AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

# CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO ANALÍTICA NA DETERMINAÇÃO DE TRIALOMETANOS EM ÁGUAS POTÁVEIS POR PURGA E ARMADILHA ACOPLADA À CROMATOGRAFIA A GÁS

**NELSON VICENTE DA COSTA JUNIOR**

**Dissertação apresentada como parte dos Requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. José Oscar Willian Vega Bustillos

**SÃO PAULO**
**2010**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**
**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

# CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO ANALÍTICA NA DETERMINAÇÃO DE TRIALOMETANOS EM ÁGUAS POTÁVEIS POR PURGA E ARMADILHA ACOPLADA À CROMATOGRAFIA A GÁS

**NELSON VICENTE DA COSTA JUNIOR**

**Dissertação apresentada como parte dos Requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. José Oscar Willian Vega Bustillos

**SÃO PAULO**
**2010**

Primeiramente a Deus, aos meus pais Nelson e Leontina, a minha esposa Neide, e meus filhos Lucas e Matheus pelo amor e carinho que a mim ofereceram, dando forças para chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo Dr. José Oscar pela orientação e incentivo na elaboração do trabalho.

À Maria José pela amizade e por ter me apresentado ao meu orientador e por ter sido minha auxiliadora em todo este trabalho.

À Dra. Maria Claudia França da Cunha Felinto por ter apoiado em toda as fases deste trabalho.

Aos amigos Edison Gibelli, Paula Pinheiro, Carlos Fernando, Felipe, Carlos, Juliana Ikebe, Elias Santana, Luciana da Conceição, Renata Rodrigues, Hélio Akira Elaine Jardins que contribuíram significativamente neste projeto.

À Empresa Beraca em especial a Suzi e ao Paulo que financiaram este trabalho.

A todos os professores do IPEN e da Faculdade Oswaldo Cruz que forneceram seus conhecimentos que contribuíram para a base deste trabalho.

Aos amigos Jorge Vaz e Nunes pelas orientações sobre o concentrador de purga e armadilha.

Aos meus familiares Nivaldo, Andréia, Cristina que colaboraram na coleta de amostras para os ensaios.

A meus pais Nelson (*in memorian*) e Leontina que sempre me incentivaram a vencer na vida.

À querida esposa Neide por sua dedicação, incentivo, compreensão durante a realização deste trabalho.

À minhas crianças Lucas e Matheus por me esperarem ansiosas pelo colo.

À Vilma por sempre apoiar este trabalho.

*.....o que poderia explicar todo o universo, algo como um elo de ligação entre todos os elementos da natureza, o fato da água poder estar no estado líquido, sólido e gasoso possibilitava a visão de que tudo é constituído de água.*

*Tales de Mileto*

# CARACTERIZAÇÃO E OTIMIZAÇÃO ANALÍTICA NA DETERMINAÇÃO DE TRIALOMETANOS EM ÁGUAS POTÁVEIS POR PURGA E ARMADILHA ACOPLADA À CROMATOGRAFIA A GÁS

**Nelson Vicente da Costa Junior**

## RESUMO

Neste trabalho desenvolveu-se uma metodologia analítica para determinação do teor de trialometanos THMs em amostras de águas potáveis, utilizando a técnica de purga e armadilha acoplada à cromatografia a gás (GC-PT). Os THMs são subprodutos da cloração da água que devem possuir um limite máximo de 100 $\mu g.L^{-1}$ segundo a legislação brasileira, estes compostos são suspeitos carcinogênicos humanos com base em estudos em animais de laboratório. A técnica de purga e armadilha extrai eficientemente estes compostos da água e a separação no cromatógrafo a gás ocorre utilizando coluna de leve polaridade e detector por captura de elétrons. Este detector é seletivo e o mais sensível para estes compostos halogenados. A metodologia desenvolvida foi validada nos itens de: linearidade, seletividade, exatidão, precisão, limite de quantificação, limite de detecção e robustez. O limite de detecção para os THMs foi menor do que 0,5 $\mu g.L^{-1}$. A exatidão e precisão foram adequadas para ensaios de compostos traços. As amostras de água potável foram coletadas na cidade de Suzano-SP, que pertence à região do Alto do Tietê, nesta região nas margens do rio a vegetação é predominante. Entre todos os THMs, o composto encontrado na água potável em maiores concentrações foi o clorofórmio onde os resultados quantitativos, utilizando esta metodologia apresentaram teores entre 15,9 à 111,0 $\mu g.L^{-1}$ em águas potáveis.

# ANALYTICAL CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION IN THE DETERMINATION OF TRIHALOMETHANES ON DRINKING WATER BY PURGE AND TRAP COUPLED TO A GAS CHROMATOGRAPHY

**Nelson Vicente da Costa Junior**

## ABSTRACT

This work shows an analytical methodology developed and optimized to determine trihalomethanes level THMs, in drinking water samples, using purge and trap coupled to gas chromatography (GC-PT). THMs are byproducts water chlorination, these compounds must have a maximum of 100 $\mu g.L^{-1}$ under Brazilian law, due these compounds be suspected human carcinogens base on studies in laboratory animals. The technique of purge and trap efficiently extracts these compounds from water, and the gas chromatograph separates the THMs. The GC uses a light polarity column and electron capture detector. This detector is selective and more sensitive in the detection of these compounds. The methodology was validated in terms of: linearity, selectivity, accuracy, precision, quantification limit, detection limit and robustness. The detection limit was less than 0,5 $\mu g.L^{-1}$. The accuracy and precision were adequate for testing the trace compounds. The drinking water samples were collected in the city of Suzano-SP, which belongs to “Alto do Tietê”, in this region lay “Tietê” river with predominant vegetation. The THMs compound found in drinking water at higher concentrations was chloroform where the spread of values found between 15,9 to 111,0 $\mu g.L^{-1}$ in drinking water.

# SUMÁRIO

**Página**


**1 INTRODUÇÃO ..... 1**
1.1 Importância da água ..... 1
1.2 Desinfecção da água potável ..... 2
1.3 Trialometanos em água potável ..... 3
1.4 Normas para os trialometanos e influência na saúde ..... 4
1.5 Agentes desinfetantes ..... 4
1.6 Importância do estudo dos trialometanos ..... 5
**2 OBJETIVOS** ..... 6
2.1 Objetivo geral ..... 6
2.2 Objetivos específicos ..... 6
**3 TRIALOMETANOS** ..... 7
3.1 Desinfecção da água ..... 7
3.2 Desinfecção por cloração da água ..... 8
3.2.1 Características gerais do cloro ..... 8
3.2.2 Ação do cloro na água ..... 8
3.2.3 Fatores que influenciam na eficiência da cloração ..... 10
3.3 Mecanismos de formação, estruturas e propriedades dos trialometanos ..... 10
3.4 Propriedades gerais dos THMs ..... 13
**4 SISTEMAS DE QUANTIFICAÇÃO DOS TRIALOMETANOS** ..... 16
4.1 Técnicas analíticas na detecção dos THMs em águas potáveis ..... 16
4.2 Amostragem de águas potáveis ..... 20
4.3 Métodos para enriquecimento de amostras ..... 21
4.4 Purga e armadilha ..... 21
4.5 Cromatografia a gás ..... 22
4.6 Detectores ..... 25
4.6.1 Detector de ionização de chama ..... 25
4.6.2 Detector por captura de elétrons ..... 27
**5 MATERIAIS E MÉTODOS** ..... 31
5.1 Materiais ..... 31
5.1.1 Reagentes ..... 31
5.1.2 Equipamentos ..... 31

5.1.3 Vidrarias e seringas ..... 32
5.2 Métodos ..... 32
5.2.1 Metodologia via detector de ionização de chama –GC/FID ..... 32
5.2.2 Metodologia analítica via concentrador de purga e armadilha e no detector por captura de elétrons – GC-ECD ..... 34
5.2.3 Solução estoque de clorofórmio ..... 36
5.2.4 Preparação da água reagente como solvente para padrões aquosos ..... 37
5.2.5 Alguns procedimentos de purificação de água milli-Q ..... 37
5.2.6 Preparação dos padrões aquosos ..... 37
5.2.7 Metodologia analítica para os THMs ..... 40
5.2.8 Preparação dos padrões de THMs ..... 40
5.9 Validação do método ..... 42
5.9.1 Seletividade ..... 42
5.9.2 Exatidão ..... 42
5.9.3 Precisão ..... 43
5.9.4 Limite de detecção ..... 43
5.9.5 Limite de quantificação ..... 44
5.9.6 Sensibilidade ..... 44
5.9.7 Robustez ..... 44
**6 RESULTADOS E DISCUSSÕES** ..... 45
6.1 Determinação do clorofórmio via GC/FID ..... 45
6.2 Determinação de clorofórmio via GC/ECD ..... 46
6.3 Curva de calibração, linearidade na faixa de trabalho e sensibilidade ..... 49
6.4 Exatidão através da recuperação ..... 58
6.5 Limite de detecção e limite de quantificação ..... 62
6.6 Precisão ..... 64
6.7 Robustez ..... 65
6.8 Determinação dos trialometanos em amostras de água potável ..... 66
**7 CONCLUSÕES** ..... 70
**TRABALHOS FUTUROS** ..... 73
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ..... 74

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Propriedades físico-químicas dos THMs ..... 14

TABELA 2 Resultados de duas amostras de águas potáveis da cidade de São Paulo, com e sem adição de tiossulfato de sódio ..... 17

TABELA 3 Sumário dos resultados dos níveis de THMs em Hong Kong ..... 19

TABELA 4 Configuração instrumental e condições analíticas do GC-FID ..... 34

TABELA 5 Condições do cromatógrafo a gás utilizando detector por captura de elétrons GC-ECD ..... 35

TABELA 6 Condições do concentrador por purga e armadilha P&T ..... 35

TABELA 7 Concentrações dos padrões de clorofórmio em água ..... 39

TABELA 8 Condições otimizadas para resolução melhor ..... 50

TABELA 9 Recuperação para o clorofórmio puro ..... 58

TABELA 10 Recuperação para o clorofórmio (CF) na mistura de THMs ..... 59

TABELA 11 Recuperação para o bromodiclorometano (BDCM) na mistura de THMs ..... 60

TABELA 12 Recuperação para o dibromoclorometano (BDCM) na mistura de THMs ..... 61

TABELA 13 Recuperação para o bromofórmio (BF) na mistura de THMs ..... 62

TABELA 14 Ensaios de brancos para o clorofórmio ..... 63

TABELA 15 Limites de detecção e quantificação para os THMs ..... 64

TABELA 16 Precisão para os THMs ..... 65

TABELA 17 Parâmetros da robustez ..... 66

TABELA 18 Resultados para o clorofórmio das amostras coletadas ..... 67

TABELA 19 Resultados para o bromodiclorometano das amostras ensaiadas . 69

TABELA 20 Resultados para o dibromoclorometano das amostras coletadas .. 70

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Principais trialometanos em águas de abastecimento..... 3

FIGURA 2 Possível mecanismo de formação dos trialometanos..... 11

FIGURA 3 Molécula do fosgênio..... 13

FIGURA 4 Diagrama de um sistema cromatográfico ..... 24

FIGURA 5 Esquema do detector por captura de elétrons ECD ..... 29

FIGURA 6 Sistema de purga e armadilha..... 36

FIGURA 7 Organograma das diluições para concentrações desejadas ..... 39

FIGURA 8 Fluxograma da metodologia analítica dos THMs..... 40

FIGURA 9 Cromatograma do clorofórmio, tempo de retenção de 5,1 min..... 45

FIGURA 10 Cromatograma de ensaio de clorofórmio em metanol..... 46

FIGURA 11 Cromatograma do metanol em ECD (detector por captura de elétrons) ..... 47

FIGURA 12 Cromatograma de ensaio da água reagente ..... 48

FIGURA 13 Cromatograma do clorofórmio em uma concentração de 1,0 µg/L. 48

FIGURA 14 Curva analítica para o clorofórmio..... 50

FIGURA 15 Cromatograma do padrão de THMs com 150 $\mu g.L^{-1}$, 1 – clorofórmio 2 – bromodiclorometano 3 – dibromoclorometano 4 – bromofórmio..... 52

FIGURA 16 Curva analítica para o clorofórmio em concentrações baixas ..... 52

FIGURA 17 Curva analítica para o clorofórmio em concentrações altas ..... 53

FIGURA 18 Curva analítica para o bromodiclorometano em concentrações baixas ..... 54

FIGURA 19 Curva analítica para o bromodiclorometano em concentrações altas ..... 54

FIGURA 20 Curva analítica para o dibromoclorometano em concentrações baixas ..... 55

FIGURA 21 Curva analítica para o dibromoclorometano em concentrações altas ..... 56

FIGURA 22 Curva analítica para o bromofórmio em concentrações baixas ..... 57

FIGURA 23 Curva analítica para o bromofórmio em concentrações altas ..... 57

FIGURA 24 Mapa de Suzano com os bairros onde as amostras de água potável que foram coletadas..... 68

## LISTA DE SIGLAS

BDCM - Bromodiclorometano

BF - Bromofórmio

CF – Clorofórmio

CV – Coeficiente de variação

DBCM – Dibromoclorometano

DB-5 MS - Coluna cromatográfica, 5 % polidifenilsiloxano e 95 % polidimetilsiloxano

DP – Desvio padrão

ECD – Detector de captura de elétrons

EPA – Agência de Proteção ambiental

FID – Detector de ionização de chama

GC – Cromatografia a gás

HPLC – Cromtografia líquida de alta eficiência

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

PA - Padrão analítico

PEG - Coluna cromatográfica, polietilenoglicol

QMD – Quantidade mínima detectável

$R^2$ – Coeficiente de correlação

Split – Com divisão de amostra

Slitless – Sem divisão de amostra

THM – Trialometano

THMs – Trialometanos

WHO – Organização mundial de saúde

VOCs – Compostos orgânicos voláteis

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Importância da água

Todas as formas de vidas na Terra dependem da água (Baird & Cann, 2005). A água é o composto mais abundante da superfície terrestre e sem ela a vida não existiria (Montgomery, 1985). De toda água do planeta Terra, mais de 97 % está localizada nos oceanos, inadequada para o consumo, aproximadamente três quartos de água doce estão presa nas geleiras e calotas polares. Os lagos e os rios constituem menos de 0,1 % do suprimento de água total, mas são as principais fontes de águas potáveis (Baird & Cann, 2005).

Sendo a substância química mais abundante em organismos vivos, a água desempenha funções tais como: o solvente de líquidos corpóreos; meio de transporte de moléculas; reguladora térmica; ação lubrificante; atuação nas reações de hidrólise, e outras (Marques, 2005). Um adulto precisa de no mínimo dois litros de água por dia, sendo a água, portanto, o alimento ingerido em maior quantidade quando comparado com os demais que são necessários ao nosso organismo juntos (Tominaga & Midio, 1999).

As doenças transportadas pela água tais como o cólera e a febre tifóide mataram milhões de pessoas no passado e causam ainda hoje grande problema, acarretando a miséria em países menos desenvolvidos (Manaham, 2005). A poluição de águas naturais por contaminantes biológicos e químicos é um problema mundial (Baird & Cann, 2005).

A escassez e a legislação cada vez mais restrita aumentam a importância da pureza da água (Ketola et al, 2002).

A água potável, segundo a portaria n.º 518 do Ministério da Saúde do Brasil (2004), destinada ao consumo humano é aquela em que os parâmetros de

potabilidade são respeitados.

### 1.2 Desinfecção da água potável

Desde o começo do século XX, o cloro em sua forma mais comum, de hipoclorito, vem sendo utilizado como principal desinfetante em água potável para impedir doenças transportadas pela mesma, devido a ele estar pronto e ser fácil para usar. Na purificação da água, o passo final é a desinfecção, este procedimento protege a água potável durante a distribuição contra contaminação externa e recrescimento de bactéria (Yu & Cheng, 1999). A desinfecção da água é um processo de eliminação de microrganismos patogênicos na água, incluindo bactérias, protozoários, vírus e algas (Di Bernardo, 1993). Quase todas as águas consumidas provêm de algum processo de purificação (Otenio, 2008).

No Brasil o cloro é o composto químico mais utilizado em Estações de Tratamento de Água (ETAs), mas há um crescente interesse por desinfetantes alternativos, devido à possibilidade de formação de trialometanos (THMs), que são compostos organoclorados que podem causar riscos à saúde pública, a formação destes compostos é verificada quando o cloro livre está presente e a água contém os chamados “precursores”, normalmente as substâncias húmicas. Além dos THMs, podem ser formados outros subprodutos como conseqüência da cloração, tais como haloacetonitrilas, haloacetonas, haloácidos, aldeídos de baixa massa molecular, e outros.

Outros desinfetantes são denominados alternativos, tais como: o dióxido de cloro, ozônio, peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta. A utilização destes desinfetantes alternativos a combinação deles não causam a formação dos THMs, mesmo quando há quantidade apreciáveis de substâncias húmicas na água, porém, podem ser responsáveis pela formação de outras substâncias que também são consideradas tóxicas ou cancerígenas. Na utilização do dióxido de cloro podem ser formados os compostos: clorito, clorato, clorofenóis, p-benzoquinona, ácidos oxálicos e maleicos, já na utilização de ozônio podem ser formados: aldeídos, ácidos carboxílicos aromáticos e ftalatos (Di Bernardo, 1993; Montgomery, 1985).

### 1.3 Trialometanos em água potável

Na década de 70 descobriu-se que os trialometanos (THM) e compostos halogenados de massa molecular elevada são produzidos durante a cloração da água, pela interação de certos ácidos orgânicos tais como ácidos húmicos e fúlvicos que estão geralmente presentes em águas superficiais (Richarson, 1988).

Em 1974, Bellar e colaboradores relataram que trialometanos de cloro e bromo estavam presentes em águas potáveis tratadas e concluíram que à sua causa foi a cloração.

Os THMs são moléculas compostas por apenas um carbono, com fórmula geral $CHX_3$, onde X representa um dos halogênios (Tominaga & Midio, 1999; WHO, 2005). Segundo Di Bernardo (1993) os trialometanos são obtidos pela substituição de dois ou mais átomos de hidrogênio do metano ($CH_4$) por átomos de cloro, bromo ou iodo.

Os THMs mais comumente encontrados em águas potáveis são: clorofórmio ou triclorometano ($CHCl_3$), bromodiclorometano ($CHBrCl_2$) (BDCM), dibromoclorometano ($CHBr_2Cl$) (DBCM) e tribromometano ($CHBr_3$) (Yu & Cheng, 1999; WHO, 2005). Também podem ser formados os compostos: diclorometano ($CH_2Cl_2$); iododiclorometano ($CHICl_2$); clorodiodometano ($CHI_2Cl$) (Di Bernardo, 1993).

Destes compostos, os dois primeiros são os mais freqüentes em águas de abastecimento, principalmente devido a presença de moléculas de ácidos húmicos, fúlvicos e himatomelânicos (Di Bernardo, 1993). A FIG.1 mostra os principais THMs em águas de abastecimento.

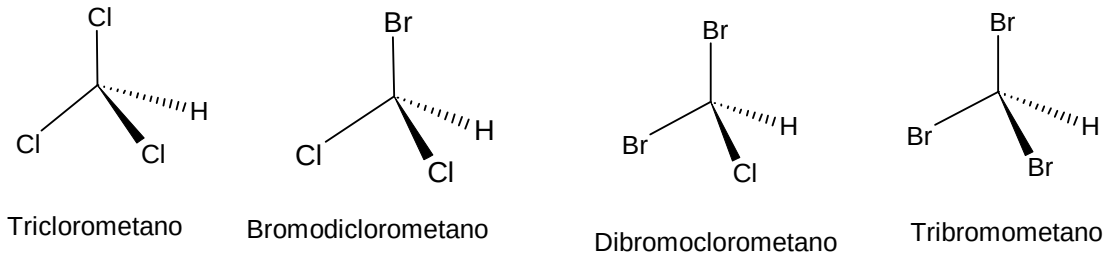



**FIGURA 1** – Principais trialometanos em águas de abastecimento.

No tratamento de água por cloração, diversos subprodutos podem ser formados além dos trialometanos, a saber: haletos de cianogênio, halopicrinas, hidratos de cloral, MX[3-cloro-4-(diclorometil)-5-hidroxi-2(5H)-furanona], ácidos haloacéticos, haloacetonitrilas, haloacetonas, haloaldeídos e halofenóis, que são devido à presença de ácidos fúlvicos e húmicos e outros ácidos presentes na água natural (Tominaga, 1998).

**1.4 Normas para os trialometanos e influência na saúde**

O clorofórmio é considerado um possível carcinogênico para seres humanos; esta informação é baseada em testes cobaias. Alguns estudos em animais mostraram uma ligação, entre a exposição à THMs específicos com tumores no fígado de camundongos e tumores nos rins de ratos e camundongos. Os estudos em humanos sugerem uma ligação entre exposição à THMs com câncer no reto e cólon. Também enfatizam que a exposição em altos níveis de THMs acarretam efeitos na reprodução. Os estudos epidemiológicos sugerem uma ligação nítida entre a exposição à água clorada, não somente por ingestão, mas por contato com a pele (adsorção dérmica) ou por inalação e o desenvolvimento de câncer na bexiga, aborto espontâneo e outras conseqüências reprodutivas adversas (Budziak & Carasek, 2007).

Os trialometanos totais são produtos secundários da desinfecção com cloro, segundo a Portaria nº 518 do Ministério da Saúde do Brasil (2004), que estabelece um valor limite de 0,1 $mg.L^{-1}$, ou seja, 100 $\mu g.L^{-1}$.

**1.5 Agentes desinfetantes**

A fim de minimizar a formação de THM, alguns desinfetantes como ozônio, cloroaminas e dióxido de cloro foram testados. Embora eles minimizem esta formação eles também criam novos problemas potenciais.

O ozônio não possui efeito residual durante a distribuição e tem custo elevado (Yu & Cheng, 1999).

