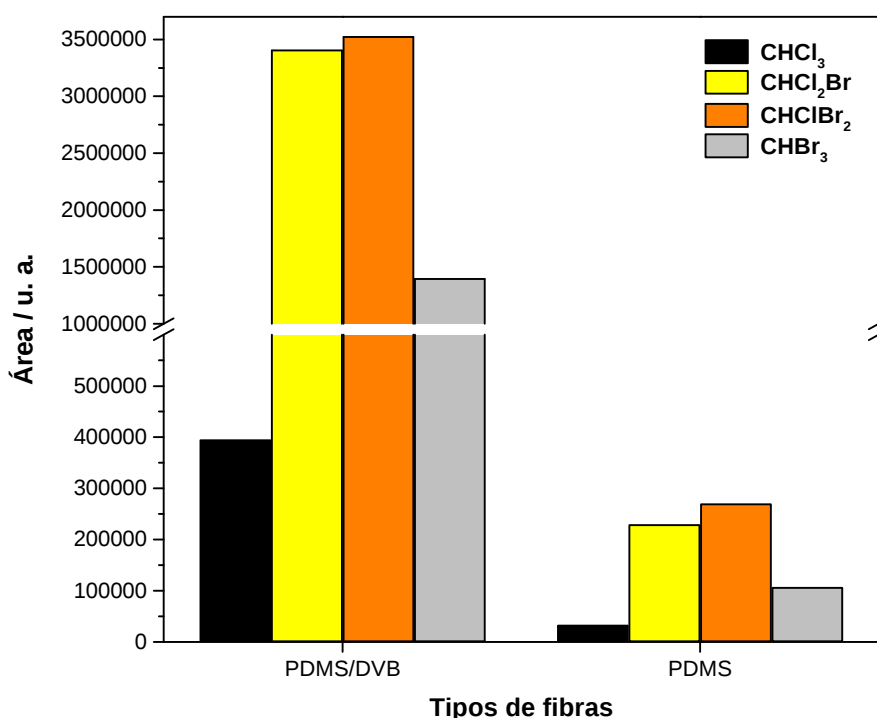


Figura 11 - Extração de THMs em água por SPME utilizando dois tipos de fibras

Comparando-se os resultados apresentados acima, verificou-se que para os compostos em estudo, a eficiência da extração foi em média quatorze vezes maior quando a fibra utilizada era a PDMS/DVB.

Embora a fibra PDMS/DVB extraísse maiores quantidades dos analitos, optou-se por empregar a PDMS, pois esta fibra é menos afetada pela umidade, não interferindo desta forma na separação e quantificação dos THMs. Além disso, esta fibra atende com eficiência aos objetivos da técnica de extração SPME, pois geralmente águas destinadas ao consumo humano apresentam teores de THMs bromados inferiores a $30,00 \mu\text{g L}^{-1}$ e de CHCl_3 abaixo de $100,00 \mu\text{g L}^{-1}$.

Resultados semelhantes foram encontrados por CHO et. al. (2003), em análises de THMs em água potável usando HS/SPME. Os valores encontrados utilizando a fibra PDMS/DVB foram em média quinze vezes maiores do que os valores apresentados pela fibra PDMS.

4.3.2.2. Volume da amostra

Os volumes de amostras, 34,0; 24,0 e 14,0 mL de solução padrão (10,0; 20,0 e 30,0 mL de “headspace”) foram avaliados para a otimização das melhores condições de análise e verificação da relação existente entre volume e quantidade de THMs extraídos por SPME. Soluções padrões de THMs preparadas em água mineral a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, foram utilizadas como amostras, empregando a fibra PDMS como fase extratora.

Os resultados obtidos para as áreas dos THMs estão apresentados na figura 12.

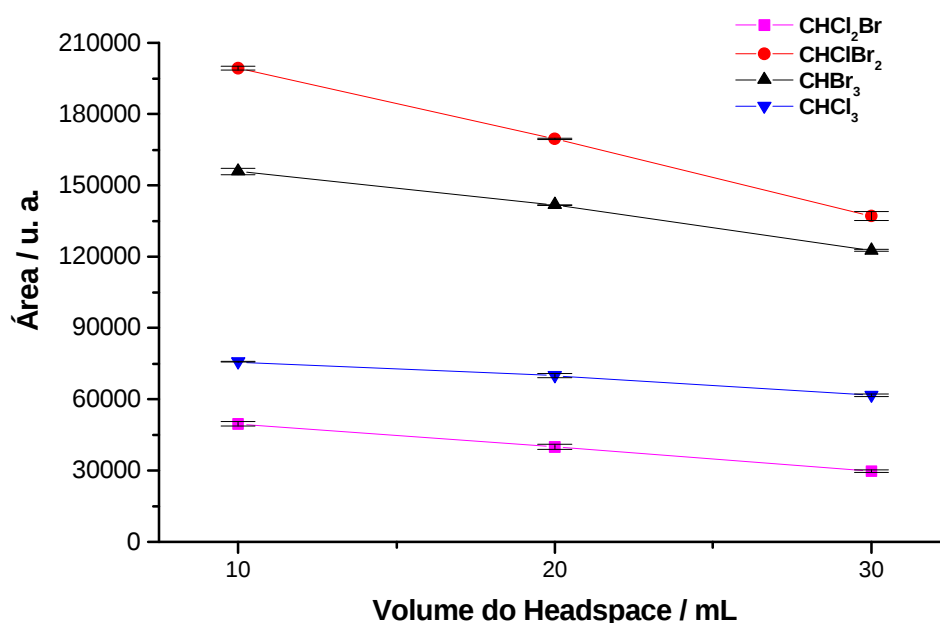


Figura 12 – Efeito do volume da amostra na área do pico atribuído aos THMs na análise cromatográfica.

