

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Marcel Silveira dos Santos

**DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS
EM AMOSTRAS DE REFRIGERANTES E
CERVEJAS POR MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA GASOSA**

Florianópolis

2010

Marcel Silveira dos Santos

**DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS
EM AMOSTRAS DE REFRIGERANTES E
CERVEJAS POR MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E CROMATOGRÁFIA GASOSA**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade
Federal de Santa Catarina para
A obtenção do Grau de Mestre
em Química.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo
Carasek da Rocha

Florianópolis

2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina

S237d Santos, Marcel Silveira dos
Determinação de trihalometanos em amostras de
Refrigerantes e cervejas por microextração em fase sólida
e cromatografia gasosa [dissertação] / Marcel Silveira dos
Santos ; orientador, Eduardo Carasek da Rocha. -
Florianópolis, SC, 2010.
102 p.: il., tabs., grafs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.
Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui referências

1. Química. 2. Microextração em Fase Sólida. 3.
Trihalometanos. 4. Clorofórmio. 5. Refrigerante. 6.
Cerveja. I. Rocha, Eduardo Carasek da. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. III. Título.

Marcel Silveira dos Santos

**EM AMOSTRAS DE REFRIGERANTES E
CERVEJAS POR MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA GASOSA**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a
obtenção do título de Mestre em Química no
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 25 de fevereiro de 2010.

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

Banca Examinadora

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador

Prof. Dr. Luiz A. dos Santos Madureira
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Valfredo Tadeu de Fávère

Prof. Dra. Maria Marta de Souza Sierra

Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza

Esta obra é dedicada à minha família.

"Se cheguei onde cheguei e consegui fazer tudo o que fiz, foi porque tive a oportunidade de crescer bem, num bom ambiente familiar, de viver bem, sem problemas econômicos e de ser orientado no caminho certo nos momentos decisivos de minha vida."

Ayrton Senna

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela energia que me rege.

Às pessoas que conheci nesses dois anos e que me trataram com carinho, seja no trabalho, nas aulas, nas monitorias e no lazer, especialmente para aquelas que construí uma amizade. Obrigado!

Aos amigos de laboratório Jeferson Scheineider Carletto e Gizelle Cristine Bedendo que estiveram sempre presentes ao longo da minha jornada.

A todos os professores, especialmente para aqueles em que tive a oportunidade de ter frequentado sua(s) disciplina(s). Obrigado pelos ensinamentos!

Ao professor Dr. Eduardo Carasek da Rocha, pela orientação dos trabalhos que realizei.

Ao professor Dr. Ivan Gonçalves de Souza, pelos auxílios técnicos que tive com o cromatógrafo sempre que precisei.

À professora Maria da Graça, do laboratório de Biocatálise, pelo fornecimento do padrão interno diiodometano.

Aos funcionários do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo auxílio que tive sempre quando precisei.

À Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa concedida para a realização deste trabalho.

*''Eu não sei o caminho para o sucesso;
mas, sem dúvida, o caminho para o
fracasso é agradar a todo mundo''*

John Kennedy

RESUMO

Uma metodologia analítica simples e rápida foi desenvolvida utilizando a microextração em fase sólida em modo *headspace* (HS-SPME) para a determinação de trihalometanos (THMs) em 75 amostras de refrigerantes e 32 amostras de cervejas. Foram levados em consideração diversas marcas, tipos e embalagens. Os trihalometanos são subprodutos da cloração da água realizada em estações de tratamento, e são considerados compostos carcinogênicos. A extração dos THMs foi realizada com a fibra CAR-PDMS - 75 μm após comparações com demais fibras e analisados em um cromatógrafo gasoso equipado com um detector por captura de elétrons (ECD - ^{63}Ni). As variáveis que afetam a eficiência de extração (temperatura e tempo de extração, volume de *headspace*, agitação magnética e adição de sal) foram otimizados univariadamente. As condições ótimas de extração foram: temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ com um tempo de extração de 15 minutos utilizando um volume de amostra de 20 mL contendo 4 gramas de cloreto de sódio sob agitação magnética de 1000 rpm. A faixa linear para a metodologia proposta (0,5 - 45 $\mu\text{g L}^{-1}$) foi realizada pela construção de um gráfico da altura relativa ao padrão interno diclorometano para CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 e da altura relativa ao padrão interno diiodometano para CHBr_3 utilizando uma amostra de água mineral. Baixos limites de detecção foram obtidos, faixa de 0,20 - 0,45 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para as amostras de refrigerantes, não houve efeitos de matriz, verificado através de estudos da sensibilidade relativa (%), cujos valores foram entre 84,1 e 118,8%. O método mostrou excelente precisão, calculada como o desvio padrão relativo (RSD%) ($n = 6$) utilizando uma solução fortificada de 1, 15 e 35 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM, faixa de 7,3 - 11,2%; 4,3 - 6,4% e 3,8 - 4,7%, respectivamente. Para as amostras de cervejas, um efeito de matriz foi pronunciado no tipo cerveja escura. A diluição em água de 25% da amostra apresentou resultados satisfatórios com

sensibilidade relativa na faixa de 85,1 - 96,2%. Para o tipo pilsen, a sensibilidade variou entre 85,8 a 108,4%. A precisão foi calculada para o tipo escura e pilsen, como anteriormente, obtendo-se faixas de 6,6 - 12,1%; 4,0 - 5,2% e 1,4 - 2,1% e 7,1 - 10,2%; 5,1 - 5,9% e 2,2 - 3,9%, respectivamente. Das 106 amostras analisadas, apenas 8,5% delas não apresentaram nenhum dos 4 trihalometanos estudados e a incidência de clorofórmio foi de 84%. Em nenhuma amostra a concentração ultrapassou o limite de trihalometanos totais estabelecido pela Agência de Proteção dos Estados Unidos (USEPA). Entretanto, 10 amostras ultrapassaram o mesmo limite segundo as legislações vigentes alemã e francesa.

Palavras-chave: *Headspace* microextração em fase sólida (HS-SPME); Trihalometanos (THMs); Clorofórmio; Refrigerante; Cerveja.

ABSTRACT

A simple and fast analytical method was developed using the headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) for determination of trihalomethanes (THMs) in 75 samples of soft drinks and 32 samples of beers. Were taken into consideration different flavors, packagings and trademarks. Trihalomethanes are subproducts of chlorination of water carried through in treatment stations, and are considered carcinogenic compounds. The extraction of the THMs was performed with the fiber CAR-PDMS - 85 μm after comparisons with other fibers and analyzed on a gas chromatography equipped with electron capture detector (ECD - ^{63}Ni). The variables that affect the efficiency of extraction: temperature and time of extraction, volume of headspace, magnetic stirring and salt addition were optimized by the univariate method. The optimum conditions achieved were: temperature of 30 $^{\circ}\text{C}$ with an extraction time of 15 minutes using a sample volume of 20 mL containing 4 grams of sodium chloride under magnetic stirring at 1000 rpm. The linear range obtained of the methodology (0,5 - 45 $\mu\text{g L}^{-1}$) was performed by the construction of a graph of the relative height to the dichloromethane internal standard for CHCl_3 , CHCl_2Br and CHClBr_2 , and of the relative height to the diiodomethane internal standard for CHBr_3 using a mineral water sample. Low detection limits were obtained, ranging between 0.20 - 0.45 $\mu\text{g L}^{-1}$. For soft drinks samples, was not observed matrix effects, verified through studies of the relative sensitivity (%), range from 84.1 to 118.8. The method showed excellent precision, calculated as the relative standard deviation (RSD%) ($n = 6$) using a fortified solution of 1, 15 and 35 $\mu\text{g L}^{-1}$ each THM, range from 7.3 to 11.2%; 4.3 to 6.4% and 3.8-4,7%, respectively. For beer samples, a matrix effect was pronounced in the type dark beer. The dilution of 25% of the sample resulted in satisfactory relative sensitivities in the range of 85.1 to 96.2%. For the type pilsen, range from 85.8 to 108.4% was

obtained. The precision was calculated for the dark and pilsen type, as previously, resulting in ranges of 6.6 -12.1%; 4.0 - 5.2% and 1.4 - 2.1%, and 7.1 - 10.2%; 5.1 - 5.9% and 2.2 - 3.9%, respectively. Of the 106 samples analyzed, only 8.5% of them did not show any one of the 4 trihalomethanes studied and the incidence of chloroform was 84%. No sample exceeded the total trihalomethanes in accordance with the Protection Agency of the United States (USEPA). However, ten samples exceeded this limit according to German and French legislations.

Keywords: Headspace solid phase microextraction (HS-SPME); Trihalomethanes (THMs); Chloroform; Soft drink; Beer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de tratamento de água para a indústria de refrigerantes. (A) para processo industrial. (B) para lavagem de garrafas.....	29
Figura 2. Fluxograma de tratamento de água para a indústria cervejeira. (A) e (B) Para processo industrial (C) Para lavagem de garrafas.....	31
Figura 3. Estrutura química dos trihalometanos.....	32
Figura 4. Distribuição de HOCl e OCl ⁻ em água em função do pH.....	34
Figura 5. Reação de formação de trihalometanos. Onde cloro livre é a soma de todas as espécies elementares do cloro: Cl ₂ , ácidos clorados (HClO), íon hipoclorito (ClO ⁻) etc.....	35
Figura 6. Componentes do dispositivo de SPME.....	45
Figura 7. Representação esquemática do aplicador (holder) com a fibra exposta.....	46
Figura 8. Modos de operação da SPME. (A) extração direta, (B) extração por <i>headspace</i> , (C) extração com proteção de membrana.....	46
Figura 9. Etapas do processo de microextração em fase sólida.....	47
Figura 10. Eficiência de extração da fibra CAR-PDMS-75 µm para THMs com e sem adição de NaOH 6 M. Tempo de extração de 10 minutos a 20 °C. Agitação magnética de 500 rpm. Concentração de THM: 10 µg L ⁻¹ , <i>n</i> = 3.....	56
Figura 11. Eficiência de extração das fibras estudadas. 10 µg L ⁻¹ de THMs e 75 µL de NaOH 6 M. Tempo de extração de 10 minutos a 20 °C, 500 rpm de agitação magnética, <i>n</i> = 3.....	57
Figura 12. Efeito da temperatura de extração dos THMs. 10 mL de uma amostra de refrigerante fortificada com 10 µg L ⁻¹ de THMs e 75 µL de NaOH 6 M. Tempo de extração de 10 minutos e 500 rpm de agitação magnética, <i>n</i> = 3.....	59

Figura 13. Efeito do volume de *headspace* na extração dos THMs. Amostras de refrigerante fortificadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs. Tempo de extração de 10 min a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$61

Figura 14. Efeito da adição de sal na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e $150 \mu\text{L}$ de NaOH 6 M. Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$63

Figura 15. Efeito da velocidade de agitação magnética na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs, $150 \mu\text{L}$ de NaOH 6 M e 4 g de NaCl. Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $n = 3$65

Figura 16. Efeito do tempo de extração na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs, $150 \mu\text{L}$ de NaOH 6 M e 4 g de NaCl. Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $n = 3$67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características quantitativas para água potável ideal..	27
Tabela 2. Recuperações e coeficientes de correlação (R) de cada THM com o respectivo padrão interno.....	69
Tabela 3. Faixa linear, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação para a metodologia proposta para a determinação de trihalometanos.....	69
Tabela 4. Sensibilidades relativas entre as curvas de calibração com água mineral e as amostras de refrigerantes.....	70
Tabela 5. Concentrações encontradas de trihalometanos nos refrigerantes analisados. As amostras designadas como (p), (l) e (g) representam refrigerantes com embalagem PET (politereftalato de etileno), lata e garrafa, respectivamente. Amostras designadas como "zero" representam refrigerantes com 0 kcal.....	71
Tabela 6. Sensibilidades relativas entre as curvas de calibração com água mineral e as amostras de cervejas.....	77
Tabela 7. Concentrações encontradas de trihalometanos nas cervejas analisadas. As amostras designadas como (l) e (g) representam cervejas com embalagem lata e garrafa, respectivamente.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å - Unidade de comprimento - $1 \text{ Å} = 10^{-10}$ metros

µL - Unidade de volume – microlitro

µm - Micrometro

µg mL⁻¹ - Micrograma por mililitro

µg L⁻¹ - Micrograma por litro

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

atm -Unidade de pressão – atmosfera

bar - Unidade de pressão. $1 \text{ bar} = 0,987$ atmosferas

CAP - Carvão Ativado em Pó

CAR-PDMS - Carboxen-Polidimetilsiloxano

CW-DVB - Carbowax-Divinilbenzeno

DAI - Injeção Direta Aquosa (*Direct Aqueous Injection*)

DBP - SubProdutos da Desinfecção

(*Disinfection By-Products*)

DVB-CAR-PDMS - Divinilbenzeno-Carboxen-
Polidimetilsiloxano

ECD - Detector por Captura de Elétrons

(*Electron Capture Detection*)

EU - União Europeia (*Europe Union*)

GC - Cromatógrafo a Gás (*Gas Chromatography*)

LD - Limite de Detecção

LLE - Extração Líquido-Líquido (*Liquid-Liquid Extraction*)

LQ - Limite de Quantificação

MCL - Nível Máximo de Contaminante

(*Maximum Contaminant Level*)

MS - Espectrometria de Massas (*Mass Spectrometer*)

NMP/coli - Número Mais Provável de Coliformes

NF - Nanofiltração

NOM - Matéria Orgânica Natural

(*Natural Organic Material*)

PA - Poliacrilato

PET - Politereftalato de etileno

P&T - Purga e armadilha (*Purge and Trap*)
PDMS - Polidimetilsiloxano
PDMS-DVB Polidimetilsiloxano-Divinilbenzeno
ppm - Unidade de concentração, parte por milhão
PTFE - Politetrafluoretileno
rpm - Unidade rotacional - Rotações Por Minuto
RSD - Desvio Padrão Relativo
(*Relative Standard Deviation*)
SDME - Microextração em Gota Suspensa
(*Single-Drop Microextraction*)
SPE - Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*)
SPME - Microextração em Fase Sólida
(*Solid Phase Microextraction*)
THMs - Trihalometanos
UF - Ultrafiltração
USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos
Estados Unidos
(*United States Environmental Protection Agency*)
UV - Ultravioleta
VOC - Compostos Orgânicos Voláteis
(*Volatile Organic Compunds*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1. Tipos de usos da água.....	25
1.2. Uso da água para fins industriais.....	26
1.3. Água para as indústrias de refrigerantes e cervejas.....	26
1.4. Desinfecção da água e a formação de trihalometanos.....	30
1.4.1. Princípios da cloração da água.....	33
1.4.2. A formação de trihalometanos a partir da cloração.....	35
1.5. Legislações e toxicidade dos trihalometanos.....	37
1.6. Controle e remoção de THMs.....	38
1.7. Técnicas de extração para a determinação de THMs.....	41
1.7.1. A microextração em fase sólida (SPME).....	44
2. OBJETIVO.....	49
2.1. Objetivo geral.....	49
2.2. Objetivos específicos.....	49
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	52
3.1. Materiais e reagentes.....	52
3.2. Instrumentos.....	58
3.3. Coleta das amostras.....	53
3.4. Procedimento de microextração em fase sólida nas calibrações e amostras.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1. Estudo da influência do gás carbônico na extração dos THMs.....	55
4.2. Escolha da fibra.....	56
4.3. Efeito da temperatura.....	58
4.4. Efeito do volume de <i>headspace</i>	60
4.5. Efeito da adição de sal (efeito <i>salting out</i>).....	62
4.6. Efeito da agitação magnética.....	64
4.7. Efeito do tempo de extração.....	66
4.8. Figuras analíticas de mérito.....	68
4.9. Aplicação da metodologia nas amostras de refrigerantes.....	70
4.10. Aplicação da metodologia nas amostras de cervejas.....	77
5. CONCLUSÕES.....	83

REFERÊNCIAS.....	85
ANEXO A – Resposta da Coca-Cola Company do Brasil.....	101

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da água é uma preocupação do homem relatada desde a antiguidade. Um registro objetivando a melhoria da qualidade de água há mais de 2000 a.C dizia: “A impureza da água deve ser purificada com a fervura, ou sob o aquecimento ao sol, ou mergulhando um ferro quente no recipiente que está a água, também pode ser purificada pela filtragem da água através da areia e cascalho grosso e então seguido de resfriamento” (American Society of Civil Engineers, 1971). Posteriormente, há menções efetuadas na antiga Grécia por Hipócrates - considerado o pai da medicina -, no alvorecer do império macedônio entre os séculos III e IV a.C., nas quais se reporta à importância da correta definição dos mananciais de abastecimento como forma de preservar a saúde da população (Baker, 1949, *apud* Leal, 2001).

A água, essencial ao surgimento e à manutenção da vida em nosso planeta, é indispensável para o desenvolvimento das diversas atividades criadas pelo ser humano, e apresenta, por essa razão, valores econômicos, sociais e culturais (Moran, Morgan e Wiersma, 1985; Beeckman, 1998). Além de dar suporte à vida, a água pode ser utilizada para o transporte de pessoas e mercadorias, geração de energia, produção e processamento de alimentos, processos industriais diversos, recreação e paisagismo, além de assimilação de poluentes - sendo essa, talvez, uma das aplicações menos nobres deste recurso tão essencial (Mierzwa & Hespanhol, 2005). Entretanto, como consequência do aumento da demanda industrial, agrícola, urbanização e turismo, as atividades humanas são inevitavelmente fontes de poluição química para ecossistemas aquáticos. Para que a água tenha aplicações citadas acima, a concentração dos poluentes deverá ser reduzida até o ponto em que não apresentem riscos para a saúde.

As estações de tratamento visam a melhoria da qualidade da água para o abastecimento da população. Para atingir este objetivo, são removidas bactérias, protozoários e outros micro-

organismos; elementos venenosos; mineralização excessiva e teores elevados de compostos orgânicos. São corrigidos o pH (corrosividade), cor, turbidez, odor, dureza e sabor. Também são controlados os níveis de elementos como ferro e manganês. (Secretaria dos Serviços e Obras Públicas, 1973).

