

I-070 – VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ROBUSTO ELL-CG-EM PARA QUANTIFICAÇÃO DE TRIALOMETANOS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Elton Santos Franco⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Ouro Preto. Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Ouro Preto. Doutor em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela Universidade Federal de Minas Gerais.

Júlia Araújo Camargo⁽²⁾

Bacharela em Ciência e Tecnologia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – campus Mucuri. Graduanda em Engenharia Civil pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – campus Mucuri.

Valter Lucio de Pádua⁽³⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal de Minas Gerais. Mestre e Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo.

Jairo Lisboa Rodrigues⁽⁴⁾

Farmacêutico pela Universidade Federal de Alfenas. Doutor em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP/USP).

Paulo Henrique Gomes Silva⁽⁵⁾

Graduando em Ciência e Tecnologia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

Endereço⁽¹⁾: Rua Cruzeiro, 1 – Jardim São Paulo – Teófilo Otoni – MG – CEP: 39803-371 – Brasil – Tel: (33) 3529-2700 – e-mail: elton.santos@ufvjm.edu.br

RESUMO

Apesar de o cloro possuir inúmeros benefícios quando utilizado como agente oxidante, principalmente no controle de microrganismos patogênicos, seu uso no tratamento de águas de abastecimento, quando há presença de matéria orgânica, pode promover a formação de subprodutos orgânicos halogenados (SOHs) indesejados como os trialometanos (TAMs), que são os principais produtos de desinfecção encontrados nas estações de tratamento de água (ETAs). De acordo com a literatura, esse grupo de subprodutos apresenta uma real possibilidade de serem agentes carcinogênicos em seres humanos, além de estarem relacionados com problemas reprodutivos, como atraso do crescimento intrauterino, maior frequência de partos prematuros e más formações congênitas. Dado o exposto, torna-se importante a validação de um método analítico que possibilite a detecção e quantificação desses compostos, uma vez que os mesmos formam um grupo de substâncias de interesse para gerenciadores das estações de tratamento de água, vigilância da qualidade da água e comunidade científica.

Sendo assim, o presente trabalho consiste na validação de um método de quantificação de TAMs através da extração líquido-líquido (ELL) e análises por um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM), como uma alternativa ao método usual de análise por detecção de captura eletrônica (DCE). A validação do método proposto ELL-CG-EM foi possível, com excelentes resultados advindos de adaptações da USEPA e APHA. A ELL se apresentou eficaz e, quando associada ao CG-EM, pode-se dispensar etapas de extração mais onerosas. O detector utilizado (EM), devido à alta resolução, sensibilidade e precisão na medida de massas, pode ser uma alternativa ao DCE.

PALAVRAS-CHAVE: Trialometanos, Extração Líquido-líquido, Validação de Método Analítico, Cromatografia gasosa, Espectrometria de Massas.

INTRODUÇÃO

A água é vital para a manutenção da vida e uma das maiores responsáveis pela transmissão de doenças. Portanto, se a mesma não for submetida a tratamentos adequados, pode provocar a curto ou longo prazo surtos de doenças e graves epidemias (OPAS, 2011). Assim, no Brasil, o anexo XX da Portaria da Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde, estabelece procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e o seu padrão de potabilidade. Para isso, a água deve obedecer

padrões químicos, físicos e biológicos, além de ser submetida a processos de desinfecção para a inativação de microrganismos patogênicos.

Dentre os oxidantes utilizados no processo de desinfecção nas estações de tratamento de água (ETAs), o cloro é o mais usualmente aplicado, devido ao seu baixo custo, residual persistente, praticidade de aplicação e efetividade na inativação de microrganismos patogênicos quando comparado aos demais agentes oxidantes (FERREIRA FILHO; SAKAGUTI; 2008). Entretanto, um dos desafios do uso do cloro é que o mesmo reage com a matéria orgânica presente na água, ocasionando a formação de subprodutos orgânicos halogenados (SOHs) indesejados, como os trihalometanos (TAMs) (BUTIÃO, 2011; LIMA, 2014).

Os TAMs foram uma das primeiras famílias de SOHs a serem descobertas na água e é a classe mais estudada. Possuem um átomo de carbono, em que três átomos de hidrogênio são substituídos por diferentes halogênios, como o bromo, cloro e iodo. As espécies de TAMs reportadas na literatura são: triclorometano (TCM), bromodichlorometano (BDCM), dibromochlorometano (DBCM), tribromometano (TBM), dichloriodometano (DCIM), bromochloriodometano (BCIM), dibromiodometano (DBIM), chlorodiodometano (CDIM), bromodiodometano (BDIM) e triiodometano (TIM) (USEPA, 1996; RODRIGUES, 2014; CARDADOR; GALLEGOS; SALGUERO, 2015). Devido a indícios de riscos à saúde humana, vários países possuem limites à exposição aos TAMs totais (TAMs_T), que são formados pela soma algébrica do TCM, BDCM, DBCM e TBM (espécies mais frequentes). No Canadá, conforme a *Health Canada*, o valor máximo permitido de TAMs é 100 µg.L⁻¹; nos Estados Unidos, de acordo com a USEPA (*U.S. Environmental Protection Agency*), esse valor corresponde a 80 µg.L⁻¹; e no Brasil, segundo a Portaria da Consolidação, esse valor é 100 µg.L⁻¹ (USEPA, 1998; HEALTH CANADA, 2014; BRASIL, 2017).