Conforme mostrado na figura 12, a fração extraída para os quatro THMs tende a diminuir quando o volume da amostra diminui (ou o volume do “headspace” aumenta). Assim, de acordo com os resultados obtidos, optou-se pelo volume de 34,0 mL de amostra (ou 10,0 mL de “headspace”), por fornecer uma maior quantidade de analito extraído.

4.3.2.3. Tempo de “splitless”

O efeito do tempo de splitless na resposta cromatográfica de cada THM foi avaliado, colocando-se a fibra no centro da zona aquecida do injetor sob fluxo do gás de arraste de 1,8 mL/min.. A injeção foi realizada variando-se o tempo de splitless em 1, 2, 4, 6 e 8 minutos, para obtenção da condição cromatográfica que apresentasse melhor eficiência.

Os resultados obtidos estão apresentados na figura 13.

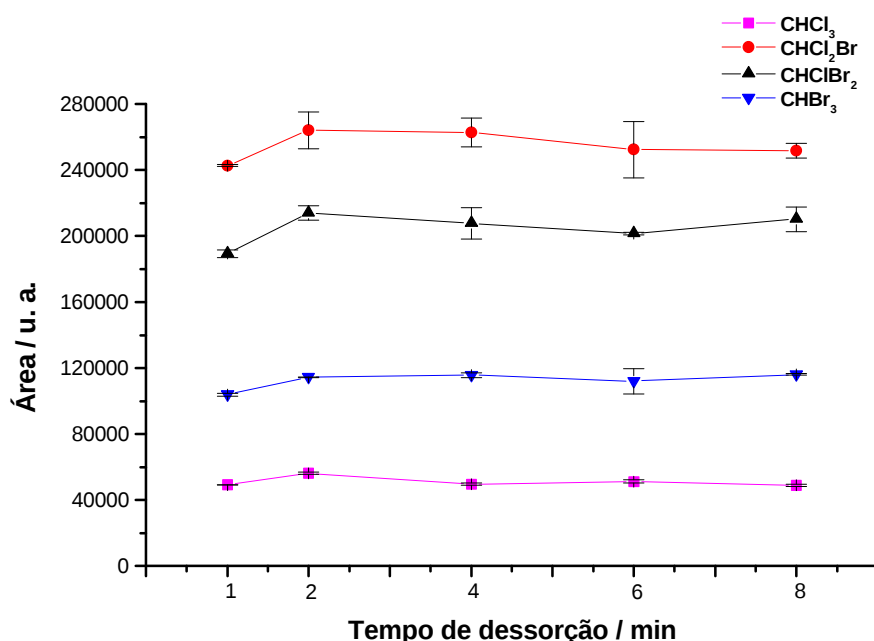


Figura 13 – Efeito do tempo de “splitless” sobre a quantidade de analito extraída.

Pelos resultados obtidos, pôde-se observar que a dessorção térmica dos THMs adsorvidos pelo revestimento da fibra foi efetiva em todos os tempos testados. Esta facilidade de dessorção se deve ao fato de que em temperaturas mais

altas o coeficiente de partição revestimento/gás decresce juntamente com a capacidade de retenção dos analitos pela fibra. Outro fator importante a considerar é o fluxo de gás de arraste dentro do injetor do cromatógrafo que também facilita a remoção do analito do revestimento.

Pelas áreas obtidas pode-se observar uma pequena diferença entre 1 min e os demais tempos de dessorção da fibra no modo splitless. Após 2 min de splitless, para todos os THMs as áreas permaneceram praticamente constantes, não apresentando diferenças significativas. Entretanto, analisando os cromatogramas obtidos (Figura 14), observa-se após 2 min de splitless o aparecimento de picos com caudas e um aumento no nível de ruído, principalmente próximo ao tempo de retenção do CHCl_3 (~6 min) e entre os picos do CHCl_3 e CHCl_2Br .