As etapas dos processos de tratamento são os seguintes (Mierzwa & Hespanhol, 2005; Filho, D. F. S., 1987; Nalco Chemical Company, 1988):

- ❖ Aeração: nesta etapa as substâncias orgânicas voláteis causadoras de odor e sabor na água são removidas. Também promove a oxidação de compostos ferrosos e manganosos.
- ❖ Coagulação: as cargas elétricas das partículas em suspensão são neutralizadas por meio de produtos químicos chamados coagulantes. Os coagulantes mais efetivos são os sais de ferro, sais de alumínio e polímeros.
- ❖ Floculação: promove o contato entre as partículas desestabilizadas, de modo a possibilitar uma agregação em forma de flocos maiores e mais pesados.
- ❖ Decantação ou sedimentação: os flocos maiores formados na floculação são separados da água pela ação da gravidade e inércia sobre os flocos e a água.
- ❖ Tratamento por contato: Ocorre quando a estação de tratamento de água não utiliza das etapas de floculação e decantação. Após a coagulação, a água é encaminhada ao sistema de filtração.
- ❖ Filtração: Consiste na passagem de água por filtros para a remoção de sólidos suspensos. Filtros de areia são os mais comuns.
- ❖ Correção da dureza: remove as substâncias responsáveis pela dureza da água, ou seja, capazes de reagir com o sabão e formar sabões insolúveis, caso específico dos íons cálcio e magnésio.

- ❖ Desinfecção: etapa onde um agente químico é utilizado para inativar organismos patogênicos na potabilização das águas. O cloro e seus derivados são amplamente utilizados.
- ❖ Controle da corrosão: ajuste químico final, de modo que a água não cause corrosão e nem seja incrustante, características diretamente associadas ao pH e à alcalinidade.

1.1. Tipos de usos da água

De acordo com cada tipo de uso, a água deve apresentar características físicas, químicas e biológicas que garantam a segurança dos usuários, a qualidade do produto final e a integridade dos componentes com os quais entrará em contato. Muitas vezes, ela é utilizada simultaneamente para atender às necessidades de duas ou mais categorias.

A água conduzida para uma comunidade urbana enquadra-se numa das seguintes classes de consumo ou de destino (Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, 1999):

- ❖ Doméstico;
- ❖ Comercial;
- ❖ Industrial;
- ❖ Público;
- ❖ Perdas.

A água para uso doméstico é a água consumida nas habitações e compreende as parcelas destinadas para fins higiênicos, potáveis e alimentares, e para lavagens em geral. Com relação à água para uso comercial, destaca-se a parcela utilizada pelos restaurantes, bares, hotéis, pensões, postos de gasolina e garagens, onde se manifesta um consumo muito superior ao das residências. A água para uso público é a água utilizada na irrigação de jardins, lavagens de calçadas e praças, edifícios e

sanitários públicos, alimentação de fontes, etc. A perda é a quantidade de água produzida que não é faturado pela concessionária do serviço (Gomes, 2004). A água para fins industriais é discutida no item 1.2.

1.2. Uso da água para fins industriais

De um modo geral, a qualidade e a quantidade de água necessária para as atividades industriais dependem do ramo de atividade da indústria e sua capacidade de produção. O ramo de atividade da indústria determina o grau de qualidade da água que vai ser utilizada, ressaltando-se que uma mesma indústria pode precisar de vários tipos de água, cujos níveis de qualidade são definidos em função de suas características físicas, químicas e biológicas (Mierzwa & Hespanhol, 2005).

A água pode ter diversas aplicações na indústria: uso como fluido auxiliar, geração de energia, fluido de aquecimento e/ou resfriamento, transporte e assimilação de contaminantes e como matéria-prima (Nordell, 1961; Shereve & Brink Jr., 1980; Nalco Chemical Company, 1988; Silva & Simões, 2002).

Como matéria-prima, a água é incorporada ao produto final, a exemplo do que ocorre nas indústrias de bebidas, produtos de higiene pessoal e limpeza doméstica, cosméticos, alimentos e conservas e farmacêutica. Muitas vezes o grau da qualidade da água em algumas aplicações pode assumir características superiores às da água para consumo humano (Mierzwa & Hespanhol, 2005).

1.3. Água para as indústrias de refrigerantes e cervejas

Muitas fábricas de refrigerantes empregam água potável (de abastecimento público) para produzir suas bebidas, embora raramente essas águas apresentem condições ideais para essa finalidade. A maioria das vezes elas precisam de um tratamento especial, como remoção de cloro, ajuste de alcalinidade, remoção

de matéria em suspensão e redução da dureza total. Como as águas para a indústria de bebidas devem obedecer aos padrões de potabilidade, a Tabela 1 exibe como poderia ser constituída, quimicamente, uma água potável ideal para essa finalidade (Filho, 1987; Mierzwa, & Hespanhol, 2005).

Tabela 1. Características quantitativas para água potável ideal.

Turbidez (SiO_2)	5 ppm (máx.)
Odor	sem
Cor	0
Ferro (Fe^{2+})	0 ppm
Manganês (Mn^{2+})	0,0 ppm
Sulfatos (SO_4^{2-})	250,0 ppm (máx.)
Cloretos (Cl^-)	250,0 ppm (máx.)
Bicarbonatos (HCO_3^-)	250,0 ppm (máx.)
Dureza (CaCO_3)	85,0 ppm (máx.)
Fluoretos (F^-)	0,8 ppm
pH	7,0
NMP coli/100 mL*	0,0
Agressividade ao ferro	mínima
Valores máximos toleráveis em mg L⁻¹	
Arsênio (As^{3+})	0,01
Cianetos (CN^-)	0,01
Cobre (Cu^{2+})	1,0
Fluoretos (F^-)	1,5

Ferro (Fe ²⁺)	0,3
Manganês (Mn ²⁺)	0,05
Nitratos (NO ₃ ⁻)	45,0
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	250,0
Zinco (Zn ²⁺)	5,0
Bário (Ba ²⁺)	1,0
Cádmio (Cd ²⁺)	0,01
Cromo (Cr ³⁺)	0,05
Chumbo (Pb ²⁺)	0,05
Selênio (Se ²⁺)	0,01
Prata (Ag ⁺)	0,05
Sólidos totais dissolvidos (SDT)	500,0
Fenóis	0,001
Benzeno alquil sulfonato	0,5
Carbono extraído do clorofórmio	0,2

* Número mais provável de coli/100 mL de amostra.

Uma água que obedece ao padrão mencionado e que apresente alcalinidade total entre 50 e 85 ppm, como CaCO₃, é ideal para a indústria de refrigerantes. A alcalinidade é limitada a essa faixa de valores para evitar reação com ácido cítrico e conseqüente degradação do gosto da bebida. A Figura 1 mostra o fluxograma típico de tratamento de água para a indústria de refrigerantes (Filho, 1987).

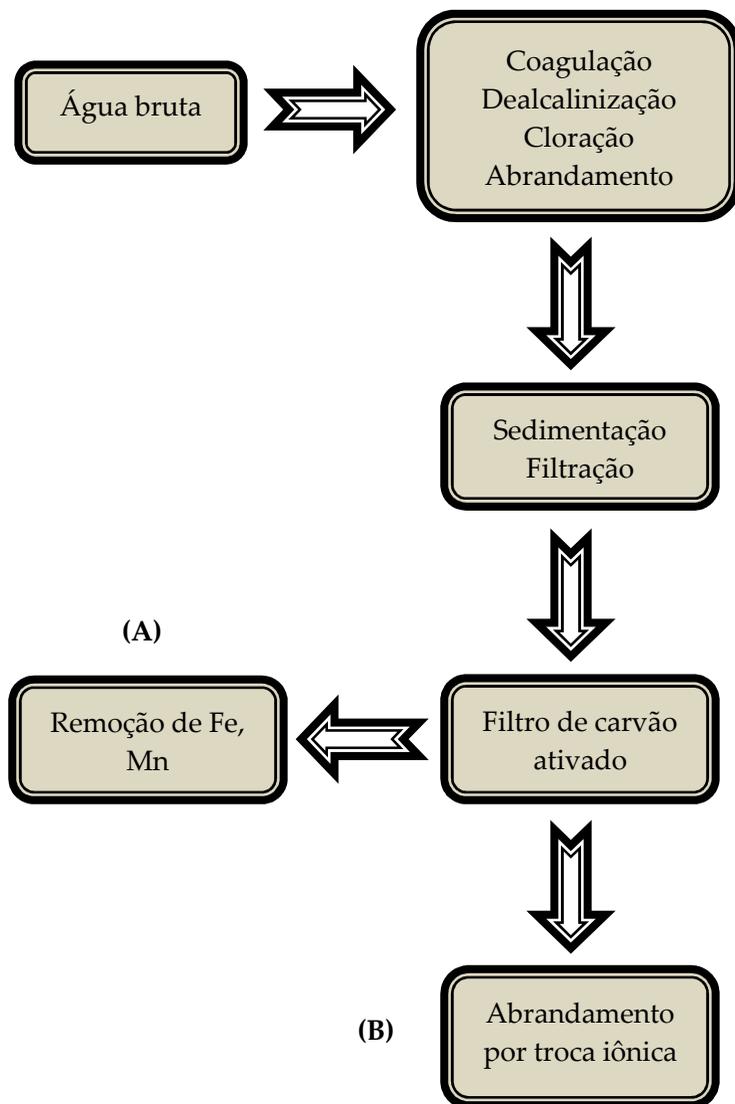


Figura 1. Fluxograma de tratamento de água para a indústria de refrigerantes. (A) Para processo industrial. (B) Para lavagem de garrafas.

A Coca-Cola Company do Brasil forneceu informações sobre a água utilizada em seus produtos e processos físicos-químicos envolvidos. Estas informações estão expostas no ANEXO A.

A qualidade das águas requeridas para a indústria de cervejas é muito semelhante àquela da indústria de refrigerantes. A água potável ideal para esta indústria deve conter um máximo de 25 ppm de alcalinidade, 100 a 200 ppm de sulfato de cálcio, 200 ppm de cloreto de sódio, não mais do que 0,2 ppm de Fe e Mn e não apresentar cloro nem flúor. Sulfato de cálcio e cloreto de sódio devem ser adicionados à água quando não estiverem presentes nas concentrações desejadas. O cloreto de sódio estimula a ação enzimática e melhora o gosto da cerveja. Ferro e manganês escurecem as cervejas, tendem a produzir bebidas de gosto amargas e conferem certa turbidez. Flúor e cloro tendem a matar a levedura. A Figura 2 exibe um fluxograma de tratamento de água para cervejarias (Filho, 1987).

1.4. Desinfecção da água e a formação de trihalometanos

O desinfetante químico mais comumente utilizado na desinfecção da água é o cloro (Cl_2), líquido ou gasoso. Outros desinfetantes químicos alternativos são: hipoclorito de sódio (NaOCl) ou de cálcio (CaOCl), o ozônio (O_3), o dióxido de cloro (ClO_2), o permanganato de potássio (KMnO_4), a mistura de ozônio/peróxido de hidrogênio ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$), o íon ferrato (FeO_4^{2-}) e o ácido peracético (CH_3COOOH). E outros agentes em fase de pesquisa e desenvolvimento, como sais de prata, sais de cobre, detergentes etc. Há também a desinfecção com agentes físicos como radiação ultravioleta (UV), fotocátalise heterogênea e radiação solar (Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, 2001).

A cloração da água é aplicada a fim de imobilizar atividades de micro-organismos e/ou assegurar concentrações residuais em sistemas de distribuição de água potável, evitando assim, o re-desenvolvimento de micro-organismos neste meio.

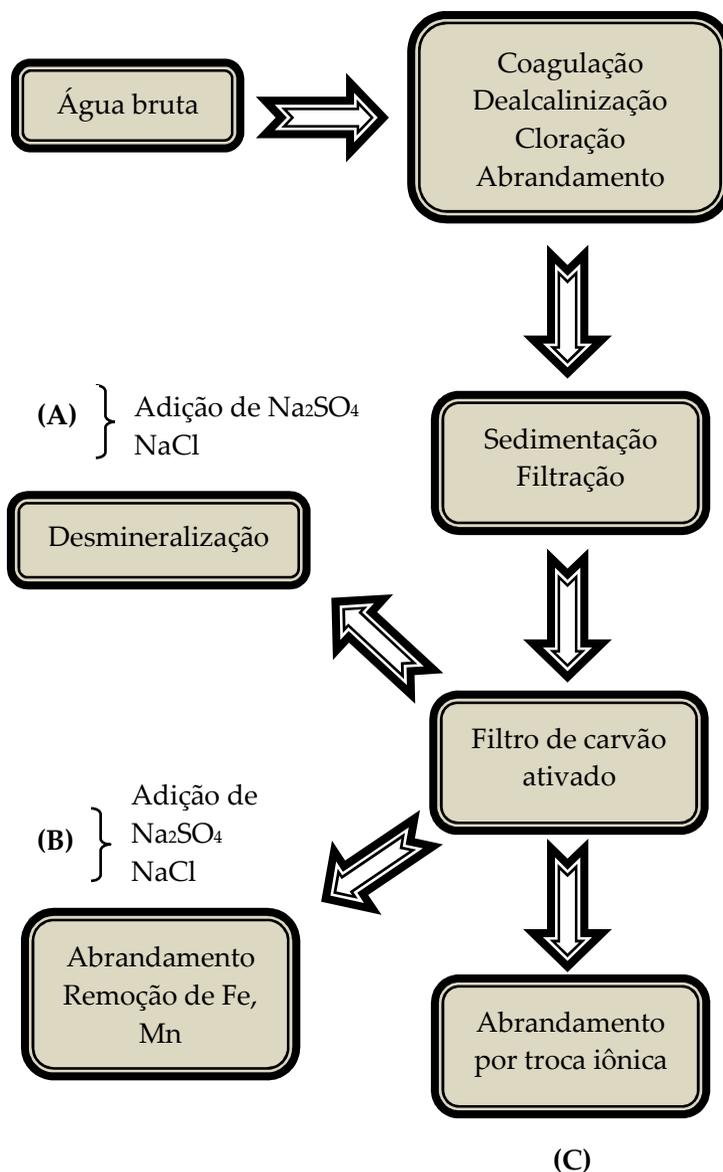


Figura 2. Fluxograma de tratamento de água para a indústria cervejeira. (A) e (B) Para processo industrial (C) Para lavagem de garrafas.

A multiplicidade de doenças causadas por vírus, bactérias, protozoários e parasitas podem ser transmitidas por águas contaminadas. Infecções podem variar de sintomas assintomáticos à leve desconforto, debilitação e até mesmo levar à morte. A cloração reduz 99,99% dos vírus e 99,9999% das bactérias em águas contaminadas (Rodriguez & Serodes, 2001; Bull *et al.*, 1995).

No processo de cloração, o cloro pode reagir com a matéria orgânica natural incluindo substâncias húmicas e fúlvicas (estruturas ainda não completamente conhecidas), gerando os chamados subprodutos da desinfecção da água (DBP). Os trihalometanos (THMs) são o DBPs mais encontrados no processo de cloração, e a formação destes compostos halogenados dependem do tipo e da concentração da matéria orgânica presente, concentração de íons bromo, dose e forma de cloração, pH, temperatura e concentração de nitrogênio orgânico (Pavelic *et al.* 2005; Aboul & Welss, 2006; Rodriguez, Sérodes & Levallois, 2004; Gang, Clevenger & Banerji, 2003; Kim, Shim & Lee, 2002). Os THMs formados são: o clorofórmio (CHCl_3), o diclorobromofórmio (CHCl_2Br), o dibromoclorofórmio (CHClBr_2) e o bromofórmio (CHBr_3) (Uyak, Ozdemir & Toroz, 2007; APHA, 1992). A Figura 3 exibe a estrutura química destes compostos.

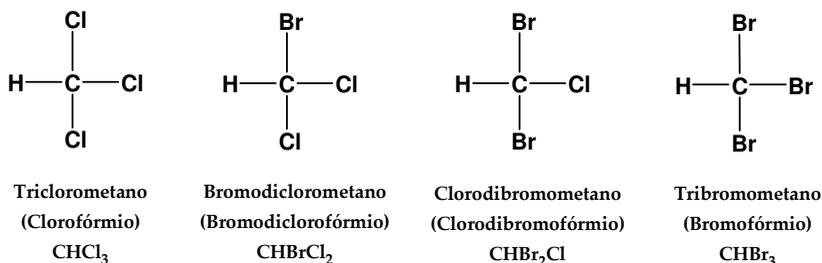
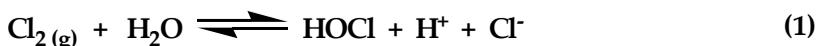


Figura 3. Estrutura química dos trihalometanos.

1.4.1. Princípios da cloração da água

Além da desinfecção, o uso de cloro no tratamento da água pode ter como objetivo, também, a oxidação (alteração das características da água pela oxidação dos compostos nela presentes). Entretanto, a desinfecção é a objetivo principal da cloração, o que acarreta, muitas vezes, o uso das palavras “desinfecção” e “cloração” como sinônimos (Bazzoli, 1993).

O cloro e seus compostos são fortes agentes oxidantes. Em geral, a reatividade do cloro diminui com o aumento do pH, e sua velocidade de reação aumenta com a elevação da temperatura (Meyer, 1994). O cloro gasoso hidrolisa rapidamente em água para formar o ácido hipocloroso, conforme a Equação 1.



$$K_h = \frac{[\text{HOCl}] [\text{H}^+] [\text{Cl}^-]}{p\text{Cl}_2} = 4,5 \times 10^{-4} \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C}.$$

Na temperatura ambiente, a reação é de décimos de segundo (van Bremen, 1984). Em solução diluída e pH acima de 4, o equilíbrio da reação é deslocado para a direita, restando pouco Cl_2 em solução. Em valores de pH mais baixos, a reação predominante é no sentido de formação do cloro (Meyer, 1994).

O ácido hipocloroso se dissocia fracamente em íons hidrogênio e hipoclorito conforme a Equação 2.



$$K_a = \frac{[\text{OCl}^-] [\text{H}^+]}{[\text{HOCl}]} = 3,5 \times 10^{-8} \text{ a } 25 \text{ }^\circ\text{C}.$$

A dissociação do ácido hipocloroso entre pH 6,5 a 8,5 é incompleta e as duas espécies, HOCl e OCl^- , estão presentes em

pequena concentração (White, 1992). Abaixo de pH 6,0 a dissociação de HOCl é mínima. Acima de pH 9,0, praticamente todo o ácido se dissocia ao íon hipoclorito. Considerando que o efeito germicida de HOCl é maior do que o de OCl⁻, preferem-se baixos pH para a desinfecção com esse agente. (American Society of Civil Engineers, 1971; Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, 2001; Rich, 1980). A Figura 4 exibe a distribuição de HOCl e OCl⁻ em água de acordo com o pH.