As cloraminas são formadas quando o ácido hipocloroso reage com amônia ou na presença de compostos amoniacais, que estão em águas naturais (Di

Bernardo, 1993). Elas não são tão eficazes quanto o cloro e tem também propriedades toxicológicas. O dióxido de cloro pode gerar poluentes inorgânicos, tais como clorito e clorato. Por esta razão, o cloro é ainda largamente utilizado no mundo como desinfetante de água.

As pesquisas científicas sobre THMs como contaminantes em água focam nos seguintes itens:

a) O tratamento dos precursores antes da cloração.

b) A remoção dos THMs formados durante a cloração.

Muitas técnicas foram desenvolvidas para o tratamento dos precursores de THMs. Os métodos de separação física são: adsorção, coagulação e filtração de membrana. Outros métodos são por processos de oxidação avançados tais como peróxido de hidrogênio ($H_2O_2$) na presença de luz ultravioleta, ozônio ($O_3$) ou ultravioleta com ozônio ($UV/O_3$) e fotocatálise de dióxido de titânio ($TiO_2$).

Para a remoção dos THMs em águas potáveis os métodos de aeração/*stripping* de ar em torre acondicionada foram mais viáveis. Diversos métodos de destruição avançada de THMs foram propostos incluindo fotocatálise utilizando células de $TiO_2$ e radiação de feixe de elétron de alta energia (Yu & Cheng, 1999).

**1.6 Importância do estudo dos trialometanos**

Os trialometanos (THMs) são compostos gerados na água utilizada para o consumo humano, por serem compostos nocivos à saúde ao longo do tempo, o monitoramento da sua concentração é de suma importância.

O Ministério da Saúde do Brasil através da portaria n° 518, estipula um valor máximo para a soma de todos os THMs em águas de abastecimento público, que é de 100 $\mu g.L^{-1}$.

Este trabalho contempla a verificação dos teores de trialometanos em águas potáveis na cidade de Suzano-SP, utilizando um método para concentrar estes compostos em água para serem separados e quantificados pela técnica analítica de cromatografia a gás.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver, otimizar e validar uma metodologia analítica para a determinação do teor dos THMs em água potável, utilizando a técnica da purga e armadilha acoplada à cromatografia a gás com detector de captura de elétrons. Utilizar esta metodologia em amostras da cidade de Suzano-SP, para avaliação da água potável consumida pela população deste município referido.

## 2.2 Objetivos específicos

1) Desenvolver uma metodologia para determinar o teor dos trialometanos (THMs) em água potável através da técnica de purga e armadilha acoplada à cromatografia a gás com detector por captura de elétrons.

2) Validar o método desenvolvido nos itens: Seletividade, Sensibilidade, Linearidade, Faixa de Trabalho, Limite de detecção, Limite de quantificação, Exatidão, Precisão e Robustez.

3) Utilizar a metodologia desenvolvida para determinar trialometanos em águas potáveis de alguns bairros do município de Suzano-SP.

4) Avaliação dos resultados dos THMs em águas potáveis nos locais coletados.

# 3 TRIALOMETANOS (THMs)

## 3.1 Desinfecção da água

O processo de desinfecção de águas para a obtenção de sua potabilidade pode ser realizado por agentes químicos ou agentes não químicos. A eliminação pode ocorrer por um ou mais mecanismos descritos a seguir:

1) Destruição da estrutura celular

2) Interferência no metabolismo com inativação de enzimas

3) Interferência na biossíntese e no crescimento celular evitando a síntese de proteínas, ácidos nucléicos e coenzimas.

A eficiência da desinfecção é dada pela oxidação ou ruptura da parede celular, com conseqüente desintegração das células, onde uma difusão de um agente no interior da célula interfere na sua atividade.

A desinfecção não destrói todas as formas vivas e não elimina todos os organismos patogênicos, sendo assim, ela é um processo seletivo. A esterilização tem o papel da destruição completa de todas as formas de vida.

Os agentes químicos utilizados são oxidantes ou íons metálicos. Os oxidantes são: o cloro, o bromo, o iodo, o ozônio, o permanganato de potássio e o peróxido de hidrogênio. Os íons metálicos são: prata e cobre. Os agentes físicos utilizados são: o calor e a radiação ultravioleta.

Um desinfetante para ser utilizado em Estações de Tratamento de Água deve possuir as seguintes características:

1) Destruir em tempo razoável os organismos patogênicos, na quantidade que se apresentam e nas condições das águas;
2) Não ser tóxicos aos seres humanos e a animais domésticos em dosagens normais;
3) Não causar gosto ou cheiro nas águas em dosagens usuais.
4) Estar disponíveis a custo razoável a população;

5) Ter a concentração em água determinada de forma rápida, através de um método analítico simples;

6) Produzir uma concentração residual persistente do desinfetante na água, deste modo, assegurando a qualidade da água contra eventuais contaminações nas diferentes partes do sistema de abastecimento.

### 3.2 Desinfecção por cloração da água

O uso de cloro como desinfetante é bastante difundido no Brasil (Otenio, 2008). A cloração é conhecida por ser o mais importante método de desinfecção de água, ela é usada em todo o mundo por causa da sua eficácia e custo relativamente baixo (Budziak & Carasek, 2007).

#### 3.2.1 Características gerais do cloro

O cloro, nas condições normais, é um gás amarelo esverdeado, facilmente detectável pelo seu cheiro extremamente irritante e penetrante. Ele irrita as vias respiratórias em concentrações da ordem de 3,0 $mL.m^{-3}$ ar e chega a ser fatal na concentração de 1,0 $L.\ m^{-3}$. O cloro possui afinidade com muitas substâncias químicas, reagindo com quase todos os elementos e com a maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos, normalmente com desprendimento de calor. Na natureza, encontra-se combinado a numerosos elementos, principalmente ao sódio e ao potássio. Ele é produzido através da eletrólise do cloreto de sódio e água, onde o cloro desprende-se do anodo e o sódio deposita-se no catodo, formando também hidróxido de sódio. A reação é ilustrada na Equação 1:

$$2\ Na{-}Cl + 2\ H{-}OH \xrightarrow{\text{corrente elétrica}} 2\ Na{-}OH + Cl{-}Cl + 2\ H^{+} \qquad (1)$$

#### 3.2.2 Ação do cloro na água

A desinfecção da água para o consumo humano pode ser efetuada tanto pelo cloro gasoso como por seus compostos: hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio e dióxido de cloro.

O cloro age tanto na desinfecção em águas sem poluição como em águas poluídas, tendo um objetivo adicional, aproveitando-se de sua ação oxidante. Em sua ação desinfetante, ele destrói ou inativa os microrganismos patogênicos, algas e bactérias de vida livre, especialmente as ferro-redutoras do gênero Crenothrix e em sua ação oxidante, ele oxida os compostos orgânicos e inorgânicos presentes na água. A reação do cloro na água isenta de impurezas é mostrada na Equação 2:

$$Cl—Cl + H—OH \rightleftharpoons HO—Cl + H^+ + Cl^- \quad k_{eq} = 3{,}94 \times 10^4 \text{ a } 25\ ^{O}C \qquad (2)$$

Dependendo do valor de pH da água, o ácido hipocloroso, HClO dissocia-se formando o íon hipoclorito, $OCl^-$, conforme a reação mostrada na Equação 3:

$$HO—Cl \rightleftharpoons H^+ + Cl\text{-}O^- \quad k_{eq} = 3{,}7 \times 10^8 \text{ a } 25\ ^{o}C \qquad (3)$$

Na dissociação do ácido hipocloroso há influência do pH da água, em valores de pH maiores do que 6, diminui a quantidade de HClO e aumenta a do íon $ClO^-$. Em valor de pH de 8 há aproximadamente 22 % de HClO e 78% $ClO^-$. Ambos compostos possuem ação desinfetante e oxidante, porém, o HClO é mais eficiente na destruição dos microrganismos em geral do que o $ClO^-$.

Quando o íon $ClO^-$ está em equilíbrio com os íons $H^+$, dependendo do pH, uma parcela do cloro disponível tende a reagir com água para formar ácido hipocloroso, íon hipoclorito e ácido clorídrico.

O ácido clorídrico formado reage com a alcalinidade natural da água ou com parte do alcalinizante, quando adicionado, influindo no pH ou alterando a dissociação do ácido hipocloroso.

Di Bernardo (1993) definiu alguns termos em cloração tais como:

- Cloro disponível é a medida do poder de oxidação de um composto de cloro, expresso como cloro elementar.

- Cloro residual livre é o cloro presente na água na forma de ácido hipocloroso e íon hipoclorito.

### 3.2.3 Fatores que influem na eficiência da cloração

Para que a cloração na água seja eficiente, alguns fatores devem ser considerados tais como: o pH, a temperatura, a turbidez ou cor aparente, o tempo de contato e a dosagem de cloro.

Um estudo feito revelou que para um tempo de contato e uma dosagem de cloro maior aumentam a eficiência da cloração.

A dosagem de cloro, segundo a Norma Brasileira – 592 deve ser estimada para obter uma concentração de 5,0 $mg.L^{-1}$ (concentração mínima de 1,0 $mg.L^{-1}$).

Os parâmetros de controle na água tratada mais importantes são: o valor do pH, a temperatura e o teor de cloro residual (Di Bernardo, 1993).

## 3.3 Mecanismos de formação, estruturas e propriedades dos trialometanos

Os trialometanos (THMs) são um grupo de compostos que se formam na água potável quando é utilizado cloro em sua desinfecção, porque o cloro reage com a matéria orgânica de ocorrência natural, esta decorrente da decomposição de folhas e vegetação (Canadá, 2006), principalmente os ácidos húmicos e fúlvicos e outros produtos de plantas aquáticas (Budziak & Carasek, 2007).

Os THMs em sua estrutura possuem apenas um carbono e um hidrogênio com três ligações por halogênios, no qual eles podem ser flúor, cloro, bromo, iodo ou combinação deles. Os principais THMs encontrados são clorofórmio ($CHCl_3$), bromodiclorometano ($CHBrCl_2$) (BDCM), dibromoclorometano ($CHClBr_2$) (DBCM) e bromofórmio ($CHBr_3$), onde estes encontram-se em estado líquido à temperatura ambiente e são extremamente voláteis e levemente solúveis em água (WHO, 2005).

Um possível mecanismo de reação é mostrado na FIG. 2:

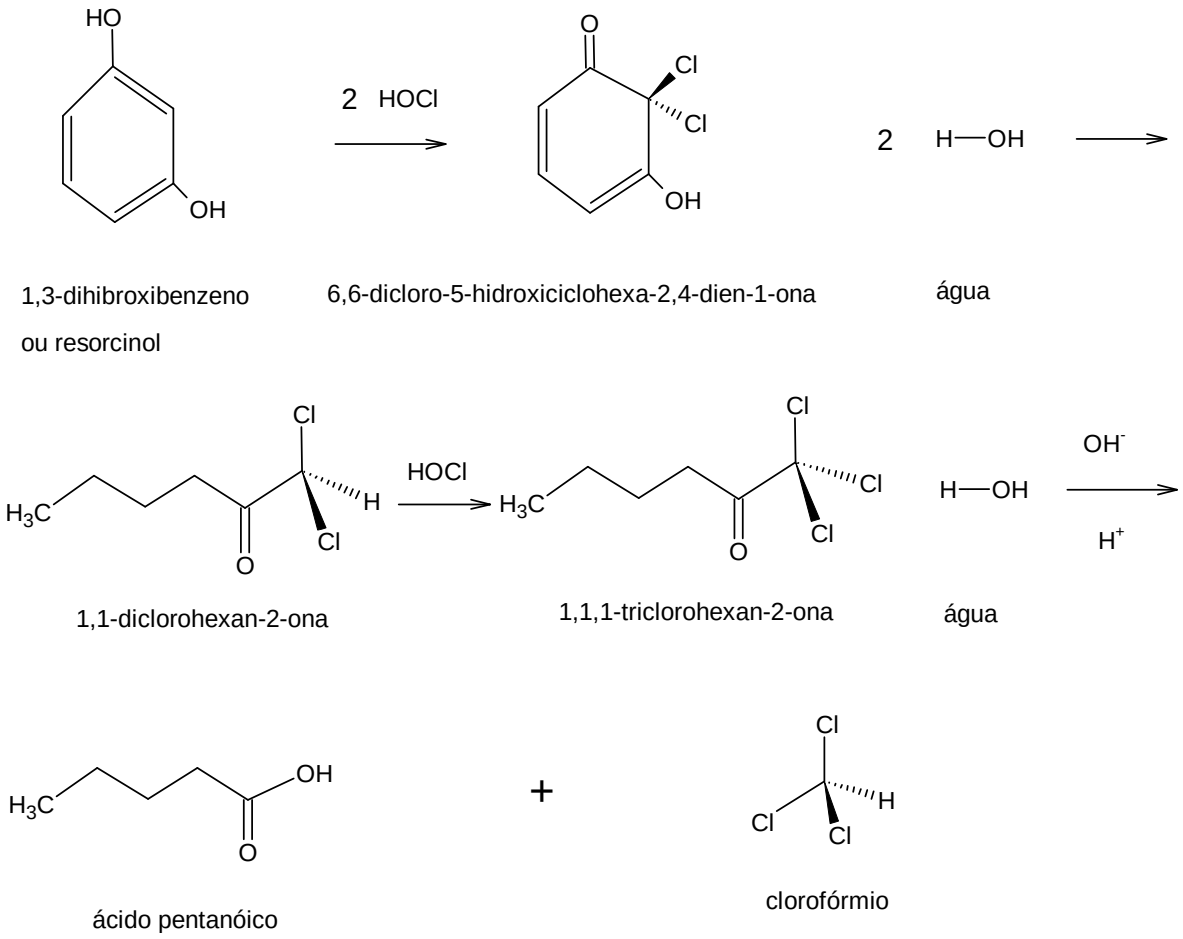
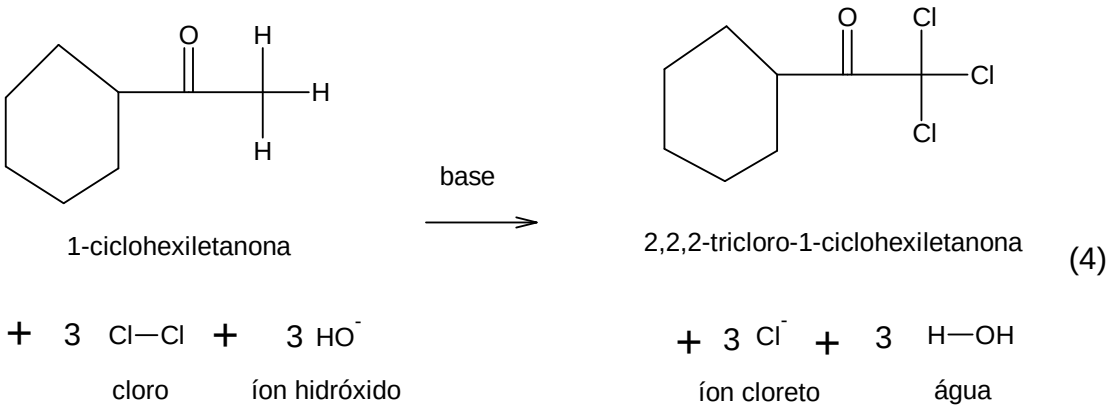



**FIGURA 2 –** Possível mecanismo de formação dos trialometanos.

O carbono do resorcinol é clorado pelo HOCl, com isso ocorre a clivagem do anel, onde em presença do HOCl o carbono é triclorado e o clorofórmio é deslocado da molécula pelo $OH^-$ da água (Tominaga & Midio, 1999).

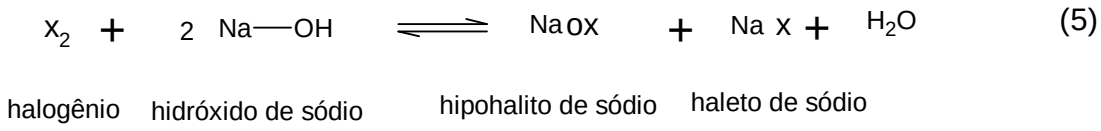
Na reação do halofórmio, as metil cetonas na presença de bases reagem com os halogênios, as halogenações múltiplas sempre ocorrem no carbono do grupo metil, por causa da introdução do primeiro halogênio, devido a sua eletronegatividade, faz os hidrogênios α remanescentes mais ácidos no carbono metil. Na reação do halofórmio utilizou-se o cloro como halogênio, mas pode ser qualquer outro, ela está ilustrada na Equação 4.




(4)

Quando as metil cetonas reagem com halogênios em solução de hidróxido de sódio, uma reação adicional acontece, onde o íon hidróxido ataca o átomo de carbono da carbonila na molécula de trihaloacetona e causa a clivagem da ligação carbono-carbono entre o grupo carbonila e o grupo trihalometil que é um bom grupo retirante, uma molécula é considerada como um bom grupo retirante quando um substituinte é capaz de afastar-se como um íon ou uma molécula básica fraca, relativamente estável. Esta clivagem basicamente produz um ânion carboxilato e halofórmio (i.e., $CHCl_3$, $CHBr_3$ ou $CHI_3$). O passo inicial é um ataque nucleofílico pelo íon hidróxido sobre o átomo da carbonila. No próximo passo, a ligação carbono-carbono ocorre e o ânion trihalometil ($:CX_3^-$) afasta-se. Este é um dos casos raros em que um carbânion age como um grupo retirante. Este passo ocorre porque o ânion trihalometil é raramente estável; sua carga negativa é dispersa pelos três átomos de halogênio eletronegativos (quando X = Cl, o ácido conjugado, $CHCl_3$, possui pKa = 13,6). No último passo, dá-se uma transferência de próton entre o ácido carboxílico e o ânion trihalometil (Solomons & Fryhle, 2001, 2004).

A dissolução de um halogênio em solução de hidróxido de sódio produz uma solução de hipohalito de sódio (NaOX) segundo equilíbrio demonstrado na Equação 5. Um exemplo desta reação é a formação do alvejante de hipoclorito de sódio NaOCl, em meio aquoso:




onde: X representa qualquer um dos halogênios.

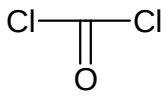
A reação do halofórmio é de utilidade sintética como um meio de converter metil cetonas a ácidos carboxílicos. Quando a reação é utilizada em síntese, os halogênios mais utilizados são o cloro e o bromo. O clorofórmio ($CHCl_3$) e o bromofórmio ($CHBr_3$) gerados são líquidos imiscíveis em água e facilmente separados em soluções contendo o ânion carboxilato. Na presença do iodo, um sólido amarelo brilhante chamado iodofórmio ($CHI_3$) é obtido (Solomons & Fryhle, 2001, 2004).

### 3.4. Propriedades gerais dos THMs

Os quatro principais THMs clorofórmio, BDCM, DBCM e bromofórmio são líquidos à temperatura ambiente e apesar de serem compostos orgânicos, eles são levemente solúveis em água (WHO, 2005).

O clorofórmio é sensível à luz e ao ar, também se decompõe em fosgênio, cloreto de hidrogênio e cloro (WHO, 2004).

O nome fosgênio é usual, porém ele é cloreto de carbonila ou cloreto ácido. Este composto é um gás altamente venenoso e é obtido na indústria pela reação entre o monóxido de carbono e o cloro, a sua estrutura química é mostrada na FIG. 3 (Morrison & Boyd, 1983).




fosgênio

**FIGURA 3 -** Molécula do fosgênio

O clorofórmio possui as seguintes impurezas: fosgênio (tóxico), cloro, etanol, acetona. Por isso, uma pequena quantidade de etanol (0,5 a 1%) ou dimetilaminoazobenzeno são adicionados como estabilizadores (Morita & Assumpção, 2001).

As principais propriedades físico-químicas dos quatro principais THMs são apresentadas na TAB. 1.

**TABELA 1 -** Propriedades físico-químicas do THMs.

| Propriedades Fisicoquímicas | Clorofórmio | BDCM | DBCM | Bromofórmio |
|---|---|---|---|---|
| CAS N° | 67-66-3 | 75-27-4 | 124-48-1 | 75-25-2 |
| Fórmula química | $CHCl_3$ | $CHBrCl_2$ | $CHClBr_2$ | $CHBr_3$ |
| Massa molecular ($g.mol^{-1}$) | 119,4 | 163,8 | 208,2 | 252,7 |
| Densidade ($g.cm^{-3}$) | 1,48 | 1,98 | 2,38 | 2,9 |
| Ponto de fusão (℃) | (-) 63,2 | (-) 57,1 | * | 8,3 |
| Ponto de ebulição (℃) | 61,3 | 90 | 119 | 149 -150 |
| Pressão de vapor (kPa) | 21,28 (20℃) | 6,67 (20℃) | 2,0 (10℃) | 0,75 (25℃) |
| Solubilidade em água ($g.L^{-1}$) | 7,5-9,3(25℃) | 3,32 (30℃) | 1,05 (30℃) | 3,19 (30℃) |
| Coeficiente de partição log $K_{ow}$ | 1,97 | 1,88 | 2,08 | 2,38 |

Onde $K_{ow}$ = coeficiente de partição octanol-água

Fonte: (WHO, 2004)

O coeficiente de partição, $K_{ow}$, para um dada substância X é calculada através da Equação 6.

$$K_{ow} = [X]_{oc\,\tan ol} / [X]_{água} \qquad (6)$$

Onde os colchetes expressam a concentração em $mol.L^{-1}$ ou $mg.L^{-1}$ da substância X.

Como o valor de $K_{ow}$ geralmente possui grandeza elevada, a forma mais utilizada é como de log $K_{ow}$.

Geralmente, quanto maior o coeficiente de partição $K_{ow}$ octanol-água

de uma substância, maior será a probabilidade de encontrá-lo dissolvido na matéria orgânica dos solos e sedimentos, com isso ocorrendo uma migração aos tecidos gordurosos de organismos vivos (Baird, 2002).