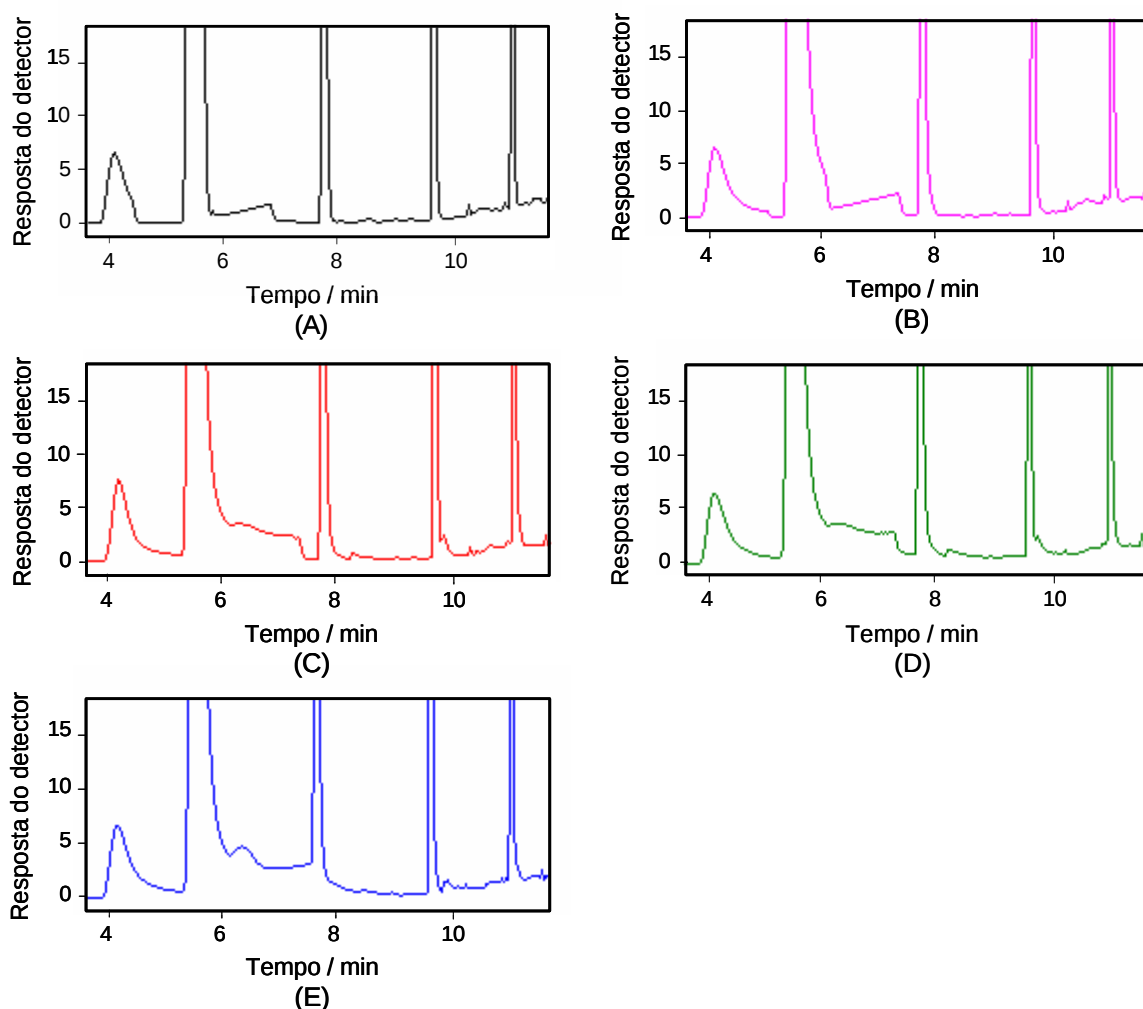


Figura 14 - Cromatogramas de uma solução padrão de THMs a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, onde: (A) corresponde ao tempo de purga fechada do gás de arraste de 1 min; (B) corresponde a 2 min; (C) corresponde a 4 min; (D) corresponde a 6 min e (E) corresponde a 8 min.

Levando em consideração uma melhor resolução cromatográfica dos picos, ou seja, sem efeito de cauda durante a corrida cromatográfica, 1 minuto, no modo splitless, ou seja, tempo que a purga do gás de arraste permanece fechada, foi o tempo de splitless selecionado.

4.4. Validação do método analítico

O objetivo de uma análise é gerar informações confiáveis, exatas e interpretáveis sobre a amostra e, para garantir que o método analítico gere estas informações, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação. A validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento (RIBANI et al., 2004).

4.4.1. Seletividade

De acordo com a IUPAC, a seletividade é uma característica qualitativa que indica o grau ou extensão em que outras substâncias interferem na determinação de uma espécie por um dado procedimento. Um interferente é usualmente definido como um agente químico que causa um erro sistemático na determinação da espécie desejada (DEN BOEF e HULANICKI, 1977).

Para o estudo deste parâmetro, uma solução padrão a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e a matriz da solução, isenta dos analitos em estudo, foram submetidas ao mesmo processo de extração e análise, conforme as condições otimizadas e descritas no item 3.2.

Os cromatogramas da solução padrão e da matriz da solução utilizada no estudo da seletividade do método são mostrados na figura 15.

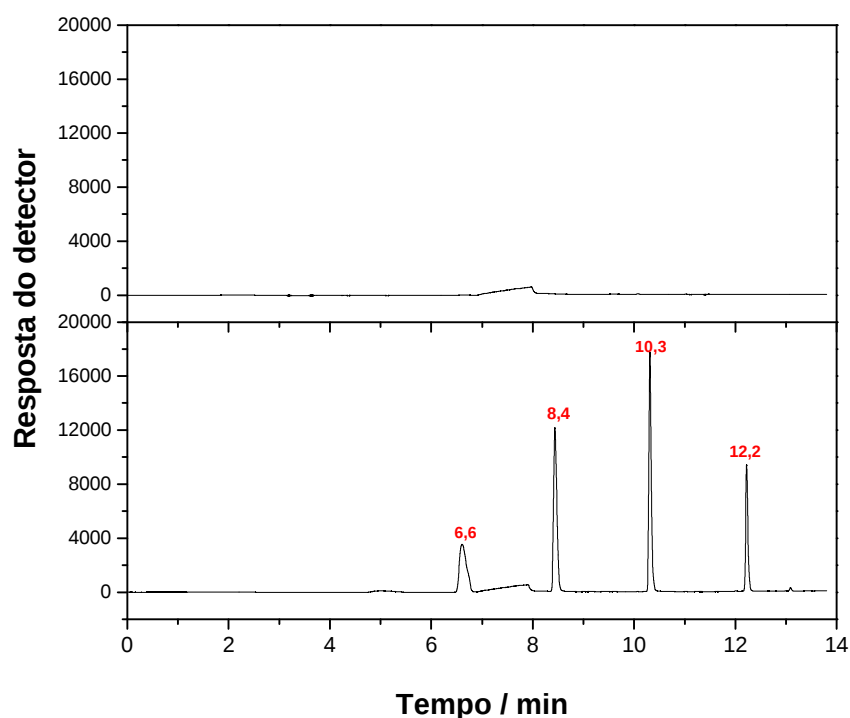


Figura 15 - Cromatograma representativo de uma matriz de água mineral isenta de interferentes e de uma matriz fortificada de THMs a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$, onde: $t_R = 6,6 \text{ min}$: CHCl_3 , $t_R = 8,4 \text{ min}$: CHCl_2Br , $t_R = 10,3 \text{ min}$: CHClBr_2 e $t_R = 12,2 \text{ min}$: CHBr_3 .