A reação de hipoclorito de sódio ou hipoclorito de cálcio e a água (Equações 3 e 4) também gera o ácido hipocloroso como produto. O hipoclorito de cálcio é comercializado na forma sólida e o hipoclorito de sódio, na forma líquida.

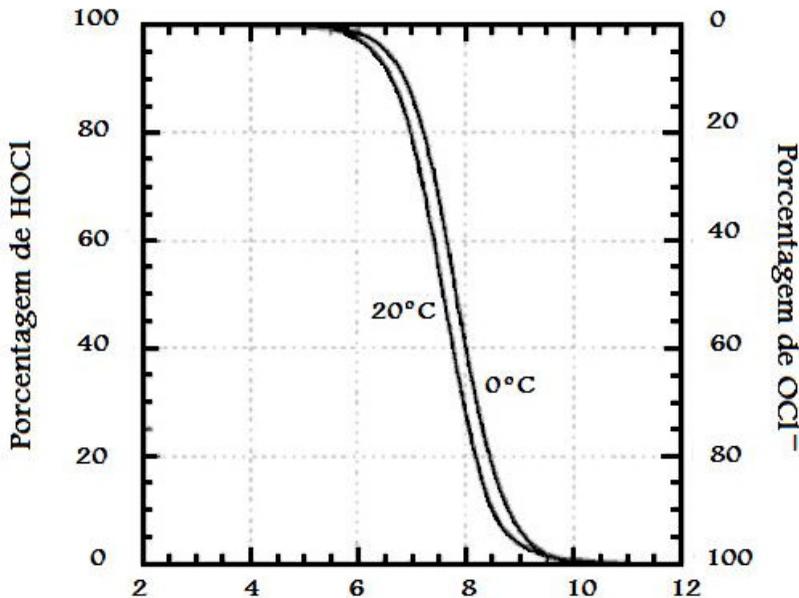
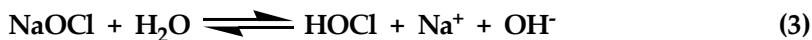


Figura 4. Distribuição de HOCl e OCl⁻ em água em função do pH.



Por essas equações verifica-se a produção do ácido hipocloroso. Uma diferença que se nota nas reações (3) e (4) em relação à reação (1) é a presença de íons hidroxilas ao invés de prótons, elevando o pH da água. O cloro existente na água sob as formas de ácido hipocloroso e de íon hipoclorito é definido como cloro residual livre (OPAS, 1987; Rossin, 1987).

1.4.2. A formação de trihalometanos a partir da cloração

A maioria dos ácidos fúlvicos e húmicos contém radicais cetona, que podem causar a formação de halofórmios após a reação com o cloro. Os ácidos fúlvicos e húmicos são resultantes da degradação química e biológica de resíduos de plantas e animais (van Bremem, 1984; OPAS, 1987). A Figura 5 abaixo exhibe uma possível reação de formação do clorofórmio, os demais trihalometanos seguem o mesmo comportamento de formação.

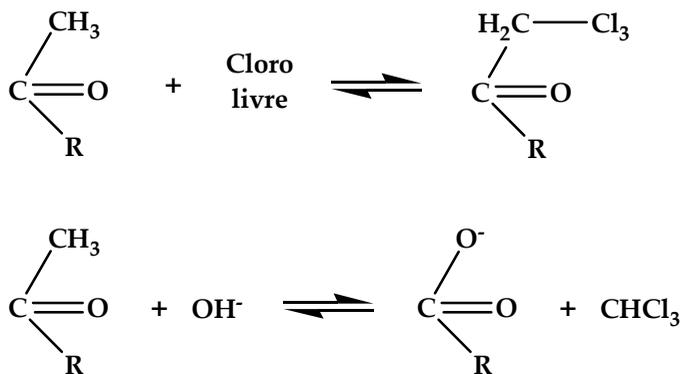


Figura 5. Reação de formação de trihalometanos. Onde cloro livre é a soma de todas as espécies elementares do cloro: Cl_2 , ácidos clorados (HClO), íon hipoclorito (ClO^-), etc.

O mecanismo da reação do halofórmio começa com a α -halogenação através do enolato. O efeito de atração de elétron de um α -halogênio aumenta a acidez dos prótons do carbono ao qual ele está ligado, fazendo com que a halogenação subsequente neste carbono seja mais rápida do que a anterior. O trihalometano cetona formado, sofre então uma adição nucleofílica do íon hidróxido no grupo carbonil, facilitando a sua dissociação pela clivagem da ligação do grupo CCl_3 (ou CX_3 , onde X = halogênio). O grupo abandonador $:\text{CCl}_3^-$ reage com a água para então para formar o clorofórmio.

As variáveis que influenciam a reação de formação dos THMs são: (Khordagui & Mancy, 1983; Santos, 1987; van Bremem, 1984; Meyer, 1994):

a) Tempo

A formação de trihalometanos em condições naturais não é instantânea. Em princípio, quanto maior o tempo de contato entre o cloro e os precursores, maior será a probabilidade de formação dos THMs.

b) Temperatura

O aumento da temperatura significa um aumento na probabilidade de formação dos THMs.

c) pH

Com o aumento de pH a taxa de formação de THMs também se eleva, porque a reação de formação do halofórmio é uma catálise básica.

d) Concentração de brometo e iodeto

Os brometos e iodetos, na presença de cloro aquoso, são oxidados a espécies capazes de participar da reação de substituição orgânica, resultando na formação de THM puro ou misturado (um ou mais de um dos compostos). O bromo tem vantagens sobre o cloro nas reações de substituição com os

compostos orgânicos, mesmo que o cloro esteja presente em excesso quando comparado com o bromo inicial.

e) Características e concentrações dos precursores

Quanto maior a concentração de ácidos húmicos e fúlvicos, maior será a formação de THMs. As características da água e dos precursores presentes também irão influenciar a formação de THMs.

f) Concentração de cloro

Quanto maior a dosagem de cloro, maior será a probabilidade de formação de THMs. A forma sob a qual o cloro se apresenta também é importante; o cloro livre tem maior poder de formação de THMs do que o cloro combinado.

1.5. Legislações e toxicidade dos trihalometanos

Em 1974, estudos realizados nos Estados Unidos mostraram pela primeira vez a correlação positiva entre águas de abastecimento público e câncer. Um estudo que se destacou foi realizado pela Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (USEPA) em 113 estações de tratamento de água. Os THMs foram encontrados em todas as estações que utilizavam a cloração como processo de desinfecção (Bellar *et al.*, 1974; Bun *et al.*, 1975; Balster e Borzelleca, 1982; Melnick, 1987; Melnick, 1989). A USEPA e a União Européia (EU) fixaram em 80 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, como o nível máximo de contaminante (MCL) para THMs em água potável (United States Environmental Protection Agency, 2001; The Council of the European Union, 1998). A USEPA propõe reduzir de 80 para 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ o nível máximo de THMs em água potável. Redução semelhante ocorreu em 1998, quando a USEPA reduziu de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (proposto em 1979) para 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Zhao, Lao & Xu, 2004; Pontius, 1993). Alguns países europeus possuem leis mais restritas para a concentração total de THMs em água potável. A Alemanha e a França permitem um máximo de

10 $\mu\text{g L}^{-1}$, a Suíça 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ na Itália (Golfinopoulos & Nikolaou, 2006; Batterman *et al.*, 2002; Serrano & Gallego, 2007). A Organização Mundial de Saúde recomenda que, individualmente, os valores de clorofórmio, diclorobromofórmio, dibromoclorofórmio e bromórmio sejam de 200, 60, 100 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para água potável (WHO., 2008). No Brasil, a partir da promulgação da Portaria Nº 36, de 19/01/90, do Ministério da Saúde, foram estabelecidos novos padrões de potabilidade da água, os quais passaram a vigorar em 23/01/92. Conforme essa legislação, o teor máximo de trihalometanos em água potável foi fixado em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Entretanto, muito se discute sobre estes dados atualmente, os valores permitidos tendem a sofrer alterações na medida em que novos estudos são realizados.

Os trihalometanos são considerados carcinogênicos. Estudos afirmam que o consumo de água contaminada com altas concentrações destes compostos aumenta os riscos de câncer (em humanos e animais) de estômago, bexiga, rim, pâncreas e tumores cerebrais. Os THMs também causam diversos efeitos negativos no sistema reprodutivo. (Kusamran *et al.*, 2003; Tokmak, Caper & Dilek, 2004; Simpson, 1998).

Outros estudos indicam uma associação entre a exposição aos trihalometanos e efeitos adversos na gravidez, como aborto espontâneo (Waller *et al.*, 1998, Savitz *et al.*, 1995), nascimento prematuro (Dodds *et al.*, 1999; Hinckley *et al.*, 2005), natimorto (Toledano *et al.*, 2005; King *et al.*, 2000), pesagem e/ou altura bem abaixo do normal do bebê em seu nascimento (Gallagher *et al.*, 1998; Wright *et al.*, 2003; Hinckley *et al.*, 2005; Kramer *et al.*, 1992).

1.6. Controle e remoção de THMs

Existem três opções para o controle e remoção dos trihalometanos. A primeira opção é fazer uso de processos alternativos para a desinfecção da água. A segunda opção é a redução dos trihalometanos já formados. E a terceira opção é

reduzir a concentração de precursores. A diminuição da concentração dos precursores pode ser conseguida através de algumas técnicas (Ia Rubia *et al.*, 2008; Ribeiro & de Luca, 1998; Bazzoli, 1993; Chiang, Ling & Chang, 2007; Çapar & Yetiş, 2002, Meyer 1994; Jacangelo *et al.*, 1995, Marhaba, 2002):

a) Clarificação

Este método remove apenas parcialmente a concentração de ácidos húmicos e fúlvicos pela adição de sais de ferro e alumínio. A remoção geralmente ocorre em condições levemente ácidas, pH 4 a 6.

b) Aeração

Este método é o menos eficaz, devido ao fato de que os precursores possuem massa molar elevada.

c) Adsorção em carvão ativado

O uso de carvão ativado em pó ou granulado é um método eficiente na remoção da maioria dos precursores dos THMs. Entretanto, este método necessita que o carvão ativado seja substituído com frequência. Também é eficiente para a remoção de trihalometanos já formados na solução.

d) Controle de precursores no manancial

A realização de determinações periódicas da concentração de precursores de THM em água bruta pode revelar medidas de controle que poderiam ser tomadas para minimizar essas concentrações. Entre tais medidas deveriam ser incluídos o controle de algas, a prevenção do avanço de água salina (presença de compostos bromados) e a seleção de mananciais alternativos.

e) Oxidação

O uso de agentes oxidantes capazes de oxidar os precursores de THMs tem como objetivo a diminuição do potencial de

formação destes pela ação de produtos químicos (alterando os precursores) e a completa oxidação química dos precursores (até a forma de dióxido de carbono), a fim de eliminar o problema potencial da presença depois do tratamento de subprodutos da oxidação, os quais podem ser até mais perigosos do que os THMs. Os oxidantes que podem ser usados são os seguintes: ozona, dióxido de cloro, permanganato de potássio, radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio. As dosagens necessárias desses oxidantes para reduzir o potencial de formação de THMs são elevadas e o tempo de contato é maior que o normalmente usado na desinfecção.

A alternativa de oxidação dos precursores até hoje foi realizada somente em laboratórios, não tendo sido implementada como rotina em sistemas de tratamento de água. Existe a possibilidade de que a utilização desta técnica implique a geração de subprodutos indesejáveis. As reações de oxidação dos precursores são bastante complexas e os subprodutos obtidos podem variar com as condições da reação de remoção do potencial de formação de trihalometanos. Águas que apresentam concentração elevada de bromo produzem teores elevados de trihalometanos. Tais águas podem ser tratadas com ozônio para retardar ou prevenir a formação de THM contendo bromo, o que resulta numa diminuição da concentração total de trihalometanos.

f) Filtração por membranas

Pode ser a microfiltração, a ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose reversa. Os dois primeiros processos requerem uma pressão de serviço menor que 5 bars e são principalmente aconselhados para separação sólido/líquido e eliminação de partículas. A UF detém partículas minerais e orgânicas e partículas biológicas equivalente a algas, bactérias e vírus. Contudo, junto com adsorção sobre carvão ativado em pó (CAP), a UF pode também ser usada para eliminar moléculas orgânicas dissolvidas. A nanofiltração e a osmose reversa, por outro lado,

podem deter partículas do tamanho de um íon. A NF é normalmente usada para abrandamentos e, em parte, para desmineralizar água salobra ou pouco salina e a OR para desalinizar a água do mar ou águas salobras.

Em quase todos os trabalhos sobre membranas, tenta-se definir, a grosso modo, as diferentes tecnologias de membranas utilizáveis em tratamento de água em função do tamanho dos poros das membranas e do diâmetro médio das “partículas” que ocorrem nas águas naturais. Por exemplo, a microfiltração é aconselhada para tamanhos entre 10 e 0,1 μm , a ultrafiltração para tamanhos entre 0,2 e 0,001 μm e a nanofiltração, para tamanhos entre 0,01 e 0,0004 μm . Em consequência da formação de subprodutos por desinfetantes/desinfecção, está havendo uma preocupação maior pelas indústrias sobre as tecnologias de remoção de matéria orgânica natural (NOM) das águas brutas de abastecimento.

1.7. Técnicas de extração para a determinação de trihalometanos

A exposição humana e animal a compostos orgânicos voláteis (VOC), entre eles os trihalometanos, acontece principalmente via ambiente e também através de produtos de consumo. Com isso, há uma crescente preocupação ambiental e com a saúde. Consequentemente, detectar e monitorar tais compostos em diversas matrizes é de extrema importância.

A determinação de trihalometanos em matrizes aquosas é realizada principalmente com um cromatógrafo gasoso (GC) equipado com um detector por captura de elétrons (ECD) ou detecção por espectrometria de massas (MS). A maioria das matrizes aquosas apresenta concentrações na faixa de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$, logo, faz-se necessário uma etapa de pré-concentração dos analitos para quantificação através do método analítico selecionado. A preparação da amostra é a etapa mais crítica em análises de contaminantes ambientais. Nesta etapa, os compostos de interesses são separados da matriz e pré-concentrados para

melhorar a sensibilidade, seletividade, exatidão e reprodutibilidade das análises. Em casos de matrizes altamente complexas ou ditas sujas, esta etapa também inclui uma “etapa de limpeza” para facilitar as análises e prevenir a deterioração do sistema cromatográfico e detector utilizado. A preparação da amostra é a etapa do trabalho mais intensivo, que consome mais tempo, e a principal fonte de erros no método analítico (Hyötyläinen & Riekkola, 2004; Pavón *et al.*, 2008).

Entre os métodos analíticos para a determinação de VOCs que consistem de uma etapa de pré-concentração, podem ser citados a extração líquido-líquido (LLE) (Golfinopoulos, Lekkas & Nikolaou, 2001; United States Environmental Protection Agency - method 551.1, 1995), microextração em fase líquida (Bonato *et al.*, 2008; Tor & Aydin, 2006), purge and trap (P&T) (Golfinopoulos, Lekkas & Nikolau, 2001; Nikolaou *et al.*, 2002), extração em fase sólida (SPE) (Gioia *et al.*, 2004) e microextração em fase sólida (SPME) (Cardinali *et al.*, 2004; Cho, Kong & Oh, 2003). Técnicas sem pré-concentração também foram utilizadas para a determinação de THMs, como a injeção aquosa direta (DAI). Esta técnica não utiliza solventes e assim minimiza a manipulação da amostra, entretanto a DAI comumente reduz a vida útil da coluna cromatográfica e leva imites de detecção maiores que as técnicas envolvendo a pré-concentração. (Biziuk, *et al.*, 1996; Aepli *et al.*, 2008).

A extração líquido-líquido (LLE) para a determinação de compostos orgânicos voláteis vem sendo cada vez menos utilizada devido à utilização de grandes quantidades de solventes, entre 5 e 100 mL na maioria dos casos. Ainda assim, esta técnica tem sido utilizada no estudo de formação de produtos de desinfecção da água durante a cloração na Grécia e Itália (Nikolaou *et al.*, 2005). O mesmo caso aplica-se para a extração em fase sólida, apesar de utilizar volume de solvente bem menor que a LLE, faz utilização de solventes de alto grau de pureza, caros e a etapa de dessorção do analito aprisionado no

cartucho de SPE que requer geralmente, o uso de solventes tóxicos.

Uma técnica que é muito utilizada para a determinação de THMs é o sistema Purg & Trap (P&T). No sistema clássico a amostra aquosa é injetada em um frasco de purga, e os analitos são extraídos pela passagem de um gás inerte através da amostra. Logo após, os analitos na fase de vapor são coletados em um *trap* que contém um sorvente, onde são adsorvidos. Em seguida, os compostos retidos são desorvidos por aquecimento e transportados através de uma linha aquecida até o injetor do cromatógrafo gasoso. Uma desvantagem associada com esta metodologia é o excessivo vapor de água que é purgado com os compostos voláteis pelo fluxo do gás inerte. Isso causa distorções nos picos cromatográficos, principalmente no início do cromatograma. Felizmente, há alternativas para minimizar este problema como aparatos de P&T combinando um sistema de eliminação de solvente consistindo de um dessecador de Nafion (um polímero sintético); e entre outras opções (Zygmunt, 1996; Pavón, *et al.*, 2008; Koester & Clement, 1993; Lara-Gonzalo *et al.*, 2008; Culea, Cozar & Ristoiu, 2006).

Contudo, a tendência atual na química analítica é levar em conta a ideologia da “química verde” e neste sentido, métodos de preparação de amostra que minimizem ou que sejam livres de solventes têm sido desenvolvidos, tal como técnicas de microextração em fase líquida e micro-extração em fase sólida (Pavón, *et al.*, 2008).

A microextração em fase líquida pode ser considerada uma evolução do método clássico extração líquido-líquido. Uma técnica amplamente conhecida envolve o uso de uma micro-gota de um solvente orgânico suspenso na ponta da agulha de uma microseringa (SDME), esta micro-gota pode ficar em contato com a amostra ou suspensa no frasco. Os compostos voláteis da amostra são extraídos por essa micro-gota que, em seguida é aspirada para dentro da seringa e o extrato é assim analisado (Zhao, Lao & Xu, 2004; Tor & Aydin, 2006). Esta técnica é simples

e consome mínimas quantidades de solvente, entretanto esta técnica não é muito robusta, já que a micro-gota pode se desprender durante a análise (Kramer & Andrews, 2001). Um método mais robusto utiliza membranas hidrofóbicas, ocas e porosas descartáveis de polipropileno. Um recipiente é preenchido com a amostra aquosa de interesse e um pedaço de membrana é mergulhado nessa amostra. Com isso, a fase acceptora não entra em contato direto com a matriz aquosa (fase doadora), permitindo aplicar agitação constante durante a extração. Além disso, o baixo custo de cada unidade de extração possibilita o seu uso uma única vez, evitando problemas de "carry-over" (Psillakis & Kalogerakis, 2003; Pedersen-Bjergaard & Rasmussen, 1999).

