

I – 1306 – DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM ÁGUA ADICIONADA DE SAIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA NO MODO HEADSPACE (SPME-HS) POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA

Mairlane Silva de Alencar⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal do Ceará. Bacharela em Ciência e Tecnologia pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Colaboradora do Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará.

Denilson Gonçalves Queiroz⁽²⁾

Tecnólogo em Gestão da Qualidade pela Universidade Leonardo da Vinci (Uniasselvi/SC).

Cleidiane Gomes Lima⁽³⁾

Tecnóloga de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará | Campus Limoeiro do Norte-CE.

Crisiana de Andrade Nobre⁽⁴⁾

Mestre em Química Analítica pela Universidade Federal do Ceará.

Renata de Oliveira Silva⁽⁵⁾

Doutora em Química Analítica pela Universidade Federal do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Rua Professor Rômulo Proença, s/n – Pici – Fortaleza – CE - CEP: 60.440-552 - Brasil - Tel: (85) 3101-2445 - e-mail: mairlanealencar@hotmail.com

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação dos trihalometanos em água adicionada de sais. Foi empregada a técnica de microextração em fase sólida no modo headspace (SPME-HS) para a extração dos analitos na amostra e para a identificação e quantificação foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa. Para a validação do método foram avaliados os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. Todos os parâmetros avaliados tiveram resultados satisfatórios, onde os coeficientes de variação (CV) ficaram entre 5,2 e 8,7%, as recuperações ficaram entre 95 e 102%, os resultados quanto ao coeficiente de determinação (R^2) de todos os compostos foram maiores que 0,99, o que comprova boa confiabilidade do método proposto. O limite de detecção foi 0,5 µg/L para todos os compostos e este resultado é menor que valor máximo permitido pela RDC nº 717, de 1º de julho de 2022. As amostras de água foram analisadas com o método proposto e uma amostra não apresentou os THM e cinco amostras apresentaram pelo menos um dos THM. O composto clorofórmio foi encontrado em maiores quantidades que os demais compostos. A soma dos trihalometanos de todas as amostras apresentou resultados inferiores ao valor máximo permitido pela portaria vigente.

PALAVRAS-CHAVE: Trihalometanos, validação de método, água.

INTRODUÇÃO

Toda água que é destinada para o consumo humano precisa passar por um processo de desinfecção para que possa eliminar os riscos de transmissão de doenças. Existem vários métodos de desinfecção da água e um dos mais utilizados atualmente é a adição de cloro, visto que apresenta um baixo custo e alta eficiência. Entretanto, o cloro reage com substâncias orgânicas naturais da água e formam os trihalometanos (THM), que podem causar vários danos à saúde, como abortos espontâneos, câncer e problemas no sistema reprodutivo (DI BERNARDO e DANTAS, 2005).

Os trihalometanos são um grupo de compostos orgânicos e químicos que derivam do metano e que contem halogênios, que pode ser o cloro, bromo ou iodo. O clorofórmio ou triclorometano é o THM que se forma em maior proporção na água para consumo humano (PASHOALATO et. al, 2008).

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 717, de 1º de julho de 2022 que dispõe sobre os requisitos sanitários das águas envasadas e do gelo para consumo humano, designa 0,1 mg/L o valor máximo permitido para os trihalometanos total, que são constituídos de triclorometano (CHCl_3) ou clorofórmio, bromodiodorometano (CHBrCl_2), dibromodiodorometano (CHBr_2Cl) e tribromodiodorometano (CHBr_3) ou bromofórmio (BRASIL, 2022). Nesta legislação se enquadra água adicionada de sais, água do mar dessalinizada potável, águas envasadas, água mineral natural, água natural e gelo para consumo humano (ANVISA, 2022).

Devido toda a problemática com relação aos THM, é de suma importância o desenvolvimento de diferentes técnicas analíticas para identificação e quantificação de compostos orgânicos que podem oferecer riscos à saúde humana em água para o consumo humano. A determinação de trihalometanos em água é realizada principalmente em um cromatógrafo gasoso com detector de capturas de elétrons (ECD) ou com detecção por espectrometria de massas (MS). Devido matrizes aquosas apresentarem baixos níveis de concentração, na ordem de ppt ou ppb, se faz necessário uma etapa de pré-concentração dos analitos. Entre diversos métodos que já existem na literatura, um deles é a microextração em fase sólida (SPME) que é uma técnica bastante utilizada para amostras de voláteis e possui uma grande vantagem por não utilizar solventes no preparo da amostra. O princípio dessa técnica é baseado na adsorção/absorção e dessorção, onde é utilizada uma fibra revestida com uma fase de extração para concentrar os analitos de uma amostra (SANTOS, 2010).