# 4 SISTEMAS DE QUANTIFICAÇÃO DOS TRIALOMETA NOS

## 4.1 Técnicas analíticas na detecção dos THMs em águas potáveis

Nicholson et. al. (1985) desenvolveram um método rápido e preciso para os ensaios de THMs em água. As amostras foram extraídas com metil-ciclohexano e analisadas por cromatografia a gás utilizando uma coluna capilar curta e detector por captura de elétrons. O limite de detecção deste método foi próximo de 1,0 $\mu g.L^{-1}$. Em uma amostra de água de torneira da cidade de Yorketown, Sul da Austrália, e a precisão de cinco replicatas teve valores de coeficiente de variação entre 2 e 6 % e os valores das médias e desvio-padrão para o clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio foram: 58 ± 1, 86 ± 2, 127 ± 8 e 116 ± 4 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente.

Garcia-Villanova et al. (1997) encontraram clorofórmio e bromodiclorometano em todas as setenta e sete amostras, enquanto o dibromometano foi encontrado em setenta e seis amostras. Sendo que os maiores valores encontrados, primeiro foram para o clorofórmio e depois em seguida dos valores foi para o bromodiclorometano (BDCM). As amostras foram coletadas em oito pontos de duas plantas de tratamento de água da cidade de Salamanca, Espanha. O método foi baseado na extração líquido-líquido com n-pentano, utilizando cromatografia a gás com coluna semi-capilar e detector por captura de elétrons. Os limites de detecção (*L.D.*) deste método foram de: 0,9 $\mu g.L^{-1}$ para o clorofórmio, 0,4 $\mu g.L^{-1}$ para o bromodiclorometano, 0,4 $\mu g.L^{-1}$ para o dibromoclorometano e 0,9 $\mu g.L^{-1}$ para o bromofórmio. A precisão foi expressa como desvio padrão, (s) estendendo-se de 0,32 $\mu g.L^{-1}$ para o clorofórmio a 0,78 $\mu g.L^{-1}$ para o bromofórmio e como coeficiente de variação (*C.V.*) de 8,7% a 18,0 %, respectivamente. O tempo total médio para a execução do ensaio para cada amostra foi de 45 minutos.

Valente et al. (1998), utilizaram a técnica de micro-extração em fase sólida para extrair os THMs e injetaram no cromatógrafo a gás com detector por captura de elétrons (SPME/GC-ECD). As amostras coletadas pelo grupo foram das cidades de Campinas (quatro amostras), São Carlos (uma amostra) e São Paulo-Interlagos (duas amostras) e os ensaios foram realizados em triplicata com o tempo de extração de 10 min e tempo de dessorção e de corrida cromatográfica de 15 min. Nas amostras de São Paulo, em uma delas foi adicionado 1,0 $g.L^{-1}$ de tiossulfato de sódio, para inibir o efeito oxidante do cloro sobre o material orgânico, durante o transporte e estocagem e a outra foi deixada como coletada até a data do ensaio. A TAB. 2 mostra os resultados destas duas amostras, em seus teores de THM e desvio-padrão DP. Nota-se à formação dos THMs na amostra não preservada e também um DP maior na amostra de concentração menor. Os compostos alvos encontrados em maiores concentrações foram o clorofórmio e o bromodiclorometano.

**TABELA 2 –** Resultados de duas amostras de águas potáveis da cidade de São Paulo, com e sem adição de tiossulfato de sódio.

| | Clorofórmio | | Diclorobromometano | | Dibromoclorometano | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Amostras** | **Teor (µg/L)** | **DP** | **Teor (µg/L)** | **DP** | **Teor (µg/L)** | **DP** |
| **Sem tiossufato** | 168 | 2,8 | 25,3 | 3,6 | 4,1 | 3,5 |
| **Com tiossulfato** | 84,4 | 9,2 | 17,7 | 9,9 | 2,7 | 7,9 |

onde: DP é o desvio-padrão
Fonte: Valente et al. (1998)

Yu & Cheng (1999) mediram as concentrações dos THMs de águas potáveis de 19 bairros de Hong Kong, China. Os potenciais de formação de trialometanos totais THM-FP em águas de torneira foram testados. As amostras foram coletadas em 57 locais diferentes, em triplicata e em três datas diferentes, representando os 19 bairros da cidade de Hong Kong. Eles utilizaram a extração

líquido-líquido para separação dos THMs da água e o pentano como solvente.

Após a extração, as amostras injetadas num cromatógrafo a gás acoplado a detector de massa GC-MS. Utilizando o modo de monitoração de íon selecionado (SIM) para a quantificação dos analitos. O limite de detecção deste método foi estimado em 0,03 $\mu g.L^{-1}$ para o $CHCl_3$; 0,05 $\mu g.L^{-1}$ para o $CHBrCl_2$; 0,04 $\mu g.L^{-1}$ para o $CHBr_2Cl$ e 0,03 $\mu g.L^{-1}$ para o $CHBr_3$. Para o THM-FP, todas as medições apresentaram-se abaixo dos valores guias da Organização Mundial de Saúde (WHO). Porém, as medições dos níveis de potencial de formação de trialometanos THM-FP, em quatro dos 19 bairros apresentam valores acima dos padrões adotados pelos EUA e Reino Unido, são eles: Yuen Long com valor de 104 $\mu g.L^{-1}$, Tsuen Wan com valor de 106 $\mu g.L^{-1}$, North com valor de 115 $\mu g.L^{-1}$ e Tai Po com valor de 131 $\mu g.L^{-1}$. Estes resultados são atribuídos a maior proporção de mistura da água do rio Dongjiang com o reservatório de água, rio onde os níveis de precursores orgânicos pode ser indício do estado de deterioração do mesmo. Os valores medidos em Hong Kong foram comparados com os valores guia da WHO. Os valores-guia da WHO é a concentração em água potável associada a um risco de câncer pelo excesso do tempo de vida de $10^{-5}$ (um câncer adicional por cem mil da população ingerindo água contendo as substâncias no valor guia por 70 anos), assumindo um consumo diário por pessoa de dois litros de água em uma pessoa pesando 60 kg (Yu & Cheng, 1999). A razão de soma de concentração de cada THM e seu respectivo valor guia não deve exceder a 1,0. A Equação 7 mostra estas relações:

$$\frac{C_{CHCl_3}}{GV_{CHCl_3}} + \frac{C_{CHCl_2Br}}{GV_{CHCl_2Br}} + \frac{C_{CHClBr_2}}{GV_{CHClBr_2}} + \frac{C_{CHBr_3}}{GV_{CHBr_3}} \leq 1 \qquad (7)$$

onde: *C* é a concentração do analito em ($\mu g.L^{-1}$) e *GV* (*Guideline value*) é o valor-guia estipulado pela Organização Mundial da Saúde (WHO).

Os níveis de trialometanos em 171 amostras de água de torneira de 57

localizações em Hong Kong e os valores-guia para cada THMs foram resumidos na TAB. 3

**TABELA 3 –** Sumário dos resultados dos níveis de THMs em Hong Kong.

| | Níveis THMs (µg/L) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Mín** | **Média** | **Max** | **Valor guia WHO (µg/L)** |
| Clorofórmio | 2,3 | 47,1 | 104,7 | 200 |
| Bromodiclorometano | 1,9 | 11,0 | 21,4 | 60 |
| Dibromoclorometano | 0,6 | 2,4 | 9,0 | 100 |
| Bromofórmio | ND | 0,06 | 2,6 | 100 |
| Razão soma THMs | 0,06 | 0,44 | 0,77 | ≤ 1 |
| TTHMs | * | 60,6 | * | * |

Fonte: Yu & Cheng (1999)

Os trialometanos totais (TTHMs) são calculados pela Equação 8:

$$(TTHMs) = (CHCl_3) + (CHCl_2Br) + (CHClBr_2) + (CHBr_3) \quad (8)$$

onde: ($CHCl_3$) é a concentração de clorofórmio, ($CHCl_2Br$) é a concentração do bromodiclorometano, ($CHClBr_2$) é a concentração de dibromoclorometano e ($CHBr_3$) é a concentração de bromofórmio, todas as concentrações em $\mu g.L^{-1}$.

Nos estudos de potencial de formação de trialometanos (THM-FP), as medições foram realizadas após uma dosagem de cloro nas amostras para manter um residual de cloro livre durante o teste. As amostras foram estocadas sob condições selecionadas de temperatura e pH por tempo selecionado, o tempo de

incubação foi de sete dias para garantir a reação completa entre o cloro e os compostos orgânicos na água (Yu & Cheng, 1999).

Ketola *at al* (2002) utilizaram a técnica de espectrometria de massas com introdução de membrana (*MIMS*) acoplada a cromatografia a gás rápida (*fast GC*) e hélio purgado para quantificar THMs em amostras de água. O limite de detecção deste método foi de 2 a 8 $ng.L^{-1}$. O MIMS foi introduzido pela primeira vez em 1963, nele os compostos orgânicos são separados da água ou do ar por uma membrana fina (tipicamente polidimetilsiloxano, também conhecido como silicone) instalada entre a amostra e a fonte de íon de um espectrômetro de massas. A ligação de hidrogênio entre a molécula do analito e a matriz aquosa foi a razão mais importante do limite de detecção para o metanol (1,0 $mg.L^{-1}$) ser maior do que o do clorofórmio (10 $\mu g.L^{-1}$). Níveis abaixo de ($\mu g.L^{-1}$) foram detectados com resposta de tempo de uns poucos segundos. Um fator de enriquecimento de $1,1 \times 10^4$ foi determinado para o clorofórmio (Ketola *at al*, 2002).

### 4.2 Amostragens de águas potáveis

A concentração dos THMs em amostras de água, estende-se de poucos $ng.L^{-1}$ até $\mu g.L^{-1}$. A etapa de amostragem é de suma importância devido a representatividade do resultado final. Os frascos de vidro de 2,0 L são equipados com tampas de Teflon ou vidro. Todos os equipamentos devem ser lavados com ácidos e enxaguados com água livre de compostos orgânicos voláteis COVs antes da amostragem. Utilizando a técnica de armadilha, onde o frasco de vidro interno submergido completamente na água é preenchido com a água para ser analisada, excluindo todo espaço da parte superior "*headspace*". A conservação da amostra para evitar degradação biológica é feita, principalmente usando trinitreto de sódio ($NaN_3$) ou cloreto de mercúrio (II) ($HgCl_2$) (adição diretamente após a amostragem) (Bloemen & Burn, 1993). Uma quantidade de 1,0 $g.L^{-1}$ de tiossulfato de sódio deve ser adicionada, para inibir o efeito oxidante do cloro sobre o material orgânico (Valente *et. al.* 1998). Elas devem ser armazenadas a 4,0 ℃. Usualmente, os ensaios de compostos orgânicos voláteis (COVs) em água devem ser realizados num período entre 3 a 14 dias após a coleta (Bloemen & Burn, 1993).

### 4.3 Métodos para enriquecimento de amostras

Os métodos mais utilizados para o enriquecimento dos THMs são por solvente por extração líquido-líquido, extração em fase sólida e purga e armadilha.

O método de purga e armadilha foi escolhido pelo fator de enriquecimento dos analitos em concentrações de traços e pela praticidade dos ensaios. Os THMs podem ser quantificados utilizando um concentrador de purga e armadilha acoplado a um cromatógrafo a gás.

### 4.4 Purga e armadilha

O método de purga e armadilha foi desenvolvido por Bellar e Lichtenburg (1974), e é o método preferido na amostragem de compostos orgânicos voláteis (VOCs) em águas. Neste método, os VOCs são purgados da amostra de água dentro do espaço da parte superior “headspace” de um recipiente de coleta, concentrado em um adsorvente tal como Tenax e analisados por GC-ECD, GC-FID ou GC-MS. Para amostras de água potável coletadas dos sistemas de distribuição que empregam cloração como um processo de tratamento, os mais importantes VOCs para amostrar são os trialometanos THMs (particularmente o clorofórmio); a detecção será freqüentemente por ECD, um método sensível para halogênios (Bloemen & Burn, 1993).

No concentrador de purga e armadilha um gás inerte como o hélio é borbulhado em uma amostra de água em temperatura ambiente ou meio aquecido. Dependendo dos analitos desejados, estes componentes voláteis são transferidos eficientemente da fase líquida para a fase gasosa. Este gás com os THMs são arrastados através de uma válvula de escape, onde o fluxo de gás hélio é diretamente colocado em um tubo de armadilha, contendo um polímero orgânico (Tenax) ou outros materiais (Carboxen, Carbotrap, carvão vegetal e sílica gel) como adsorventes.

Os THMs da purga de gás são efetivamente retidos nesta coluna adsorvente onde os componentes voláteis são adsorvidos. Após a purga estar completa, a coluna adsorvente é aquecida e os analitos capturados em armadilha

são dessorvidos a 250 ℃ e transferidos diretamente no topo da coluna e pela reversão de fluxo de um gás inerte para dessorção, os analitos a serem separados são introduzidos num cromatógrafo a gás.

Geralmente, a eficiência do arraste depende do coeficiente de partição do composto, enquanto a eficiência do volátil arrastado em adsorção depende da retenção característica do adsorvente, e do composto orgânico presente adsorvido.

No método de purga e armadilha, os compostos orgânicos voláteis que possuem pontos de ebulição entre 69 ºC como o n-hexano e 271 ℃ como o n-pentadecano, são eficientemente recuperados. A taxa de recuperação mínima para hidrocarbonetos clorados e não-clorados nesta técnica é de 85 % (Bloemen & Burn, 1993; EPA, 2003).

**4.5 Cromatografia a gás**

A cromatografia ocupa um lugar de destaque em relação a outros métodos analíticos, devido a sua facilidade de efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas, tanto só como em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise como, por exemplo, a espectrofotometria ou a espectrometria de massas.

A cromatografia é um processo físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial de componentes em uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária (Collins & Braga, 1987). Ela opera com o mesmo princípio da extração, porém uma fase é fixada no local, enquanto a outra se move através dela. A fase móvel na cromatografia pode ser líquida ou gasosa, sendo na cromatografia a gás um gás inerte com o soluto e com a fase estacionária. A fase estacionária (que fica fixa dentro da coluna) é normalmente um líquido viscoso que cobre o interior do tubo capilar ou a superfície de partículas sólidas empacotadas dentro da coluna, em alguns casos as partículas sólidas pode ser a fase estacionária. De qualquer forma, a partição dos solutos entre a fase móvel e estacionária provoca a separação (Harris, 2001).

A cromatografia a gás é um processo em que uma mistura se divide em

seus constituintes através da passagem de uma fase gasosa móvel por uma fase móvel adsorvente estacionário (Vogel, 1992). As partes do sistema cromatográfico na cromatografia a gás são: cilindros de gases, válvulas reguladoras de pressão e controladoras de vazão, sistemas de introdução de amostras, coluna cromatográfica, detector e registrador e/ou integrador (Faria, 1997).

A cromatografia é classificada em categorias com base no mecanismo de interação da substância dissolvida com a fase estacionária. As principais são:

- Cromatografia de adsorção - utiliza uma fase estacionária sólida e uma fase móvel líquida ou gasosa. O soluto é adsorvido na superfície da partícula sólida. O equilíbrio entre a fase estacionária e a fase móvel justifica a separação dos diferentes solutos.

- Cromatografia de partição - Uma fase estacionária líquida forma um filme fino na superfície de um suporte sólido. O soluto está em equilíbrio entre a fase estacionária e a fase móvel.

- Cromatografia de troca iônica - Ânions resultantes do $R\text{-}SO_3$ ou cátions resultantes do $R\text{-}N(CH_3)_3$ estão ligados covalentemente à fase estacionária sólida, geralmente um a resina, neste tipo de cromatografia. Os íons de carga oposta do soluto são atraídos para a fase estacionária pela força eletrostática. A fase móvel é um líquido.

- Cromatografia de exclusão molecular - Também chamada de cromatografia de filtração de gel ou de permeação de gel, onde esta técnica separa as moléculas pelo tamanho, com os maiores solutos passando por ela com maior velocidade, nela não há interações atrativas entre a fase estacionária e o soluto. A fase móvel líquida ou gasosa passa pelo gel poroso. Os poros são pequenos o suficiente para excluírem as moléculas grandes do soluto, mas não as pequenas. O fluxo de moléculas grandes passa sem entrar nos poros. As moléculas pequenas levam mais tempo para passar pela coluna porque elas entram no gel, portanto, devem passar por um volume maior antes de sair da coluna.

- Cromatografia por afinidade - Este tipo mais seletivo de cromatografia emprega interações específicas entre um tipo de molécula do soluto e uma segunda molécula que está ligada covalentemente (imobilizada) à fase estacionária. A

molécula imobilizada pode ser um anticorpo para uma determinada proteína. Quando se passa pela coluna uma mistura contendo milhares de proteínas, somente a proteína que reage com o anticorpo se liga à coluna. Após a lavagem de todas as outras substâncias dissolvidas da coluna, a proteína desejada é expulsa através da mudança do pH ou da força iônica.

Na cromatografia a gás o constituinte gasoso é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa, chamada gás de arraste. Se for por partição, a fase estacionária é um líquido não-volátil cobrindo a parte interna da coluna ou um fino suporte sólido. Um diagrama de um sistema cromatográfico a gás é mostrado na FIG. 4, uma amostra líquida volátil ou gasosa é injetada por um septo (um disco de borracha) dentro de uma câmara aquecida, na qual ela se evapora rapidamente. O vapor é arrastado na coluna pelo gás de arraste He, $N_2$ ou $H_2$, e os constituintes separados fluem pelo detector, cuja resposta é mostrada num computador ou registrador. A coluna deve estar aquecida o suficiente para proporcionar uma pressão de vapor em que os constituintes sejam eluídos num tempo razoável. O detector é mantido a uma temperatura superior à da coluna, logo todos estes constituintes serão gasosos (Harris, 2001).

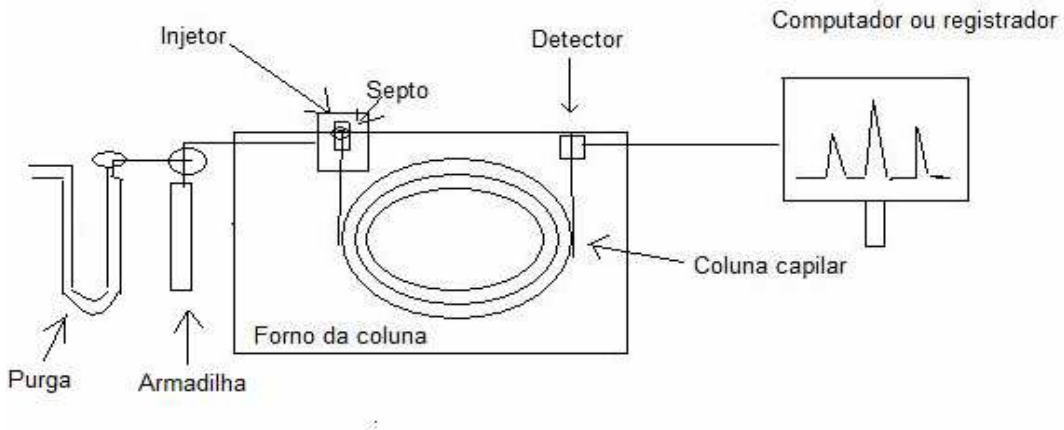



**FIGURA 4 –** Diagrama de um sistema cromatográfico.

Nos ensaios dos THMs é recomendável utilizar a cromatografia a gás com detector por captura de elétrons (DCE) por ser mais sensível a compostos halogenados.

A coluna capilar de orifício estreito são geralmente operadas em velocidades de fluxo de 1,0 a 3,0 mL/min. Velocidades de fluxo altas reduzem substancialmente a eficiência da separação. Usando o sistema de purga e armadilha requerer velocidades de fluxo bastante altas, para garantir a transferência rápida dos compostos retirados do adsorvente para a coluna. Para superar esta incompatibilidade pode se dividir o fluxo do concentrador de purga e armadilha ou utilizar uma armadilha secundária fria (Bloemen & Burn, 1993).

### 4.6 Detectores

Existem diversos tipos de detectores, para as mais variadas necessidades de detecção, mas os estudados neste trabalho foram os por ionização de chama (FID) e captura de elétrons (ECD).

#### 4.6.1 Detector de ionização de chama

O detector de ionização de chama (FID) é o detector mais utilizado em cromatografia a gás (GC). O efluente da coluna é queimado em uma chama pequena de oxigênio e hidrogênio com a produção de alguns íons no processo. Estes íons são coletados e forma uma corrente pequena que se torna o sinal (McNair & Miller, 1997). Este sinal elétrico é amplificado pelo eletrômetro e enviado ao computador (Vogel, 1992).

Quando nenhuma amostra está sendo queimada, a ionização é baixa. Esta corrente pequena ($10^{-14}$ A) é resultante de impurezas no hidrogênio e suprimento de ar.

O efluente da coluna é misturado com hidrogênio e conduzido a uma ponta de queimador pequeno que é substituída por um alto fluxo de ar para sustentar a combustão. Um dispositivo para iniciar a ignição é provido de ignição remota da chama. O eletrodo coletor está polarizado em aproximadamente + 300 V, relativo à ponta da chama, a corrente coletada é amplificada por um circuito de alta

impedância.

Como ocorre produção de água no processo de combustão, o detector deve ser aquecido ao menos a 125 ℃ impedindo assim , a condensação de água e de amostras de ebulições altas. A maioria dos detectores FIDs possui temperatura de corrida de 250 ℃ ou mais (McNair & Miller, 1997 ).

O mecanismo exato de ionização de chama é desconhecido. O FID responde a todos compostos orgânicos que queimam na chama de oxigênio-hidrogênio. O sinal é aproximadamente proporcional ao conteúdo de carbono. Uma razão para o fator de resposta constante é devido à conversão de todos os compostos de carbono contidos em um soluto orgânico em metano durante o processo de combustão no FID. Desta forma, todos os hidrocarbonetos devem exibir a mesma resposta por átomo de carbono. Quando heteroátomos como oxigênio ou nitrogênio estão presentes, entretanto, o fator decresce (McNair & Miller, 1997).