Todas as técnicas citadas já foram utilizadas para a determinação de trihalometanos em matrizes aquosas apresentando vantagens e desvantagens, e a seleção de qual técnica aplicar depende do tempo disponível, recursos financeiros, tipo de matriz, entre outros (Pavón *et al.*, 2008). A microextração em fase sólida, cuja técnica foi utilizada neste trabalho, é discutida em detalhes no item 1.7.1

1.7.1. A microextração em fase sólida (SPME)

A microextração em fase sólida é amplamente empregada para a extração de uma grande variedade de compostos devido à sua simplicidade, sensibilidade, vantagens econômicas, evita riscos de contaminação da amostra durante a preparação da mesma e não agride o meio ambiente já que nenhum solvente é necessário para a extração dos compostos de interesse. (Alpendurada, 2000).

Esta técnica tem sido aplicada com sucesso para análises de amostras ambientais como a determinação de pesticidas (Moreno, Ferrera & Rodríguez, 2007; Wang *et al.*, 2009; Beyer & Biziuk, 2008) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Bergknut *et al.*, 2007; Purcaro *et al.*, 2007; Rianawati & Balasubramanian, 2009);

fármacos (Zhang *et al.*, 2009; Cólón & Richoll, 2005; Pavlović *et al.*, 2007); amostras alimentícias como a determinação de formaldeído em peixes (Bianchi *et al.*, 2007) e determinação de aromas e flavorizantes; (Majcher & Jelén, 2009; Mazida, Salleh & Osman, 2005) e em análises forenses (Sporkert & Pragst, 2000; Fucci, De Giovanni & Chiarotti, 2003).

O princípio da microextração em fase sólida se baseia na afinidade dos compostos de interesse em relação ao recobrimento da fibra. O mecanismo está baseado no equilíbrio de partição, onde há uma transferência de moléculas da matriz para a fibra de SPME, até que o equilíbrio seja alcançado (Pawliszyn, 1997).

A Figura 6 exhibe o dispositivo de SPME semelhante a uma agulha.

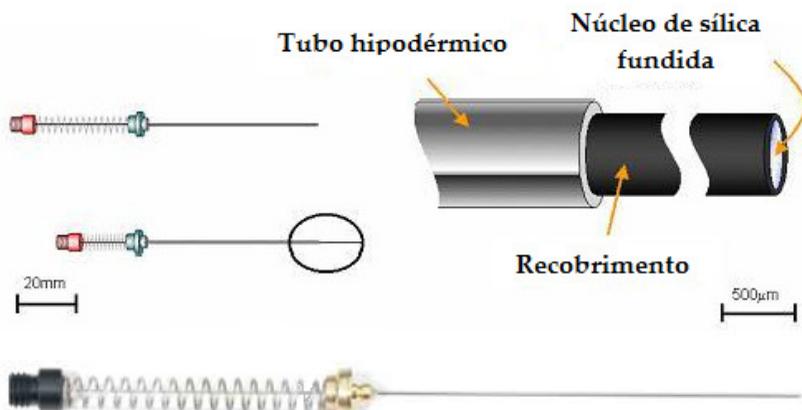


Figura 6. Componentes do dispositivo de SPME.

Basicamente consiste de um suporte de sílica fundida de 100 mm de comprimento e 100 µm de diâmetro. A extremidade possui 10 mm e é recoberta com a fase estacionária (fase extratora). A fase extratora pode ser um adsorvente (e.g., carvão ativo grafitizado) ou um filme polimérico (e.g.,

polidimetilsiloxano - PDMS) (Pawliszyn, 1997; Valente & Augusto, 2000).

O calcanhar de aquiles da SPME é a fragilidade da fibra e esta é protegida dentro de um tubo capilar de aço inoxidável denominado de tubo hipodérmico. Para uso, o conjunto descrito anteriormente é acoplado a um aplicador (*holder*), que forma um sistema tipo êmbolo (Figura 7). A pressão no êmbolo desse aplicador faz com que a fibra seja exposta.



Figura 7. Representação esquemática do aplicador (*holder*) com a fibra exposta.

A exposição da fibra de SPME pode ser realizada de três diferentes modos básicos: extração direta, extração por *headspace* e extração com proteção de membrana (Figura 8).

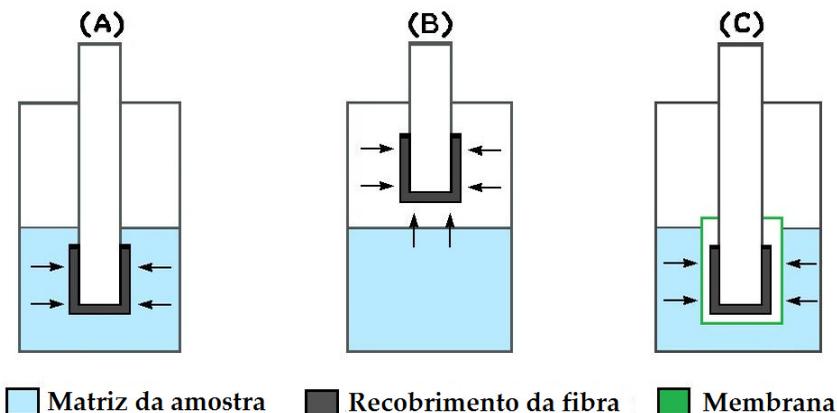


Figura 8. Modos de operação da SPME. (A) extração direta, (B) extração por *headspace*, (C) extração com proteção de membrana.

Na extração direta, a fibra fica exposta diretamente à amostra. Na extração por *headspace*, a fibra fica posicionada no espaço de vapor confinado acima da amostra e os analitos são assim extraídos. E, por último, na extração com proteção de membrana, a fibra é separada da amostra com uma membrana seletiva, a qual permite a passagem dos analitos e bloqueia os interferentes (Smith, 1999).

O procedimento da SPME é realizado em duas etapas: a sorção e a dessorção dos analitos voláteis. A Figura 9 ilustra estas etapas no modo *headspace*, o qual foi utilizado neste estudo. Na etapa de sorção, os analitos de interesse são extraídos da amostra pela exposição da fibra por um tempo pré-determinado. Após a etapa de sorção, a fibra é recolhida para dentro do tudo hipodérmico e retirada da amostra. Por último, a fibra é levada ao injetor do cromatógrafo onde acontece a dessorção dos analitos para serem separados e detectados.

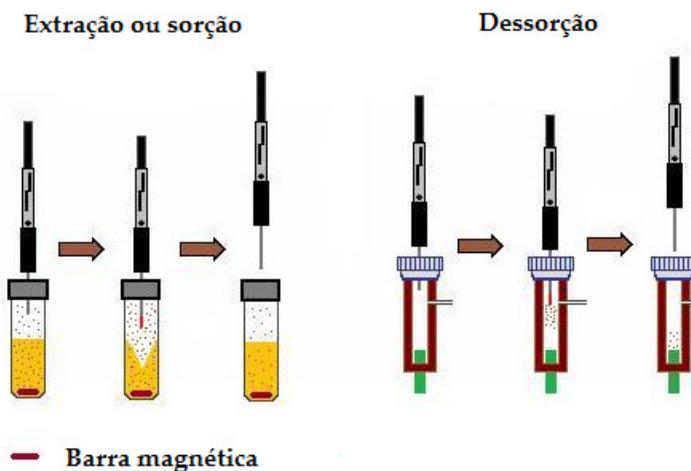


Figura 9. Etapas do processo de microextração em fase sólida.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver uma metodologia analítica para determinação de trihalometanos em amostras de refrigerantes e cervejas com a utilização da microextração em fase sólida como técnica de preparação de amostra para análises cromatográficas.

2.2. Objetivos específicos

Utilizar a cromatografia gasosa como método de separação e detecção por captura de elétrons dos trihalometanos.

Estudar a influência do gás das amostras no processo de extração.

Otimizar as variáveis que afetam a eficiência de extração da microextração em fase sólida a fim de obter maior sensibilidade da metodologia.

Obter os parâmetros analíticos de mérito para validar a metodologia proposta como faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

Aplicar a metodologia desenvolvida em amostras de refrigerantes e cervejas comercialmente disponíveis na cidade de Florianópolis.

Avaliar, se houver, as principais diferenças entre as amostras analisadas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e reagentes

Soluções padrão estoque individuais de clorofórmio (Tedia, EUA), diclorobromofórmio (Sigma-Aldrich, EUA), clorodibromofórmio (Sigma-Aldrich) e bromofórmio (Synth, Brasil) foram preparadas em metanol (Supelco, EUA) resultando em soluções de 4700, 2500, 2500 e 7460 mg L⁻¹, respectivamente. Soluções padrão intermediárias de 100, 10, 1 e 0,2 mg L⁻¹ de cada composto foram preparadas em metanol por diluição das soluções estoque com metanol. Diclorometano (Sigma-Aldrich) e diiodometano (Sigma-Aldrich) foram usados como padrões internos. Soluções padrões estoque de 2000 mg L⁻¹ de diclorometano e diiodometano em metanol foram preparadas. Soluções padrões intermediárias de 100 mg L⁻¹ foram preparadas da mesma forma que as soluções padrões intermediárias de THMs. Todas as soluções padrões foram estocadas a 0 °C.

Cloreto de sódio (Nuclear, Brasil) foi usado para modificar a força iônica das amostras. Hidróxido de sódio (Nuclear) 6 mol L⁻¹ foi preparado em água mineral e usado para reduzir o ácido carbônico das amostras até alcançar o pH 6,1. Água mineral foi utilizada, em razão de que estudos anteriores com água destilada e ultrapura continham concentrações traços de trihalometanos. Autores têm relatado a presença de THMs, sobretudo clorofórmio, em matrizes aquosas e até mesmo no ar (Zoccolilo *et al.*, 2005). Por esta razão, a água mineral foi também utilizada para a calibração externa.

As fibras investigadas foram polidimetilsiloxano (PDMS-100 µm), carboxen-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS-75 µm), divinilbenzeno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS-50/30 µm), poliacrilato (PA-85 µm), carbowax-divinilbenzeno (CW-DVB-65 µm) e polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB-65 µm) obtidas da Supelco.

Frascos de vidro transparentes para SPME com capacidade para 40 mL (Supelco) selados com tampa com septo de PTFE (politetrafluoretileno)/silicone) foram utilizados. Barras magnéticas imantadas revestidas com PTFE, formato hexagonal (bastão) liso sem anel (Dist, Brasil) foram utilizadas.

3.2. Instrumentos

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-14B (Shimadzu, Japão), equipado com injetor split/splitless e detector por captura de elétrons. A separação cromatográfica foi realizada numa coluna capilar Rtx-WAX (Restek, EUA) de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de fase estacionária. Gás nitrogênio ultrapuro para ECD (White Martins S.A., Brasil) foi usado como gás auxiliar e de arraste a 48 e 1,0 mL min^{-1} , respectivamente. A vazão de split foi de 1:120. A temperatura do forno da coluna foi 40 $^{\circ}\text{C}$ (2 min), 8 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 80 $^{\circ}\text{C}$, 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 180 $^{\circ}\text{C}$ (1 min). A temperatura do injetor foi fixada em 280 $^{\circ}\text{C}$, com exceção para o uso da fibra CW-DVB, cujo fabricante recomenda uma temperatura máxima do injetor de 260 $^{\circ}\text{C}$. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 13 minutos. O pHmetro Tecnal (Piracicaba, SP) foi utilizado para leitura das amostras.

A confirmação da identidade dos compostos foi realizada em um cromatógrafo gasoso com detecção por espectrometria de massas a 70 eV - GCMS-QP2010 Plus Shimadzu (Shimadzu, Japão). O programa de temperatura do forno da coluna foi: 40 $^{\circ}\text{C}$ (4 min), 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 80 $^{\circ}\text{C}$, 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 180 $^{\circ}\text{C}$. Temperatura da fonte de íons de 200 $^{\circ}\text{C}$, temperatura da interface de 200 $^{\circ}\text{C}$. A coluna analítica utilizada foi a Rtx-5MS (Restek). Gás hélio com grau de pureza 6.0 (White Martins, S.A.) foi utilizado como gás carreador a uma vazão de 1 mL min^{-1} . As análises foram realizadas em modo splitless. Faixa de varredura de massa de 35 - 400 m/z. A identificação foi baseada na comparação do

espectro de massa para cada analito obtido e o espectro de massa disponível na Mass Spectral Library (NIST 05).

3.3. Obtenção das amostras

Os refrigerantes e cervejas foram obtidos em supermercados de Florianópolis (SC, Brasil). Foram levadas em consideração várias marcas, sabores e tipos de embalagens (garrafas de PET e vidro, e latas). Todas as amostras foram estocadas a 4 °C com 24 horas de antecedência das análises.

3.4. Procedimento de microextração em fase sólida nas calibrações e amostras

Um tipo de refrigerante foi utilizado para simular todas as amostras gasosas no período de otimização das variáveis que afetam a eficiência de extração dos THMs. A extração dos analitos foi realizada com a fibra de carboxen-polidimetilsiloxano-85 µm (CAR-PDMS-85 µm). A fibra foi condicionada por 1 hora a 300 °C antes do uso e dessorções dos brancos foram periodicamente realizados.

Amostras de 20 mL foram transferidas para frascos de 40 mL o qual continham 20% (m/v) de cloreto de sódio, 150 µL ou 130 µL hidróxido de sódio 6 mol L⁻¹ para amostras de refrigerantes ou cervejas, respectivamente, 50 µg L⁻¹ de diclorometano e 25 µg L⁻¹ de diiodometano como padrões internos. A temperatura de extração foi de 30 °C, e o tempo de equilíbrio no banho termostaticado foi de 6 minutos. A velocidade de agitação utilizada foi de 1000 rpm (rotações por minuto). No processo de sorção, a fibra foi imersa no *headspace* para a extração por 15 minutos e, em seguida, foi imediatamente recolhida e levada ao injetor do cromatógrafo sem atraso (menor que 5 s). A dessorção ocorreu a 280 °C por 2 minutos em todas as análises. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

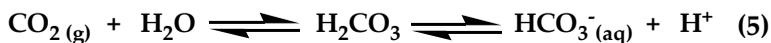
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo da influência do gás carbônico na extração dos THMs

O primeiro estudo realizado foi investigar a eficiência de extração dos THMs comparando duas situações em uma amostra de 20 mL de refrigerante: extração sem adição de NaOH 6 mol L⁻¹ e a outra com a adição de 150 µL de NaOH 6 mol L⁻¹ (pH final 6,1). A fibra utilizada foi CAR-PDMS-75 µm. O tempo e temperatura de extração utilizados foram de 10 minutos e 20 °C, respectivamente. Velocidade de agitação de 500 rpm.

O questionamento levantado foi saber se a grande quantidade de gás carbônico nas amostras prejudicaria a extração por *headspace* pela fibra de SPME. O gás carbônico, que diluído em fase aquosa, mantém-se em equilíbrio de acordo com a Equação (5). Quando uma bebida gaseificada é aberta, a pressão é reduzida à pressão atmosférica, isto causa a decomposição do ácido carbônico liberando bolhas de dióxido de carbono.

A adição de hidróxido de sódio à amostra reduz significativamente a concentração de ácido carbônico resultando nos produtos carbonato de sódio e monohidrogenocarbonato de sódio.



Observa-se a partir da Figura 10 que a melhor eficiência de extração ocorre com adição de hidróxido de sódio 6 mol L⁻¹. Isto ocorre para todos os compostos, entretanto para o analito mais volátil, o clorofórmio, não há diferença significativa na eficiência de extração levando em consideração os erros experimentais.

Há um aumento na eficiência de extração de 20% e 34% para o diclorobromometano e dibromoclorometano, respectivamente. A melhora na eficiência de extração pode ser explicada pela facilitação de escape dos analitos da fase aquosa para a fase gasosa quando a pressão no *headpace* fica igual ou próxima à

pressão atmosférica. Isto acontece naturalmente quando não há um gás, como o gás carbônico, em grande quantidade num volume de *headspace* pequeno.

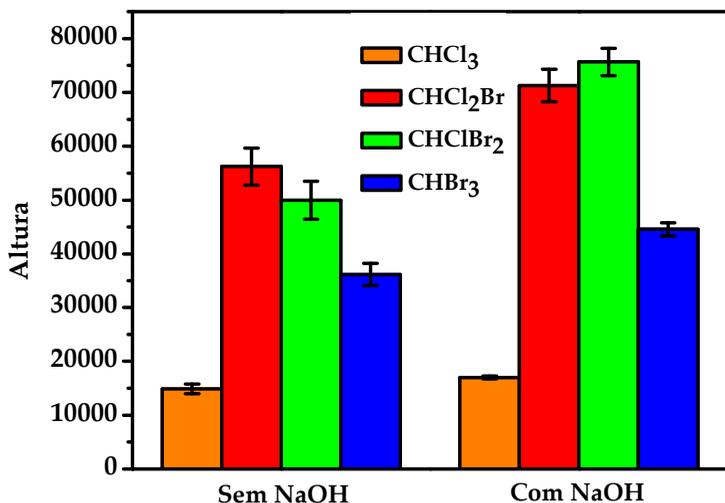


Figura 10. Eficiência de extração da fibra CAR-PDMS-85 μm para THMs com e sem adição de NaOH 6 mol L⁻¹. Tempo de extração de 10 minutos a 20 °C. Agitação magnética de 500 rpm. Concentração de THM: 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, $n = 3$.

4.2. Escolha da fibra

Seis tipos de fibras foram investigados neste estudo: polidimetilsiloxano (PDMS-100 μm), carboxen-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS-75 μm), divinilbenzeno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS-50/30 μm), poliacrilato (PA-85 μm), carbowax-divinilbenzeno (CW-DVB-65 μm) e polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB-65 μm). Novas fibras foram condicionadas, seguindo as recomendações do fabricante.