Para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas, existem parâmetros que devem ser avaliados para que um método seja validado e possa ser utilizado de forma confiável, como seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão (INMETRO, 2016; MAPA, 2011).

A seletividade é uma etapa primordial para a validação de um método analítico, pois avalia o grau de interferência de outras espécies, como impurezas ou produtos de degradação. Caso não esteja assegurada, parâmetros como linearidade, recuperação e precisão estarão comprometidos. A linearidade, outro parâmetro avaliado, é a capacidade do procedimento produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito da amostra, dentro de um intervalo especificado. O método se torna mais sensível quando há uma maior inclinação (coeficiente angular da equação da reta), ou seja, quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação na resposta. Para a construção de uma curva analítica são necessários pelo menos cinco níveis de concentração (INMETRO, 2016; MAPA, 2011).

O limite de detecção (LD) é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado pelo método, mas não quantificado como um valor exato. Já o limite de quantificação (LQ) corresponde a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado e quantificado com precisão e exatidão e é o nível mais baixo de concentração da curva de calibração (INMETRO, 2016; MAPA, 2011).

A precisão é a estimativa da dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições pré-estabelecidas. A precisão de um método analítico pode ser expressa de três maneiras: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade, sendo expressas através do desvio padrão ou do coeficiente de variação. A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor considerado verdadeiro. Os procedimentos para avaliar a exatidão são materiais de referência, comparação de métodos e ensaios de recuperação (INMETRO, 2016; MAPA, 2011).

OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia para a determinação de trihalometanos em amostras de água adicionada de sais usando a microextração em fase sólida no modo headspace (SPME-HS) como técnica do preparo de amostra e a cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (CG-EM) como método de identificação e quantificação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Instrumental (LQI) do Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (NUTEC). Uma metodologia analítica foi desenvolvida utilizando a microextração em fase sólida no modo headspace (SPME-HS) para a determinação de trihalometanos em amostras de água envasada (água adicionada de sais). As amostras foram obtidas em supermercados de Fortaleza/CE de diferentes marcas e acondicionadas a 4 °C.

Durante o desenvolvimento do método, na etapa de extração dos THM foi utilizado a fibra com revestimento de carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) de 75 µm acoplado a um Holder. Foi utilizado 25 mL de água fortificada com 20 µg/L dos THM e transferidos para um vial de 40 mL com tampa de polipropileno e septo de silicone. Adicionou-se 0,5 g de Na₂HPO₄ e a barra magnética no vial. O vial foi submetido a 60 °C em uma chapa aquecedora por 20 minutos e dessorvido por 8 minutos no cromatógrafo gasoso. Este procedimento foi adaptado de Carlos et. al (2011). Um esquema do procedimento de extração com a fibra é mostrado na figura 1, bem como a dessorção no cromatógrafo gasoso.

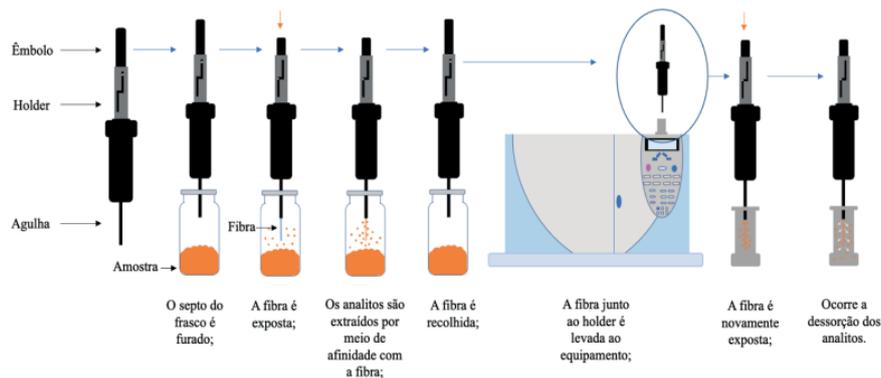


Figura 1 – Esquema do procedimento de extração por SPME-HS e dessorção de analitos no CG
 Fonte: García et. al (2021)