De acordo com USEPA (1996), os TAMs são classificados como classe B2 para o TCM, BDCM e TBM, e classe C para o DBCM. A classe B2 significa que os compostos são prováveis carcinogênicos para humanos e que há evidências suficientes de estudos em animais. Já a classe C, diz respeito a possíveis carcinogênicos para humanos, com evidências limitadas de estudos em animais e dados inadequados ou inexistentes para humanos. Ainda, estudos afirmam que a presença de TAMs está comprovadamente relacionada com o aumento do risco de câncer da bexiga e do cólon, problemas reprodutivos, como o atraso do crescimento intrauterino, maior frequência de partos prematuros e más formações congênitas (VILLANUEVA *et al.*, 2006; FLORENTIN *et al.*, 2011; LEGAY *et al.*, 2010).

Os SOHs possuem a cromatografia gasosa (CG) como metodologia clássica para sua quantificação em amostras aquosas. A CG é reconhecida mundialmente e recomendada por vários organismos de padronização de ensaios para tratamento de água, como o *Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater* e a USEPA. Diferentes detectores podem estar acoplados à CG, como o espectrômetro de massas (EM), detector por ionização por chama (DIC) e o detector de captura eletrônica (DCE), que são os mais comuns em análises de SOHs voláteis, como os TAMs (PAVON *et al.*, 2008; USEPA, 1995; LEITE, 2009). Antes de serem analisados no CG, os SOHs devem ser isolados da matriz aquosa. Tal etapa pode ser realizada através de métodos de extração, como *Purge & Trap* (P&T), *Headspace* (HS) e extração líquido-líquido (ELL).

Assim, o presente trabalho contém o desenvolvimento, otimização e validação de métodos analíticos simples ELL-CG-EM para o monitoramento de TAMs, advindo de adaptações da USEPA e APHA. A validação do método de ELL e análises em CG-EM foi possível e apresentou resultados satisfatórios. A ELL apresentou eficácia, e junto com o CG-EM, pode-se dispensar etapas de extração mais onerosas, com o HS e P&T. Ainda, o EM se mostrou uma alternativa aos tradicionais DCE, devido à alta resolução, sensibilidade e precisão nas medidas de massas.

O desenvolvimento desse trabalho contou com apoio da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – campus Mucuri, da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA) e da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a validação do método analítico foi necessário observar algumas condições essenciais, como proporcionalidade entre a resposta da área de cada composto e a concentração (curva de calibração e linearidade), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão e seletividade.

Adquiriram-se padrões certificados de pureza cromatográfica de TAMs_T (TCM, BDCM, DBCM e TBM) (4M8140-U, TraceCERT®) e do padrão interno fluorbenzeno (CRM48943, TraceCERT®), ambos em metanol da marca Sigma. Para a ELL, foram utilizados metanol (646377) e MTBE (34875), também da Sigma, e Na₂SO₄, que é o agente secante da fase orgânica.

As condições de extração para determinação cromatográfica se basearam nas recomendações de USEPA 551.1 (USEPA, 1995). Devido a concentração original dos padrões ser elevada, fez-se uma diluição em metanol do padrão combinado dos TAMs (2000 µg.L⁻¹) e do padrão interno fluorbenzeno (2000 µg.L⁻¹). Para início do processo, foi preciso detectar todos os compostos advindos do padrão concentrado na corrida cromatográfica (cromatograma) obtida pelo CG-EM, para elaboração da curva de calibração por meio da regressão linear.

Em frascos âmbar, foram adicionadas alíquotas de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100 mL de água isenta de compostos orgânicos voláteis com a concentração 200 µg.L⁻¹ dos TAMs para a ELL, obtenção de melhor sensibilidade e identificação preliminar dos tempos de retenção livre de interferências de compostos em relação ao volume de alíquota. Foi gerado cromatograma modo TIC (*total ion current*, picos correspondentes a todas as substâncias eluídas), com as respostas da sensibilidade (intensidade) das quatro espécies alvo de TAMs e do fluorbenzeno, além de cada modo SIR (*selected ion recording*, construído a partir do modo TIC, mas usando apenas fragmentos dos compostos m/z) separadamente. Através de ensaios de sensibilidade, o volume de 50 mL foi escolhido para o processo de extração e elaboração da curva de calibração pelos melhores resultados apresentados.

Desse modo, para a curva de calibração, dez pontos (p=10) nas concentrações 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 150 e 200 µg.L⁻¹, além de 400, 600, 800 e 1000 µg.L⁻¹ (p=14) para a linearidade, todas em triplicata (n=3), juntamente com o branco (sem adição de concentrações de TAMs, n=10), foram preparados em 50 mL de água ultrapura. Para a etapa de ELL, as alíquotas com as concentrações mencionadas anteriormente foram rapidamente coletadas e inseridas em balões volumétricos alongados, aos quais foi adicionado o padrão interno fluorbenzeno na concentração correspondente ao volume contido nos balões (50 µL, a partir da diluição do padrão para 200 µg.L⁻¹), 4 mL de éter metil-terc-butilico (MTBE, *methyl tert-butyl ether*) mantido em *freezer* e, aproximadamente, 1 g de Na₂SO₄. O frasco foi agitado vigorosamente por 5 min e, em seguida, acondicionado em *freezer* por 3 min.