Foi verificado, pelos cromatogramas obtidos e apresentados na figura 15, que a matriz utilizada na preparação das soluções padrão não apresenta interferentes eluídos no mesmo tempo de retenção dos THMs analisados. A utilização de um detector por captura de elétrons, torna o método bastante seletivo, uma vez que o detector é seletivo para um pequeno grupo de compostos.

4.4.2. Linearidade e faixa de aplicação

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentração do analito na qual o método pode ser aplicado.

No estudo da linearidade de resposta do método, foram escolhidas concentrações que melhor atendessem aos objetivos do trabalho: 5,00; 10,00;

20,00; 40,00; 60,00 e 80,00 $\mu\text{g L}^{-1}$, para o CHCl_3 e 0,50; 2,50; 4,50; 6,50 e 8,50 $\mu\text{g L}^{-1}$, para o CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 .

Para o método estudado foi observada uma boa linearidade de resposta na faixa de 5,00 a 60,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o CHCl_3 e de 0,50 a 8,50 $\mu\text{g L}^{-1}$, para os demais THMs estudados. Concentrações acima de 60,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ de CHCl_3 apresentaram problemas de saturação da fibra de PDMS.

A partir dos dados obtidos dos cromatogramas, foi possível construir as curvas analíticas correlacionando os valores de concentração à área de seus respectivos picos, como mostra a figura 16. As curvas analíticas para cada THM estudado, foram construídas na faixa de trabalho empregada no estudo da linearidade de resposta do método.

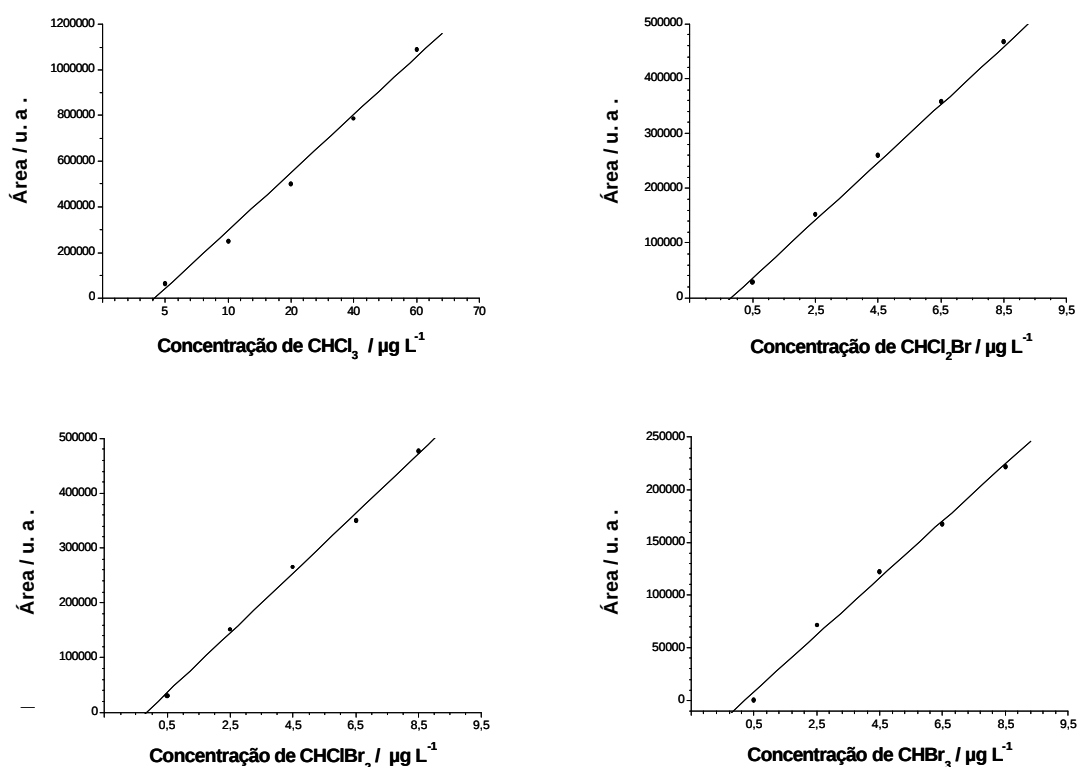


Figura 16 - Curvas analíticas de THMs: CHCl_3 (5,00; 10,00; 20,00; 40,00 e 60,00 $\mu\text{g L}^{-1}$); CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 (0,50; 2,50; 4,50; 6,50 e 8,50 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Os respectivos coeficientes de regressão linear das curvas analíticas dos THMs obtidas estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros das equações de regressão linear das curvas padrão de THMs ($y = ax + b$).

Parâmetros de regressão	Trihalometanos			
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
a	17830	52791	54473	25555
b	67718	9898,2	9383,3	4637,5
R²	0,9956	0,9909	0,9966	0,9988

Os resultados apresentados na tabela 7 indicam que existe uma boa resposta linear do método para todos os compostos estudados (valores de R^2 , ou seja, valores do coeficiente de determinação maiores que 0,99). Desta forma, pode-se dizer que as curvas analíticas descrevem com grande precisão os dados experimentais.

4.4.3. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. Para a determinação dos limites de detecção dos THMs, foi utilizado o método visual como procedimento experimental. Neste procedimento, soluções padrão em concentrações decrescentes conhecidas, foram analisadas, até a menor concentração que se pode distinguir entre o ruído e o sinal analítico (RIBANI et. al., 2004).

O limite de quantificação corresponde à menor quantidade do analito que pode ser quantificada com um nível aceitável de precisão e veracidade (INMETRO, 2003). Este fator foi calculado considerando-se a relação $LQ = 10 \times LD$, aumentando assim, a precisão das medidas.