Amostras de 10 mL de refrigerante fortificadas com 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e 75 μL de NaOH 6 mol L⁻¹ foram analisadas em

triplicata para cada fibra. As respostas obtidas para cada THM com diferentes fibras são mostradas na Figura 11.

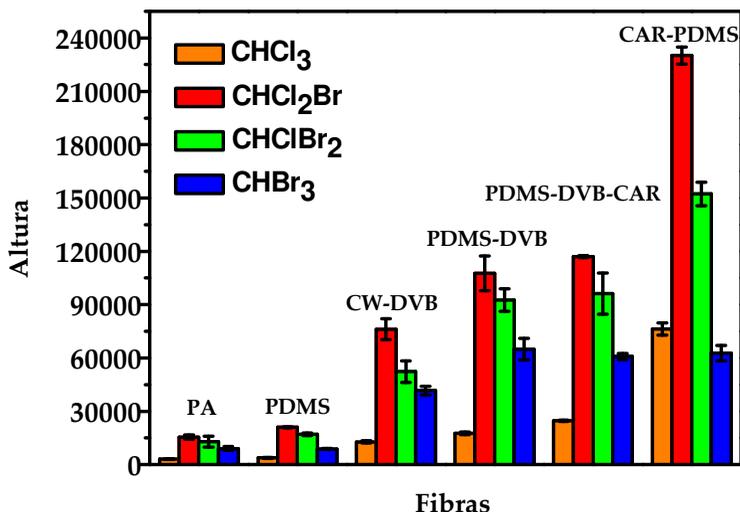


Figura 11. Eficiência de extração das fibras estudadas. $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e $75 \mu\text{L}$ de $\text{NaOH } 6 \text{ mol L}^{-1}$. Tempo de extração de 10 minutos a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$.

A escolha apropriada da fibra é essencial para o estabelecimento de um método sensível na microextração em fase sólida e é dependente da natureza química dos compostos de interesse (Cancho, Ventura & Galceran, 2001). Há relatos na literatura da utilização da fibra de PDMS (Stack *et al.*, 2000; Valente *et al.*, 1998), CW-DVB (Cancho, Ventura & Galceran, 2001), PDMS-DVB (San Juan, Carrillo & Tena, 2006) e DVB-CAR-PDMS (Lara-Gonzalo *et al.*, 2008) para a extração de THMs em matrizes aquosas. Entretanto, muitos autores concordam que a fibra de CAR-PDMS é a que fornece a melhor eficiência de extração (O'Reilly *et al.*, 2005; Antoniou, Koukouraki & Diamadopolus, 2006; Nakamura & Daishima, 2005; Cho, Kong & Oh, 2003).

A eficiência de extração aumentou na seguinte sequência: PA-85 μm < PDMS-100 μm < CW-DVB-65 μm < PDMS-DVB-65 μm < DVB-CAR-PDMS-50/30 μm < PDMS-CAR-85 μm . A fibra de CAR-PDMS é claramente superior na eficiência de extração em relação às demais fibras. Isto se deve pela fase porosa de carboxen que captura analitos pequenos entre dois a doze átomos de carbono. O tamanho dos poros determina quais analitos serão retidos nessa fase. A fase porosa de carboxen contém micro (2-20 Å), meso (20-500 Å) e macroporos (>500 Å). Comparando com a segunda melhor fibra de acordo com o estudo realizado - CAR-PDMS é 3, 2 e 1,5 vezes melhor que PDMS-CAR-DVB para CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 , respectivamente. Para CHBr_3 a resposta foi similar. A fibra de PDMS-CAR-DVB possui 2 fases porosas ligadas ao polímero de PDMS. O que difere a fase porosa de divinilbenzeno da fase de carboxen é a predominância de mesoporos e o aumento do diâmetro médio de microporos.

A fibra de CAR-PDMS foi selecionada e aplicada para os demais experimentos.

4.3. Efeito da temperatura

Na sequência para encontrar as melhores condições de extração, o efeito da temperatura na extração de THMs foi investigado. O incremento da temperatura de extração tem como consequência um aumento da difusão dos analitos em direção à fibra, diminuindo o tempo necessário para que se atinja o equilíbrio de partição entre os analitos e a fase extratora. Entretanto, o processo de adsorção ou absorção é exotérmico e um elevado aumento da temperatura reduz o coeficiente de partição diminuindo a massa de analito extraída no equilíbrio. Geralmente, uma temperatura ótima de extração é observada (Budziak, Martendal & Carasek, 2007; Jia, Zhang & Min, 1998). A equação que rege a quantidade de analito extraído variando a temperatura é complexa e limita-se a casos de fibras onde o mecanismo de sorção se dá por absorção, o que não é o caso deste

trabalho.

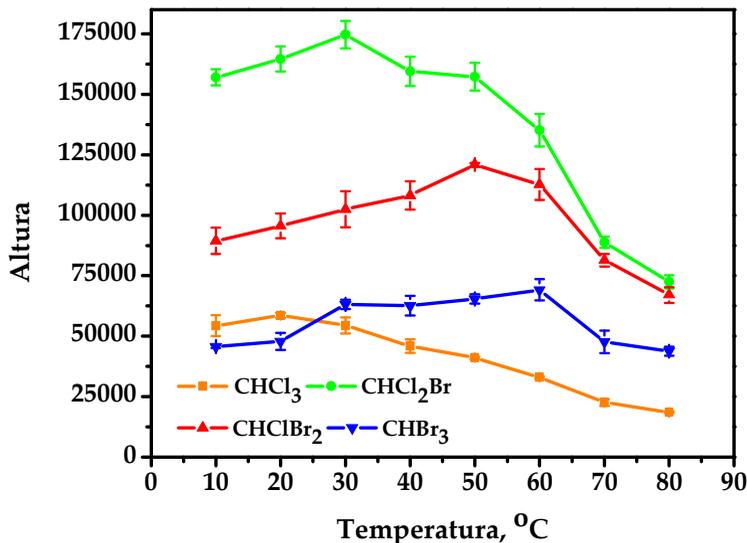


Figura 12. Efeito da temperatura de extração dos THMs. 10 mL de uma amostra de refrigerante fortificada com 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e 75 μL de NaOH 6 mol L^{-1} . Tempo de extração de 10 minutos e 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$.

A faixa de temperatura investigada foi de 10 °C a 80 °C. Pode ser observado através da Figura 12 que as melhores condições são de 20 °C para CHCl_3 , 30 °C para CHCl_2Br , 50 °C para CHClBr_2 e para o CHBr_3 houve resposta similar de 30 °C a 60 °C considerando erros experimentais. Era esperado que o clorofórmio apresentasse a temperatura mais baixa de extração, já que é o analito com a maior pressão de vapor (0,26 atm) a uma temperatura de 25 °C (para os demais: 0,078 atm para diclorobromofórmio; 0,020 atm para dibromoclorofórmio e 0,0074 atm para o bromofórmio) (United States Environmental Protection Agency, 1994; Schwarzenbach, Gschwend & Imboden, 1993).

Assim como a tendência da elevação da temperatura nos pontos ótimos de extração com o aumento da massa molar dos trihalometanos, também pode ser observado que após 60 °C a eficiência de extração dos THMs decai rapidamente, ou seja, esta temperatura é elevada o suficiente para que o coeficiente de partição do analito entre a fase extratora e a fase de *headspace* seja reduzido bruscamente.

A seleção da temperatura ótima de extração foi baseada na minimização da distância dos pontos ótimos de extração para cada analito; as demais variáveis investigadas neste estudo seguem a mesma linha de raciocínio.

Para estudos posteriores foi selecionada uma temperatura de extração de 30 °C.

4.4. Efeito do volume de *headspace*

A extração dos analitos pode ser afetada pelo volume de *headspace* dentro do qual cada composto difunde. A teoria da SPME diz que para uma maior sensibilidade de extração no modo *headspace*, o volume da fase gasosa deve ser minimizado. Se a quantidade de analito extraída pela fibra é relativamente pequena à quantidade de analito presente no *headspace*, a quantidade de analito requerida para ser transferida da fase aquosa para o *headspace* é da mesma ordem de magnitude que o erro experimental. Em tal condição resulta em uma extração mais rápida dos compostos de interesse. Esta condição pode ser representada pela Equação 6 (Pawliszyn, 1997).

$$\frac{K_{fs} V_f}{K_{hs} V_h} = \frac{E}{100} \quad (6)$$

Onde E é o erro experimental. K_{fs} é a constante de distribuição do analito entre a fibra e a matriz da amostra; representa a afinidade do recobrimento da fibra pelos analitos. V_f é o volume do recobrimento da fibra. K_{hs} é a constante de

distribuição do analito entre o *headspace* e a fase aquosa e o V_h é o volume do *headspace*. Estas constantes podem ser calculadas através de dados físicos-químicos e parâmetros cromatográficos.

O experimento foi estudado na faixa de 15 mL (25 mL de amostra) a 39 mL (1 mL de amostra) de volume de *headspace* em frascos de 40 mL. A amostra de refrigerante foi fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs. Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 500 rpm de agitação magnética. Volumes diferentes de NaOH foram adicionados de acordo com o volume de amostra estudado (até atingindo pH 6,1). A Figura 13 exibe os resultados obtidos.

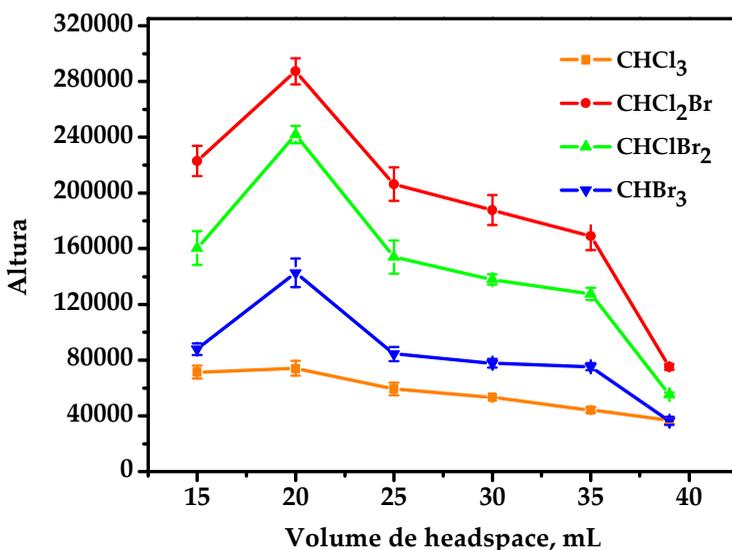


Figura 13. Efeito do volume de *headspace* na extração dos THMs. Amostras de refrigerante fortificadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs. Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$.

Pode ser observado na Figura 13 que a melhor condição de extração para todos os trihalometanos ocorre com a utilização de 20 mL de volume de *headspace* (volume de amostra de 20 mL). No intervalo de 20 mL a 39 mL de *headspace*, os THMs têm

comportamento similar e crescente. Este resultado está de acordo com a teoria descrita acima. Quanto menor o volume de *headspace*, maior é a concentração dos compostos de interesse, conseqüentemente, há uma influência direta sobre o tempo necessário para que os analitos difundam para a fibra. Em 15 mL de *headspace* há queda na eficiência de extração para todos os compostos exceto para o clorofórmio. Uma possível explicação pode ser a agitação magnética insuficiente para tal volume. Entretanto, mesmo com uma agitação adequada, um volume de 15 mL de *headspace* num frasco de 40 mL não se seria aconselhável devido à redução da segurança da exposição da fibra num confinamento de *headspace* tão reduzido.

Para os demais experimentos um volume de 20 mL de *headspace* foi selecionado.

4.5. Efeito da adição de sal (efeito *salting out*)

Outra técnica comumente utilizada para aumentar a quantidade de analito extraída pela fibra de SPME é a adição de um sal, comumente NaCl, mas outros sais podem ser utilizados como Na₂SO₄, KCl, entre outros. Apesar de este procedimento ser muito utilizado para aumentar a eficiência de extração, em alguns casos ele poder ser eliminado da etapa de otimização. Um exemplo é a determinação de ftalatos; o sal é estocado em embalagens plásticas (que possuem ftalatos em sua constituição) e uma contaminação deste se torna possível. A solução é utilizar sal ultrapuro em embalagens de vidro, porém, reagentes com essa qualidade são muito mais caros (Polo *et al.*, 2005).

A adição de sal aumenta a força iônica da solução; alterando a pressão de vapor, viscosidade, solubilidade, densidade, tensão superficial, etc. do(s) analito(s), resultando na variação do equilíbrio líquido / vapor do sistema (Cho, Kong & Oh, 2003). Essa variação afeta favoravelmente a constante de distribuição entre a fibra e a matriz (K_{fs}). Entretanto, quando os analitos estão na forma dissociada, o efeito é o oposto. O coeficiente de

atividade das espécies dissociadas aumenta na amostra aquosa com o incremento da força iônica da solução, dificultando a passagem dos analitos para a fase gasosa do *headspace*.

Um estudo preliminar determinou que a saturação de NaCl em 20 mL de amostra de refrigerante com 150 μL de NaOH 6 mol L^{-1} foi de 6,2 gramas a 30 $^{\circ}\text{C}$. A faixa estudada para este experimento foi de 0 a 6 gramas de cloreto de sódio (0 a 30% m/v).

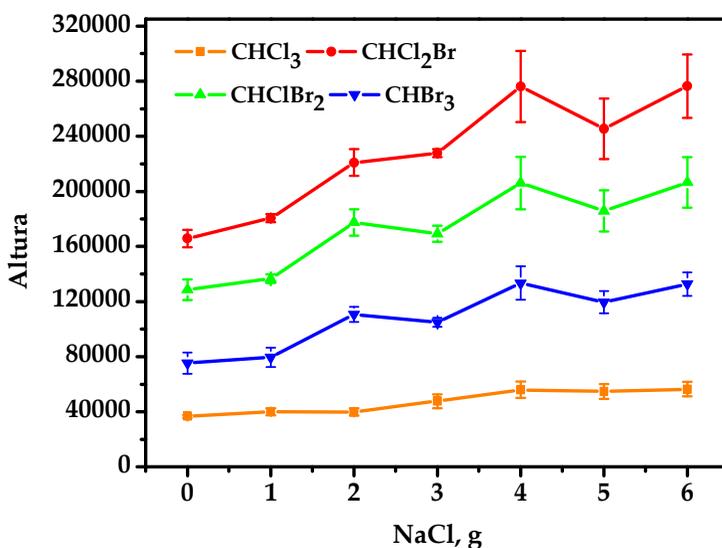


Figura 14. Efeito da adição de sal na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e 150 μL de NaOH 6 mol L^{-1} . Tempo de extração de 10 minutos a 30 $^{\circ}\text{C}$ e 500 rpm de agitação magnética, $n = 3$.

Pode ser observado na Figura 14 que há uma melhora na eficiência de extração ao longo das adições de cloreto de sódio e com comportamento bastante similar. Levando em consideração os erros experimentais, não há diferença significativa com a adição de 4, 5 ou 6 gramas de cloreto de sódio para os quatro compostos.

O clorofórmio foi o analito cuja eficiência de extração foi menos influenciada pelo efeito *salting out*, provavelmente pelo fato de ser o mais volátil entre os THMs estudados, mesmo assim a melhora foi de aproximadamente 51% ao ser comparada com a amostra sem a adição de sal. Para o diclorobromofórmio a melhora foi de 66%, e para o dibromoclorofórmio, cujo trihalometano é o de menor solubilidade em água entre os quatro estudados, 1,050 - 2,509 g L⁻¹ a 30°C, (Yalkowsky & He, 2003) a eficiência de extração melhorou aproximadamente 62%. O efeito *salting out* foi mais pronunciado para o bromofórmio, composto com a maior massa molar, 252, 73 g mol⁻¹, com 76% de incremento na eficiência de extração.

Para os demais experimentos a quantidade de 4 gramas de NaCl foi selecionada.

4.6. Efeito da agitação magnética

A agitação influencia cineticamente o equilíbrio de partição entre a fase aquosa e a fase de *headspace*. Geralmente, quanto maior for a agitação mais rápida será a transferência de massa da fase aquosa ao *headspace*. Em alguns casos, quando se estuda analitos mais polares como compostos carbonílicos, a alta agitação magnética pode fazer com que os compostos fiquem aderidos ao vidro do frasco, prejudicando a análise. Nesse caso a silanização da vidraria é necessária (Pawliszyn, 1997).

O processo de difusão ocorre não apenas na direção axial, mas na direção radial inclusive. Como o interesse é de estudar os principais fatores que controlam o processo de difusão e não soluções matemáticas exatas, o processo de difusão unidimensional pode ser descrito através da segunda lei de Fick:

$$\frac{\partial(x,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2} \quad (7)$$

Onde $C(x,t)$ é a contração do analito na posição x e tempo t , e D é o coeficiente de difusão do analito.

A faixa de estudo foi de 0 a 1000 rpm de agitação magnética. Através da Figura 15, observa-se a tendência do aumento da eficiência de extração dos THMs com o aumento da agitação magnética.

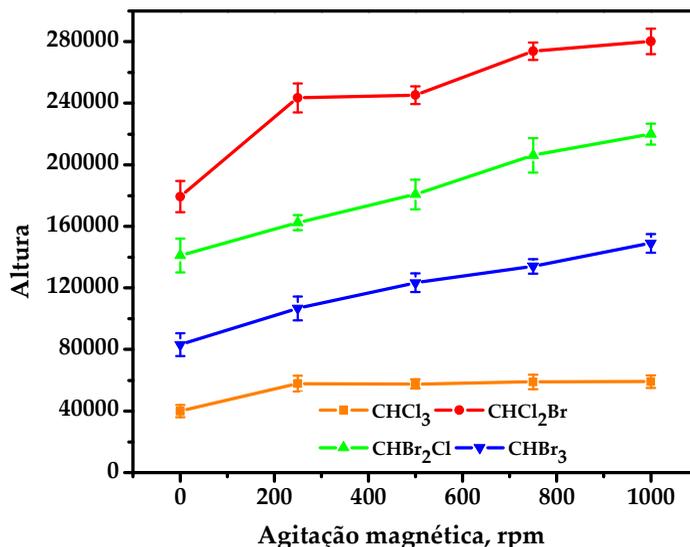


Figura 15. Efeito da adição de sal na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs e $150 \mu\text{L}$ de NaOH 6 mol L^{-1} . Tempo de extração de 10 minutos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, $n = 3$.