Conforme apresentado na Figura 1, duas fases bem definidas se formaram: a fase orgânica superior, denominada extrato, e a fase inferior, aquosa. A fase orgânica foi retirada e transferida para um frasco *vial* de 2 mL, acondicionada em *freezer* e conservada (validade analítica de sete dias) para análise no CG-EM. As informações obtidas nos cromatogramas foram utilizadas para elaboração das curvas de calibração e subsequente levantamento dos parâmetros para validação do método.

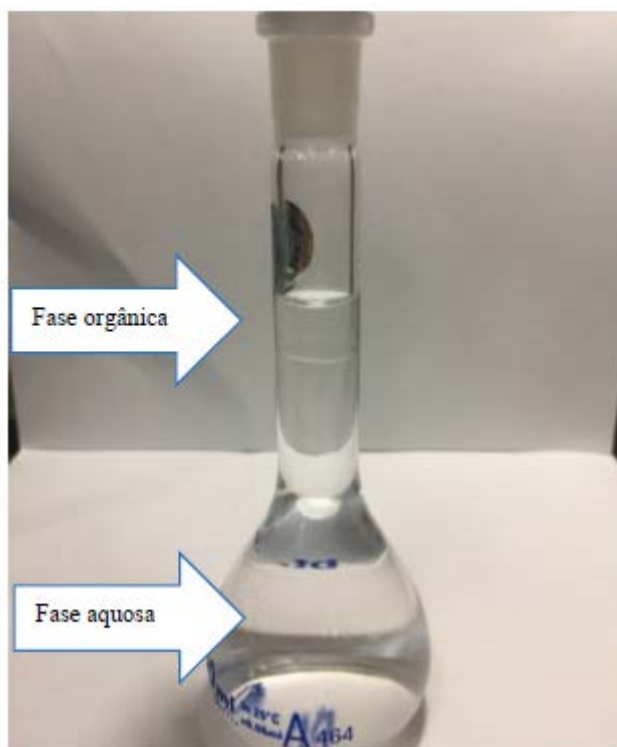


Figura 1: Representação das fases orgânica e aquosa obtidas com a extração de TAMs.

Para as análises foi usado um sistema de CG-EM CLARUS 680 SQ 8PerkinElmer (USA). Definiu-se a rampa modo TIC e os tempos de retenção SIR para cada espécie de TAMs alvo. As melhores condições otimizadas para o CG foram: 2 μL da amostra injetada no modo *splitless* e separados por uma coluna capilar ZEBRONZB 5MS composta por 5% de Fenil Arileno e 95% de Dimetilpolisiloxano. A taxa de fluxo foi de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, temperatura do injetor foi 200 $^{\circ}\text{C}$ e o gás de arraste usado foi o hélio com 99,9995% de pureza. O forno foi programado isotermicamente a 3 $^{\circ}\text{C}$ (1 min), em seguida aumentou-se para 40 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (1 min) e depois a elevou a 200 $^{\circ}\text{C}$ a 30 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. O EM foi usado no modo de impacto eletrônico (IE+). O tempo de corte do solvente foi de 3 min, com uma velocidade de aquisição de 0,35 $\text{s}\cdot\text{scan}^{-1}$, o intervalo de leitura m/z foi de 45 a 260 unidades de massa atômica, e modo de ionização por impacto de elétrons de 70 eV. A temperatura da linha de transferência foi 200 $^{\circ}\text{C}$ e do *trap* foi 180 $^{\circ}\text{C}$.

RESULTADOS OBTIDOS

Os ensaios de extração foram realizados para determinação do volume de amostra para verificação da recuperação analítica e padronização do procedimento, através da intensidade do sinal. Conforme apresentado na metodologia, o volume ideal para a extração, extração e análise dos TAMs foi 50 mL, devido a melhor resposta detectada pelo CG-EM. Os resultados obtidos a partir de 60 mL apresentaram um decréscimo na resposta e não houve a formação da fase orgânica.

A princípio, foram realizadas seis extrações para a obtenção da rampa da corrida cromatográfica do método, tendo como referência parâmetros o método 551.1 da USEPA (USEPA, 1995), Nikolaou *et al.* (2002), Culea *et al.* (2006) e Cardador, Salguero e Gallego (2015), para identificar a presença de TAMs. Após a identificação da relação m/z, procedeu-se com a otimização da rampa, modo TIC e SIR, para a separação do TCM, BDCM, DBCM, TBM e padrão interno fluorbenzeno, com melhor condição obtida descrita na metodologia. As Figuras 2 e 3 mostram, respectivamente, o cromatograma modo TIC e no modo SIR, inclusive do fluorbenzeno.