Os limites de detecção e de quantificação para os THMs estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 – Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para os THMs

Trihalometanos	LD ($\mu\text{g/L}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)
CHCl_3	0,010	0,100
CHCl_2Br	0,005	0,050
CHClBr_2	0,001	0,010
CHBr_3	0,020	0,200

PARREIRA (2002), em estudo para determinação de trihalometanos em água potável de cidades do estado de Minas Gerais, utilizando HS/SPME, encontrou os seguintes limites de detecção: $0,060 \mu\text{g L}^{-1}$ para o CHCl_3 , $0,006 \mu\text{g L}^{-1}$ para o CHCl_2Br , $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$ para o CHClBr_2 e $0,012 \mu\text{g L}^{-1}$ para o CHBr_3 . As pequenas diferenças entre os valores obtidos neste estudo e os da literatura podem ser atribuídas às condições de análise, como equipamentos, analistas, etc.

4.4.4. Precisão

A precisão é um termo geral usado para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, em condições definidas. A precisão pode ser determinada em condições de repetibilidade, ou seja, condições mais homogêneas possíveis: mesma amostra, mesmo analista, mesmo equipamento, mesmo dia; ou em condições intermediárias: mesma amostra, diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou diferentes dias ou diferentes técnicas, INMETRO (2003).

Neste trabalho avaliou-se a precisão da técnica de extração SPME sob condições de repetibilidade e condições intermediárias.

4.4.4.1. Repetibilidade

A precisão do método de extração de THMs em água por SPME, em condições de repetibilidade, foi determinada através do cálculo da estimativa

do desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV), entre as medidas de 7 replicatas de uma solução padrão de THMs a $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, submetidas ao procedimento de análise otimizado. As análises foram realizadas sob as mesmas condições, ou seja, empregando a mesma solução padrão, mesmo operador, mesmo dia e mesmo equipamento.

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9 – Áreas dos picos e coeficientes de variação (CV) obtidos após sete extrações dos THMs em amostras de água

Trihalometanos	Área	CV
CHCl_3	19.544	2,9
CHCl_2Br	58.361	1,7
CHClBr_2	61.080	1,4
CHBr_3	33.285	0,7

Pelos dados apresentados na tabela 9, o erro relativo está entre 0,7 e 2,9 % para os THMs analisados, que é bastante razoável, considerando a baixa concentração das amostras em estudo. Em se tratando de um método instrumental pode-se dizer que a técnica otimizada apresentou uma boa repetibilidade, uma vez que CV de até 20% são aceitáveis, dependendo da complexidade da amostra (RIBANI, et. al. 2004).

4.4.4.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária refere-se às variações ocorridas dentro de um mesmo laboratório, quando um ou mais fatores são alterados.

Neste trabalho, para avaliar a precisão da metodologia proposta, sob condições intermediárias, uma solução padrão de THM a $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, em água mineral, foi analisada em três dias consecutivos, no mesmo laboratório e por um único analista. Todas as análises foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um branco.

Os valores das áreas de THMs obtidas das amostras e os coeficientes de variação (CV) obtidos estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10 – Áreas dos picos e coeficientes de variação (CV) obtidos após análise realizada em três dias consecutivos, pelo mesmo analista

	Trihalometanos							
	CHCl ₃		CHCl ₂ Br		CHClBr ₂		CHBr ₃	
	Área	CV	Área	CV	Área	CV	Área	CV
1º Dia	172.506	0,1	277.059	0,4	287.491	0,4	140.756	0,3
2º Dia	173.667	1,5	277.126	0,5	288.233	0,2	141.034	0,6
3º Dia	168.174	1,2	270.289	0,9	272.637	0,6	137.147	0,9
Média	171.449	0,9	274.825	0,6	282787	0,4	139.646	0,6

De acordo com os resultados dispostos na Tabela 10, pode-se afirmar que a técnica de extração SPME apresentou ótima precisão em condições intermediárias, uma vez que os valores das áreas apresentadas são estatisticamente iguais para os diferentes dias de análise, para cada um dos THMs estudados.

4.4.5. Exatidão

Segundo o INMETRO (2003), a exatidão expressa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência.

Para a realização deste estudo, uma mesma solução padrão de THM a 1,00 µg L⁻¹, em água mineral, foi analisada por três métodos de extração diferentes. O primeiro método utilizado foi a microextração em fase sólida, otimizada neste trabalho. Os resultados obtidos pela técnica a validar (SPME), foram comparados com os resultados obtidos pelo método “headspace” (HS) e extração líquido-líquido (ELL), utilizados como métodos de referência.

Inicialmente, foi avaliada a linearidade de resposta das técnicas de referência, em função das concentrações dos THMs, uma vez que a

linearidade da técnica a validar já havia sido estudada no item 4.4.2. Os parâmetros da regressão linear obtidos são mostrados na tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros da regressão linear das curvas padrão de THMs ($y = ax + b$)

Parâmetros de regressão	Técnicas de extração	Trihalometanos			
		CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
A	ELL	2.341	2.734	2.107	896
	HS	5.737	5.054	2.429	472
B	ELL	4.412	2.178	563	117
	HS	16.198	9.195	2.302	943
R ²	ELL	0,9957	0,9981	0,9978	0,9970
	HS	0,9913	0,9924	0,9989	0,9838

Os resultados apresentados na tabela 11 indicaram que existe uma boa resposta linear dos métodos para a maioria dos compostos estudados (valores de R² maiores que 0,99). Desta forma, pode-se dizer que as curvas analíticas descreveram com grande precisão os dados experimentais, contribuindo para a exatidão do método.