O efeito da agitação magnética quando se utiliza o modo *headspace* pode depender fortemente da volatilidade dos compostos. A eficiência de extração de anfetaminas em amostras de urina, por exemplo, não tem incremento significativo com a agitação da amostra (Lord & Pawliszyn, 1997). Mas para compostos de baixa volatilidade, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, a agitação magnética tem grande influência na redução do tempo de equilíbrio (Zhang & Pawliszyn, 1993).

Há uma rápida estabilização para o clorofórmio, e não há diferença em utilizar uma velocidade de agitação acima de 250 rpm. Contudo, a eficiência de extração aumenta aproximadamente 48% para este composto quando comparado com a extração estática. O incremento da eficiência de extração para o diclorobromofórmio e dibromoclorofórmio foi praticamente a mesma, aproximadamente 56%. O bromofórmio foi o composto cuja eficiência de extração foi mais influenciada pelo efeito desta variável. A melhora do sinal analítico foi de aproximadamente 80%. Este resultado está de acordo com Zhang & Pawliszyn (1993) que prevê que para compostos com menor volatilidade, a velocidade de agitação é um fator significativo na eficiência de extração.

A velocidade de agitação de 1000 rpm foi selecionada para análises posteriores.

4.7. Efeito do tempo de extração

As variáveis estudadas anteriormente alteram o tempo de extração que deverá ser utilizado. Naturalmente, procura-se sempre que o tempo de extração seja o mais baixo possível, maximizando a frequência analítica. O efeito do tempo de extração pode ser observado na Figura 16.

Considerando os erros experimentais, o equilíbrio é alcançado em apenas 10 minutos para CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 . Em 5 minutos, a fibra de CAR-PDMS extrai a máxima quantidade de massa por extração para o clorofórmio. As diferenças entre as massas molares dos analitos não foram significativas para influenciar no tempo de equilíbrio.

Os resultados obtidos para esta variável ficaram bem abaixo dos estudos para a extração de THMs em água potável encontrados na literatura. Tena, Carillo & San Juan (San Juan, Carrillo & Tena, 2006) obtiveram um tempo ótimo extração de 40 minutos para CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e mais de 40 minutos para CHBr_3 utilizando a fibra de CAR-PDMS. Os autores Cho,

Kong e Oh também estudaram o efeito desta variável e o tempo de equilíbrio necessário foi de 120 minutos para CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHCl_3 , e um tempo mais curto para CHCl_3 . Tanto num estudo quanto noutro, as demais variáveis otimizadas foram diferentes em relação a este trabalho.

Para estudos posteriores um tempo de equilíbrio de 15 minutos foi selecionado.

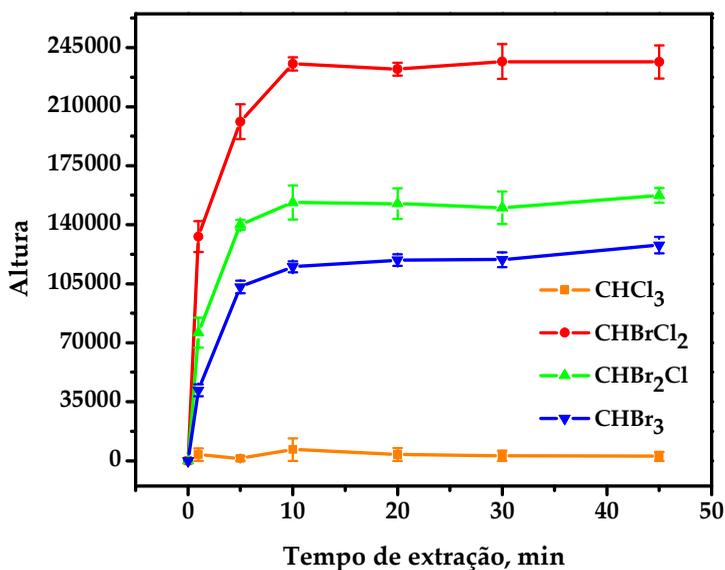


Figura 16. Efeito do tempo de extração na extração dos THMs. 20 mL de amostra de refrigerante fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de THMs, $150 \mu\text{L}$ de $\text{NaOH } 6 \text{ mol L}^{-1}$ e 4 g de NaCl . Temperatura de extração de 30°C , $n = 3$.

4.8. Figuras analíticas de mérito

Após os resultados obtidos nas otimizações das variáveis que afetam a eficiência de extração dos THMs, as figuras analíticas de mérito foram investigadas. A faixa de linearidade do método HS-SPME-ECD foi realizado pela construção de um gráfico da altura relativa ao padrão interno diclorometano para CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 e da altura relativa ao padrão interno diiodometano para CHBr_3 utilizando uma amostra de água mineral (livre de THMs). Um estudo de recuperação foi realizado comparando cada padrão interno com cada trihalometano (Tabela 2).

Há relatos na literatura da utilização de 1,4-diclorobutano (Cho, Kong & Oh, 2003), fluorobenzeno (San Juan, Carrillo & Tena, 2006), 1,1,2-tricloroetano (Kuivinen & Johnsson, 1999) e diclorometano (Macêdo *et al.*, 2001) como padrões internos, de forma individual, na análise de trihalometanos em água. O uso de diiodometano como padrão interno é inédito, como também é em relação à utilização de 2 padrões internos simultaneamente na análise de THMs, de acordo com o conhecimento do autor.

Pode-se observar pelos resultados expostos na Tabela 2 que o padrão interno diclorometano foi o que apresentou as melhores recuperações e coeficientes de correlação, tanto em $15 \mu\text{g L}^{-1}$ quanto em $35 \mu\text{g L}^{-1}$, para CHCl_3 , CHCl_2Br e CHClBr_2 , e para o padrão interno diiodometano, o bromofórmio. Há uma nítida diferença nos resultados entre os dois padrões internos para CHCl_3 e CHCl_2Br . Para CHClBr_2 e CHBr_3 , as diferenças foram mais tênues.

A faixa linear estudada foi entre $0,5 - 45 \mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 7$). Há registros de linearidade de $0,05 - 40 \mu\text{g L}^{-1}$ com R entre $0,998 - 0,999$ (Cho, Kong & Oh, 2003) e $0,2 - 48 \mu\text{g L}^{-1}$ com R entre $0,990 - 0,998$ (San Juan, Carrillo & Tena, 2006) com a fibra CAR-PDMS na análise THMs em água utilizando o modo *headspace*.

Tabela 2. Recuperações e coeficientes de correlação (R) de cada THM com o respectivo padrão interno.

Compostos	Diclorometano		Diiodometano	
	Recuperação, %	R	Recuperação, %	R
CHCl ₃	^a 99,2 – ^b 97,2	0,999	^a 87,1 – ^b 82,5	0,992
CHCl ₂ Br	96,2 – 96,1	0,999	89,1 – 86,9	0,994
CHClBr ₂	96,2 – 96,1	0,999	94,7 – 99,2	0,995
CHBr ₃	89,2 – 86,7	0,995	91,5 – 89,4	0,999

^a15 µg L⁻¹. ^b35 µg L⁻¹. n = 3.

O limite de detecção foi calculado como sendo três vezes a estimativa do desvio do coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração. Não foi possível realizar uma comparação do limite de detecção com outros trabalhos da literatura devido às diferentes maneiras dos autores calcularem esta figura analítica de mérito. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3. Faixa linear (µg L⁻¹), coeficiente de correlação (R), limites de detecção (LD, µg L⁻¹) e quantificação (LQ, µg L⁻¹) da metodologia proposta para a determinação de trihalometanos.

Compostos	Faixa linear	LD	LQ	R
CHCl ₃	0,5 - 45	0,45	1,50	0,999
CHCl ₂ Br	0,5 - 45	0,20	0,75	0,999
CHClBr ₂	0,5 - 45	0,35	1,20	0,999
CHBr ₃	0,5 - 45	0,30	0,95	0,999

Ótimos coeficientes de correlação foram obtidos. A metodologia proposta foi capaz de detectar concentrações de CHCl₃, CHCl₂Br, CHClBr₂ e CHBr₃ por volta de 174, 364, 167 e

275 vezes, respectivamente, menor que a concentração máxima admissível em água potável segundo a USEPA (USEPA, 2006).

4.9. Aplicação da metodologia nas amostras de refrigerantes

O método proposto foi aplicado na análise de 75 refrigerantes, levando em consideração diferentes sabores, embalagens e marcas. Para avaliar efeitos de matriz, outras três curvas de calibração com refrigerantes de diferentes tipos foram plotadas, a saber: refrigerante de cola, refrigerante de guaraná e uma amostra de água saborizada, considerada como refrigerante por conter gás carbônico e outros ingredientes de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (ANVISA – Resolução RDC nº 273, 2005). Avaliando assim, as sensibilidades relativas da curva de calibração com água mineral e as curvas de calibração das amostras de refrigerantes.

A Tabela 4 exibe os resultados obtidos. De acordo com esta tabela, a utilização das amostras de refrigerantes tem pequena influência na metodologia de SPME. Então, a curva de calibração externa pode ser utilizada para análises quantitativas.

Tabela 4. Sensibilidades relativas entre as curvas de calibração com água mineral e as curvas de adição sobre as amostras de refrigerantes.

Amostras	Sensibilidade relativa, %			
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
A	97,1	105,4	90,0	99,9
B	84,1	113,2	109,5	95,7
C	106,1	90,8	116,0	118,8

Onde: A = refrigerante de cola. B = refrigerante de guaraná. C = refrigerante levemente gaseificado (água saborizada).

Verificada a sensibilidade relativa (%), a precisão, calculada como o desvio padrão relativo (RSD%) ($n = 6$), foi obtida em três pontos utilizando uma amostra de refrigerante de cola fortificada com 1, 15 e 35 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM. Ótimos resultados foram obtidos na faixa de 7,3 – 11,2%; 4,3 – 6,4% e 3,8 – 4,7%, respectivamente.

A Tabela 5 abaixo exhibe os dados quantitativos das análises das 75 amostras de refrigerantes.

Tabela 5. Concentrações encontradas de trihalometanos nos refrigerantes analisados. As amostras designadas como (p), (l) e (g) representam refrigerantes com embalagem PET (politereftalato de etileno), lata e garrafa, respectivamente. Amostras designadas como "zero" representam refrigerantes com 0 kcal.

Amostras	Concentração encontrada \pm S.D., $\mu\text{g L}^{-1}$			
	CHCl_3	CHCl_2Br	CHClBr_2	CHBr_3
A (p)	2,60 \pm 0,10	0,93 \pm 0,07	<LD	<LD
B (p)	0,98 \pm 0,10	1,01 \pm 0,01	<LD	<LD
C (p)	<LD	<LD	<LD	0,89 \pm 0,10
D (p)	1,03 \pm 0,05	1,25 \pm 0,002	<LD	<LD
E (p)	9,24 \pm 0,20	0,78 \pm 0,02	0,39 \pm 0,05	1,13 \pm 0,09
E (l)	3,59 \pm 0,20	1,13 \pm 0,20	0,36 \pm 0,03	0,60 \pm 0,01
F (p)	<LD	<LD	<LD	0,95 \pm 0,10
F (p) - diet	0,73 \pm 0,08	<LD	<LD	<LD
F (l)	0,72 \pm 0,03	<LD	<LD	0,56 \pm 0,04
F (l) - diet	<LD	<LD	<LD	0,34 \pm 0,04
G (p)	<LD	<LD	<LD	<LD
H (p)	12,56 \pm 0,80	4,95 \pm 0,01	1,09 \pm 0,30	2,37 \pm 0,10

H (p) - zero	11,39 ± 0,03	5,10 ± 0,06	0,78 ± 0,09	0,73 ± 0,10
H (l) - zero	0,74 ± 0,03	0,90 ± 0,05	<LD	<LD

Laranja

A (l)	1,44 ± 0,01	1,01 ± 0,02	0,61 ± 0,01	<LD
B (p)	7,0 ± 0,4	7,15 ± 0,30	0,95 ± 0,15	<LD
C (p)	7,31 ± 0,20	3,29 ± 0,10	0,60 ± 0,20	<LD
C (l)	4,52 ± 0,04	1,84 ± 0,07	<LD	0,67 ± 0,03
D (p)	<LD	<LD	<LD	<LD
D (p) - light	<LD	<LD	<LD	<LD
E (p)	<LD	0,59 ± 0,01	<LD	<LD

Uva

A (p)	9,56 ± 0,70	0,58 ± 0,08	<LD	1,83 ± 0,10
B (p)	1,91 ± 0,09	1,23 ± 0,20	<LD	<LD
B (l)	5,47 ± 0,20	2,29 ± 0,04	<LD	<LD
C (p)	0,70 ± 0,03	<LD	<LD	<LD
C (l)	0,60 ± 0,03	<LD	<LD	0,35 ± 0,01

Citrus

A (l)	<LD	<LD	<LD	<LD
A (l) - light	<LD	<LD	<LD	<LD
B (p)	<LD	0,33 ± 0,03	<LD	<LD
B (l)	0,82 ± 0,05	0,68 ± 0,05	<LD	<LD
B (g)	1,45 ± 0,10	0,64 ± 0,02	<LD	0,30 ± 0,10
C (l)	1,27 ± 0,05	0,68 ± 0,01	0,37 ± 0,04	0,52 ± 0,02

Guaraná

A (p)	2,15 ± 0,10	3,45 ± 0,30	2,26 ± 0,20	<LD
A (l)	0,57 ± 0,06	0,98 ± 0,03	0,70 ± 0,08	0,30 ± 0,05
B (p)	1,60 ± 0,07	0,66 ± 0,05	0,64 ± 0,07	<LD
B (p) - light	2,53 ± 0,20	0,29 ± 0,04	<LD	<LD
B (l)	1,01 ± 0,03	<LD	0,40 ± 0,08	0,72 ± 0,06
B (l) - zero	<LD	<LD	<LD	<LD
C (p)	6,39 ± 0,10	1,70 ± 0,01	<LD	<LD
C (p) - Zero	16,59 ± 0,70	6,04 ± 0,40	<LD	<LD
C (l) - zero	0,96 ± 0,10	1,11 ± 0,08	0,36 ± 0,06	1,10 ± 0,08
C (l)	10,61 ± 0,50	5,1 ± 0,08	0,72 ± 0,05	1,37 ± 0,04
D (p)	0,91 ± 0,10	<LD	0,38 ± 0,09	0,42 ± 0,10
D (p) - light	<LD	<LD	<LD	<LD
E (p)	1,21 ± 0,20	1,32 ± 0,10	<LD	<LD

Cola

A (p)	12,86 ± 0,60	1,93 ± 0,20	0,81 ± 0,03	3,17 ± 0,40
A (l)	0,54 ± 0,02	1,44 ± 0,10	0,60 ± 0,02	<LD
B (p)	7,66 ± 0,10	1,60 ± 0,20	0,36 ± 0,10	0,79 ± 0,20
B (p) - zero	1,23 ± 0,04	1,24 ± 0,02	<LD	<LD
B (l) - zero	15,51 ± 0,50	6,40 ± 0,20	<LD	<LD
B (p) - light	5,63 ± 0,50	3,03 ± 0,10	<LD	<LD
C (l) - light	10,79 ± 1,07	4,18 ± 0,10	<LD	<LD
D (p)	3,33 ± 0,20	0,46 ± 0,05	<LD	<LD
D (p) - light	0,72 ± 0,09	<LD	<LD	<LD

D (l)	0,70 ± 0,07	0,44 ± 0,03	0,73 ± 0,08	0,53 ± 0,08
D (l) - light	0,46 ± 0,01	0,27 ± 0,04	<LD	<LD
E (p)	1,05 ± 0,11	<LD	<LD	<LD
E (p) - light	<LD	<LD	<LD	<LD
E (l)	<LD	<LD	<LD	<LD
F (p)	0,56 ± 0,07	0,49 ± 0,02	<LD	<LD
G (p)	1,27 ± 0,20	0,66 ± 0,09	<LD	1,16 ± 0,2
H (p)	1,24 ± 0,20	0,99 ± 0,10	<LD	<LD

Maracujá

A (p)	2,44 ± 0,30	2,97 ± 0,40	1,13 ± 0,10	<LD
-------	-------------	-------------	-------------	-----

Limão e maracujá

A (p)	2,20 ± 0,05	0,63 ± 0,03	<LD	<LD
-------	-------------	-------------	-----	-----

Laranja e limão

A (p)	3,61 ± 0,40	4,70 ± 0,50	1,22 ± 0,08	<LD
-------	-------------	-------------	-------------	-----

Maçã e limão

A (p)	2,55 ± 0,20	0,86 ± 0,30	<LD	<LD
-------	-------------	-------------	-----	-----

Limão e menta

A (p)	1,67 ± 0,05	1,19 ± 0,08	0,90 ± 0,10	2,35 ± 0,10
B (p)	5,79 ± 0,30	2,99 ± 0,40	1,05 ± 0,30	<LD

Abacaxi, limão e

hortelã

A (p)	2,42 ± 0,02	2,97 ± 0,30	1,51 ± 0,06	<LD
-------	-------------	-------------	-------------	-----

Cereja

A (p)	2,24 ± 0,20	4,54 ± 0,60	1,31 ± 0,10	<LD
-------	-------------	-------------	-------------	-----

Maçã

A (p)	<LD	<LD	<LD	1,11 ± 0,20
-------	-----	-----	-----	-------------

Tangerina

A (p)	<LD	<LD	<LD	0,87 ± 0,05
-------	-----	-----	-----	-------------

Framboesa

A (p)	2,65 ± 0,07	2,64 ± 0,04	<LD	<LD
-------	-------------	-------------	-----	-----

Melancia

A (p)	4,26 ± 0,30	2,74 ± 0,07	1,27 ± 0,20	<LD
-------	-------------	-------------	-------------	-----

Soda

A (g)	0,80 ± 0,09	<LD	<LD	0,40 ± 0,07
-------	-------------	-----	-----	-------------

A faixa detectável encontrada para o clorofórmio foi de 0,54 – 15,51 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,27 – 7,15 $\mu\text{g L}^{-1}$ para diclorobromofórmio, 0,36 – 2,26 $\mu\text{g L}^{-1}$ para dibromoclorofórmio e 0,30 – 3,17 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o bromofórmio. Algumas observações são comentadas a seguir.

I) As amostras designadas "A" e "B" com embalagens PET e lata, tipo cola: para a amostra "A" em PET a quantidade de clorofórmio é aproximadamente vinte e quatro vezes maior que a embalagem em lata. Já para a amostra "B", em lata, é aproximadamente treze vezes maior a quantidade de clorofórmio que a embalagem em PET. Caso semelhante ocorre com as amostras "H" de limão.