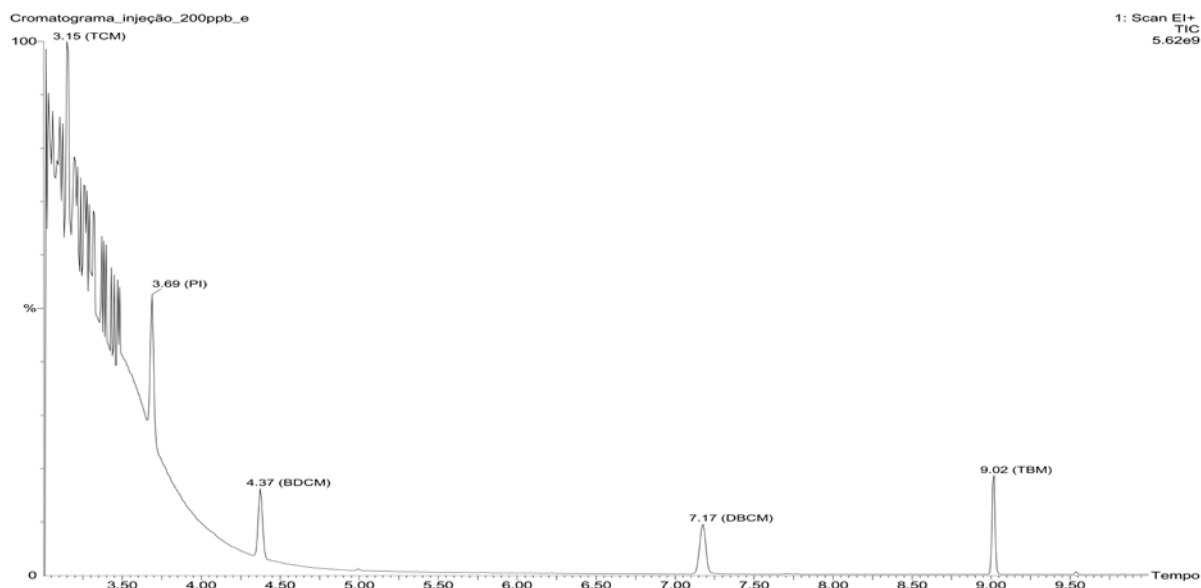


Figura 2: Cromatograma modo TIC da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, obtido por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

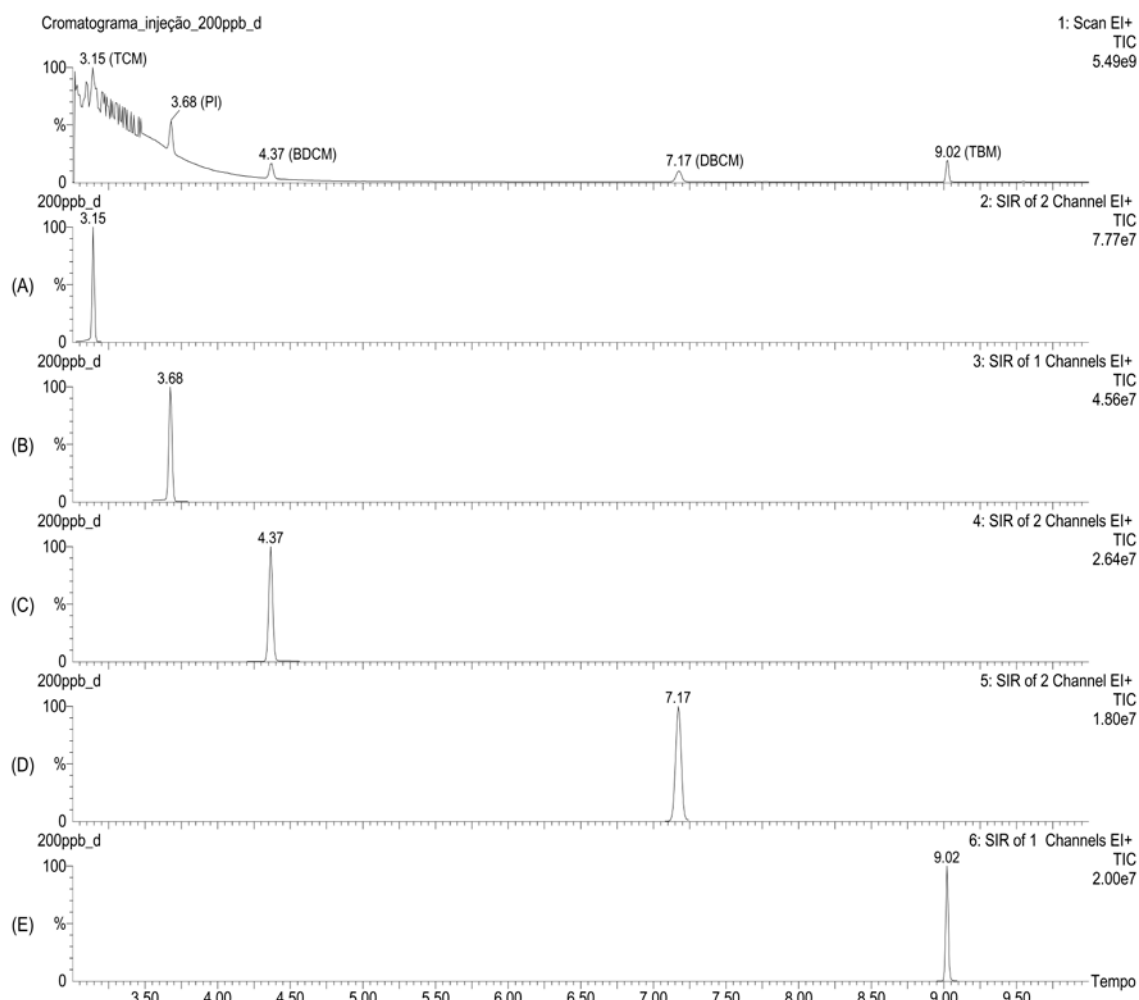


Figura 3: Cromatogramas modo TIC e SIR obtidos da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (A – SIR 2, TCM; B – SIR 3, fluorbenzeno; C – SIR 4, BDCM; D – SIR 5, BDCM; E – SIR 6, TBM).