Os métodos utilizados como referência, ELL e HS, mostraram na faixa de concentração estudada, uma linearidade semelhante àquela obtida pela metodologia otimizada (tabela 7).

Depois de avaliada a linearidade de resposta das técnicas de referência, a exatidão foi analisada comparando-se os resultados individuais encontrados utilizando a técnica SPME e os valores aceitos como referência. Os valores das medidas obtidas estão apresentados na tabela 12.

Os ensaios dos métodos testados foram realizados em triplicatas, utilizando a mesma amostra.

Tabela 12 – Concentração dos THMs obtidas a partir das análises de uma mesma amostra pelos métodos de SPME, ELL e "headspace".

	Trihalometanos							
	CHCl ₃		CHCl ₂ Br		CHClBr ₂		CHBr ₃	
	C	CV	C	CV	C	CV	C	CV
SPME	1,16	1,2	0,97	0,2	1,06	0,4	1,13	1,2
ELL	2,30	5,1	1,03	6,8	1,17	5,3	1,34	2,1
HS	0,64	1,5	0,99	4,1	0,88	3,8	1,04	0,4

C = Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$

Avaliando-se os valores obtidos (tabela 12) após a extração dos THMs, pode-se concluir que a exatidão dos métodos são relativamente próximas com exceção do resultado para o CHCl₃, extraído usando ELL. . Esse resultado pode estar comprometido com uma fonte de erro que não foi identificada.

Observa-se que de maneira geral o erro na análise quando se usa o SPME fica entre 3 e 16 %. Desconsiderando o primeiro resultado, quando se usa a ELL, o erro fica entre 3 e 34 % e para a técnica de extração "headspace" entre 1 e 36 %. Além da exatidão um pouco melhor, a SPME mostra uma maior precisão com os coeficientes de variação (CV) obtidos sempre menores que os demais métodos.

Além da proximidade dos valores encontrados com o valor real que é de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$, a técnica de SPME se mostrou muito eficiente na análise de THM, apresentando também como vantagens a alta sensibilidade, não utilização de solventes, redução em níveis consideráveis do erro de injeção e uma redução significativa no tempo de análise, se comparado com o processo tradicional de extração líquido-líquido.

4.5. Quantificação de THMs em amostras do sistema de abastecimento da Universidade Federal de Viçosa

A aplicação da técnica otimizada e validada neste trabalho, foi realizada empregando amostras de água potável coletadas, em triplicata, em vários pontos no campus universitário. Estes pontos são utilizados pela divisão de Água e Esgoto da UFV para controle de rotina de qualidade da água. A localização dos pontos de coleta está relacionada na tabela 2.

As concentrações dos THMs obtidas, foram determinadas pelo método do padrão externo, empregando curvas analíticas e estão apresentados na tabela 13.

Tabela 13 – Concentração de THMs em amostras de águas tratadas coletadas em diferentes pontos da rede de distribuição do Campus da Universidade Federal de Viçosa (1= reservatório 1; 2= reservatório 2; 3= Capela; 4= veterinária; 5= celulose; 6= vila 7 casas; 7= vila Gianetti)

Trihalometanos									
Amostras de água	CHCl ₃		CHCl ₂ Br		CHClBr ₂		CHBr ₃		THM _{Totais}
	C	CV	C	CV	C	CV	C	CV	C
1	10,24	2,00	4,75	0,12	0,96	0,01	< 0,20	0,02	15,94
2	19,42	2,40	9,25	0,03	1,65	0,13	< 0,20	0,02	30,32
3	21,22	2,81	7,66	0,14	1,35	0,04	< 0,20	0,01	30,23
4	12,11	0,29	6,37	0,17	1,16	0,01	< 0,20	0,01	19,64
5	18,91	0,28	7,30	0,05	1,36	0,02	< 0,20	0,01	27,57
6	12,19	0,65	6,30	0,10	1,08	0,31	< 0,20	0,01	19,57
7	10,43	0,60	6,63	0,02	0,98	0,05	< 0,20	0,01	18,04

C = Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$

De modo geral, as amostras coletadas apresentaram valores de THM_{Totais} toleráveis, considerando o limite máximo permitido pela legislação brasileira que é de 100,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ para água potável.

Valores superiores de THMs_{Totais} foram encontrados no reservatório 2 em relação aqueles apresentados pelas amostras coletadas no reservatório 1. Isto se deve ao maior tempo de contato do cloro residual com a matéria orgânica presente na água ou até mesmo com o lodo formado nas paredes do reservatório, já que este se encontrava inoperante.

O CHCl₃ foi o THM mais encontrado, apresentando valores superiores a 50% dos THM_{Totais} para todas as amostras analisadas, o que pode ser explicado pelo maior teor de cloro nas águas devido ao processo de tratamento utilizado. No entanto, análises revelaram também a presença de THMs bromados, o que indica a presença de brometo nas águas que abastecem as ETAs. Esta contaminação pode estar relacionada com as características químicas dos solos da região ou por adição de reagentes contaminados no processo de tratamento de água.

Contaminação por THMs bromados também foram detectados por CARLOS (2002) em amostras de água potável distribuída às populações dos municípios de Viçosa e região.

Valores próximos a 85% de CHCl₃ em relação aos valores de THMs foram encontrados por outros autores: cerca de 80% em águas potáveis do município de São Paulo – SP (TOMINAGA e MIDIO, 1999) e cerca de 85% em águas potáveis do município de Viçosa - MG (CARLOS, 2002).

Na figura 16 está representado um cromatograma de uma amostra de água coletada diretamente da rede de distribuição do campus da Universidade Federal de Viçosa.