Para uma operação eficiente, os gases (hidrogênio e ar) devem ser puros e livres de materiais orgânicos que aumenta a ionização de fundo.

Os fluxos precisam ser otimizados para um modelo de detector particular, e em menor extensão o para analito particular. O fluxo de hidrogênio passa em sensibilidade máxima para cada fluxo de gás de arraste. A condição mais favorável ocorre em aproximadamente no fluxo da coluna. Para colunas tubulares abertas que tem fluxo em torno de 1,0 $mL.min^{-1}$, o gás de make-up é adicionado ao gás de arraste para trazer o total de 30 $mL.min^{-1}$.

O fluxo de ar é o menos crítico, o valor de 300 a 400 $mL.min^{-1}$ é suficiente para a maioria dos detectores.

Os compostos que não contém carbono orgânico não queimam e não são detectados. Dentre eles, a água é o mais significante composto que freqüentemente produz picos muito encaudados. A água não interfere em ensaios utilizando o detector de FID. A água pode hidrolisar algumas das fases líquidas de poliéster e polietileno glicol, mas pouco afeta polímeros de silicone. Aplicações típicas incluem contaminantes orgânicos em água, vinho e outras bebidas alcoólicas e produtos alimentícios (McNair & Miller, 1997).

Algumas características do detector de ionização de chama (FID) são

enumeradas abaixo:

1. Quantidade mínima detectável (QMD) – $10^{-11}$ g (≈ 50 μg.$L^{-1}$).
2. Resposta – somente compostos orgânicos, de modo nenhum gases fixos e água.
3. Linearidade – $10^6$ – excelente.
4. Estabilidade – excelente, pouco efeito de fluxos ou mudanças de temperatura.
5. Limite de temperatura – 400 ℃.
6. Gás de arraste – nitrogênio ou hélio.

As principais vantagens do FID são sensibilidade boa, uma grande linearidade, simplicidade, robustez e adaptabilidade para todos tamanhos de colunas (McNair & Miller, 1997).

### 4.6.2 Detector por captura de elétrons

O detector por captura de elétrons (ECD) foi inventado por James Lovelock, cientista inglês, autor da Teoria de Gaia, que escreveu mais de 200 artigos científicos e inventou instrumentos que a NASA usou para analisar a atmosfera de Marte, baseando-se em sua publicação em 1961 (McNair & Miller, 1997; Lovelock, 2000).

O ECD é um detector seletivo que provê sensibilidade muito alta para os compostos que capturam elétrons. Estes compostos incluem materiais halogenados como pesticidas, tendo como um dos primeiros usos em análises de resíduos de pesticidas (McNair & Miller, 1997). Ele responde a moléculas que contém halogênios como os THMs, carbonilas conjugadas, nitrilas, nitrocompostos e compostos organometálicos (Harris, 2001).

No detector por captura de elétrons, um gás que entra no detector é ionizado por elétrons de alta energia, os raios beta são emitidos de uma lâmina de $^{63}$Ni radioativo, estes elétrons são atraídos ao anodo produzindo uma corrente estável. As moléculas com alta afinidade por elétrons capturam alguns elétrons e o detector responde variando a freqüência dos pulsos entre o anodo e o catodo para

manter uma corrente constante (Harris, 2001).

Ele é um detector do tipo de ionização, mas difere da maioria dos detectores desta classe, onde neste caso as amostras são detectadas por causar uma diminuição no nível de ionização. Quando nenhum analito está presente, o $^{63}$Ni emite partículas beta como mostrado na Equação 9**:**

$$^{63}Ni \rightarrow \beta^{-} \quad (9)$$

Estas partículas carregadas negativamente colidem com o gás de arraste nitrogênio e produz mais elétrons que é demonstrado pela Equação 10 :

$$\beta^{-} + N_2 \rightarrow 2\ e^{-} + N_2^{+} \quad (10)$$

Os elétrons formados neste processo combinado resultam em uma corrente altamente estável (aproximadamente $10^{-8}$ a), quando coletado por um eletrodo positivo. Quando um analito eletronegativo é eluido da coluna e entra no detector, ele captura alguns dos elétrons livres e a corrente estável é diminuída resultando em um pico negativo Equação 11.

$$A + e^{-} \rightarrow A^{-} \quad (11)$$

Os íons negativos formados têm mobilidade menor do que os elétrons livres e não são coletados pelo anodo.

A relação matemática para este processo é semelhante à Lei de Beer (usada para descrever o processo de absorção para a radiação eletromagnética).

Deste modo, a extensão da captura ou absorção é proporcional a concentração do analito.

O gás de arraste utilizado para o ECD pode ser o nitrogênio muito puro ou uma mistura de 5 % de metano em argônio. Para colunas capilares é necessário utilizar um gás de “make-up”, então, usa-se um gás de nitrogênio mais barato como “make-up” e hélio como gás de arraste.

O emissor beta pode ser o $^{63}Ni$ ou o títrio, mas o níquel é preferido, por poder ser usado em temperaturas maiores (acima de 400℃), possui atividade menor e é mais seguro. A FIG. 5 demonstra um esquema do detector de captura de elétrons ECD e suas partes.

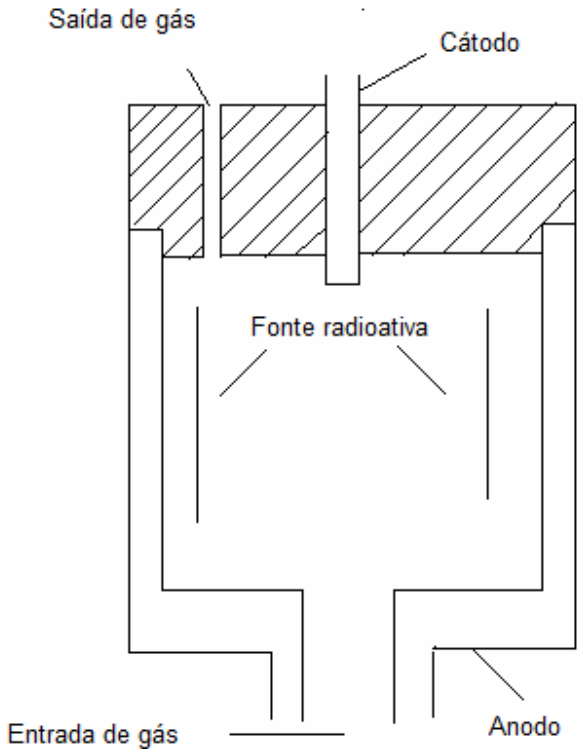



**FIGURA 5 –** Esquema do detector por captura de elétrons ECD.

O ECD é o detector mais sensível e seletivo para materiais halogenados (McNair & Miller, 1997).

Algumas características do detector por captura de elétrons (ECD) são

enumeradas abaixo:

1. Quantidade mínima detectável (MDQ) – $10^{-9}$ a $10^{-12}$g
2. Resposta – muito seletivo
3. Linearidade – $10^{3}$ a $10^{4}$
4. Estabilidade – regular.

# 5 MATERIAIS E MÉTODOS

## 5.1 Materiais

Os materiais utilizados no presente trabalho foram classificados como reagentes, equipamentos, vidrarias.

### 5.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados neste trabalho foram o clorofórmio P.A (Carlo Erba) 99,0 % de pureza, uma mistura de trialometanos 100 $mg.mL^{-1}$ em metanol (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio) como padrões certificados (Supelco), com pureza acima de 98,0 %, estes reagentes foram utilizados na preparação dos padrões. O metanol ultrapuro (HPLC), 99,9% de pureza utilizado como solvente na preparação dos padrões (Fluka);

A água milli-Q que é uma água livre de compostos orgânicos foi utilizada na dissolução dos padrões.

O tiossulfato de sódio P.A (Sigma-Aldrich), foi utilizado como preservativo na formação de THMs.

### 5.1.2 Equipamentos

Uma balança analítica precisão de 0,1 mg foi utilizada para a pesagem dos padrões.

Um banho de aquecimento foi utilizado em testes de abaixamento do teor de THMs em água milli-Q.

Um concentrador do modelo “Tekmar 3100” com sistema de purga e armadilha foi utilizado para extração dos THMs da água.

Um cromatógrafo a gás da marca “Shimadzu” modelo CG17-A, possuindo detector por ionização de chama e por captura por elétrons foi utilizado para separar

e quantificar os THMs. O programa utilizado foi o Class-GC10 versão 1.62. Duas colunas foram utilizadas a de polietilenoglicol PEG chamada “INNOWAX” e uma DB-5 MS, as especificações de cada uma estão descritas nas TAB**.** 4 e 5.

### 5.1.3 Vidrarias e seringas

Algumas microseringas da marca Hamilton, com 10,0; 50,0 e 100,0 µL de volume foram utilizadas na preparação dos padrões.

Uma seringa da marca Hamilton 81520 1005TLL 5,0 mL “Gastight”, foi utilizada na injeção dos padrões e das amostras de água.

Algumas vidrarias comuns como: balão volumétrico de 100,0 mL; pipetas volumétricas de 1,0; 5,0 e 10,0 mL e béquer de 100 mL foram utilizados na preparação dos padrões.

Alguns frascos do tipo “shott” de 100 mL, revestidos com papel alumínio, a fim de evitar a degradação dos analitos foram utilizados na amostragem e armazenamento dos padrões de THMs e de amostras de água potável.

Alguns frascos do tipo âmbar com 2,0 e 10,0 mL com tampa com selo de silicone foram utilizados no armazenamento dos padrões de THMs.

Alguns frascos do tipo âmbar com 1L foram utilizados no armazenamento de água milli-Q tratada com tiossulfato de sódio.

## 5.2 Métodos

Os métodos analíticos utilizados no presente trabalho foram classificados de acordo com o detector utilizado, como GC/FID ou GC/ECD.

### 5.2.1 Metodologia via detector de ionização de chama – GC/FID

Como primeira experiência realizou-se análises do clorofórmio por injeção direta no cromatógrafo a gás, utilizando o álcool etílico como solvente e detector de ionização de chama. O álcool etílico foi substituído pelo álcool metílico, pelo fato do álcool metílico ser mais miscível nos compostos estudados e também por possuir uma estrutura mais semelhante com a dos trialometanos que têm somente um carbono por molécula.

As condições analíticas iniciais foram feitas a partir de uma metodologia pré-existente, onde vários testes foram realizados para descobrir a melhor condição e a melhor mistura para analisar o clorofórmio. A TAB. 4 apresenta as condições analíticas iniciais do cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama GC-FID.

Nos ensaios iniciais, utilizou-se uma coluna cromatográfica de polietilenoglicol (PEG), que é muito seletiva, tanto para compostos polares como para apolares e um detector FID que é ótimo para detecção de hidrocarbonetos.

Para o clorofórmio foi alcançado um limite de quantificação em concentração de 2,1 $g.L^{-1}$, com este resultado estava muito acima do que a legislação pede para quantificar, que é em torno de 100,0 $\mu g.L^{-1}$. Com isso, o detector de ionização de chama foi trocado pelo detector por captura de elétrons, que é mais apropriado para hidrocarbonetos halogenados. No detector por captura de elétrons, como os halogênios possuem maior afinidade por elétrons e quando o gás ionizado com elétrons passa, uma pequena quantidade desses elementos captura os elétrons, diminuindo o sinal do detector, sendo este detector o mais sensível para estes compostos e obtendo um limite de detecção e quantificação menor, próximo de 0,1 $\mu g.L^{-1}$.

A coluna capilar cromatográfica utilizada nas análises iniciais foi a “INNOWAX” (PEG) e foi trocada para uma “DB-5 MS” (5 % polidifenilsiloxano e 95 % polidimetilsiloxano) que apresenta uma leve polaridade ideal para o composto clorofórmio.

**TABELA 4 -** Configuração instrumental e condições analíticas do GC-FID.

| **Condições experimentais CG-FID** | |
|---|---|
| Cromatógrafo a gás | *Shimadzu* CG 17-A |
| "Inlet" | "Split/Splitless" |
| Detector | Detector de ionização de chama (FID) |
| Coluna | *1909 1N-213 INNOWAX PEG* 30 m x 0,32 mm x 0,5 um |
| Temperatura do detector | 300 ℃ |
| Rampa de aquecimento | 40 ℃, 10 min. 10 ℃/min. até 230 ℃ por 2 min. |
| Temperatura do Injetor | 250 º C |
| Volume de injeção | 1,0 mL |
| Modo de injeção | "Split" (divisão de fluxo) |
| Pressão na coluna | 183 kPa |
| Fluxo, velocidade linear | 1,1 mL/min., 28 cm/s |
| Razão de "split" | 1:6 |
| Fluxo total | 8,0 mL/min. |
| Sensibilidade | $1,0 \times 10^2$ |
| Gás de arraste | Hélio |
| Gases da chama | Hidrogênio, Ar sintético |
| Tempo de corrida | 30 min. |

### 5.2.2 Metodologia analítica via concentrador de purga e armadilha e detector por captura de elétrons – GC/ECD

Nos ensaios iniciais, a matriz foi à água milli-Q (ou água reagente), o analito foi o clorofórmio. Nos instrumentos analíticos, o concentrador por purga e armadilha foi utilizado para concentrar o clorofórmio contido nos padrões preparados ou em amostras, a coluna foi trocada para DB-5 MS por ser mais adequada para o clorofórmio, e o detector por captura de elétrons por ser mais sensível para os halogênios.

As condições de análises do cromatógrafo a gás e do concentrador de armadilha são mostradas nas TAB. 5 e 6, respectivamente:

**TABELA 5 -** Condições do cromatógrafo a gás utilizando detector por captura de elétrons GC-ECD.

| Condições experimentais CG – ECD | |
|---|---|
| Tipo de detector | Detector por captura de elétrons (ECD) |
| Temperatura do detector | 300 ℃ |
| Temperatura do injetor | 250 ℃ |
| Rampa de aquecimento | 28 ℃, 2 min., 20 ℃/min. até 230 ℃, 1 min. |
| Coluna | *J&W Scientific Inc. DB-5MS* 30 x 0,25 mm x 0,25 um |
| Volume de Injeção | 1,0 mL |
| Modo de injeção | “Split” (divisão de fluxo) |
| Tempo de injeção | 1,0 min. |
| Pressão na coluna | 65 kPa |
| Razão de “split” | 01:55 |
| Fluxo, Velocidade linear | 0,76 mL/min., 20,8 cm/seg. |
| Fluxo total | 45 mL/min. |
| Gás de “Make up” | Nitrogênio |
| Gás de arraste | Hélio |
| Tempo da corrida | 13,1 min. |

**TABELA 6** - Condições do concentrador por purga e armadilha P&T.

| Condições P&T | |
|---|---|
| Armadilha | Tenax, Sílica gel, Charcoal |
| Tempo de injeção | 1,0 min. |
| Pré-aquecimento Dessorção | 220 ℃ |
| Tempo de dessorção | 5,0 min. |
| Temperatura de dessorção | 230 ℃ |
| Tempo de aquecimento | 10 min. |
| Temperatura de aquecimento | 230 ℃ |
| Temperatura da amostra | 40 ℃ |
| Tempo de purga | 10 min. |

A FIG. 6 ilustra a injeção de uma amostra num sistema de purga e armadilha acoplado ao cromatógrafo a gás pelo analista.

**FIGURA 6 –** Sistema de purga e armadilha.

Para a preparação da solução estoque de clorofórmio e padrões aquosos realizou-se testes de pesagens, diluições de padrão e concentrações do analito. Juntamente com estes testes, as condições do concentrador e cromatográfo a gás foram alteradas até se obter a melhor condição de análise. Devido a estas alterações houve ligeira mudança no tempo de retenção do clorofórmio.

### 5.2.3 Solução estoque de clorofórmio

A solução estoque do padrão de clorofórmio foi preparada da seguinte forma:

- Um balão de 100,0 mL contendo 50,0 mL de metanol grau HPLC foi tarado em uma balança analítica com precisão de 0,1 mg, pesou-se aproximadamente 0,1 g de clorofórmio e anotou-se a massa, após a pesagem o

balão foi completado até o menisco com metanol, tampado com tampa de vidro e homogeneizado por várias vezes.

### 5.2.4 Preparação da água reagente como solvente para padrões aquosos

Para se obter um padrão aquoso foi necessário obter uma água reagente, ou seja, uma água que fosse livre de compostos orgânicos. Como é difícil obter uma água totalmente pura, fez-se necessário obter uma água com o menor valor possível de compostos orgânicos, a fim de diminuir os erros da matriz, e que este valor seja estável pelo menos durante o tempo dos ensaios.

A água milli-Q foi monitorada por alguns dias, a fim de saber se a concentração de clorofórmio era consistente e relevante, e ao mesmo tempo tentou-se abaixar este teor por diversas formas, fazendo-se procedimentos descritos no item seguinte.

### 5.2.5 Alguns procedimentos utilizados na purificação da água milli-Q

Como procedimentos para a minimização dos teores de $CHCl_3$ na água milli-Q utilizou-se:

- Aquecimento por aproximadamente 80 ºC, durante 1 h e com agitação. O teor de clorofórmio foi determinado em temperatura ambiente.

- Aquecimento por aproximadamente 80-90 ºC, com fluxo de nitrogênio ultra-puro, durante 2 horas e com agitação.

- Um frasco como uma “garrafa de Bucher” foi preparada com pressão negativa no seu interior, por meio de uma bomba de vácuo e borbulhando o ar atmosférico.

- Igual ao procedimento anterior, mas com o auxílio do ultra-som.

### 5.2.6 Preparação dos padrões aquosos

Com o objetivo de preparar soluções aquosas a partir da solução estoque em solvente metanol, foram feitas várias diluições em balões de 100,0 mL com água reagente. Para demonstrar as operações de diluições realizadas, foi esquematizado um fluxograma apresentado na FIG. 7. As concentrações obtidas nesta curva de

calibração foram listadas na TAB. 7.

**TABELA 7 –** Concentrações dos padrões de clorofórmio em água.

| Padrão aquoso | Concentração (µg/L) |
|---|---|
| 1 | 0,1 |
| 2 | 53,0 |
| 3 | 105,9 |
| 4 | 158,8 |
| 5 | 211,8 |

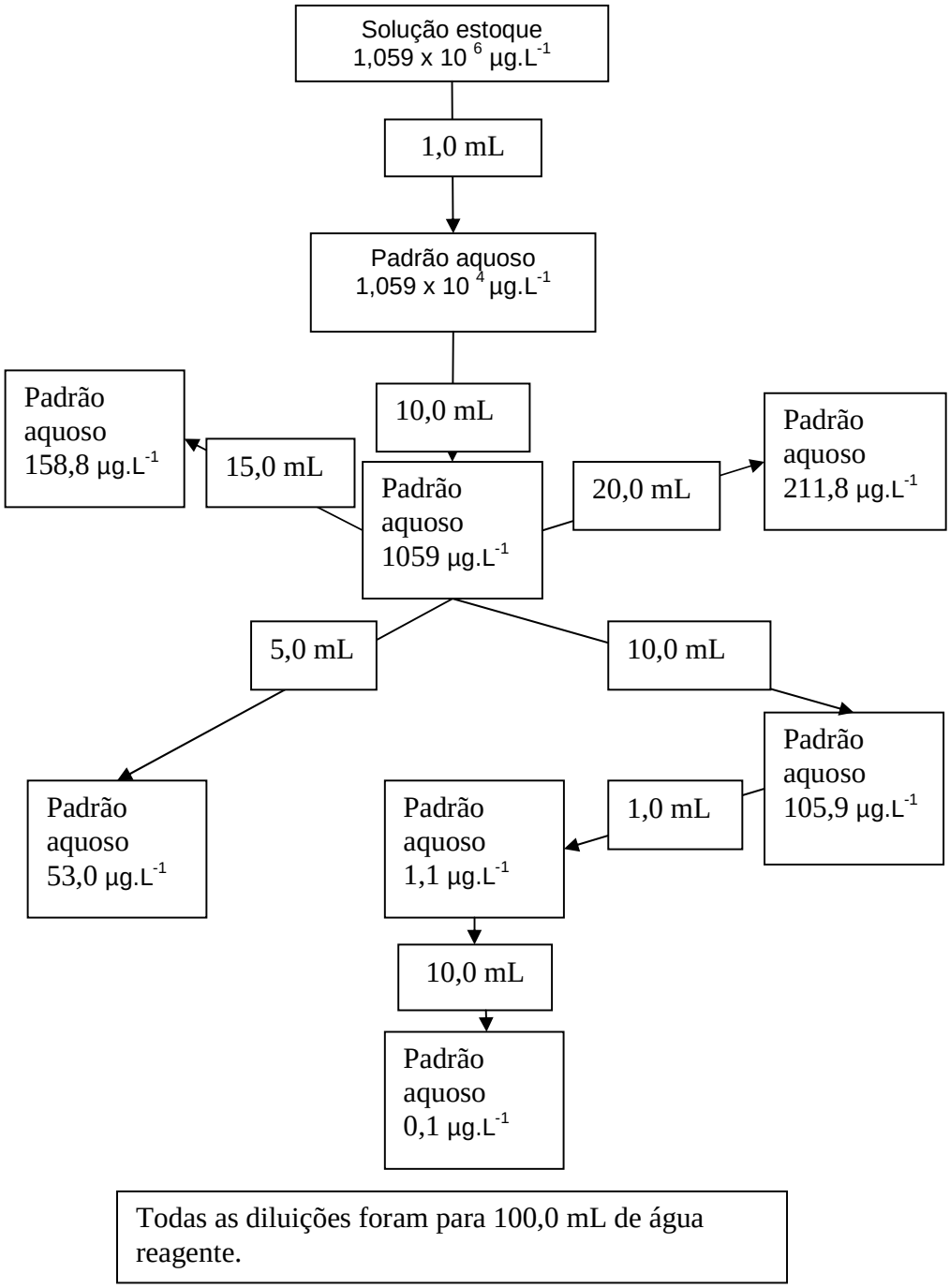



**FIGURA 7 -** Organograma das diluições para concentrações desejadas.

### 5.2.7 Metodologia analítica para os THMs

Com a finalidade de ilustrar passo a passo, a metodologia utilizada para a detecção dos THMs, foi elaborado um fluxograma que está apresentado na FIG. 8.