A sequência apresentada das espécies de TAMs é explicada devido as características químicas distintas dos TAMs. O TCM é detectado primeiro por apresentar menor massa molar e o TBM é detectado por último por apresentar maior massa molar que os demais compostos, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Tempo de retenção e íons monitorados (m/z).

Composto	m/z	Tempo de retenção (min)
TCM	83,85	3,15
fluorbenzeno	96	3,68
BDCM	83,85,127	4,37
DBCM	127,129	7,17
TBM	175,252	9,03

Os valores obtidos dos demais parâmetros analisados são apresentados nas Tabelas 2 a 7.

Tabela 2: Regressões lineares do TCM e BDCM obtidas pela curva de calibração.

Regressão Linear	TCM	BDCM
	Equação	Equação
Curva de calibração	$Y = 1,114 + 0,607 * X$	$Y = -1,989 + 0,702 * X$
Curva de calibração Linearidade	Equação	Equação
	$Y = -0,439 + 0,600 * X$	$Y = -6,161 + 0,707 * X$

Tabela 3: Regressões lineares do DBCM e TBM obtidas pela curva de calibração.

Regressão Linear	DBCM	TBM
	Equação	Equação
Curva de calibração	$Y = -3,417 + 0,716 * X$	$Y = -1,997 + 0,374 * X$
Curva de calibração Linearidade	Equação	Equação
	$Y = -9,910 + 0,755 * X$	$Y = -3,278 + 0,366 * X$

Tabela 4: Coeficientes de correlação (R) obtidos para as curvas de calibração em concentrações diferentes de TAMs.

Espécie de AHA	Concentração AHAs ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	R	Concentração AHAs ($\mu\text{g.L}^{-1}$) (linearidade)	R
TCM	1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9992	1-1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9979
BDCM	1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9967	1-1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9954
DBCM	1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9950	1-1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9945
TBM	1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9950	1-1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$	0,9957

Tabela 5: Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) obtidos para cada espécie de TAM.

Espécie de TAM	LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
TCM	0,13	0,40
BDCM	0,02	0,07
DBCM	0,02	0,07
TBM	0,01	0,05

Tabela 6: Precisão intermediária e repetitiva para baixa, média e alta concentração de TAMs.

Espécie de TAM	Precisão	Intermediária DPR (%)	Repetitividade DPR (%)
TCM ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	10	5,08	1,72
	40	2,25	0,47
	200	6,19	1,87
BDCM ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	10	1,59	0,84
	40	1,26	0,82
	200	3,70	0,17
DBCM ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	10	0,45	0,33
	40	0,36	0,59
	200	2,24	1,32
TBM ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	10	1,36	0,77
	40	0,26	0,63
	200	1,99	1,39

Tabela 7: Exatidão e recuperação para baixa, média e alta concentração de TAMs.

Espécie de TAM	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Média aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	DPR (%)	Recuperação (%)
TCM	10	11,28	1,32	112,81
	40	42,62	0,43	106,55
	200	202,78	1,83	103,89
BDCM	10	10,53	0,83	105,33
	40	37,56	0,81	94,41
	200	210,05	0,17	105,02
DBCM	10	12,02	0,32	119,21
	40	36,08	0,59	88,75
	200	211,97	1,27	104,95
TBM	10	12,36	0,76	119,68
	40	35,50	0,62	88,75
	200	211,98	1,36	110,08

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Depois da otimização da rampa (modo TIC e SIR) ser definida, construiu-se a curva de calibração analítica utilizando concentrações de 1 até 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$, as quais foram mencionadas na metodologia ($p=10$ e $n=3$) para as quatro espécies de TAMs investigadas. Através dos resultados, obteve-se as regressões lineares ($Y = aX \pm b$), onde Y é a área do pico obtido, que representa a sensibilidade ou intensidade, e X é a concentração de cada espécie de TAM obtida pelo CG-EM, conforme Tabelas 2 e 3.

Observou-se similaridade dos resultados para as faixas de concentrações determinadas, com repostas lineares e correlações acima do recomendado pela ANVISA (2017) e INMETRO (2016) e encontrada por Nikolaou *et al.* (2002) e Culea, Cozar e Ristoiu (2006). Houve excelente linearidade quando foram usadas concentrações de 1 até 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ($p=14$ e $n=3$), com correlações acima das sugeridas pelas agências e autores mencionados

acima. O método apresentou, conforme observado na Tabela 7, resultados diretamente proporcionais à concentração de TAMs, dentro da faixa de aplicação.

Para os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), as concentrações foram obtidas através do método baseado em parâmetros da curva analítica, recomendado por ser estatisticamente mais confiável (RIBANI *et al.*, 2004; ANVISA, 2017; INMETRO, 2016). O LD (n=10) foi calculado com base na relação de 3,3 vezes do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica, e o LQ (n=10) foi a relação de 10 vezes do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica (1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$). De acordo com o apresentado na Tabela 5, o método é capaz de detectar e quantificar baixas concentrações, permitindo uma maior confiabilidade dos resultados.