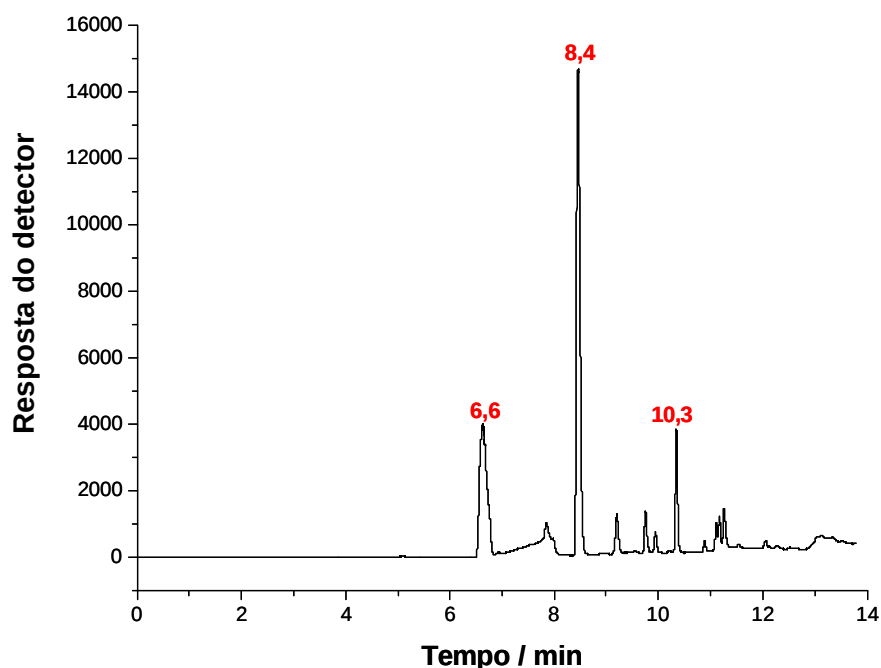


Figura 16 – Cromatograma da amostra de água coletada diretamente da rede de distribuição localizada ao lado da capela da Universidade Federal de Viçosa, cujos tempos de retenção para o CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 são: 6,6, 8,4 e 10,3 minutos respectivamente.

De acordo com o cromatograma apresentado na figura 16, pôde-se observar uma boa separação entre os picos atribuídos ao CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 , que aparecem em um tempo de 6,6, 8,4 e 10,3 minutos respectivamente. Não foi observado picos atribuídos ao CHBr_3 (tempo de retenção de 12,2 minutos), pois, provavelmente, este composto não se encontra nas amostras ou sua concentração nas mesmas se encontra abaixo do limite de quantificação do método, menor que $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$.

5. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi otimizada e validada a técnica de microextração em fase sólida (SPME), para extração e quantificação de THMs em água potável.

Na otimização da técnica foram avaliadas as interações e os efeitos individuais dos fatores força iônica, tempo e temperatura de extração dos THMs em água pela técnica HS/SPME. Também foram avaliados o tipo de fibra, volume da amostra e o tempo de “splitless” que proporcionassem melhores condições de extração e análise dos compostos de interesse.

Com a técnica otimizada, os parâmetros de validação, como seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão foram avaliados. Os resultados indicam que a técnica otimizada (HS/SPME) é eficiente na extração e análise dos THMs em água, com parâmetros de validação adequados. O limite de quantificação do método para os THMs CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 foram respectivamente 0,100; 0,050; 0,010 e 0,020 $\mu\text{g L}^{-1}$.

As amostras de água potável analisadas apresentaram resultados concordantes com a literatura, onde o teor de CHCl_3 encontrado em amostras de água clorada é sempre o mais elevado, em relação aos demais THMs.

Os teores de $\text{THM}_{\text{Totais}}$ encontrados nas amostras de águas coletadas na rede de distribuição da ETA - UFV, estão abaixo do limite máximo estabelecido pela portaria 1469 do ministério da saúde que é de 100,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ para água potável. As amostras analisadas apresentaram também contaminação por THMs bromados, cuja origem está associada à presença de brometo na água submetida ao processo de cloração.

De modo geral, a técnica de extração e análise empregada demonstrou ser adequada para determinação de trihalometanos em água potável,

proporcionando resultados comparáveis ao método de referência ELL e com o método de extração HS.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. Água – ***Determinação de trihalometanos em água tratada para abastecimento por extração líquido-líquido: NBR 13407***. Brasil, 1995. 8p.

ALLONIER, A.; KHALANSKI, M.; BERMOND, A.; CAMEL, V. ***Determination of Trihalomethanes in Chlorinated Sea Water Samples Using a Purge-And-Trap System Coupled to Gas Chromatography***. Talanta, n. 51, p. 467-477, 2000.

ARAÚJO, J. M. A. ***Microextração em fase sólida***. Química de alimentos: Teoria e prática. 2ª edição, p. 267 – 273, UFV, 1999.

BAIRD, C. ***Environmental chemistry***. 2 ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2001. 557p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. ***Controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade***. Portaria nº 1469/2000, de 29 de dezembro de 2000; Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001; 32p.

CARLOS, E. A. ***Otimização e validação de metodologia para quantificação de trihalometanos em águas***. Tese (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, MG, 2002.

CHO, D. H.; KONG, S. H.; OH, S. G. ***Analysis of Trihalometanos in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography***. Water Research 37, 2003; p. 402 – 408.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. ***Introdução a métodos cromatográficos***. 4 ed. Campinas: UNICAMP, 1990. 279p.

DEN BOEF, G.; HULANICKI, A. ***Recommendations for the usage of selective, selectivity and related terms in Analytical Chemistry***. 32: 1546, 1977.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E. ***Standard methods for the examination of water and wastewater***. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1998. 1224p.

FAWELL, J. Risk Assessment Case Study – Chloroform and Related Substances. ***Food and Chemical Toxicology***, n. 38, p. S91-S95, 2000.