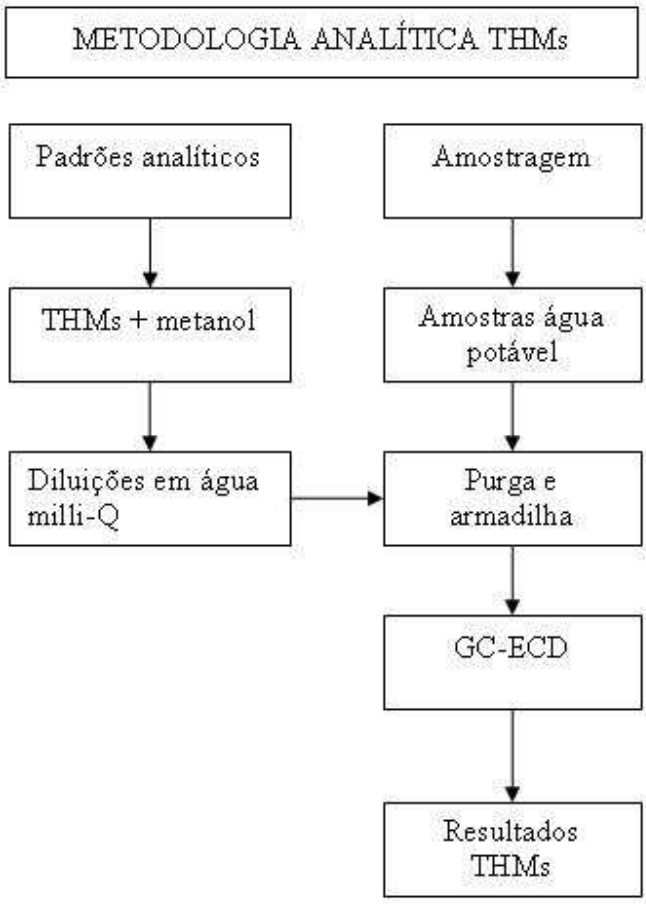



**FIGURA 8 –** Fluxograma da metodologia analítica dos THMs.

### 5.2.8 Preparação dos padrões de THMs

O padrão da mistura dos THMs em metanol foi adquirido da Supelco em concentração de 100,0 $mg.mL^{-1}$, nesta concentração o padrão já foi considerado como solução estoque, porque apenas uma diluição foi necessária para se obter os

padrões aquosos de calibração.

Para a preparação dos padrões aquosos foi utilizado balões volumétricos de 100,0 mL contendo aproximadamente 80,0 mL de água reagente. O padrão de THMs foi adicionado diretamente na água, sem tocar no gargalo do balão para evitar perdas. Na elaboração da primeira curva analítica com concentrações maiores, as concentrações estipuladas dos trialometanos em água foram de: 25,0; 50,0; 75,0; 100,0 e 150,0 $\mu g.L^{-1}$. As alíquotas da solução estoque de THMs foram: 25,0; 50,0; 75,0; 100,0 e 150,0 µL em cada balão volumétrico, utilizando-se microseringas de 50,0 e 100,0 µL. O balão foi completado com a água reagente até o menisco e tampado com tampa de vidro. Os balões volumétricos foram homogeneizados por inversão. Na preparação da segunda curva analítica com concentrações menores próximas ao limite de detecção, as concentrações foram preparadas: 0,5; 1,0 e 5,0 $\mu g.L^{-1}$, utilizando o mesmo procedimento dos padrões mais concentrados, somente mudando as quantidades das alíquotas. Os pontos da curva de 25,0 e 50,0 $\mu g.L^{-1}$ foram reaproveitados por serem comuns as duas curvas de calibração.

No cálculo de diluição foi utilizada a Equação 12:

$$V_{THMs} = \frac{0,1}{1x10^{5}} xConc.x1x10^{6} \qquad (12)$$

Simplificando a Equação 12 foi obtida a Equação 13:

$$V_{THMs} = Conc. \qquad (13)$$

onde $V_{THMs}$ é o volume da alíquota a ser retirada da solução estoque e Conc. é a concentração estipulada para cada THM.

### 5.9 Validação do método

O objetivo da validação de um método analítico é demonstrar que ele é adequado para o propósito pretendido (ICH, 2005), sendo que, ao se desenvolver uma metodologia, ou fazer qualquer alteração ou adaptações no método este deverá ser validado (Brito *et al.* 2003). Vários itens são necessários para a obtenção da validação de um método. Neste trabalho serão explorados os seguintes itens: seletividade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, sensibilidade do método, repetitividade, precisão intermediária e robustez.

#### 5.9.1 Seletividade

A seletividade em um método é a capacidade de distinguir a resposta de um determinado analito do desempenho de outros (INMETRO, 2007), ou pode ser definida como o grau de quantificar um analito corretamente na presença de interferentes (IUPAC, 2002).

#### 5.9.2 Exatidão

A exatidão é definida como a concordância entre o valor verdadeiro e o valor estimado no processo analítico. Ela pode ser verificada por quatro formas principais: utilização de material de referência certificado, por comparação com método de referência, ensaios de recuperação ou estudos colaborativos. Dentre estes a recuperação é um dos mais utilizados, se relaciona com a exatidão pelo fato de quanto recupera no processo uma quantidade de analito, em relação da quantidade real adicionada na amostra (Brito *et al.* 2003).

Na recuperação há uma fortificação da amostra, pela adição em diferentes concentrações do analito de interesse e a determinação da concentração deste no processo.

Para cada nível de concentração do analito existe um intervalo de recuperação aceitável sendo para a concentração de 100 $\mu g.L^{-1}$, o valor é aceito entre 40-120 % (Brito *et al.* 2003).

### 5.9.3 Precisão

A precisão é o parâmetro que avalia a aproximação entre várias medidas na mesma amostra, podendo ser expressa como desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (*CV*). O *CV* é calculado pela Equação 14:

$$CV = \frac{s}{M} x100 \qquad (14)$$

onde: *CV* é o coeficiente de variação, *s* é o desvio padrão das medidas, *M* é a média das medidas.

As formas para precisão são: repetitividade, precisão intermediária e reprodutividade.

A repetitividade expressa à precisão nas mesmas condições de operação. Onde para concentrações em torno de 1,0 μg.$L^{-1}$, o *CV* aceito é de 45 %. Ela pode ser avaliada com no mínimo nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações e três replicatas cada, ou com no mínimo seis determinações para uma única concentração-teste.

A precisão intermediária expressa às variações de um mesmo laboratório, mas em dias, analistas e equipamentos diferentes.

A reprodutibilidade expressa à precisão entre laboratórios, utilizando-se de estudos colaborativos, na aplicação de padronização de metodologias.

### 5.9.4 Limite de detecção

O limite de detecção é definido como a menor concentração do analito, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas. Pode ser definido com o desvio-padrão do branco ou pode ser determinado pelo sinal/ruído, onde o desvio-padrão da resposta e do coeficiente angular e por processos estatísticos. A razão sinal/ruído com valor 3 é aceitável para estimar o limite de detecção.

### 5.9.5 Limite de quantificação

O limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito quantificado na amostra, com exatidão e precisão confiáveis, nas condições estabelecidas. Ele pode ser determinado através da razão sinal/ruído que é de 10:1, do desvio-padrão e por processos estatísticos.

### 5.9.6 Sensibilidade

A sensibilidade é a capacidade do método em diferenciar duas concentrações próximas, com determinado nível de confiança. Na prática, a sensibilidade constitui o coeficiente angular da curva analítica. Em métodos sensíveis, pequenas diferenças na concentração do analito causam grandes variações no valor do sinal medido (Brito et al. 2003).

### 5.9.7 Robustez

A robustez mede a sensibilidade que um método apresenta sob pequenas variações. Um método diz-se robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse for executado.

Para determinar a robustez de um método, pode-se recorrer ao teste de *Youden*. Trata-se de um teste que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais, indicando qual o tipo de influência de cada uma dessas variações. Convém salientar que quanto maior for à robustez de um método, maior será a confiança desse relacionamento à sua precisão (INMETRO, 2007).

# 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 6.1 Determinação do clorofórmio via GC/FID

Um trabalho exploratório das condições com clorofórmio e metanol foi realizado. Primeiramente como o equipamento já estava equipado com detector de ionização de chama, resolveu-se estudar a concentração mínima detectável por este detector. Nos ensaios iniciais, foi injetado o padrão de clorofórmio em etanol, mas este solvente foi trocado pelo metanol, devido ao metanol ter uma estrutura mais próxima do clorofórmio. As FIG. 9 e 10 abaixo mostram os cromatogramas do clorofórmio e clorofórmio em metanol, respectivamente.

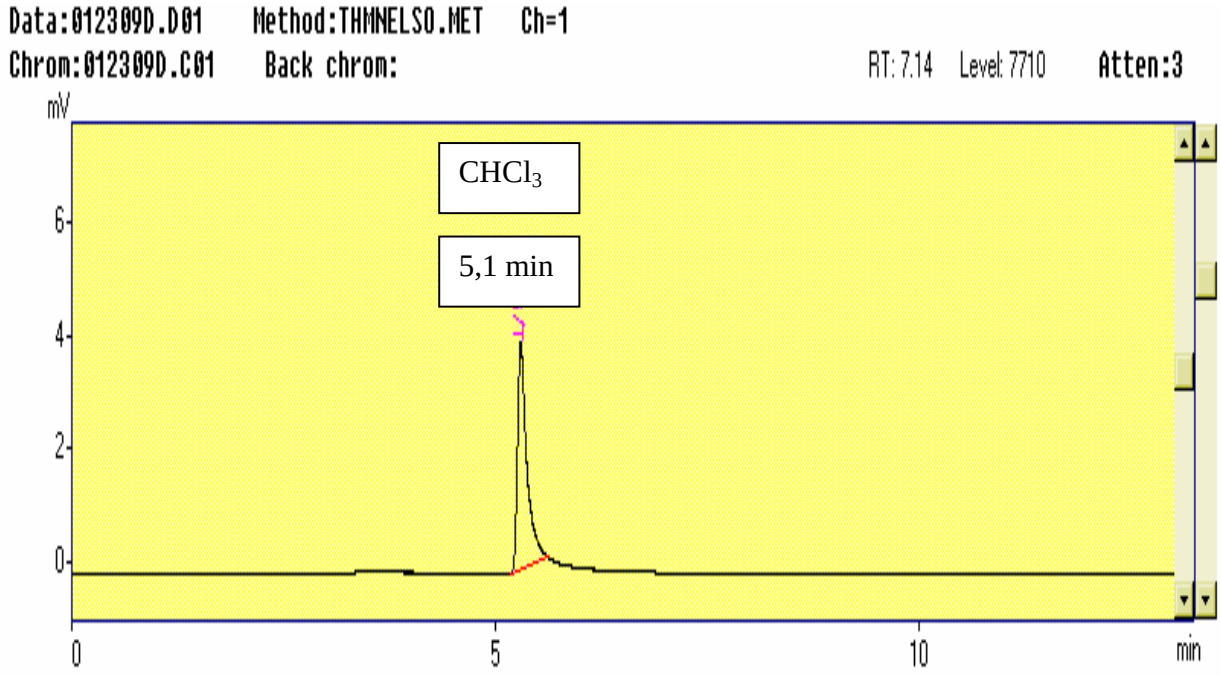



**FIGURA 9 -** Cromatograma do clorofórmio, tempo de retenção de 5,1 min.

O clorofórmio em uma coluna de PEG teve um tempo de retenção de 5,1 min nas condições mostradas na TAB. 2

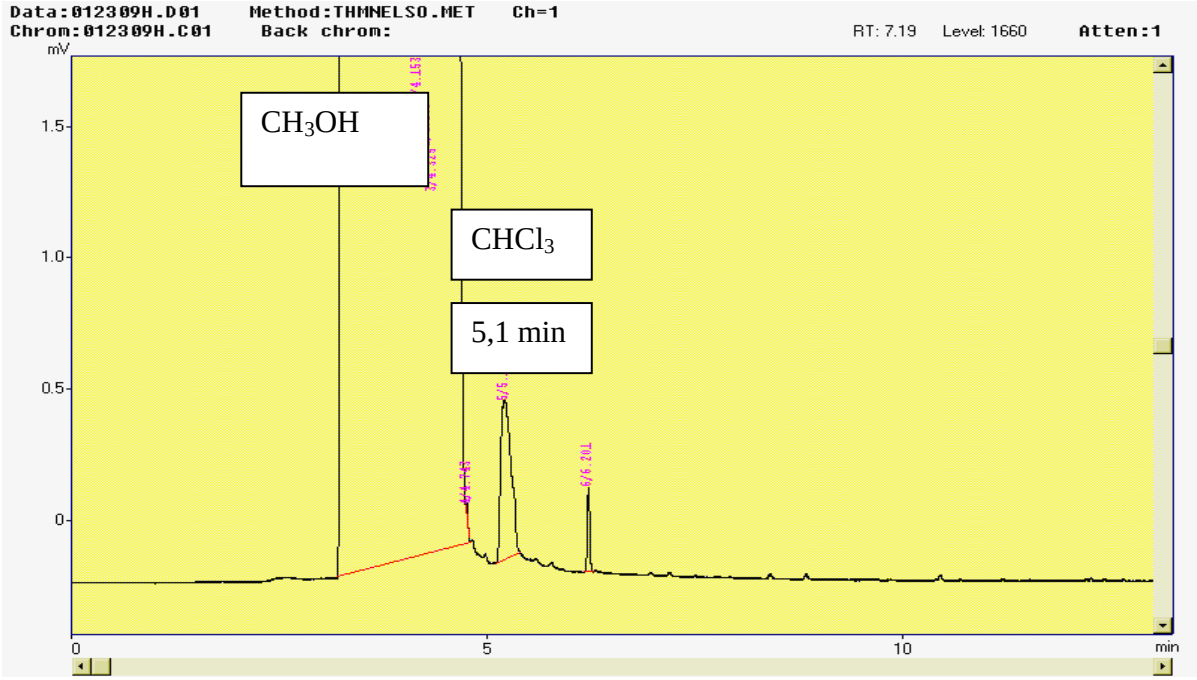



**FIGURA 10 –** Cromatograma de ensaio de clorofórmio em metanol

### 6.2 Determinação de clorofórmio via GC/ECD

Depois dos ensaios no detector de ionização de chama (FID), iniciou-se a exploração do sistema de purga e armadilha acoplado ao cromatográfo a gás utilizando detector por captura de elétrons.

Com a intenção de verificar a detecção do metanol utilizando-se o detector por captura de elétrons (ECD) foi injetado 1,0 µL de metanol diretamente no cromatógrafo à gás, na FIG. 11 tem se o cromatograma obtido, onde observa-se que uma quantidade significativa de metanol foi injetada, porém, pouco foi detectado. Portanto, constatou-se que o ECD é pouco seletivo para o metanol, já que alcoóis, hidrocarbonetos e cetonas são insensíveis a este tipo de detector (HARRIS, 2005).

Esta característica do metanol é importante porque ele é o solvente utilizado para os THMs e caso ele fosse detectado com grande intensidade como observado no detector FID mostrado na FIG.10, poderia ocorrer uma sobreposição com o clorofórmio, porque os pontos de ebulição destes compostos são próximos. O metanol e o clorofórmio possuem pontos de ebulição de 64,5 ℃ e 61,2 ℃, respectivamente (Morita & Assumpção, 2001).

Uma água milli-Q (água reagente) foi injetada no concentrador de purga e armadilha acoplado ao cromatógrafo a gás, a presença de um composto no tempo de retenção de 4,3 min foi constatada. Em uma suspeita de que este composto poderia ser o clorofórmio, um padrão de clorofórmio em uma concentração de 1,0 $\mu g.L^{-1}$ foi injetado, que saiu no mesmo tempo de retenção, comprovando que é há grandes chances de ser o clorofórmio. A explicação para este fato foi que no processo de tratamento de água milli-Q, a água potável de torneira deixa um pequeno residual deste composto. As FIG. 12 e 13 mostram os cromatogramas da água milli-Q e do padrão de 1,0 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente.

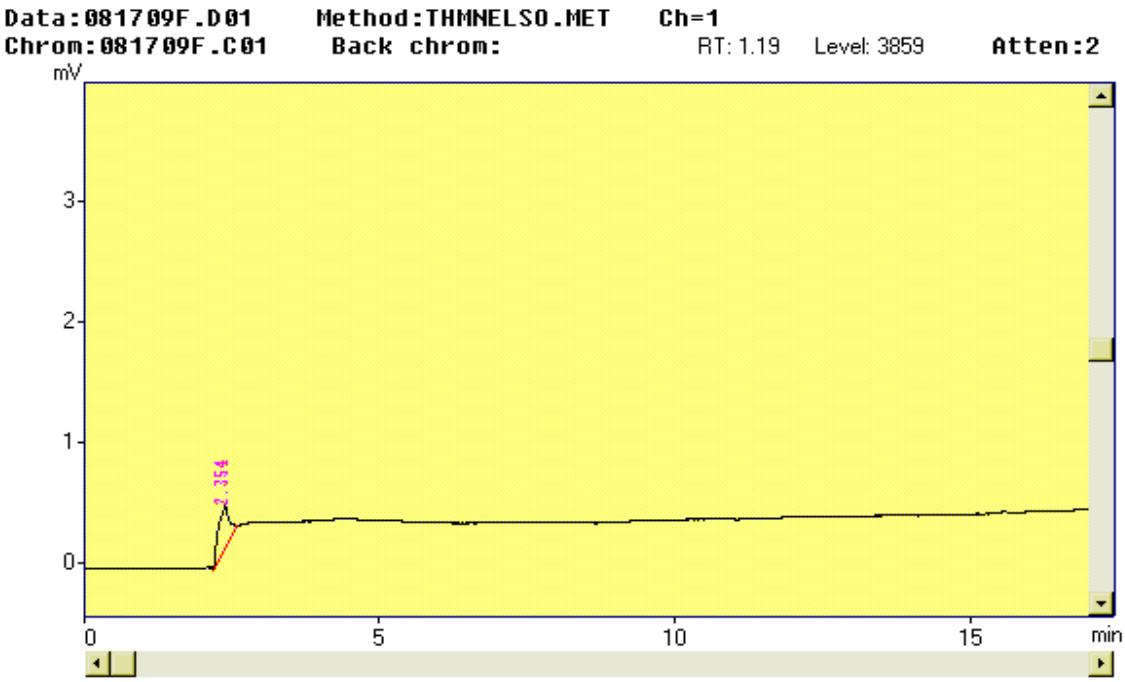



**FIGURA 11 -** Cromatograma do metanol em ECD (detector por captura de elétrons).

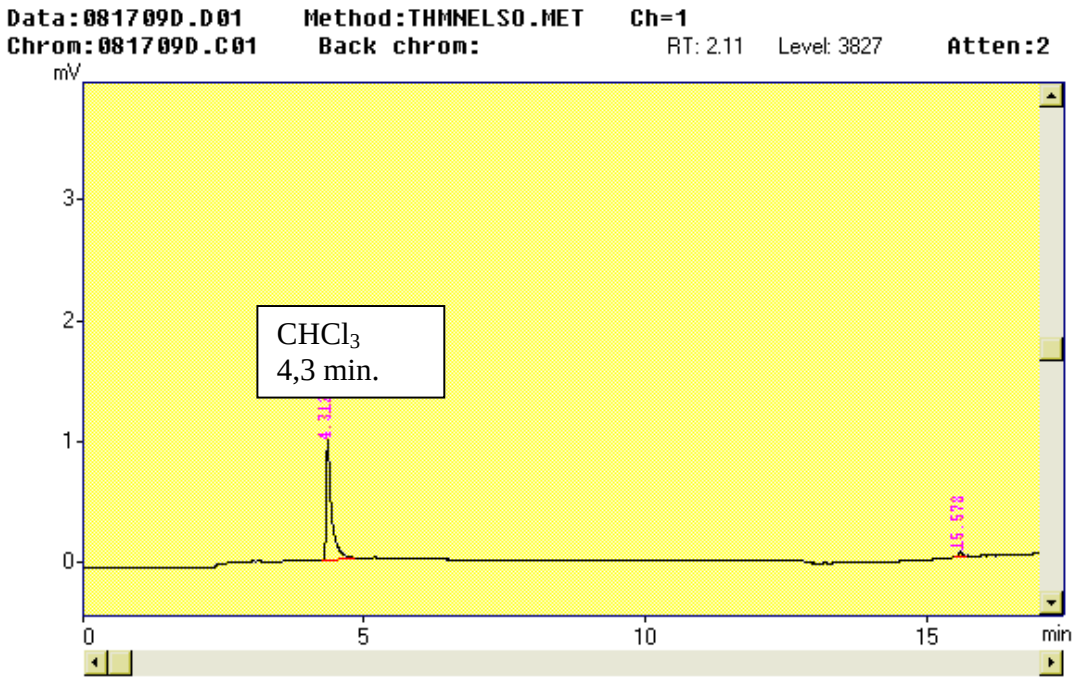



**FIGURA 12 –** Cromatograma de ensaio da água reagente.

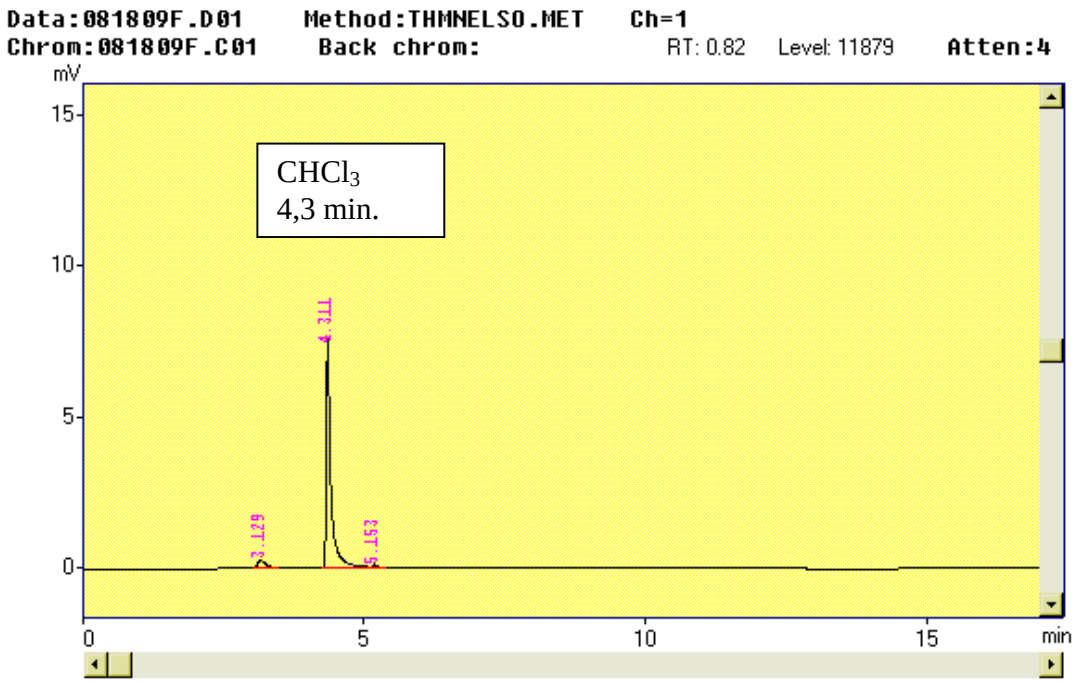



**FIGURA 13 -** Cromatograma do clorofórmio em uma concentração de 1,0 µg.$L^{-1}$.

Através dos dados obtidos anteriormente, adotou-se o procedimento de padronizar a água milli-Q diariamente, como esta água não apresentou um valor muito alto em clorofórmio, ela foi utilizada como água reagente. Para certificar-se da não produção de THMs, adicionou-se a esta água, tiossulfato de sódio 1,0 $g.L^{-1}$ para controlar a formação indesejada de THMs, visto que o tiossulfato de sódio reage com o cloro livre, inibindo a formação dos mesmos.