A precisão foi obtida a partir da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) em diferentes níveis, como repetitividade e intermediária, e em três concentrações (p=3) distintas: 10, 40 e 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Em métodos de análise de traços ou impurezas são aceitos valores de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. A repetitividade foi avaliada por injeções em um mesmo dia (n=3) para cada concentração. Conforme apresentado na Tabela 6, foi possível observar a similaridade dos resultados e concluir que todos os DPRs foram abaixo de 2%. Para a precisão intermediária, a qual foi avaliada por injeções em dias distintos (n=5) nas mesmas concentrações, foram inferiores a 7%, também dentro do limite aceitável (RIBANI *et al.*, 2004; ANVISA, 2017; INMETRO, 2016).

Para a análise da seletividade, comparou-se os valores das médias de DPRs de cinco brancos em três repetições (p=5 e n=3) com os valores encontrados para LQ. De acordo com INMETRO (2016), as médias obtidas e os DPRs devem ser menores ou iguais para cada espécie, respectivamente 33% e 15%, em relação ao valor obtido de LQ do método. A maior média obtida foi 16,75%, para o TCM, e os DPRs estiveram abaixo de 11%. A seletividade também foi definida comparando a matriz da substância (padrão) com a adição do composto DALAPON (herbicida), para verificar possíveis interferências nos tempos de retenção. Conforme Figura 4, não foram observadas interferências, mantendo as características de estar bem separada durante o cromatograma, além de manter a sensibilidade de todas as espécies.

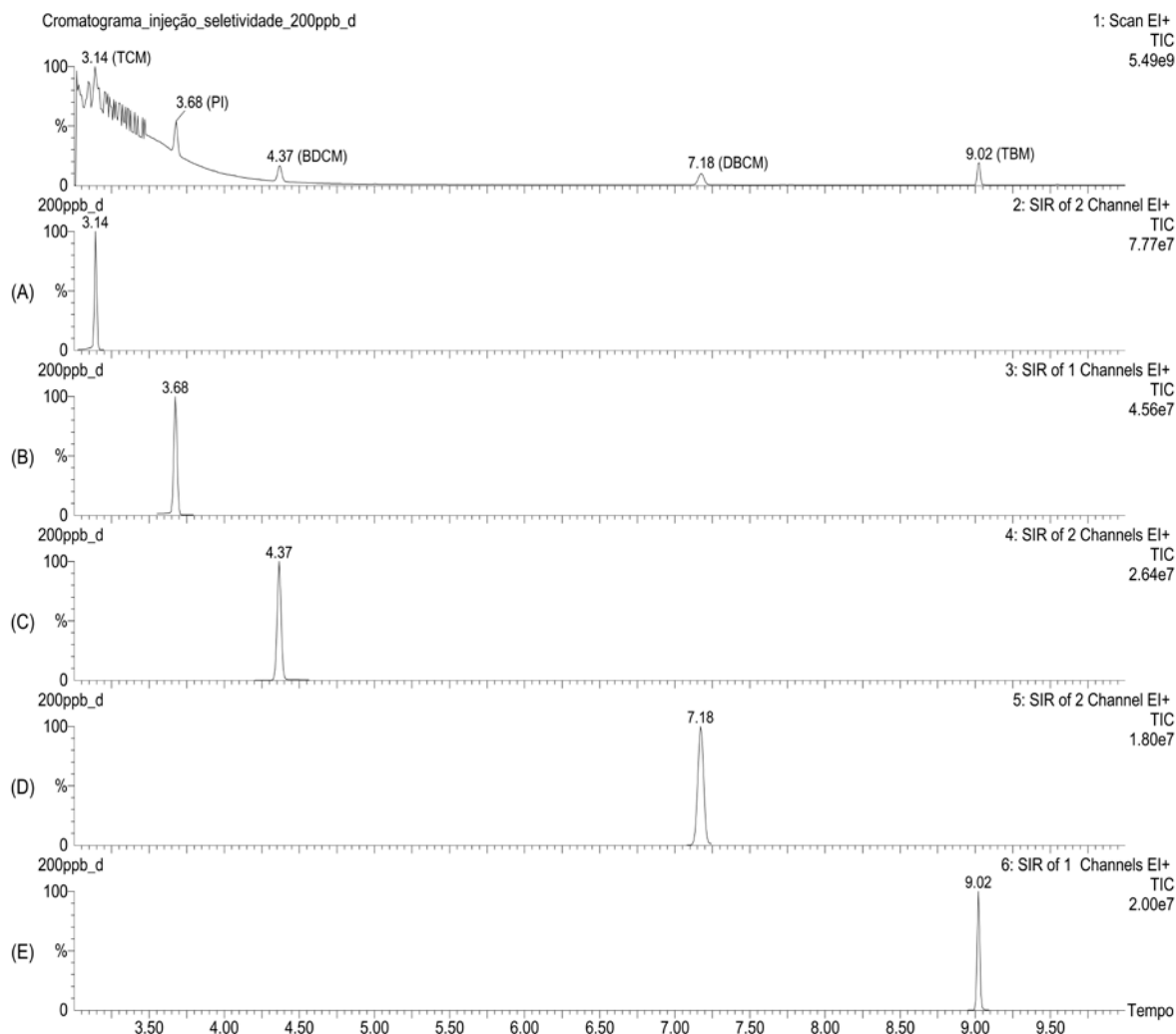


Figura 4: Cromatogramas modo TIC e SIR obtido através do teste de seletividade do método analítico proposto para os TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, advindo de injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (A – SIR 2, TCM; B –SIR 3, fluorbenzeno; C –SIR 4, BDCM; D- SIR 5, DBCM; E – SIR 6, TBM).