A análise cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa (CG-EM) da marca Thermo Scientific, com uma coluna Equity – 5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) e utilizando gás hélio como gás de arraste. O programa de temperatura do forno foi mantido a 40 °C por 2 min., seguida de uma rampa de 20 °C/min até 200 °C e 4 °C/min até 250 °C, onde essa última temperatura ficou por 2 min. A temperatura do injetor foi mantida a 250 °C, no modo split com a razão de divisor de fluxo de 1:10. A vazão do gás foi de 1,2 mL/min.

A detecção foi operada primeiramente no modo de varredura (scan) com uma faixa de massa de 40-500 m/z para que pudesse obter os tempos de retenção e após obtido esses tempos, foi operado no modo SIM (Monitoramento Seleccionado de Íons). A identificação foi baseada na comparação do espectro de massa de cada analito e o espectro de massa disponível na biblioteca (NIST). A temperatura da interface foi mantida a 250 °C e a temperatura na fonte de íons foi de 200 °C.

Os parâmetros que foram avaliados para a validação do método foram: seletividade, limites de detecção e quantificação, linearidade, recuperação e precisão.

O método validado foi empregado para a determinação de trihalometanos em 6 amostras de água adicionais de sais de diferentes marcas comercializadas em supermercados de Fortaleza/CE, sendo realizados em triplicata. As amostras foram identificadas como sendo A, B, C, D, E e F, sendo as amostras B e C de mesma marca e lotes diferentes e E e F também de mesma marca e lotes diferentes.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a avaliar a seletividade, o método foi aplicado em amostras de água e posteriormente, as mesmas amostras foram fortificadas com os quatro trihalometanos e os cromatogramas foram comparados. Como na amostra apresentou os trihalometanos, buscou-se uma amostra de água isenta desses compostos. Na figura 2 temos o cromatograma da água ultrapura (matriz isenta de trihalometanos), da amostra de água e da amostra fortificada. Comparado os cromatogramas, pode-se observar que não há picos coincidentes entre a água ultrapura e os demais cromatogramas, logo o resultado comprova boa seletividade do método, pois as respostas dos analitos de interesse não sofrem interferência de outros componentes da matriz.

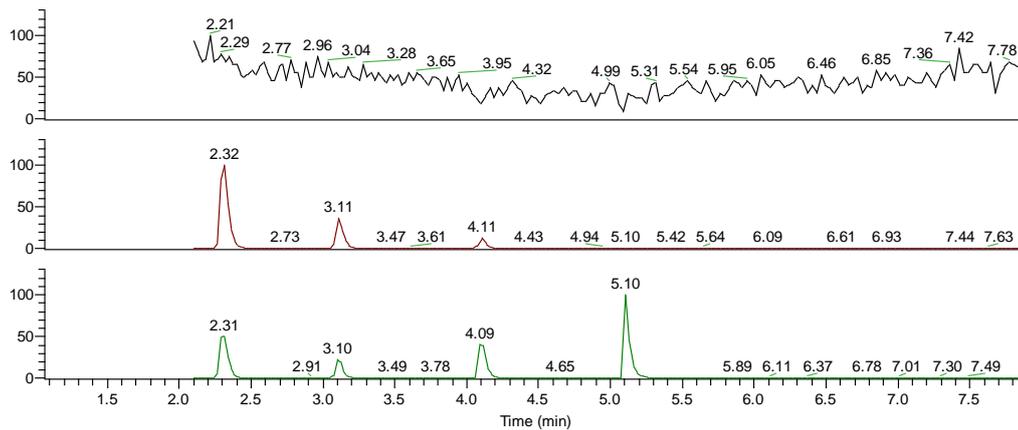


Figura 2 – Cromatogramas da água ultrapura, da amostra de água e da amostra fortificada

Para avaliar a linearidade do método proposto foram realizadas curvas analíticas dos quatro trihalometanos no intervalo entre 5 e 100 µg/L sendo empregados seis níveis de concentração. Os coeficientes de determinação (R^2) de todos os compostos foram maiores que 0,99 como apresentados na tabela 1. Portanto, esses resultados indicam que o método proposto apresenta linearidade adequada para todos os compostos nos intervalos de concentração analisados.