**6.3 Curva de calibração, linearidade na faixa de trabalho e sensibilidade.**

Em um estudo preliminar, o comportamento dos trialometanos foi investigado através da elaboração de uma curva de calibração utilizando um padrão de clorofórmio nas concentrações de 0,1; 53,0; 105,9; 158,8; 211,8 $\mu g.L^{-1}$. As injeções de cada concentração foram feitas em triplicata. O gráfico de resposta da concentração em função da área é ilustrado na FIG. 14. Esta curva apresentou uma boa linearidade na faixa de trabalho de 0,1 a 211,8 $\mu g.L^{-1}$, com um bom coeficiente de correlação 0,9862. Segundo BRITO et.al 2003 um coeficiente de correlação de reta de ($0,91 < R < 0,99$) é uma correlação aceitável.

A sensibilidade do método foi determinada pelo coeficiente angular do gráfico analítico, que foi de 5770,2 ±, o coeficiente angular é proporcional a sensibilidade do método.

Dando prosseguimento à metodologia, a curva de calibração foi feita utilizando um padrão da mistura dos THMs. Ao injetar uma amostra contendo os trialometanos observou-se que os picos dos trialometanos apresentavam-se muitos juntos no cromatograma, sendo necessário então separar melhor os compostos realizando uma otimização do processo cromatográfico. As condições que foram alteradas para obtenção de um cromatograma com maior separação dos picos dos THMs estão apresentadas na TAB. 8.

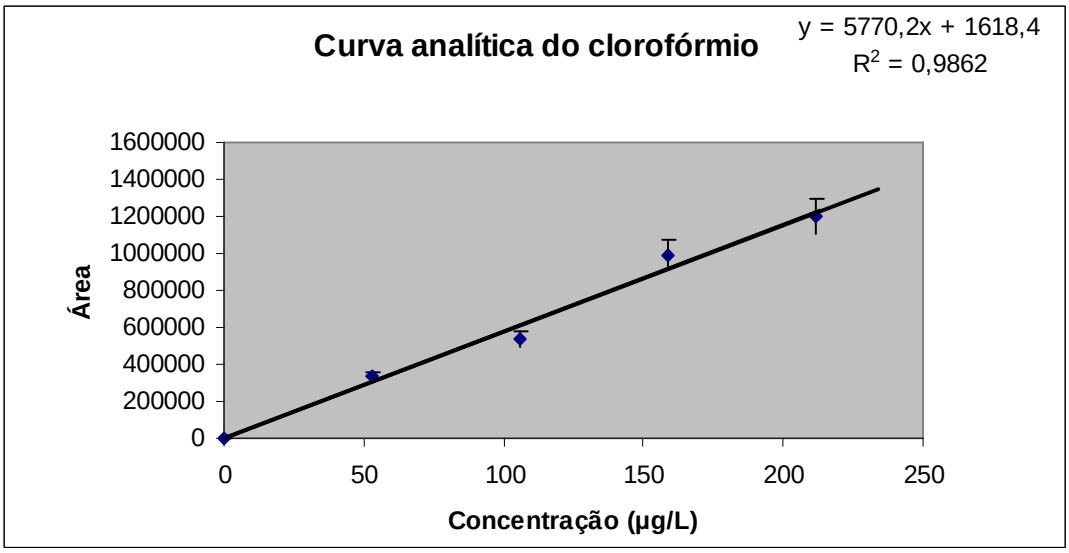



**FIGURA 14 -** Curva analítica para o clorofórmio.

**TABELA 8 –** Condições otimizadas para resolução melhor.

| Condições experimentais CG – ECD | |
|---|---|
| Temperatura do detector | 320 ℃ |
| Temperatura do injetor | 200 ℃ |
| Pressão na coluna | 82 kPa |
| Razão de “split” | 1/300 |
| Fluxo, Velocidade linear | 1,02 mL/min., 26,1 cm/seg. |
| Fluxo total | 311 mL/min. |
| Tempo da corrida | 11,4 min. |

O dispositivo de purga e armadilha concentra os compostos voláteis e logo os libera e a separação dá-se em função da temperatura, portanto, foi necessário abaixar a temperatura do injetor para se obter uma melhor separação. Com a diminuição da quantidade de amostra injetada, com maior divisão da amostra e com aumento da velocidade linear, o encaudamento foi minimizado. Um cromatograma da mistura dos THMs na concentração de 150 µg.$L^{-1}$ foi registrado e estás ilustrado na

FIG. 15. Observa-se nesta figura que os tempos de retenção para os THMs: clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio foram 3,0; 4,6; 6,4 e 7,7 min. respectivamente.

Para a mistura de THMs foi feito duas curvas de calibração para cada composto, uma com concentrações baixas e outra com concentrações altas.

A curva para concentrações baixas foi utilizada para determinar o coeficiente angular e também para calcular o limite de detecção e limite de quantificação. Esta curva também foi útil, na determinação de concentrações baixas dos analitos, como por exemplo, em brancos de amostras, águas de poço, águas após filtração e outras.

A curva para concentrações altas foi utilizada para determinar concentrações mais altas dos analitos, como por exemplo, em amostras de águas potáveis de caixa de água e água direta da rua.

As concentrações baixas para o clorofórmio neste trabalho foram às seguintes: 0,5; 1,0; 5,0; 24,8 e 49,6 $\mu g.L^{-1}$. Já para as concentrações mais altas foram: 24,8; 49,6; 74,3; 99,1 e 148,6 $\mu g.L^{-1}$. As FIG. 16 e 17 mostram as curvas de calibração para o clorofórmio (CF), com concentrações menores e maiores, respectivamente.

O clorofórmio em concentrações baixas apresentou boa linearidade na faixa de estudo, este fato pode ser explicado desta forma, em concentrações baixas há uma menor volatilização e maior solubilização em água do clorofórmio de que em concentrações altas, gerando taxas de evaporação baixas e resultados mais precisos em concentrações menores. Já em concentrações maiores, a linearidade foi aceitável, porém um pouco inferior em relação à de concentrações menores, este fato pode ser explicado pela alta volatilização, menor solubilização em água quando se tem alta concentração do analito no solvente, também há uma maior influência na decomposição com a luz e de temperatura da amostra de ensaio. O clorofórmio comparado nas duas formas utilizadas, ou puro ou na mistura com outros THMs apresentou comportamento similar. Sendo que o coeficiente de determinação ($R^2$) com ele puro e misturado em mesmas grandezas de concentração foram 0,9862 e 0,9847, respectivamente. Em concentrações baixas o ($R^2$) foi de 0,9995.

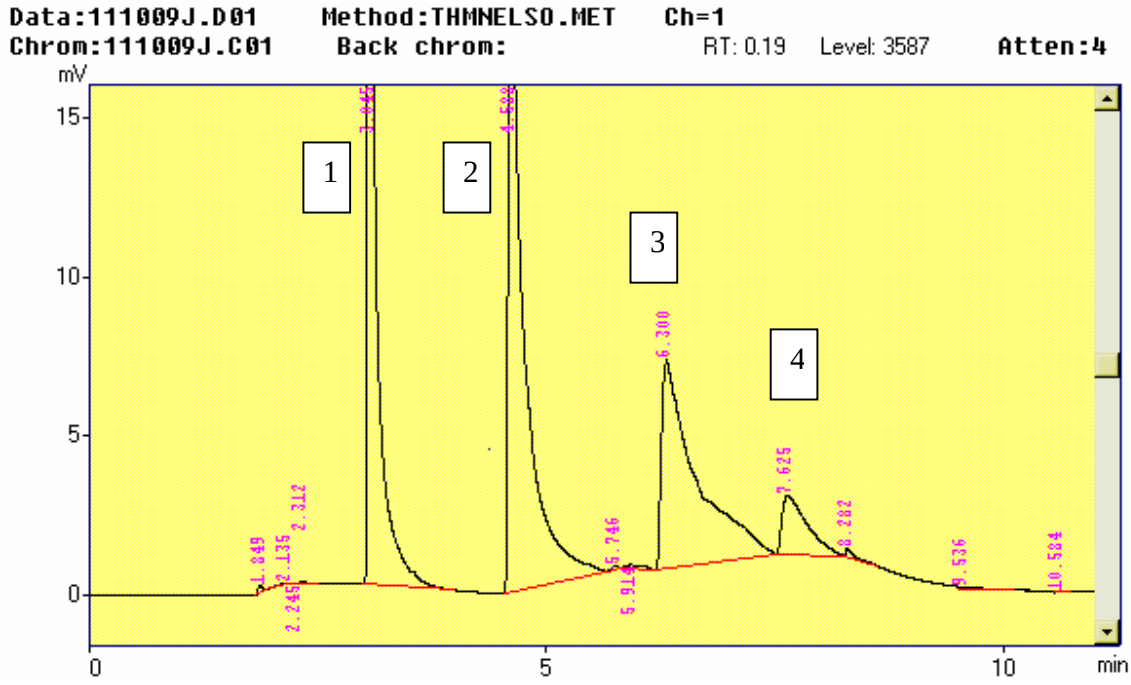



**FIGURA 15 –** Cromatograma do padrão de THMs com 150 µg.L$^{-1}$, 1 – clorofórmio 2 – bromodiclorometano 3 – dibromoclorometano 4 – bromofórmio.

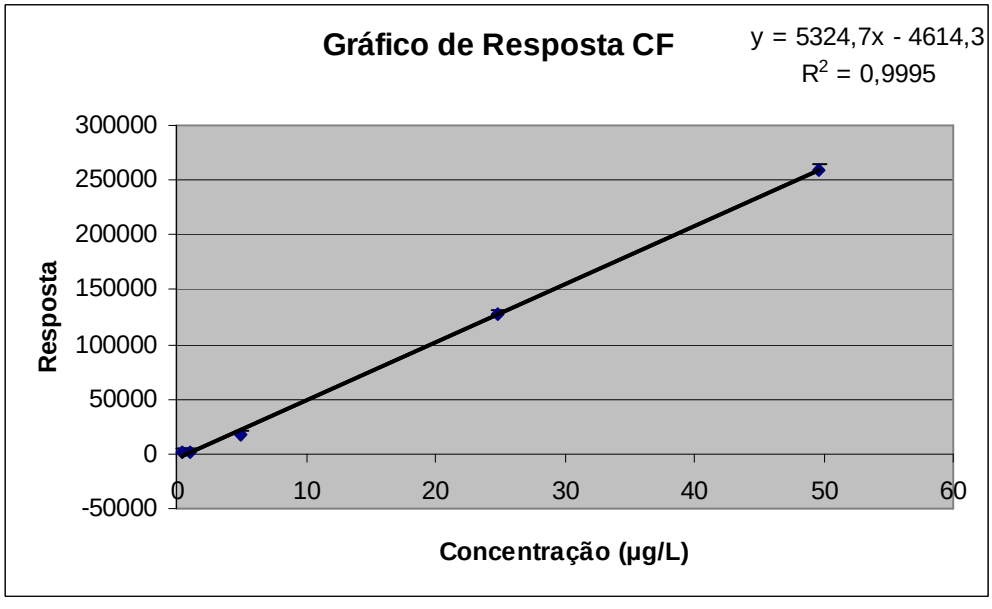



**FIGURA 16 –** Curva analítica para o clorofórmio para concentrações baixas.

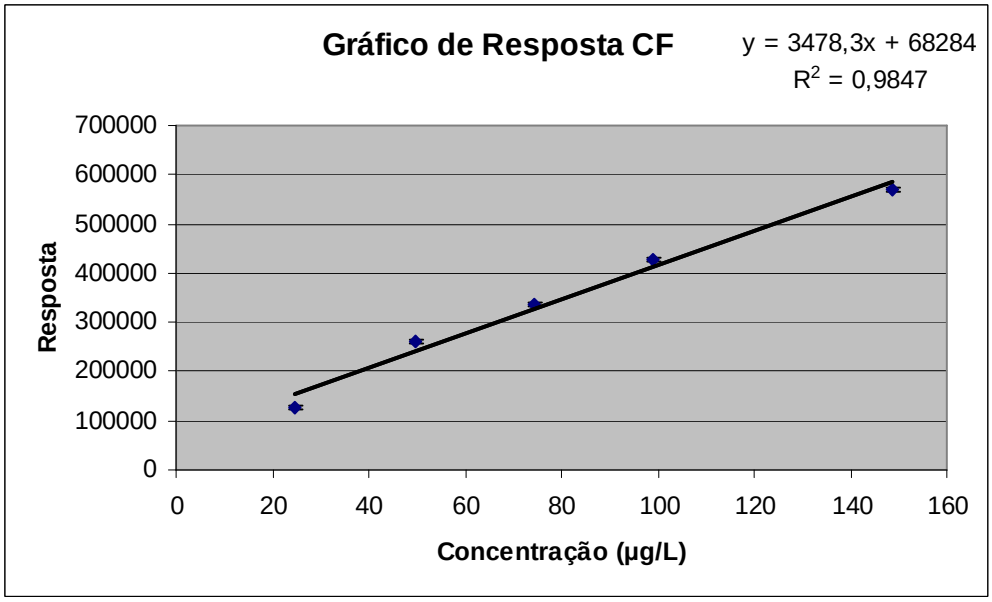



**FIGURA 17 –** Curva analítica para o clorofórmio para concentrações altas.

Nos cromatogramas, o segundo THM a eluir foi o bromodiclorometano, também em segundo lugar em quantidade encontrada nas amostras de águas potáveis da região de Suzano. Também para BDCM foram feitas duas curvas de calibração, uma com concentrações baixas e outra com concentrações altas, como foi feito para o clorofórmio. Também para o bromodiclorometano observou-se uma linearidade maior em concentrações baixas. Uma possível explicação para esse fato é que este composto possui volatilidade baixa e apreciável solubilidade em água.

As concentrações baixas utilizadas para a calibração do bromodiclorometano foram as seguintes: 0,5; 1,0; 5,0; 24,6 e 49,2 $\mu g.L^{-1}$. Já as concentrações altas utilizadas foram as seguintes: 24,6; 49,2; 73,9; 98,5 e 147,8 $\mu g.L^{-1}$.

As FIG. 18 e 19 mostram as curvas de calibração para o bromodiclorometano (BDCM), com concentrações baixas e altas, respectivamente.

Para as curvas de calibração do BDCM com concentrações baixas e altas, os coeficientes de correlação, $R^2$ foram de 0,9990 e 0,9892, respectivamente.

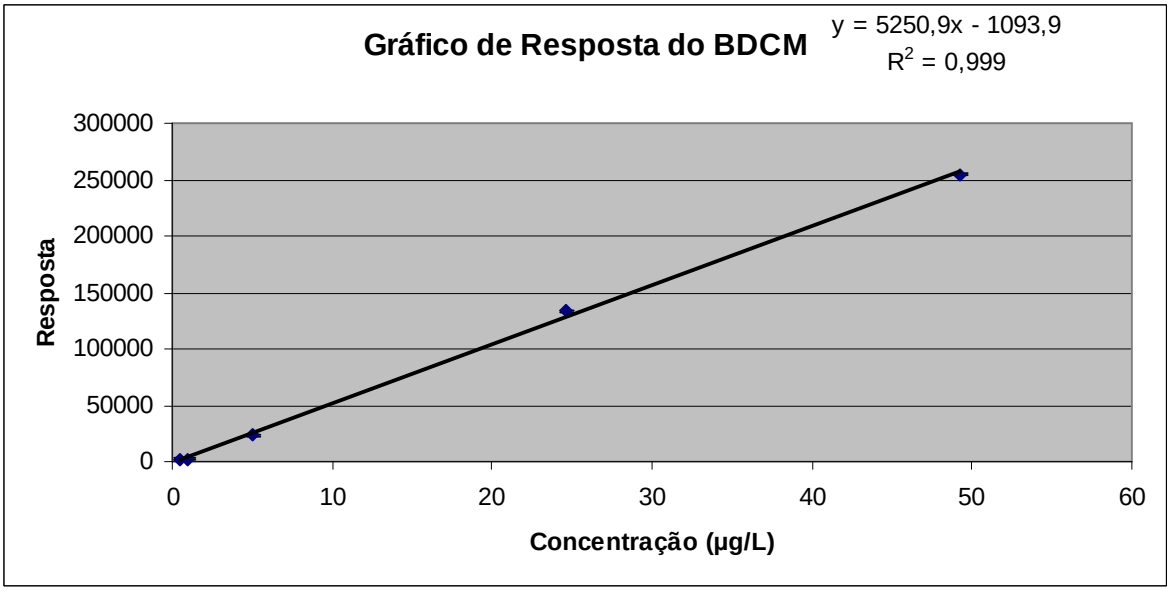



**FIGURA 18 –** Curva analítica para o bromodiclorometano em concentrações baixas.

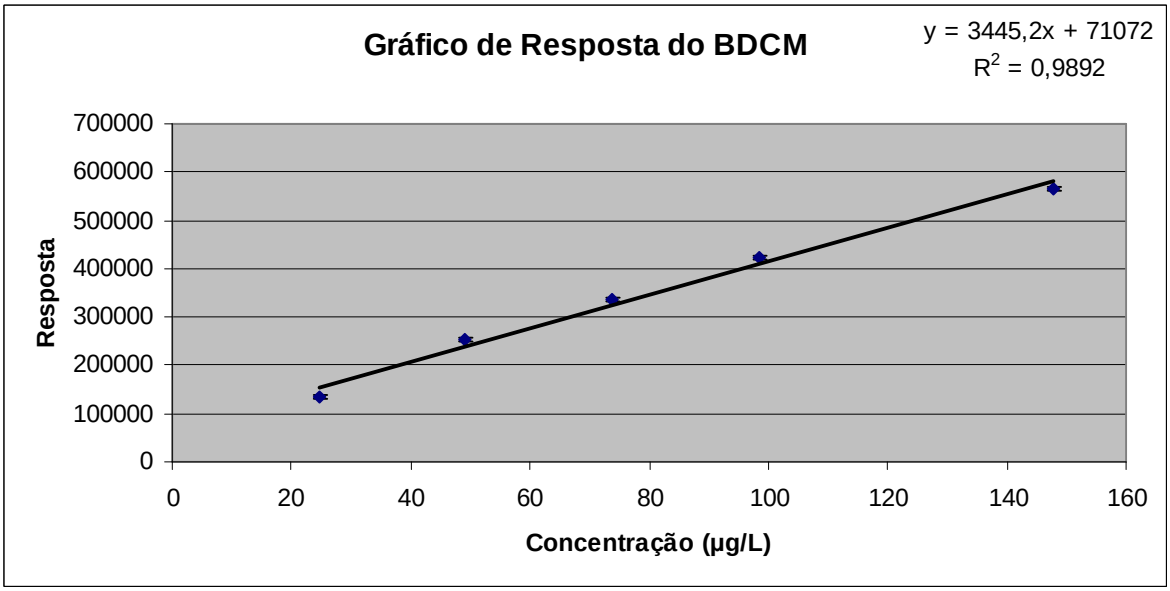



**FIGURA 19 –** Curva analítica para o bromodiclorometano em concentrações altas.

Para o dibromoclorometano DBCM também foram feitas duas curvas de calibração. Já as concentrações baixas para este composto foram: 0,5; 1,0; 5,0; 24,8

e 49,6 $\mu g.L^{-1}$. As concentrações altas foram às seguintes: 24,8; 49,6; 74,4; 99,2 e 148,8 $\mu g.L^{-1}$. Como este composto possui uma massa molar elevada e possui volatilidade baixa, ele não apresentou diferenças significativas de linearidade entre as duas curvas. Os coeficientes de correlação $R^2$ foram de 0,9998 e 0,9951. As FIG. 20 e 21 mostram as curvas de calibração para o dibromoclorometano (DBCM), para concentrações baixas e altas, respectivamente.