II) Observa-se que refrigerantes de guaraná exibiram uma incidência maior dos quatro trihalometanos. Apenas em duas

amostras de baixa caloria não foram detectados THMs ("B (l) - zero" e "D (p) - light"). Entretanto, na amostra de baixa caloria, "C (p) - zero", foi encontrada a maior quantidade total de trihalometanos (THM total = 22,63 $\mu\text{g L}^{-1}$) entre as setenta e cinco amostras; vale ressaltar que para essa amostra apenas clorofórmio e diclorobromofórmio foram detectados.

III) As bebidas comercialmente chamadas de águas saborizadas não apresentaram valores de THMs diferentes do que as amostras de refrigerantes comuns.

IV) As amostras de tipo citrus, foram as que apresentaram os valores mais baixos de trihalometanos totais (THMT). Apenas na amostra "C (l)" foi detectado dibromoclorofórmio.

V) Já nas amostras de sabor uva, em nenhuma delas foi encontrada dibromoclorofórmio.

VI) Em relação às amostras de limão, destaca-se o fato de que mais de 55% das amostras possuem bromofórmio e a amostra "H (p)" é a terceira colocada em quantidade de THMT.

VII) Para os refrigerantes de cola, em apenas quatro amostras (~20%) foram detectados dibromoclorofórmio e bromofórmio, não necessariamente simultaneamente. Não foram encontrados valores anormais de clorofórmio, apesar de quase 90% das amostras apresentarem este organoclorado. Vale lembrar que muitas fontes, principalmente sites não-governamentais, debatem que uma marca internacional de refrigerante utiliza solventes clorados no processo de extração da folha de coca. Além de nunca ter sido provado tal fato, esta empresa apenas utilizou desse processo nas duas primeiras décadas de sua existência, sendo a folha de coca substituída por cafeína (OBID, [s.d.]).

VIII) De uma forma geral, a quantidade de trihalometanos detectada diminui na seguinte sequência: CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 e CHBr_3 . Isto quer dizer que, por exemplo, altos valores relativos de diclorobromofórmio também levam a altos valores de clorofórmio.

IX) Foram encontradas diferenças significativas na quantidade de THMs entre embalagens lata e PET, ao se comparar uma mesma

marca, de diferentes tipos como zero, light e tradicional, em diversos casos.

X) Dez amostras ultrapassaram a quantidade de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, a saber, em ordem decrescente de THMT: Guaraná "C (p) - zero" ($22,63 \mu\text{g L}^{-1}$), Cola "B (l) - zero" ($21,91 \mu\text{g L}^{-1}$), Limão "H (p)" ($20,97 \mu\text{g L}^{-1}$), Cola "A (p)" ($18,77 \mu\text{g L}^{-1}$), Limão "H (p) - zero" ($18,0 \mu\text{g L}^{-1}$), Guaraná "C (l)" ($17,80 \mu\text{g L}^{-1}$), Laranja "B (p)" ($15,1 \mu\text{g L}^{-1}$), Cola "C (l) - light" ($14,97 \mu\text{g L}^{-1}$), Uva "A (p)" ($11,97 \mu\text{g L}^{-1}$) e Limão "E (p)" ($11,54 \mu\text{g L}^{-1}$). Se aplicarmos a legislação alemã ou francesa para THMs em água potável para os refrigerantes, estas 10 amostras estariam acima do permitido.

4.10. Aplicação da metodologia nas amostras de cervejas

A metodologia proposta também foi aplicada na análise de 32 amostras de cervejas, levando em consideração três tipos de cervejas: a pilsen, a escura e sem álcool. Embalagens de garrafas e latas foram levadas em consideração. Para avaliar efeitos de matriz, outras duas curvas de calibração com amostras de cerveja pilsen e escura foram plotadas. A investigação analisou as sensibilidades relativas (%) entre as curvas de calibração com água mineral e as curvas de calibração das amostras de cervejas.

A Tabela 6 expõe os resultados obtidos.

Tabela 6. Sensibilidades relativas entre as curvas de calibração com água mineral e as amostras de cervejas.

Amostras	Sensibilidade relativa, %			
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
A	85,8	88,6	96,2	108,4
B	90,8	96,2	85,1	91,1

A = tipo pilsen. B = tipo escura.

Para a amostra de cerveja tipo pilsen, não há influência de matriz significativa na metodologia proposta. Entretanto para a amostra de cerveja tipo escura foram obtidas sensibilidades relativas insatisfatórias (<70%). Para minimizar ou solucionar uma interferência de matriz, uma diluição da amostra pode ser realizada, e assim, proceder a quantificação através de calibração externa. A diluição em água de 25% da amostra (5 mL) foi realizada e satisfatórios resultados foram alcançados. Então, a curva de calibração externa pode ser utilizada para análises quantitativas.

Verificada a sensibilidade relativa (%), a precisão, calculada como o desvio padrão relativo (RSD%) ($n = 6$), foi obtida em três pontos (1, 15 e 35 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada THM) para a amostra de cerveja tipo pilsen e para a amostra tipo escura. As faixas obtidas foram de 6,6 – 12,1%; 4,0 – 5,2% e 1,4 – 2,1% para o tipo pilsen e 7,1 – 10,2%; 5,1 – 5,9% e 2,2 – 3,9% para o tipo escura.

A Tabela 7 exhibe os dados quantitativos das análises das 32 amostras de refrigerantes. As amostras designadas com asterisco representam amostras com embalagens de garrafas.

Tabela 7. Concentrações encontradas de trihalometanos nas cervejas analisadas. As amostras designadas como (l) e (g) representam cervejas com embalagem lata e garrafa, respectivamente.

Amostras	Concentração encontrada \pm S.D., $\mu\text{g L}^{-1}$			
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
A (l)	2,00 \pm 0,04	0,28 \pm 0,10	<LD	<LD
A (g)	1,47 \pm 0,04	0,27 \pm 0,04	0,73 \pm 0,10	<LD
B (l)	1,11 \pm 0,05	0,27 \pm 0,10	<LD	<LD
B (g)	2,43 \pm 0,25	0,34 \pm 0,02	<LD	<LD
C (l)	1,00 \pm 0,07	0,56 \pm 0,10	<LD	<LD
C (g)	2,43 \pm 0,30	0,31 \pm 0,01	<LD	<LD

D (l)	$0,70 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,01$	<LD	<LD
D (g)	$1,33 \pm 0,20$	<LD	<LD	<LD
E (l)	$0,81 \pm 0,08$	<LD	$0,37 \pm 0,06$	<LD
E (g)	$1,20 \pm 0,10$	<LD	<LD	<LD
F (l)	$0,84 \pm 0,01$	$0,58 \pm 0,01$	<LD	<LD
F (g)	$3,45 \pm 0,10$	$0,70 \pm 0,01$	<LD	<LD
G (l)	<LD	$0,45 \pm 0,07$	<LD	<LD
G (g)	$3,11 \pm 0,04$	$0,47 \pm 0,07$	<LD	<LD
H (l)	$0,63 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,06$	<LD	<LD
H (g)	$1,20 \pm 0,07$	<LD	<LD	<LD
J (l)	$0,80 \pm 0,05$	$0,44 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,04$
J (g)	$0,93 \pm 0,10$	<LD	<LD	<LD
K (l)	$1,15 \pm 0,20$	$0,30 \pm 0,03$	<LD	<LD
K (g)	$0,77 \pm 0,10$	<LD	<LD	<LD
L (l)	$1,30 \pm 0,01$	$3,39 \pm 0,30$	<LD	<LD
L (g)	$0,98 \pm 0,10$	<LD	<LD	<LD
M (l)	$1,60 \pm 0,06$	<LD	<LD	<LD
M (g)	$1,25 \pm 0,20$	$0,38 \pm 0,05$	<LD	<LD
^a N (l)	$3,20 \pm 0,30$	$1,98 \pm 0,30$	<LD	<LD
^a N (g)	$3,52 \pm 0,05$	$1,70 \pm 0,20$	<LD	<LD

Tipo escura

O (l)	$1,00 \pm 0,10$	$0,32 \pm 0,03$	<LD	<LD
O (g)	$1,12 \pm 0,10$	$0,38 \pm 0,02$	<LD	<LD

P (l)	0,82 ± 0,02	0,26 ± 0,01	<LD	<LD
P (g)	1,48 ± 0,10	<LD	<LD	<LD
Q (l)	0,90 ± 0,01	<LD	<LD	<LD
Q (g)	3,20 ± 0,25	0,27 ± 0,15	<LD	<LD

^asem álcool.

A faixa detectável encontrada para o clorofórmio foi de 0,63 – 4,52 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,26 – 3,39 $\mu\text{g L}^{-1}$ para diclorobromofórmio, 0,37 – 0,73 $\mu\text{g L}^{-1}$ para dibromoclorofórmio e apenas em uma amostra bromofórmio foi detectado com concentração de 0,99 $\mu\text{g L}^{-1}$. Algumas observações são comentadas a seguir.

I) Comparando-se com os resultados das amostras de refrigerantes, nota-se uma grande diferença. Enquanto que várias amostras de refrigerantes ultrapassaram o valor de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THMT, apenas duas amostras de cervejas ultrapassaram 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THMT.

II) Apenas em uma amostra clorofórmio não foi detectado. Dibromoclorofórmio foi encontrado em três amostras (<10%).

III) Nas amostras de cervejas tipo escura, não foram detectados os trihalometanos diclorobromofórmio e dibromoclorofórmio.

IV) Há uma grande semelhança nos resultados obtidos para o diclorobromofórmio. Apenas três amostras apresentaram mais de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$.

V) As amostras "B (g)" e "C (g)" apresentaram valores de THMT praticamente idênticos.

VI) Dos dezesseis pares de amostras, apenas quatro delas a quantidade de clorofórmio em lata superou a de garrafa.

VII) Apenas no par de amostras "L" houve uma diferença muito significativa, entre si, no resultado obtido de diclorobromofórmio. Para clorofórmio, isto é válido para as amostras de par "F", "G" e "Q".

VIII) Apenas nas amostras "L (l)" e "G (l)" a quantidade de diclorobromofórmio foi maior que clorofórmio. Diferentemente

das amostras de refrigerantes, onde isso ocorreu em 20% das amostras.

5. CONCLUSÕES

A técnica *headspace* microextração em fase sólida utilizando a fibra de CAR-PDMS foi aplicada para determinar trihalometanos em 75 amostras de refrigerantes e 32 amostras de cervejas por cromatografia gasosa e detecção por captura de elétrons. A metodologia proposta mostrou ser precisa, exata e alcançou baixos limites de detecção.

Diversas amostras de refrigerantes excederam o limite permitido de THMs de países como a Alemanha e França para água potável. Todavia, um estudo mais profundo como a consideração de análises de lotes diferentes e produzidas de uma mesma fábrica deve ser realizado para uma conclusão definitiva. Um estudo com este objetivo seria de difícil execução, pois uma determinada distribuidora pode receber uma determinada marca e tipo de refrigerante de fábricas diferentes, e isto não é uma informação explícita no rótulo. As grandes diferenças encontradas entre tipos de refrigerantes de uma mesma marca pode ser resultado de processos industriais diferentes do convencional ou fabricadas em lugares distintos.

Os resultados obtidos para as amostras de cervejas estão abaixo das concentrações permitidas pela USEPA e estão em quantidades mais baixas, de uma forma geral, quando comparado às amostras de refrigerantes. Principalmente em relação à concentração de bromofórmio, onde apenas uma amostra de cerveja apresentou este trihalometano. Tanto para as amostras de refrigerantes quanto para as amostras de cervejas a incidência de clorofórmio foi a maior entre os trihalometanos, seguido de diclorobromofórmio, dibromoclorofórmio e bromofórmio.

Apesar de nenhuma amostra apresentar perigo real à saúde humana, pelo menos teoricamente, ainda não são completamente conhecidos as consequências, mesmo em baixas concentrações, por longos períodos (décadas, e.g) de exposição a estes compostos. Ou seja, não há estudos suficientes para uma

conclusão definitiva da margem de segurança destes compostos. Um fato que confirma isso é a grande divergência entre os valores permitidos de muitas legislações encontradas ao redor do mundo. Isso reforça ainda mais a busca por alternativas para a desinfecção da água que não resultem, ou pelo menos que sejam significativamente reduzidos, os compostos organoclorados.

REFERÊNCIAS

ABOUL, M. Y. Z.; WELLS, M. J. M. Assessing the trihalomethane formation potential of aquatic fulvic and humic acids fractionated using thin-layer chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, p. 272-76, 2006.

AEPPLI, C.; BERG, M.; HOFSTETTER, T. B.; KIPFER, R.; SCHWARZENBACH. Simultaneous quantification of polar and non-polar volatile organic compounds in water samples by direct aqueous injection-gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1181, p. 116-24, 2008.

ALPENDURADA, M. F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 889, p. 3-14, 2000.

AMERICAN SOCIETY OF CIVIL ENGINEERS; American Water Works Association, Conference of State Sanitary Engineers. **Water treatment plant design**. 3ª ed. New York: American Water Works Association; 1971.

ANTONIOU, C. V.; KOUKOURAKI, E. E.; DIAMADOPOLUS, E. Determination of chlorinated volatile organic compounds in water and municipal wastewater using headspace-solid phase microextraction-gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1131, p. 310-14, 2006.

ANVISA – **Resolução RDC nº 273, 2005**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18832&word>>. Acesso em: 12 julho 2009.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 18th ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1992.

ASSANO, T. BURTON, F. L., LEVERENZ, H. L., TSUCHIHASHI, R., TCHOBANOGLOUS, G. **Water reuse: issues, technologies, and applications.** 1ª ed. New York: Metcalf & Eddy/AECOM Press & McGraw Hill Professional; 2007.

BAKER, M. N. (1949). **The quest for pure water.** In: LEAL, F. C. T. (2001). **Contribuição ao estudo da remoção da cor natural no tratamento das águas de abastecimento.** 155f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

BALSTER, R. L.; BORZELLECA, J. F. Behavioral toxicity of trihalomethane contaminants of drinking water in mice. **Environmental Health Perspectives**, v. 46, p. 127-36, 1982.

BATTERMAN S.; ZHANG, L.; WANG, S.; FRAZBLAU, A. Partition coefficients for the trihalomethanes among blood, urine, water, milk and air. **The Science of the Total Environment**, v. 284, p. 237-47, 2002.

BAZZOLI, N. **O uso da desinfecção no combate à cólera.** Apostila da Fundação Nacional de Saúde – Coordenação Regional de Minas Gerais. Recife: FNS/OPAs, 1993.

BELLAR, T. A.; LICHTENBERG, J. J.; KRONER, R. C. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. **Journal American Waters Works Association**, v. 66, p. 703-6, 1974.

BEECKAMAN, G. B. Water conservation, recycling and reuse. **International Journal of Water Resources Development**, v. 14, p. 353-64, 1998.

BERGKNUT, M.; SEHLIN, E.; LUSTEDT, S.; ANDERSSON, P. L.; HAGLUND, P.; TYSKLIND. Comparison of techniques for estimating PAH bioavailability: Uptake in *Eisenia fetida*, passive sampler and leaching using various solvents and additives. **Environmental Pollution**, v. 145, p. 154-60, 2007.

BEYER, A.; BIZIUK, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. **Food Chemistry**, v. 108, p. 669-80, 2008.

BIANCHI, F.; CARERI, M.; MUSCI, M.; MANGIA, A. Fish and food safety: Determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1049-53, 2007.

BIZIUK, M.; NAMIĘŚNIK, J.; CZERWIŃSKI, J.; GORLO, D.; MAKUCH, D.; JANICKI, W.; POLKOWSKA, Ż.; WOLSKA, L. Occurrence and determination of organic pollutants in tap and surface waters of the Gdańsk district. **Journal of Chromatography A**, v. 733, p. 171-83, 1996.

BUDZIAK, D. **Desenvolvimento e aplicação de fases extratoras para técnicas de preparação de amostras**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

BUDZIAK, D.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. Preparation and application of NiTi alloy coated with ZrO₂ as a new fiber for solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1164, p. 18-24, 2007.

BULL, R. J.; BIRNABAUM, L. S.; Cantor, K. P.; ROSE, J. B.; BUTTERWORTH, B. E.; PEGRAM, R.; TUOMISTO, J. Symposium Overview. Water chlorination: essential process or cancer hazard. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 28, p. 155-66. 1995.

BUN, W. W.; HASS, B. B.; DEANE, E. R.; KLEOPFER R. D. Formation of trihalomethanes by chlorination of surface water. **Environmental Letters**, v. 10, p. 205-13, 1975.

CANCHO, B.; VENTURA, F.; GALCERAN, M.T. Determination of aldehydes in drinking water using pentafluorobenzylhydroxylamine derivatization and solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 943, p. 1-13, 2001.

CARDINALI, F. L.; ASHLEY, D. L.; MORROW, J. C.; MOLL, D. M.; BLOUNT, B. C. Measurement of trihalomethanes and methyl tertiary-butyl ether in tap water using solid-phase microextraction GC-MS. **Journal of Chromatographic Science**, v. 42, p. 200-6, 2006.

CHO, D. K.; KONG, S. H.; OH, S. G. Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography. **Water Research**, v. 37, p. 402-8, 2003.

CHIANG, P. C.; LIN, Y. L.; CHANG, E. E. Removal of small trihalomethane precursors from aqueous solution by nanofiltration. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, p. 20-9, 2007.

CULEA, M.; COZAR, O.; RISTOIU, D. Methods validation for the determination of trihalomethanes in drinking water. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, p. 1594-97, 2006.

CÓLON, I.; RICHOLL, S. M. Determination of methyl and ethyl esters of methanesulfonic, benzenesulfonic and *p*-toluenesulfonic acids in active pharmaceutical ingredients by solid-phase microextraction (SPME) coupled GC/SIM-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 477-85, 2005.

ÇAPAR, G.; YETİŞ, Ü. Removal of THM precursors by GAC: Ankara case study. **Water Research**, v. 36, p. 1379-84, 2002.

DODDS, L.; KING, W.; WOOLCOOT, C.; POLE, J. Trihalomethanes in public water supplies and adverse birth outcomes. **Epidemiology**, v. 10, 233-37, 1999.

FILHO, D. F. S. **Tecnologia de tratamento de água**. Água para indústria. 3ª ed. São Paulo: Livraria Nobel S. A.; 1987.