Os valores de recuperação, Tabela 7, foram obtidos em três concentrações ($p=3$ e $n=3$) distintas (10, 40 e 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$), com resultados variando de 88,75 a 119,68%. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente se encontram entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Com a curva de 1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$, foi possível estimar os valores esperados em função da resposta das injeções nas concentrações sugeridas, com valores próximos ao de interesse. Os DPRs determinados apresentaram valores menores que 2%, sendo satisfatórios. É importante ressaltar que foram utilizados materiais de referência certificados para garantia da qualidade no processo de validação analítica (RIBANI *et al.*, 2004; ANVISA, 2017; INMETRO, 2016).

A variação de eficiência da separação e do desempenho obtidos neste estudo pode estar relacionada com o gás de arraste (hélio, neste estudo) utilizado como fase móvel. Recomenda-se que o gás de arraste seja inerte para evitar interações com a amostra ou fase estacionária, disponível, de baixo custo e compatível com o detector usado. Além dessas características, o gás deve apresentar alta pureza ($>99,999\%$) pois impurezas como ar, umidade e traços de vapores de hidrocarbonetos podem danificar a coluna cromatográfica e reagir com a amostra, e interferir na estabilidade e resposta das análises. O nitrogênio (N_2) e o hidrogênio (H_2) são exemplos de outros gases de arraste que também são utilizados na cromatografia gasosa (USEPA, 1995; LEITE, 2009).

Outra explicação para essa variação são os diferentes tipos de retenção, que podem ser justificados devido ao uso de colunas diferentes. No estudo de Nikolaou *et al.* (2002) utilizaram a coluna tipo HP-VOC (60 m x 0,32

mm x 1,8 μm) e Culea, Cozar e Ristoiu (2006) usaram a mesma do presente estudo trabalho, porém do fabricante RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Concluiu-se que cada fabricante fornecerá, para uma mesma de colunas, rampas com tempos de retenção distintos devido as fases com que são construídas. A coluna utilizada neste trabalho, por exemplo, é semelhante à RTX-5MS ou à JW-5MS (outros fabricantes), e todas são compatíveis com cromatógrafos em fase gasosa.

Além disso, é importante ressaltar que o uso do padrão interno apresentou comportamentos distintos quando comparado com resultados de outros estudos (CULEA; COZAR; RISTOIU, 2006). O padrão interno fluorbenzeno é menos oneroso que o halotano, utilizado no estudo de Culea, Cozar e Ristoiu (2006) em ELL-CG-EM e que o diclorometano, utilizado por Pascholato (2005) e Butião (2011) em ELL-CG-DCE. Assim, pode-se concluir que estudos com padrões internos com eficiência comprovada aliados a valores mais acessíveis, promovem vantagens em países que possuem monitoramento obrigatório.

No estudo de Culea, Cozar e Ristoiu (2006), os autores utilizaram o padrão interno halotano para determinar as quatro espécies de TAMs nas concentrações 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300 e 400 $\mu\text{g.L}^{-1}$, por ELL-CG-EM. Os autores fizeram uma comparação entre os resultados obtidos pelas técnicas P&T-CG-EM e HS-CG-EM, e a ELL-CG-EM apresentou eficiência, mesmo a técnica HS-CG-EM ter se mostrado mais sensível. Comparando com o presente estudo, eles obtiveram melhores coeficientes de regressão e LD (menor que 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), sendo que alguns estudos usando a ELL começaram a detectar a partir de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com recomendação de uso de outras técnicas, como HS e P&T, para maior confiabilidade dos resultados obtidos (BRAGA *et al.*, 2004; CULEA; COZAR; RISTOIU, 2006).

Embora as técnicas de extração P&T e HS estejam entre as escolhas preferenciais devido à sua automação, outras técnicas como a ELL, abordada neste estudo, podem oferecer um desempenho eficaz com um menor investimento financeiro. Outros trabalhos na literatura relatam que a configuração ELL-CG-EM proporciona agilidade na extração, além de não se necessário tanta automatização quanto HS-CG-EM e P&T-CG-EM. As configurações utilizadas por Culea, Cozar e Ristoiu (2006), e mencionadas anteriormente, demandaram 45 min para a extração e 25 min para a corrida, sendo que a configuração neste estudo, ELL-CG-EM, proporcionou maior agilidade no tempo de preparo e corrida, aproximadamente 18 min. Os LD obtidos foram próximos quando comparados aos resultados obtidos pelos autores supracitados para HS-CG-EM e P&T-CG-EM (menor que 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), com menores limites para BDCM, DBCM e TBM.