FIGUEIREDO, R. F. de. ***Fatores que influenciam a formação de Trihalometanos em águas de abastecimento***. 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitaria e Ambiental. Rio de Janeiro, ABES, Anais, 1999.

GIBBONS, J.; LAHA, S. Water purification systems: ***A comparative analysis based on the occurrence of disinfection by-products***. Environmental Pollution, n. 106, p. 425–428, 1999.

HADAD, J. M. T. ***Qualidade da Água - Aspectos físicos-químicos e químicos***, 1ª ed., 1971, 135 p.

IGM - INSTITUTO GEOLÓGICO E MINEIRO (2001). ***Água subterrânea: conhecer para preservar o futuro***. Disponível em: http://www.igm.pt/edições_online/diversos/água_subterrânea/indice.htm
Acesso em 19 de Julho de 2004.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. ***Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos, DOQ-CCGRE-008***, Março, 2003.

JOHNSON, J. D. ***Disinfection***. Michigan: Ann Arbor Science, 1977.

KNUPP, V. F. ***Desenvolvimento de métodos cromatográficos para análise de poluentes utilizando técnicas modernas de extração***. Tese (Mestrado em Química), Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

KUIVINEN, J.; JOHNSON, H. ***Determination of trihalomethanes and some chlorinated solvents in drinking water by headspace technique with capillary column gas-chromatography***. Water Research, v. 33, n. 5, p. 1201–1208, 1999.

LANÇAS, F. M. ***Validação de métodos cromatográficos de análise - Métodos Cromatográficos de Análise 6***. Editora Rima, São Carlos, 2004.

LOPES, A. L. ***Preparo, caracterização e aplicação de materiais sorventes para microextração orgânica***. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, SP. Instituto de Química, 2004.

MACÊDO, J. A. B. ***Determinação de trihalometanos em águas de abastecimento público e de indústria de alimentos, MG***. 1997. 90f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MACÊDO, J. A. B. ***Águas e Águas***. Juiz de Fora: Ortofarma – Laboratório de Controle de Qualidade, 2000.

MAJORS R. E. ***Sample preparation in analytical chemistry organic analysis*** in: Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry, ed: Prentice-Hall, 1997, 35-36.

MEYER, S. T. ***O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública***. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 10 (1): 99-110, 1994.

MOHAMED, A.E., RIZKA, K.A. **THMs formation during chlorination of raw Nile River water**. Water Research, v.29, n.1, p.375-378, 1995.

PARREIRA, F. V.; CARVALHO, C. R.; DUARTE, M. W. A. **Determinação de trihalometanos em água potável de cidades do estado de Minas Gerais – Brasil utilizando HS/SPME-HRCG/ECD**. Revista de Ciências exatas e tecnológicas: Ciência & Engenharia, Universidade Federal de Uberlândia. Ano 11, nº 2, Julho/Dezembro, 2002.

PAZ, V. P. S. **Água um recurso limitado, 1996**. Disponível em:
http://www.pivotvalley.com.../água-um_recurso_limitado-vpspaz.ph
 Acesso em 08 de Junho 2004.

PAWLISZYN, J. **Theory of solid-phase micro extraction**. Journal of Chromatographic Science, vol. 38, Julho, 2000.

QUINTEIRO, L. M. C.; NOBRE, A. L. R.; FERREIRA, A. B. B.; GODOY, R. L. O.; CASTRO, I. M. C. **Microextração em fase sólida: fundamentos e aplicações em análise de alimentos**. Boletim do CEPPA/Centro de pesquisa e processamento de alimentos - V.1, n.1, jul./dez. 1983.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. Química Nova, 27(5): 771-780, 2004

RIBEIRO, L. F., FASANARO R., LAPOLLI F. R. **Dióxido de cloro: Suas características e aplicação na desinfecção de águas residuárias**. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre, 2000.

SANCHES, S. M., SILVA C. H. T. P., VIEIRA, E. M., **Agentes desinfetantes alternativos para o tratamento de água**. Química Nova na Escola, nº 17, Maio 2003.

SILVA, M. L.; CHAREST-TARDIF, G.; KRISHNAN, K.; TARDIF, R. ***Influence of oral administration of a quaternary mixture of trihalomethanes on their blood kinetics in the rat.*** Toxicology Letters, n. 106, p. 49-57, 1999

SOUZA, A. L. P.; ***Toxicologia dos trihalometanos formados em águas de abastecimento, 2002.*** Disponível em:

<http://200.195.151.238/pdfs/trihalometanos.pdf>

Acesso em 13 de janeiro 2004.

STACK, M. A.; FITZGERALD, G.; CONNELL, S.; JAMES, K. J. ***Measurement of Trihalomethanes in Potable and Recreational Waters Using Solid Phase Micro Extraction With Gas Chromatography-Mass Spectrometry.*** Chemosphere, n. 41, p. 1821-1826, 2000.

SUPELCO, ***Solid phase microextraction fiber assemblies***, Bellefonte, 1999.

TOMINAGA, M. Y. ***Trihalometanos em água de abastecimento: validação e correlação de dois métodos de análise por cromatografia em fase gasosa.*** 92p. Tese (Mestrado em Farmácia), Universidade de São Paulo, 1998.

TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. ***Exposição humana a trihalometanos presentes em água tratada.*** Revista de Saúde Pública, vol.33, 4:413-421,1999.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. ***Alternative Disinfectants and oxidants.*** Guidance Manual, 1999.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. ***Microextração por fase sólida.*** Revista Química Nova, v. 23, n. 4, p. 523 – 530, 2000.

WANG, J. L.; CHEN, W. L. ***Construction and validation of automated purge and trap gas chromatography for the determination of volatile organic compounds.*** Journal of chromatography A, 927, 2001, p.143-154.