FUCCI, N.; DE GIOVANNI, N.; CHIAROTTI, M. Simultaneous detection of some drugs of abuse in saliva samples by SPME technique. **Forensic Science International**, v. 134, p. 40-5, 2003.

GALLAGHER, M. D.; NUCKOLS, J. R.; STALLONES, L.; SAVITZ, D. A. Exposure to trihalomethanes and adverse pregnancy outcomes. **Epidemiology**, v. 9, 484-89, 1998.

GANG, D.; CLEVINGER, T. E.; BANERJI, S. K. Relationship of chlorine decay and THMs formation to NOM size. **Journal of Hazardous Materials**, v. 96, p. 1-12, 2003.

GOLFINOPOULOS, S. K.; LEKKAS, T. D.; NIKOLAOU, A. D. Comparison for determination of volatile organic compounds in drinking water. **Chemosphere**, v. 45, p. 275-84, 2001.

GOLFINOPOULOS, S. K.; NIKOLAOU, A. D. Survey of disinfection by-products in drinking water in Athens, Greece. **Desalination**, v. 176, p. 13-24, 2005.

GOMES, P. H. **Sistemas de abastecimento de água**. Dimensionamento econômico e operação de redes e elevatórias. 2ª ed. João Pessoa: Editora Universitária; 2004.

HYÖTYLÄINEN, T.; RIEKKOLA, M. L. Approaches for on-line coupling of extraction and chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 378, p. 1962-81, 2004.

KOESTER, C. J.; CLEMENT, R. E.; Analysis of Drinking water for trace organics. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 263-316, 1993.

KUSAMRAN, W. R.; TANTHASRI, N.; MEESIRIPAN, N.; TEPSUWAN, A. Mutagenicity of the drinking water supply in Bangkok. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 4, p. 31-8, 2003.

JACANGELO, J. G.; DEMARCO, J.; OWEN, D. M.; RANDTKE, S. J. Selected processes for removing NOM: an overview. **Journal American Water Works Association**, v. 87, p. 64-77, 1995.

JIA, M.; ZHANG, H.; MIN, D. Optimization of solid-phase microextraction analysis for headspace flavor compounds of orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2744-47, 1998.

KRAMER, K. E.; ANDREWS, A. R. J. Screening method for 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine using hollow fiber membrane solvent microextraction with in-tube derivatization. **Journal of Chromatography B**, v. 760, p. 27-36, 2001.

LA RUBIA, A.; RODRÍGUEZ, M.; LÉON, V. M.; Prats, D. Remove of natural organic matter and THM formation potential by ultra- and nanofiltration of surface water. **Water Research**, v. 42, p. 714-22, 2008.

GIOIA, M. L.; LEGGIO, A.; PERA, A.; LIGUORI, A.; NAPOLI; SICILIANO, C. SPE-GC-MS analysis of chloroform in drinking water. **Chromatographia**, v. 60, p. 319-22, 2004.

HINCKLEY, A. F.; BACHAND, A. M.; REIF, J. S. Late pregnancy exposures to disinfection by-products and growth-related birth outcomes. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, p. 1808-13, 2005.

KIM, H.; SHIM, J.; LEE, S. Formation of disinfection by-products in chlorinated swimming pool water. **Chemosphere**, v. 46, p. 123-30, 2002.

KING, W. D.; DODDS, L.; ALLEN, A. C. Relation between still birth and specific chlorination by-products in public water supplies. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, p. 883-86, 2000.

KHORDAGUI, H. K.; MANCY, H. K. Formation of trihalomethanes during disinfection of drinking water. **Water Quality Bulletin**, v. 8, p. 37-43, 1983.

KRAMER, M. D.; LUNCH, C. F.; ISACSON, P.; HANSON, J. W. The association of water borne chloroform with intrauterine growth retardation. **Epidemiology**, v. 3, p. 407-13, 1992.

KUIVINEN, J.; JOHNSSON, H. Determination of trihalomethanes and some chlorinated solvents in drinking water by headspace technique with capillary column gas-chromatography. **Water Research**, v. 33, p. 1201-8, 1999.

LARA-GONZALO, A.; SÁNCHEZ-URÍA, J. E.; SEGOVIA-GARCÍA, E.; SANZ-MEDEL, A. Critical comparison of automated purge and trap and solid-phase microextraction for

routine determination of volatile organic compounds in drinking waters by GC-MS. **Talanta**, v. 74, p. 1455-62, 2008.

LORD, H. L.; PAWILISZYN, J. Method optimization for the analysis of amphetamines in urine by solid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 69, p. 3899-3906, 1997.

MACÊDO, J. A. B.; ANDRADE, N. J.; ARAÚJO, J. M. A.; CHAVES, J. B. P.; SILVA, M. T. C. S.; JORDÃO, C. P. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, p. 93-103, 2001.

MAJCHER, M.; JELÉN, H. H. Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 606-12, 2009.

MARHABA, T. F.; MUSIKAVONG, C.; WATTANACHIRA, S.; PAVASANT, P. Reduction of organic matter and trihalomethane formation potential in reclaimed water from treated industrial estate wastewater by coagulation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 127, p. 48-57, 2005.

MAZIDA, M. M.; SALLEH, M. M.; OSMAN, H. Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 427-37, 2005.

MELNICK, R. L. **Toxicology and carcinogenesis studies of bromodichloromethane**. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services, 1987, 182p.

MELNICK, R. L. **Toxicology and carcinogenesis studies of tribromomethane**. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services, 1989, 194p.

MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Caderno de Saúde Pública – CSP**, v. 10, p. 99-110, 1994.

MIERZWA, J. C.; HESPANHOL, I. **Água na indústria**. Uso racional e reuso. 1ª ed. São Paulo: Oficina de Textos; 2005.

MORAN, J. M.; MORGAN, D. M.; WIERSMA, J. H. **Introduction to environmental science**. 2ª ed. New York: W. H. Freeman and Company; 1985.

MORENO, D. V.; FERRERA, Z. S.; RODRÍGUEZ, J. J. S. SPME and SPE comparative study for coupling with microwave-assisted micellar extraction in the analysis of organochlorine pesticides residues in seaweed samples. **Microchemical Journal**, v. 87, p. 139-46, 2007.

NAKAMURA, S.; DAISHIMA, S. Simultaneous determination of 22 volatile organic compounds, methyl-tert-butyl ether, 1,4-dioxane, 2-methylisoborneol and geosmin in water by headspace solid phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 548, p. 79-85, 2005.

NALCO CHEMICAL COMPANY. **The Nalco water handbook**. 2ª ed. New York: McGraw-Hill; 1988.

NIKOLAOU, A. D.; LEKKAS, T. D.; GOLFINOPOULOS, S.K.; KOSTOPOULOU. Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water. **Talanta**, v. 56, p. 717-26, 2002.

NIKOLAOU, A.; GOLFINOPOULOS, S.; RIZZO, L.; LOFRANO, G.; LEKKAS, T.; BELGIORNO, V. Optimization of analytical methods for the determination of DBPs: Application to drinking waters from Greece and Italy. **Desalination**, v. 176, p. 25-36, 2005.

NORDELL, E. **Water treatment for industrial and other uses**. 2^a ed. New York: Reinhold Publishing Co.; 1961.

OBID - OBESERVATÓRIO BRASILEIRO DE INFORMAÇÕES SOBRE DROGAS. Disponível em <<http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/index.php>>. Acesso em: 23 janeiro 2009.

OLIVEIRA, A. R. M.; MAGALHÃES, I. R. S.; SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. Microextração em fase líquida (LMPE): fundamentos da técnica e aplicação na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, p. 637-44, 2008.

OPAS - Organización Panamericana de la Salud. **Guias para la calidad del agua potable**. Vol. I, II e III. Genebra: Opas, 1987.

O'REILLY, J.; SETKOVA, L.; HUTCHINSON, J. P.; CHEN, Y.; LORD, H. L.; LINTON, C. M.; PAWILISZYN, J. Automation of solid-phase microextraction. **Journal of Separation Science**, v. 28, p. 2010-22, 2005.

PAVELIC, P.; NICHOLSON, B. C.; DILLON, P. J.; BARRY, E. Fate of disinfection by-products in groundwater during aquifer storage and recovery with reclaimed water. **Journal Contaminant Hydrology**, v. 77, p. 119-41, 2005.

PAVLOVIĆ, D. M.; BABIĆ, S.; HORVAT, A. J. M.; KAŠTELAN-MACAN, M. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 1062-75, 2007.

PAVÓN, J. L. P.; MARÍN, S. H.; PINTO, C. G.; CORDERO, B. M. Determination of trihalomethanes in water samples: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 629, p. 6-23, 2008.

PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction**. Theory and practice. 1ª ed. New York: Wiley-VCH; 1997.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 2650-56, 1999.

POLO, M.; LLOMPART, M.; GARCIA-JARES, C.; CELA, R. Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1072, p. 63-72, 2005.

PONTIUS, F. W. D-DBP rule to set tight standards. **Journal of the American Water Works Association**, v. 85, p. 22-30, 1993.

PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BÁSICO. **Tratamento de água de abastecimento por filtração em múltiplas etapas**. 1ª ed. Rio de Janeiro: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; 1999.

PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BÁSICO. **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. 1ª ed. Rio de Janeiro: RiMa, ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; 2001.

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N. Developments in liquid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 565-74, 2003.

PURCARO, G.; MORRISON P.; MORET, S.; CONTE, S. L.; MARRIOTT, P. J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils using solid-phase microextraction-comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled

with time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1161, p. 284-91, 2007.

RIBEIRO, M. L.; DE LUCA, S. J. **Tratamento de águas por filtração de membranas. Instituto de pesquisas hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.** Disponível em<www.bvsde.paho.org/bvsaidis/tratagua/peru/braapa165.pdf> . Acesso em: 04 dezembro 2009.

RIANAWATI, E.; BALASUBRAMANIAN, R. Optimization and validation of solid phase micro-extraction (SPME) method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and stormwater. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 34, p. 13-16, 2009.

RICH, L. G. **Low-maintenance mechanically simple wastewater treatment systems.** 1^a ed. New York: McGraw-Hill; 1980.

RODRIGUEZ, M. J.; SERODES, J. B. Spatial and temporal evaluation of trihalomethanes in three water distribution systems. **Water Research**, v. 35, p. 1572-86, 2001.

RODRIGUEZ, M. J.; SÉRODES, J. B.; LEVALLOIS, P. Behaviour of trihalomethanes and halocetic acids in a drinking water distribution system. **Water Research**, v. 38, p. 4367-82, 2004.

ROSSIN, A. C. **Desinfecção. In: Técnica de abastecimento e tratamento de água.** 3^a ed. v. 2, cap. 24. São Paulo: CETESB/ASCETESB; 1987.

SAN JUAN, P. M.; CARRILLO, J. D.; TENA, M. T. Fibre selection based on an overall analytical feature comparison for the solid-phase microextraction of trihalomethanes from drinking water. **Journal of Chromatography A**, v. 1139, p. 27-35, 2007.

SANTOS, C. L. Trihalometanos: Resumo Atual. **Engenharia Sanitária**, v. 26, p. 190-94, 1987.

SAVITZ, D. A.; ANDREWS, K. W.; PASTORE, L. M. Drinking water and pregnancy out come in Central North Carolina: source, amount, and trihalomethane levels. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, p. 592-96, 1995.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**. 1ª ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1993.

SECRETARIA DOS SSERVIÇOS E OBRAS PÚBLICAS. **Operação e manutenção de E. T. A.** 1ª ed. v. 2. São Paulo: CETESB; 1973.

SERRANO, A. GALLEGO, M. Rapid determination of total trihalomethanes index in drinking water. **Journal of Chromatography A**, v. 1154, p. 26-33, 2007.

SHREVE, R. N.; BRINK Jr., J. A. **Indústrias de processos químicos**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois; 1980.

SILVA, A. G.; SIMÕES, R. A. G. **Água na indústria**. In: Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. 2ª ed. Cap. 10. São Paulo: Escrituras; 2002.

SIMPSON, K. L.; HAYES, K. P. Drinking water disinfection by products: an Australian perspective. **Water Research**, v. 32, p. 1522-8, 1998.

SMITH, R. M. **Application of solid phase microextraction**. 1ª ed. Cambridge, UK: RSC; 1999.

SPORKERT, F.; PRAGST, F. Use of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) in hair analysis for organic compounds. **Forensic Science International**, v. 107, p. 129-48, 2000.

STACK, M. A.; FTIZGERALD, G.; O'CoNNELL, S.; JAMES, K. J. Measurement of trihalomethanes in potable and recreational waters using solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 41, p. 1821-26, 2000.

THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. **Quality of Water Intended for Human Consumption**. Official Journal of the European Communities, Council Directive 98/83/EC, 1998.

TOKMAK, B.; CAPER, B. Dilek, F. B.; Yetis, U. Trihalomethanes and associated potential cancer risks in the water supply in Ankara. **Turkey Environmental Research**, v. 96, p. 345-52, 2004.

TOR, A.; AYDIN, E. Application of liquid-phase microextraction to the analysis of trihalomethanes in water. **Chimica Analytica Acta**, v. 575, p. 138-43, 2006.

TOLEDANO, M. B.; NIEUWENHUIJSEN, M. J.; BEST, N.; WHITAKER, H.; HAMBLY, P., DE HOOGH, C.; FAWELL, J.; JARUP, L.; ELLIOTT, P. Relation of trihalomethane concentrations in public water supplies to still birth and birth weight in three water regions in England. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, p. 225-32, 2005.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Air emissions models for waste and wastewater**, EPA-453/R-94-080A, 1994.

USEPA METHOD 551.1, Rev. 1.0, US Environmental Protection Agency (USEPA), Cincinnati, OH, 1995.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Stage 1 Disinfectants and disinfection byproducts rule: a quick Reference guide.** EPA 861-F-01-010, 2001.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection byproducts.** Disponível em: <<http://www.epa.gov/OGWDW/mdbp/dbpfr.html>>. Acesso em: 22 junho 2009.

UYAK, V.; OZDEMIR, K.; TOROZ, I. Multiple linear regression modeling of disinfection by-products formation in Istanbul drinking water reservoirs. **Science of The Total Environment**, v. 378, 269-80, 2007.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, p. 523-30, 2000.

VAN BREMEM, J. **Water Quality.** International Course in Sanitary Engineering. Delft: IHE/International Institute for Infrastructural, Hydraulic and Environmental Engineering. (Mimeo.), 1984.

WALLER, K.; SWAN, S. H.; DE LORENZE, G.; HOPKINS, B. Trihalomethanes in drinking water and spontaneous abortion. **Epidemiology**, v. 9, p. 134-140, 1998.

WANG, J.; TUDURI, L.; MILLET, M.; BRIAND, O.; MONTURY, M.; MERCURY, M. Sampling atmospheric pesticides with SPME: Laboratory developments and field study. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 365-70, 2009.

WHITE, G. C. **Handbook of chlorination and alternative disinfectants**. 1^a ed. v. 3. New York, USA: Van Nostrand Reinhold; 1992.

WHO - World Health Organization - **Guidelines for Drinking-water Quality**. 3^a ed. v. 1. Geneva, Suiss: W.H.O. Publications; 2008.

WRIGHT, J. M.; SCHWARTZ, J.; DOCKERY, D. W. Effect of trihalomethane exposure on fetal development. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 60, p. 173-80, 2003.

YALKOWSKY, S. H.; HE, Y. **Handbook of Aqueous Solubility Data**. 1^a ed. New York: CRC Press LLC; 2003.

ZHANG, Z.; PAWLISZYN, J. Headspace solid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 65, p. 1843-52, 1993.

ZHANG, Z.; DUAN, H.; ZHANG, L.; CHEN, X.; LIU, W.; CHEN, G. Direct determination of anabolic steroids in pig urine by a new SPME-GC-MS method. **Talanta**, v. 78, p. 1083-89, 2009.

ZHAO, R. S.; LAO, W. J.; XU, X. B. Headspace liquid-phase microextraction of trihalomethanes in drinking water and their gas chromatographic determination. **Talanta**, v. 62, p. 751-56, 2004.

ZYGMMUNT, B. Determination of trihalomethanes in aqueous samples by means of a purge-and-trap systems with on-sorbent focusing coupled to gas chromatography with electron-capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 725, p. 157-63, 1996.

ANEXO A – Resposta da Coca-Cola Company do Brasil

e-mail enviado da Coca-Cola Company do Brasil com as respostas dos questionamentos sobre a distribuição de seus produtos e a água utilizada nos mesmos.

Cristiane Souza (crsouza@la.ko.com) em nome de saccocolareturna (saccocolareturna@la.ko.com). Resposta do Fale Conosco da Coca-Cola. Mensagem recebida por Marcel Silveira <marcelsilveira_qmc@hotmail.com> 23 julho 2009.
"Prezado Marcel,

Informamos que cada Engarrafador da Coca-Cola atende a uma região específica do país.

Em relação ao seu questionamento sobre a água utilizada em nossos produtos, esclarecemos que é tratada, geralmente, através de um processo físico-químico denominado tratamento químico convencional, independente da fonte de captação (concessionária de abastecimento público ou privada – poços artesianos ou água superficial). Outras alternativas de tratamento podem ser empregadas como, por exemplo, a osmose reversa e a ultrafiltração.

A água crua ou bruta (sem tratamento) é captada e armazenada no reservatório de água bruta. Em seguida, é efetuada uma dosagem de reagentes específicos de acordo com as características físico-químicas deste água para remover compostos que possam afetar a qualidade do produto final, conferindo qualquer alteração de sabor, aparência ou microbiologia.

Estes reagentes químicos promovem a floculação destas substâncias, formando partículas que se aglutinam e são decantadas no equipamento denominado floculador. Em seguida, as partículas menores são removidas através de filtração em leitos de areia. A água segue, então, para o reservatório de água semi-tratada onde ocorre um reforço na cloração, sendo mantido um

nível mínimo de cloro residual para impedir o desenvolvimento de micro-organismos.

Imediatamente antes do uso na produção, esta água é novamente filtrada em leitos de carvão para remoção do cloro residual, subprodutos da desinfecção química e compostos que possam conferir cor e sabor anormais. É, ainda, realizada uma filtração de polimento em cartuchos de polipropileno, para remoção de particulados muito finos que possam alterar a aparência do produto final. Após este estágio, a água é enviada aos pontos de consumo através de tubulações de aço inoxidável.

Qualquer outra dúvida, estamos à disposição.

Coca-cola Brasil. Viva Positivamente!"