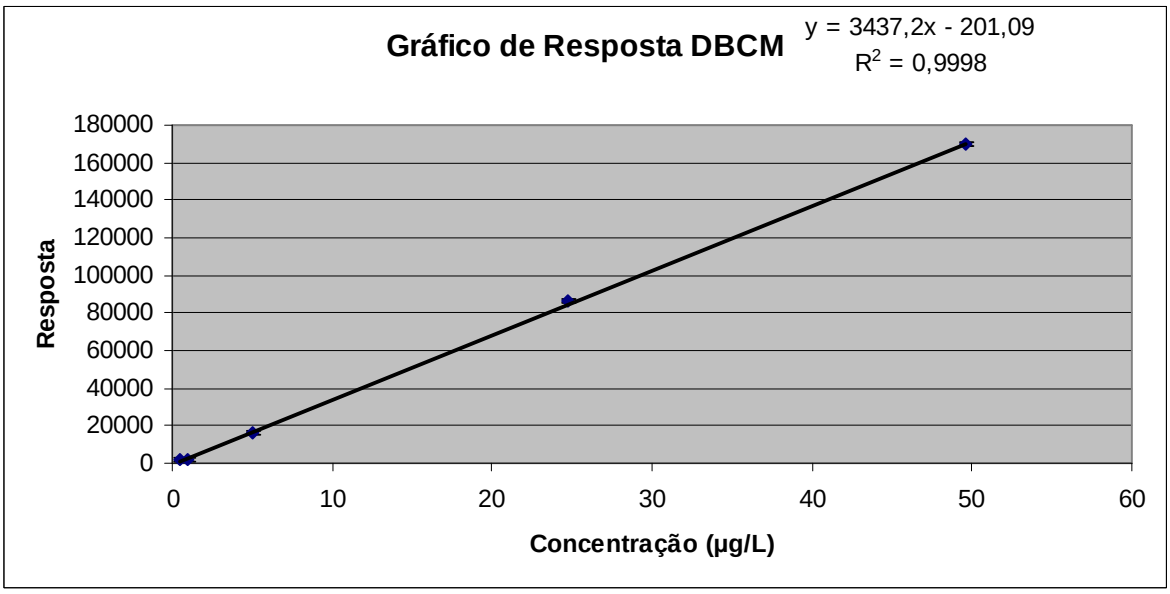



**FIGURA 20 –** Curva analítica para o dibromoclorometano em concentrações baixas.

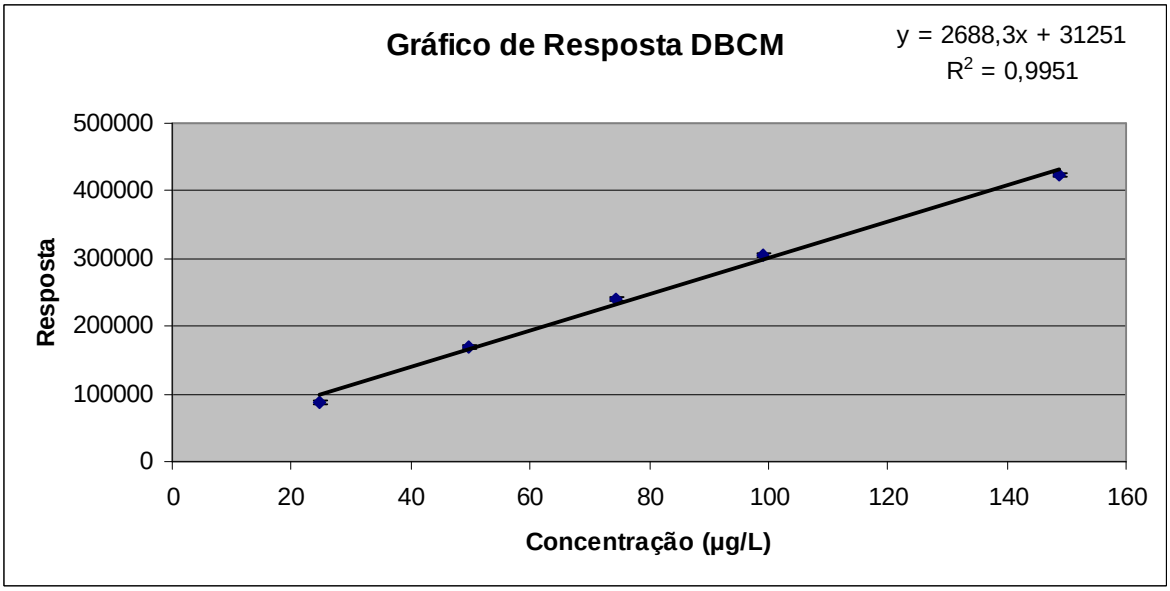



**FIGURA 21 –** Curva analítica para o dibromoclorometano em concentrações altas.

Para o tribromometano (BF) foram feitas também duas curvas de calibração, uma com concentrações baixas e outra com concentrações altas. As concentrações baixas foram: 0,5; 1,0; 4,9; 24,5 e 49,0 $\mu g.L^{-1}$. Já as concentrações altass para ele foram: 24,5; 49,0; 73,5; 98,0 e 147,0 $\mu g.L^{-1}$. O bromofórmio possui uma massa molecular de 252,7 $g.mol^{-1}$, e pressão de vapor de 0,8 kPa, com esta massa elevada e volatilidade reduzida, ele apresenta um comportamento semelhante ao dibromoclorometano, sendo estável em solução. Suas curvas de calibração, tanto para concentrações baixas quanto para as concentrações altas, mostraram comportamento linear semelhante, com coeficiente de correlação de 0,9929 e 0,9977, para as duas curvas, respectivamente. As FIG. 22 e 23 apresentam-se as curvas de calibração para o tribromometano:

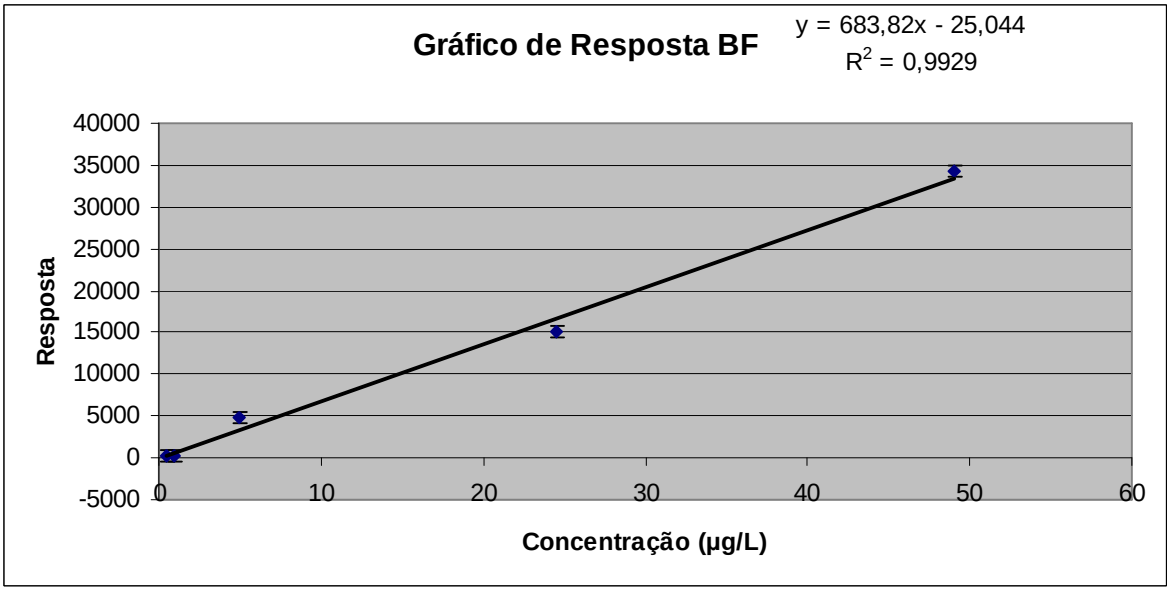



**FIGURA 22 –** Curva analítica para o bromofórmio em concentrações baixas.

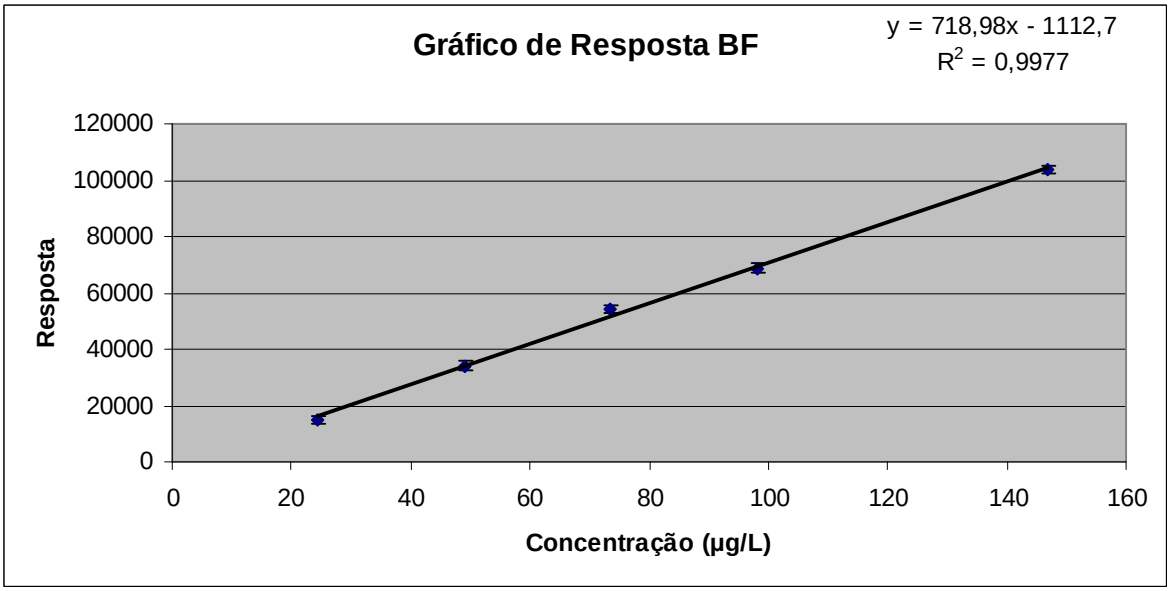



**FIGURA 23 –** Curva analítica para o bromofórmio em concentrações altas.

### 6.4 Exatidão através da recuperação

Para a análise da exatidão foi utilizado o método da recuperação, esta por sua vez, foi realizada em três níveis de concentração: 53,0; 105,9 e 158,8 $\mu g.L^{-1}$, para a primeira foi feita três replicatas, para a segunda 5 replicatas e para a terceira 7 replicatas, notou-se que os resultados de porcentagem de recuperação individuais estão dentro do esperado segundo BRITO, 2003 que é de 40 à 120% para analitos traços. Considerando a média geral no processo de recuperação observou-se o resultado de 103,4 % para as medidas realizadas neste trabalho. A recuperação para o clorofórmio puro é dada pela TAB. 9.

**TABELA 9** - Recuperação para o clorofórmio puro.

| **Recuperação para o Clorofórmio** | | | |
|---|---|---|---|
| **Conc. adicionada (µg/L)** | **Conc. Encontrada (µg/L)** | **Recuperação (%)** | **Média recuperação (%)** |
| 53,0 | 59,6 | 112,5 | |
| 53,0 | 58,9 | 111,2 | |
| 53,0 | 55,3 | 104,3 | |
| 105,9 | 96,1 | 90,8 | |
| 105,9 | 91,8 | 86,7 | |
| 105,9 | 88,4 | 83,4 | |
| 105,9 | 129,5 | 122,3 | |
| 105,9 | 123,9 | 117 | |
| 158,8 | 178,7 | 112,5 | |
| 158,8 | 171,2 | 107,8 | |
| 158,8 | 164,7 | 103,7 | |
| 158,8 | 126,5 | 79,6 | |
| 158,8 | 121,8 | 76,7 | |
| 158,8 | 194,1 | 122,2 | |
| 158,8 | 191,4 | 120,5 | |
| | | | **103,4** |

Para o clorofórmio junto com os demais THMs também foi feito a sua recuperação. As concentrações dos padrões foram calculadas com base na concentração do padrão, porém, como a concentração de cada THMs na mistura é diferente, um cálculo de concentração corrigida foi feito para cada concentração em todos os THMs. Por exemplo, a concentração calculada de 50,0 $\mu g.L^{-1}$, contém na verdade 49,6 $\mu g.L^{-1}$ de clorofórmio, 49,2 $\mu g.L^{-1}$ de bromodiclorometano, 49,6 $\mu g.L^{-1}$ de dibromoclorometano e 49,0 $\mu g.L^{-1}$ de tribromometano. O clorofórmio teve a seguintes concentrações adicionadas; 49,6; 74,3 e 99,1 $\mu g.L^{-1}$. A média para a recuperação para o clorofórmio foi de 106,4 %. Os resultados das recuperações para cada concentração em triplicata e a média geral da recuperação são mostrados na TAB. 10.

**TABELA 10 -** Recuperação para o clorofórmio (CF) na mistura de THMs.

| Recuperação para o Clorofórmio | | | |
|---|---|---|---|
| **Conc. adicionada (µg/L)** | **Conc. encontrada (µg/L)** | **Recuperação (%)** | **Média recuperação (%)** |
| 49,6 | 53,9 | 108,7 | |
| 49,6 | 56,3 | 113,5 | |
| 49,6 | 55,0 | 110,9 | |
| 74,3 | 78,6 | 105,8 | |
| 74,3 | 79,6 | 107,1 | |
| 74,3 | 73,1 | 98,4 | |
| 99,1 | 104,3 | 105,2 | |
| 99,1 | 102,7 | 103,6 | |
| 99,1 | 103,3 | 104,2 | |
| | | | **106,4** |

Como em cada injeção saem os quatro THMs, as concentrações adicionadas para o bromodiclorometano (BDCM) foram de: 49,2; 73,9 e 98,5 $\mu g.L^{-1}$, as concentrações adicionadas estão na primeira coluna, as concentrações encontradas ou recuperadas estão na segunda coluna, as porcentagens de

recuperações estão na terceira coluna para cada concentração e a média geral da recuperação para o BDCM que foi de 106,9 % está na quarta coluna. A TAB. 11 mostra estes resultados.

**TABELA 11** - Recuperação para o bromodiclorometano (BDCM) na mistura de THMs.

| Recuperação para o Bromodiclorometano | | | |
|---|---|---|---|
| **Conc. adicionada (µg/L)** | **Conc. encontrada (µg/L)** | **Recuperação (%)** | **Média recuperação (%)** |
| 49,2 | 53,6 | 108,7 | |
| 49,2 | 56,0 | 113,8 | |
| 49,2 | 54,8 | 111,4 | |
| 73,9 | 78,5 | 106,2 | |
| 73,9 | 79,6 | 107,7 | |
| 73,9 | 73,0 | 98,8 | |
| 98,5 | 104,5 | 106,1 | |
| 98,5 | 102,9 | 104,5 | |
| 98,5 | 103,5 | 105,1 | |
| | | | **106,9** |

As concentrações adicionadas para o dibromoclorometano DBCM foram: 49,6; 74,4 e 99,2 µg.$L^{-1}$, elas estão na primeira coluna, as concentrações recuperadas em cada concentração estão na segunda coluna, às porcentagens de recuperações estão na terceira coluna e a média geral de recuperação para este composto foi de 103,7 % e está na quarta coluna. A TAB.12 mostra os resultados para o DBCM.

**TABELA 12 -** Recuperação para o dibromoclorometano (DBCM) na mistura de THMs.

| Recuperação para o Dibromoclorometano | | | |
|---|---|---|---|
| **Conc. adicionada (µg/L)** | **Conc. encontrada (µg/L)** | **Recuperação (%)** | **Média recuperação (%)** |
| 49,6 | 52,2 | 108,7 | |
| 49,6 | 51,1 | 103,0 | |
| 49,6 | 51,0 | 102,8 | |
| 74,4 | 80,3 | 107,9 | |
| 74,4 | 77,5 | 104,2 | |
| 74,4 | 74,5 | 100,1 | |
| 99,2 | 101,9 | 102,7 | |
| 99,2 | 100,0 | 100,8 | |
| 99,2 | 102,6 | 103,4 | |
| | | | **103,7** |

As concentrações adicionadas para o bromofórmio BF foram de: 49,0; 73,5 e 98,0 µg.$L^{-1}$, elas estão na primeira coluna, as concentrações recuperadas em cada concentração estão na segunda coluna, as porcentagens de recuperações estão na terceira coluna e a média geral de recuperação para este composto foi de 102,1 % e está na quarta coluna. Estes resultados para o bromofórmio são mostrados na TAB. 13.

**TABELA 13** - Recuperação para o bromofórmio (BF) na mistura de THMs.

| Recuperação para o Bromofórmio | | | |
|---|---|---|---|
| **Conc. adicionada (µg/L)** | **Conc. encontrada (µg/L)** | **Recuperação (%)** | **Média recuperação (%)** |
| 49,0 | 50,7 | 108,7 | |
| 49,0 | 48,6 | 99,2 | |
| 49,0 | 48,0 | 98,0 | |
| 73,5 | 82,1 | 111,7 | |
| 73,5 | 76,0 | 103,4 | |
| 73,5 | 73,9 | 100,5 | |
| 98,0 | 98,3 | 100,3 | |
| 98,0 | 95,2 | 97,1 | |
| 98,0 | 98,0 | 100,0 | |
| | | | **102,1** |

Os padrões preparados e adicionados representam a quantidade real, ou seja, a quantidade de referência como exata, e o valor encontrado representa o quanto o método é capaz de recuperar o analito e o quanto ele se aproxima do valor real. A exatidão foi avaliada por este parâmetro, onde os resultados mostram que o método possui uma exatidão aceitável.

Os compostos de massas molares maiores apresentaram taxas de recuperações melhores do que para os compostos de massas molares menores.

### 6.5 Limite de detecção e limite de quantificação.

O limite de detecção *LD* para o clorofórmio puro foi determinado através de sete ensaios do branco, onde o analito, o clorofórmio foi detectado, foi calculado a média das áreas, o desvio padrão e o coeficiente de variação. A TAB.14 mostra estes resultados. O cálculo do limite de detecção é expresso pela Equação 15:

$$LD = \frac{3{,}3xs}{S} \qquad (15)$$

onde: *s* é o desvio padrão, e *S* é a sensibilidade do método que é dado pelo coeficiente angular das curvas analíticas de concentrações baixas.

**TABELA 14 -** Ensaios de brancos para o clorofórmio.

| Branco do clorofórmio | | | |
|---|---|---|---|
| **área do branco** | **Média** | **Desvio padrão** | **Coeficiente de variação** |
| 517 | | | |
| 480 | | | |
| 435 | | | |
| 448 | 509 | 59,1 | 11,6% |
| 546 | | | |
| 534 | | | |
| 603 | | | |

O limite de quantificação L.Q. foi o menor ponto da curva analítica, que foi de 0,1 μg.$L^{-1}$. O coeficiente de variação *CV* para valores em triplicata foi 11,8 %, sendo aceitável até 45 % para concentrações muito baixas.

O limite de detecção foi calculado através da curva de calibração de concentração de concentrações baixas para os quatro THMs. O cálculo foi feito utilizando a Equação 16. O clorofórmio, o bromodiclorometano e o dibromoclorometano tiveram limites de detecção próximos e menores, já o bromofórmio teve um limite de detecção cinco vezes maior, isto pode ser explicado pela diferença no fator resposta para cada composto nas condições utilizadas.

O limite de quantificação foi calculado pela Equação 16:

$$LQ = \frac{10 * s}{S} \qquad (16)$$

onde: *s* é a média do desvio padrão de três medidas, e *S* é a sensibilidade do método que é dado pelo coeficiente angular das curvas analíticas com

concentrações altas.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados para cada THMs e estão resumidos na TAB. 15.

**TABELA 15** – Limites de detecção e quantificação para os THMs.

| Limite de Detecção e Quantificação dos THMs | | |
|---|---|---|
| **Analito** | **L.D. (μg/L)** | **L.Q. (μg/L)** |
| Clorofórmio | 0,07 | 0,21 |
| Bromodiclorometano | 0,04 | 0,12 |
| Dibromoclorometano | 0,06 | 0,17 |
| Bromofórmio | 0,37 | 1,1 |

## 6.6 Precisão

A precisão foi determinada pela repetitividade, onde foram feitas análises do analito clorofórmio em três concentrações em triplicata cada, onde foram calculados os coeficientes de variações (*CV*) destas medições e comparado com o permitido que é de 45%.

Para a concentração de 53 $\mu g.L^{-1}$, o *CV* foi de 4,0 %, para a concentração de 105,9 $\mu g.L^{-1}$ o *CV* foi de 4,2 % e para a concentração de 158,8 $\mu g.L^{-1}$, o *CV* foi de 4,1 %, mostrando que o método está dentro do limite permitido.

A precisão para os THMs foi determinada a partir de três conjuntos de ensaios, que representavam as concentrações baixas, médias e altas e os resultados obtidos encontram-se tabelados (TAB. 16).