Com relação ao volume de amostra utilizado neste estudo (50 mL), o valor estabelecido proporcionou uma sensibilidade maior quando comparado aos demais valores mencionados na metodologia, estando em acordo com a recomendação da USEPA (1995). Ao analisar os valores obtidos nos estudos de Nikolaou *et al.* (2002) e Culea, Cozar e Ristoiu (2006), percebeu-se que os volumes utilizados pelos autores (10 e 7 mL, respectivamente) podem ocasionar algum tipo de interferência na sensibilidade durante as análises.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

A validação dos TAMs por ELL-CG-EM foi possível, com excelentes resultados advindos de adaptações da USEPA e APHA. A técnica de ELL mostrou eficiência e, juntamente com CG-EM, pode-se dispensar etapas de extração mais onerosas, como o HS e P&T;

O detector EM pode ser uma alternativa aos tradicionais DCE, recomendados pela USEPA para a quantificação dos TAMs devido à alta resolução, sensibilidade e precisão nas medidas de massas;

Ótimas respostas nos parâmetros de validação analisados (curva de calibração, precisão, exatidão, recuperação e seletividade), viabilizaram a quantificação de TAMs pela instrumentação apresentada neste estudo.

AGRADECIMENTO

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), as bolsas de iniciação científica vinculadas à pesquisa; e à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha (UFVJM), todo apoio estrutural para o desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, *Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 166, de 24 de julho de 2017*. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde, Brasília, 2017.
2. BRAGA, F.M.G.; ARAÚJO, J.C.; SALES, M.V.; NASCIMENTO, R.F.; PÁDUA, V.L. Diagnóstico de ocorrência de trihalometanos na rede de abastecimento de água de Fortaleza– CE, In: *XXIX Congreso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, San Juan, Porto Rico*. 2004, p. 1-14.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 3 out. 2017.
4. BUTIÃO, D. F. *Formação de subprodutos orgânicos halogenados da desinfecção em águas de piscinas*. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental). Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2011.
5. CARDADOR, M. J. SALGUERO, J. F. GALLEGU, M. Simultaneous quantification of trihalomethanes and haloacetic acids in cheese by on-line static headspace gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1408, p. 22-29, 2015.
6. CULEA, M., COZAR, O., RISTOIU, D. Methods validation for the determination of trihalomethanes in drinking water. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 41, n. 12, p. 1594-1597, 2006.
7. FERREIRA FILHO, S. S. F.; SAKAGUTI, M. Comportamento cinético do cloro livre em meio aquoso e formação de subprodutos da desinfecção. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 198-206, 2008.
8. FLORENTIN, A.; HAUTEMANIÈRE, A.; HARTEMANN, P. Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 214, p. 461-469, 2011.
9. HEALTH CANADA. *Guidelines for canadian drinking water quality summary table*. 1 ed. OTTAWA: Water and Air Quality Bureau, 2014. 20 p.
10. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO) - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre validação de métodos analíticos: Documento de caráter orientativo (DOQ-CGCRE-008). Revisão nº 5. Agosto de 2016. 31p.
11. LEGAY, C.; RODRIGUEZ, M. J.; SERÓDES, J. B.; LEVALLOIS, P. Estimation of chlorination by-products presence in drinking water in epidemiological studies on adverse reproductive outcomes: A review. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 456-472, 2010.
12. LEITE, R. W. *Validação de um método de extração gás-líquido "headspace" acoplado a um CG-EM para determinação de THM em água potável da região de Maringá*. 2009. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.
13. LIMA, G. M. *Desenvolvimento de correlação da formação de ácidos haloacéticos em água contendo substância húmica oxidada com cloro*. 2014. 109f. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnologias da Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2014.
14. NIKOLAOU, A. D. LEKKAS, T. D. GOLFINOPOULOS, S. K. KOSTOPOULOU M. N. Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water. *Talanta*, v. 56, p. 717-726, 2002.
15. ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Água e saúde*, 2001. Brasil.
16. PASCHOALATO, C. F. P. R. *Efeito da pré-oxidação, coagulação, filtração e pós-cloração na formação de subprodutos orgânicos halogenados em águas contendo substâncias húmicas*. 2005. 291 f. Tese

- (Doutorado em Engenharia Civil área de concentração em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
17. PAVON, J. L. P., MARTIN, S. H., PINTO, C. G. CORDERO, B. M. Determination of trihalomethanes in water samples: a review. *Analytica Chimica Acta*, v. 629, n. 1-2, p. 6-23, 2008.
 18. RIBANI, M. BOTTOLI, C.B.G. COLLINS, C.H. JARDIN, I.C.S.F. MELO. L.F.C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
 19. RODRIGUES, F. M. *Análise do risco da presença de trihalometanos em água para consumo humano, no distrito de Braga*. 2014. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2014.
 20. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Drinking Water Regulations and Health Advisories. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1996. 30 p.
 21. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). *Method 551.1. Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extracion and gas chromatography with electron-capture detection*. U.S. Environmental Protection Agency, Ohio, USA, 1995. 61 p.
 22. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). National Primary Drinking Water Regulation: Disinfectants and Disinfection Byproducts U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1998. 87 p.
 23. VILLANUEVA, C. M.; CANTOR, K. P.; GRIMALT, J. O.; CASTOÑO-VINYALS, G.; MALATS, N.; SILVERMAN, D.; TARDON, A.; GARCIA-CLOSAS, R.; SERRA, C.; CARRATO, A.; ROTHMAN, N.; REAL, F. X.; DOSEMECI, M.; KOGEVENAS, M. Assessment of lifetime exposure to trihalomethanes through different routes. *Occupational & Environmental Medicine*, v. 63, n. 4, p. 273-277, 2006.