**TABELA 16** - Precisão para os THMs.

| Precisão dos THMs | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Composto** | **Concentração** | **Média (µg/L)** | **D.P. (µg/L)** | **C.V.(%)** |
| CF | Baixa | 4,3 | 0,1 | 2,7 |
| CF | Média | 18,9 | 0,5 | 2,6 |
| CF | Alta | 54,0 | 2,4 | 4,5 |
| BDCM | Baixa | 4,6 | 0,1 | 1,3 |
| BDCM | Média | 8,9 | 0,2 | 1,7 |
| BDCM | Alta | 74,0 | 1,7 | 2,3 |
| DBCM | Baixa | 4,9 | 0,1 | 2,0 |
| DBCM | Média | 9,5 | 0,2 | 1,6 |
| DBCM | Alta | 91,7 | 1,8 | 1,9 |
| BF | Baixa | 7,1 | 0,4 | 5,3 |
| BF | Média | 14,9 | 0,4 | 2,7 |
| BF | Alta | 102,8 | 4,8 | 4,7 |

### 6.7 Robustez

Alguns parâmetros do concentrador de purga e armadilha foram estudados com o intuito de avaliar a relevância na co-eluição de compostos em análises seqüentes. Os parâmetros estudados foram tempo de purga, tempo de dessorção, tempo de aquecimento da armadilha e temperatura do injetor. Em cada um destes parâmetros foi escolhidos dois níveis, um baixo e outro alto. Estes parâmetros são ilustrados na TAB. 17.

Na avaliação de co-eluição em análises posteriores o único fator importante foi o tempo de aquecimento do sistema após a dessorção, chamado de “bake”. Onde foi deixado no nível maior de 10 min, em injeções de branco não houve co-eluição de compostos químicos.

Para os demais parâmetros não houve diferença significativa na variação dos níveis, portanto foi permanecido o nível mais baixo.

Estas mudanças durante o desenvolvimento do método mostraram a

robustez em alguns parâmetros nesta metodologia.

**TABELA 17** – Parâmetros da robustez.

| Parâmetro | Nível 1 (min) | Nível 2 (min) |
|---|---|---|
| Tempo de Purga | 10 | 15 |
| Tempo de dessorção | 5 | 10 |
| Tempo de aquecimento | 5 | 10 |
| Temperatura Injetor | 260 ºC | 280 ºc |

### 6.8 Determinação dos trialometanos em amostras de água potável

A metodologia desenvolvida para determinar as concentrações dos THMs foi aplicada em amostras de água potável do abastecimento público. Este método abrange determinar concentrações de THMs de águas em geral e de qualquer localidade. A cidade de Suzano-SP foi escolhida porque ela pertence à região do Alto Tietê e nesta região as margens da represa de Taiçupeba (Esta represa abastece as cidades do Alto Tietê e parte da Zona Leste da cidade de São Paulo e está localizada no município de Suzano) possuem muita vegetação, sendo que a presença de vegetação nas margens da represa favorece a decomposição destas, propiciando a formação dos precursores de THMs, os chamados ácidos fúlvicos e húmicos. A Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) faz o tratamento de água da cidade.

As amostras de água potável foram coletadas no centro da cidade e em quatro bairros do município de Suzano. Os bairros foram Jardim Alterópolis, Jardim Europa, Cidade Miguel Badra e Jardim Maitê. A FIG. 24 mostra o mapa de Suzano com os bairros onde foram feitas as coletas de águas potáveis e também a represa Taiçupeba, de onde a água é extraída para o tratamento. Os principais locais de amostragem foram:

- água de rua

- água de caixa d'água
- água de caixa d'água após filtro
- água de filtro após caixa d'água
- água de poço

As amostras foram coletadas em duas datas diferentes, nos dias 13 de Outubro e 05 de Novembro de 2009, isto é, a primavera de 2009.

Os ensaios para a determinação dos THMs foram realizados em duplicata, onde foi determinada a concentração de cada um dos quatro THMs separadamente e para os trialometanos totais (TTHMs), que é a soma destes conforme a Equação 8.

Nos ensaios para o clorofórmio nos dias coletados, o menor valor foi de 15,9 $\mu g.L^{-1}$ encontrado na amostra do filtro após caixa d'água do Jardim Europa e o maior valor encontrado foi 111,0 $\mu g.L^{-1}$ na amostra da caixa d'água após filtro do Centro de Suzano. Os resultados diferem de acordo com o ponto e datas de coleta. O desvio padrão (*DP*) se estendeu de 0,3 a 5,4 $\mu g.L^{-1}$. O coeficiente de variação (*CV*) teve um mínimo de 1,3 e máximo de 7,9 %. Os resultados para o clorofórmio nas amostras coletadas são apresentados na TAB. 18.

**TABELA 18** – Resultados para o clorofórmio das amostras coletadas.

| Bairro | Data da coleta | Ponto de amostragem | CF (µg/L) | D.P. (µg/L) | C.V. (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Jd. Alterópolis | 05/11/2009 | água da rua | 100,2 | 1,3 | 1,3 |
| Centro | 05/11/2009 | caixa d'água após filtro | 111,0 | 5,4 | 4,8 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água antes do filtro | 56,2 | 0,8 | 1,4 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água após filtro | 15,9 | 0,3 | 1,8 |
| Miguel Badra alto | 13/10/2009 | água da rua | 57,3 | 1,6 | 2,7 |
| Miguel Badra baixo | 13/10/2009 | caixa d'água | 42,8 | 1,1 | 2,6 |
| Jd. Maitê | 05/11/2009 | caixa d'água | 68,6 | 5,4 | 7,9 |

onde: CF é o clorofórmio, D.P. é o desvio padrão e C.V. é o coeficiente de variação.

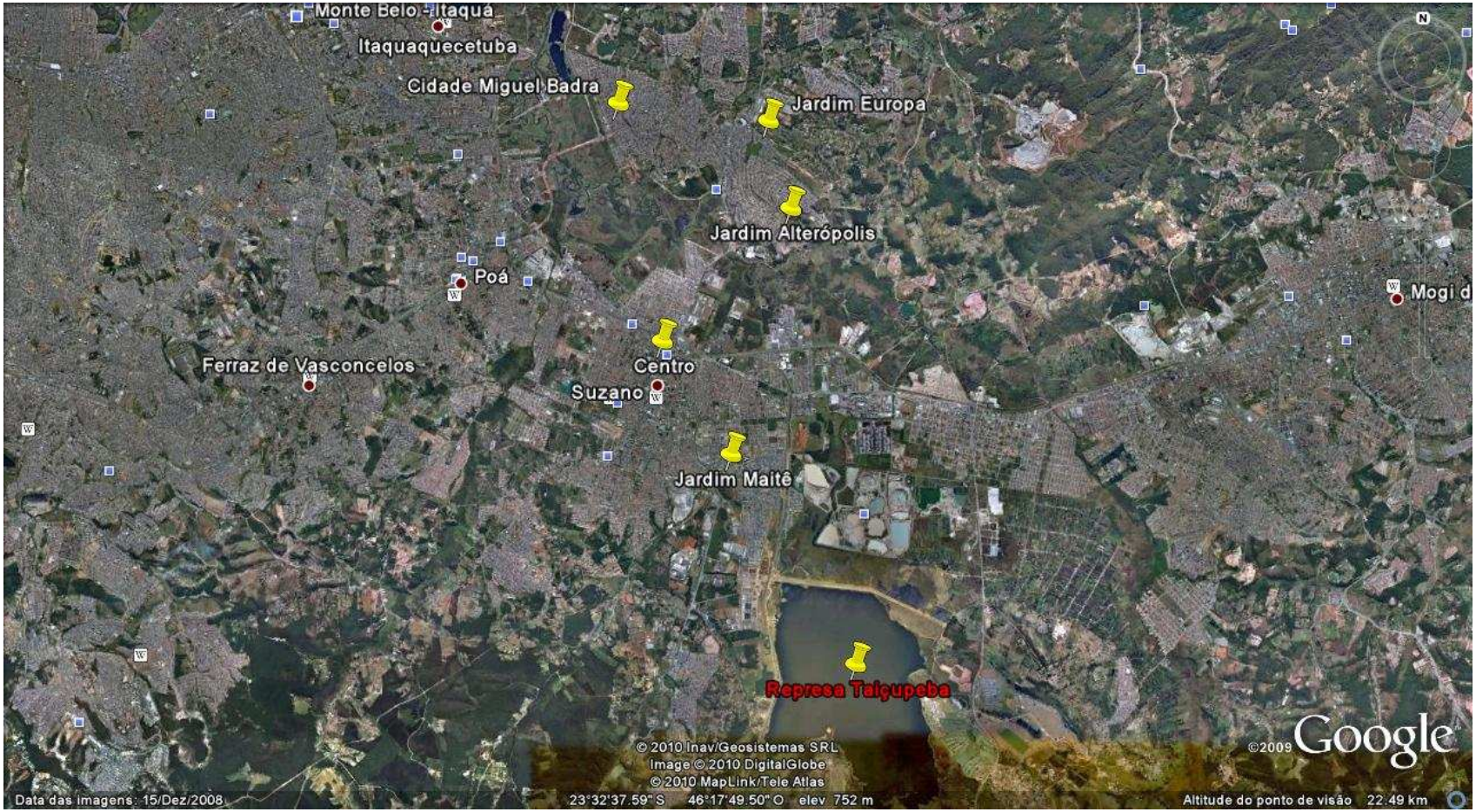



**FIGURA 24 –** Mapa de Suzano com os bairros onde as amostras de água potável que foram coletadas.

Os resultados obtidos para o composto bromodiclorometano das amostras coletadas estão dispostos na TAB. 19. Os valores, mínimo e máximo para este composto nas amostras coletadas foram: 5,5 e 27,6 $\mu g.L^{-1}$. Os desvios-padrão, mínimo e máximo foram de 0,1 e 1,4 $\mu g.L^{-1}$. Os coeficientes de variação, mínimo e máximo foram de 0,3 e 5,1 %.

**TABELA 19** – Resultados para o bromodiclorometano das amostras coletadas.

| Bairro | Data da coleta | Ponto de amostragem | BDCM (µg/L) | D.P. (µg/L) | C.V. (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Jd. Alterópolis | 05/11/2009 | água da rua | 25,2 | 0,5 | 2 |
| Centro | 05/11/2009 | caixa d'água após filtro | 27,6 | 1,4 | 5,1 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água antes do filtro | 26,6 | 0,5 | 1,9 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água após filtro | 5,5 | 0,1 | 2,6 |
| Miguel Badra alto | 13/10/20009 | água da rua | 26,0 | 0,1 | 0,3 |
| Miguel Badra baixo | 13/10/2009 | caixa d'água | 21,7 | 0,3 | 1,3 |
| Jd. Maitê | 05/11/2009 | caixa d'água | 24,2 | 0,4 | 1,8 |

onde: BDCM é o bromodiclorometano, D.P. é o desvio padrão e C.V. é o coeficiente de variação.

Os resultados do composto dibromoclorometano das amostras coletadas estão dispostos na TAB.20. Os valores, mínimo e máximo nas amostras coletadas foram: 1,4 e 10,9 $\mu g.L^{-1}$. Os desvios-padrão estenderam-se de 0,1 a 0,9 $\mu g.L^{-1}$, e os coeficientes de variação estenderam-se de 0,8 a 13,0 %.

O composto tribromometano não foi detectado nas condições analíticas estabelecidas nas amostras de água de abastecimento do município de Suzano.

**TABELA 20** – Resultados para o dibromoclorometano das amostras coletadas.

| Bairro | Data da coleta | Ponto de amostragem | DBCM (µg/L) | D.P. (µg/L) | C.V. (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Jd. Alterópolis | 05/11/2009 | água da rua | 6,7 | 0,3 | 4,2 |
| Centro | 05/11/2009 | caixa d'água após filtro | 7,0 | 0,9 | 13,0 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água após filtro | 1,4 | 0,1 | 10,1 |
| Jd. Europa | 13/10/2009 | caixa d'água antes do filtro | 10,9 | 0,4 | 3,9 |
| Miguel Badra alto | 13/10/20009 | caixa d'água após filtro | 9,0 | 0,1 | 0,8 |
| Miguel Badra baixo | 13/10/2009 | água da rua | 8,8 | 0,4 | 4,8 |
| Jd. Maitê | 05/11/2009 | caixa d'água | 7,4 | 0,1 | 0,9 |

onde: DBCM é o dibromoclorometano, D.P. é o desvio padrão e C.V. é o coeficiente de variação.

## 7 CONCLUSÕES

Como conclusões deste trabalho foram enumeradas:

1) A escolha do solvente metanol em relação ao etanol foi devido ao seu menor tempo de retenção, com isso tendo uma maior distância do tempo de retenção do clorofórmio e também por ter uma estrutura química mais parecida facilitando a solubilização.

2) Conclui-se que o detector por captura de elétrons (ECD) é mais sensível para analisar os trialometanos do que o detector de ionização de chama, conforme a teoria. Nos testes realizados para o detector de ionização de chama FID conseguiu-se detectar uma concentração para o clorofórmio de até 2,1 $g.L^{-1}$ e por detector por captura de elétrons ECD inferior a 1,0 $\mu g.L^{-1}$, ou seja, mais de um milhão de vezes mais sensível.

3) Na preparação de água reagente observou-se nos experimentos que, não se utilizou o nitrogênio, houve uma pequena formação dos trialometanos, observado pelo aumento da reposta do pico do clorofórmio, também aumenta após um dia de repouso. Corroborando com os resultados apresentados por Di Bernardo, (1993), quanto maior for à temperatura e maior tempo de residência, maior será a formação dos THMs, o que afeta diretamente a quantificação, gerando erros. Quando o procedimento com a utilização do nitrogênio foi seguido, houve uma diminuição no valor do clorofórmio. Quando se tem uma atmosfera inerte, no caso nitrogênio, a formação de THMs foi menor. Este procedimento foi uma alternativa para diminuir o teor de clorofórmio em água para preparar padrões.

4) O tempo de retenção para o clorofórmio diminuiu, no GC - FID utilizando coluna de polietilenoglicol o tempo de retenção foi de 5,1 min., e no GC-ECD utilizando coluna DB-5 MS o tempo de retenção foi de 4,3 min.

5) O modo de injeção também foi estudado, no “splitless” a resolução não

apresentou-se adequada, mas no modo “split” os picos dos analitos apresentaram com resolução melhor.

6) O ECD possui uma detecção muito baixa para o metanol, sendo uma vantagem analítica, esta característica foi importante porque ele tem uma temperatura de ebulição de 64 ºC, enquanto o clorofórmio uma temperatura de ebulição de 61 ºC, sendo muito próximas poderia haver sobreposição destes compostos no cromatograma, impossibilitando a quantificação. Confirmando que este detector ECD é específico para os compostos halogenados, neste caso os THMs.

7) O método analítico foi desenvolvido e estruturado pela validação que comprova resultados confiáveis e reprodutivos, fazendo a base para estudos e utilizações futuras.

8) Entre todos os THMs, são eles: clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio, o de maior teor foi o clorofórmio, devido a ser o cloro o principal elemento químico utilizado na potabilidade da água.

9) No município de Suzano foram detectados teores de clorofórmio na ordem de 15,0 a 111,0 $\mu g.L^{-1}$.

10) Em alguns bairros no município de Suzano-SP o teor dos THMs ultrapassou os limites permitidos pelo Ministério da Saúde do Brasil, que é de 100,0 $\mu g.L^{-1}$. Porém um estudo sazonal deverá ser feito para ter uma comprovação maior destas ocorrências.

11) A caixa d’água mostrou ser o local da maior fonte de formação de clorofórmio, devido ao cloro livre ter maior tempo de residência, portanto, aconselha a sua limpeza periodicamente, evitando assim a formação de algas.

12) Aconselha-se que o Governo Federal através do Ministério da Saúde, o governo estadual através da SABESP e os municípios, tenham uma política mais rigorosa quanto ao controle da limpeza das caixas d’água em residência do Brasil.

## TRABALHOS FUTUROS

- Determinação do teor de THMs em águas potáveis de outras localidades, tais como das cidades de São Paulo e Santos, fazendo um estudo crítico dos resultados alcançados. Dados bibliográficos preliminares verificam que na cidade de Santos foi detectada a incidência de THMs.

- Determinação do teor de trialometanos em cápsulas de remédios e alimentos que utilizam águas tratadas, além de líquidos corporais tais como o sangue e a urina.

- Verificação da redução na formação de THMs em águas tratadas com dióxido de cloro utilizando a presente metodologia desenvolvida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


BAIRD,C. **Química ambiental**, 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BAIRD, C.; CANN, M. ***Environmental Chemistry***, 3. ed. New York, W.H.Freeman and Company, 2005.

BELLAR, T.A.; LICHTENBERG, J.J.; KRONER, R.C. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. ***Journal American Water Works Association***, v.66, n.12, p. 703-706, 1974.

BLOEMEN, H.J.Th; BURN, J. ***Chemistry and analysis of volatile organic compounds in the environment.*** London: Chapman&Hall;1993.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. ***Portaria n°518 de 25/03/2004.*** Disponível em: http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm Acesso em 20 set. 2009

BRITO, N.M.; AMARANTE JUNIOR, O.P.; POLESE,L.; RIBEIRO, M.L. ***Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão***. Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v.13, p. 129-146, jan./dez. 2003.

BUDZIAK, D; CARASEK, E. Determination of trihalomethanes in drinking water from three different water sources in Florianópolis-Brazil using purge and trap and gas chromatography. ***Journal of the Brazilian Chemical Society***, v.18, n.4, p. 741-747. São Paulo, 2007.

CANADÁ, Trihalomethanes**. *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality***. Ontário, 2006.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. ***Introdução a métodos cromatográficos***. 1ª ed. Campinas, SP Editora da Unicamp, 1987.

DI BERNARDO, L. ***Métodos e Técnicas de Tratamento de Água***. v. II. Rio de Janeiro: ABES, 1993.

EPA – US. Environmental Protection Agency. ***Purge-and-trap for aqueous samples*** Method 5030C Revision 3 May 2003

FARIA,F.R.D.; ***Noções de Cromatografia com Fase Gasosa***; CENPES/DIQUIM/SEQUOR. 1997

GARCIA-VILLANOVA, R.J.; GARCIA, C.; ALFONSO GOMEZ, J.; PAZ GARCIA, M.; ARDANUY, R. Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: I. At the municipal treatment utilities. ***Water Reserch***, v.31, n.6, p. 1299-1308, 1997.

HARRIS, D.C. ***Análise química quantitativa.*** 5 ed., LTC. Rio de Janeiro, 2001.

ICH HARMONIZED TRIPARTITE PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1) 2005.

INMETRO ***Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos.*** DOQ-CGCRE-008 Revisão 2 – Junho/2007.

IUPAC, Pure and Applied Chemistry. THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R.; WOOD, R. **Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis.** v.74, n.5, p. 835-855, 2002.

KETOLA, R.A; KOTIAHO, T; CISPER, M.E; ALLEN,T.M, Enviromental applications of membrane introduction mass spectrometry. ***Journal of Mass Spectrometry***, v.37 p. 457-476, 2002.

LOVELOCK, J. ***Homage to Gaia- The life of an independent scientist***. 1 ed., Oxford. New York, 2000.

MANAHAM, S.E. ***Environmental Chemistry***. 8 ed. Boca Raton, CRC Press, 2005.

MARQUES, M. N. ***Avaliação do impacto de agrotóxicos em área de proteção ambiental, pertencentes à bacia hidrográfica do rio Ribeira de Iguape, São Paulo***. Uma contribuição à análise crítica da legislação sobre o padrão de potabilidade. Tese de Doutorado IPEN/CNEN-SP. 2005.

McNAIR, H.M.; MILLER, J.M. ***Basic gas chromatography – Techniques in analytical chemistry.*** New York, John Wiley & Sons, 1997.

MONTGOMERY,J.M**.** ***Water Treatment Principles and Design***. New York, John Wiley & Sons, 1985.

MORITA,T; ASSUMPÇÃO, R.M.V. ***Manual de Soluções, Reagentes & Solventes*** Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo 2001.

MORRISON, R.; BOYD, R. **Química Orgânica.** 8 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983.

NICHOLSON, B,C.; BURSILL, D.B.; COUCHE, D.J. Rapid method for the analysis of trihalomethanes in water. ***Journal of Chromatography***, v.325, p. 221-230, 1985.

OTENIO, M.H; PANCHONI, L.C; DA CRUZ, G.C.A; RAVANHANI, C; BIDÓIA, E.D ***Avaliação em Escala Laboratorial da Utilização do Processo Eletrolítico no Tratamento de Águas***. Química Nova, v.31, n.3, p.508-513, 2008.
RICHARSON, M.L. ***Risk assessment of chemicals in the environment.*** Cambridge: Royal Society of Chemistry; 1988.

SOLOMONS, T.W.G; FRYHLE, C.B. **Química Orgânica**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001.

SOLOMONS, T.W; FRYHLE, C.B. **Organic chemistry**. 8 ed. Hoboken: John Wiley, 2004.

TOMINAGA, M.Y. ***Trialometanos em água de abastecimento validação e correlação de dois métodos de análise por cromatografia em fase gasosa.*** Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1998.

TOMINAGA & MIDIO; Exposição humana a trihalometanos presentes em águas tratada; Universidade de São Paulo – Faculdade de Saúde Pública. ***Revista pública***, v.33, n.4, 1999.

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F.; MONTERO, L. ROCHA, E.C.; PAWLISZYN, J. Aplicação de SPME (solid phase micro-extration) na análise de águas potáveis de três localidades do Estado de São Paulo. **Química nova**, v.21, n.6, p. 804-806, 1998.

VOGEL, A.I.; ***Análise química quantitativa***. 5 ed., LTC. Rio de Janeiro, 1992.

WHO, ***Trihalomethanes in Drinking-water***, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, 2004. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/en/trihalomethanes.pdf Acesso em 18 Dez 2009

WHO, ***Trihalomethanes in Drinking-water***, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, 2005

YU, J.C.; CHENG, Lai-nor Speciation and distribution of trihalomethanes in the drinking water of Hong Kong. ***Environment International***, v. 25, n. 5, p. 605-611, 1999.