Os limites de detecção e quantificação do método foram determinados pela razão sinal/ruído, onde as amostras de água fortificadas foram submetidas a concentrações decrescentes até que a concentração do analito produzisse um sinal de três vezes a razão sinal/ruído do equipamento para o limite de detecção e sinal/ruído maior que seis para o limite de quantificação. Os valores de LD e LQ de cada composto estão dispostos na tabela 1.

A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV), obtido após as análises serem executadas em dias diferentes e com diferentes analistas. Os resultados encontram-se na tabela 1, foram obtidos ótimos resultados com CV menor que 20%.

A exatidão do método foi avaliada através de ensaios de recuperação, onde as amostras foram fortificadas em três níveis de concentrações: baixa, média e alta, da faixa de trabalho do método, feito isto foi calculado a recuperação de cada composto. Na tabela 1 encontram-se os resultados dos ensaios de recuperação, todos os resultados foram satisfatórios pois ficaram dentro do intervalo 80-110% descrito no Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica do MAPA (2011).

Tabela 1: Resultados dos parâmetros de validação do método dos THM

| Composto | LD (µg/L) | LQ (µg/L) | CV (%) | Recuperação (%) | R^2 |
|--------------------|-----------|-----------|--------|-----------------|--------|
| Clorofórmio | 0,5 | 5 | 7,5 | 95 | 0,9932 |
| Bromodiclorofórmio | 0,5 | 5 | 8,7 | 102 | 0,9902 |
| Clorodibromofórmio | 0,5 | 5 | 7,4 | 96 | 0,9935 |
| Bromofórmio | 0,5 | 5 | 5,2 | 98 | 0,9901 |

Na figura 3 está representado o cromatograma obtido na água fortificada com os trihalometanos na concentração de 20 µg/L. Os quatro trihalometanos analisados foram identificados e foram obtidos seus respectivos tempos de retenção. Nos tempos de retenção 2.31, 3.12, 4.12 e 5.10 minutos temos o clorofórmio, bromodiclorofórmio, clorodibromofórmio e bromofórmio, respectivamente.

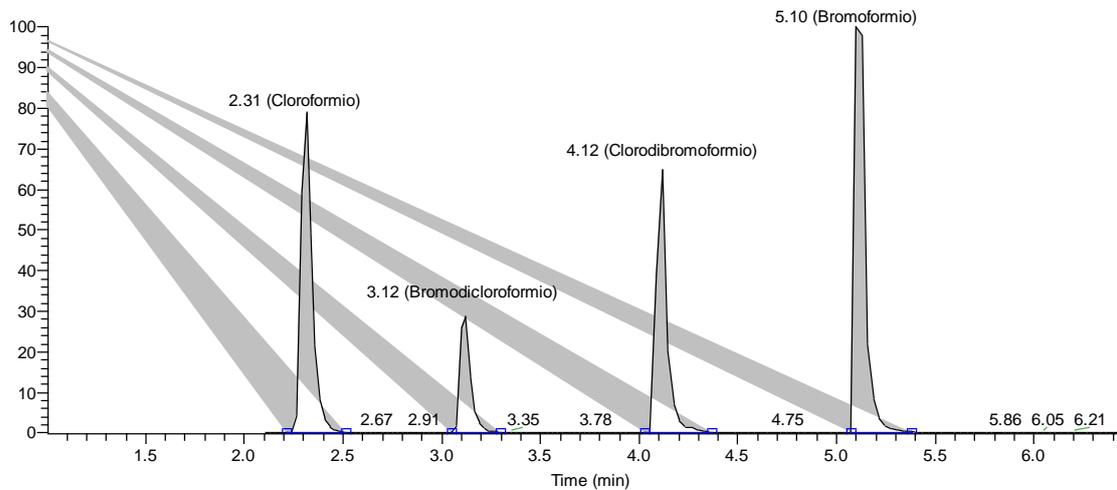


Figura 3 – Cromatograma dos THM e seus respectivos tempos de retenção

Cada pico da figura 3 foi identificado baseado na comparação do espectro de massa de cada analito e o espectro de massa disponível na biblioteca (NIST). O cloroformio, por exemplo, possui na biblioteca Nist, a relação massa/carga: 83, 85 e 47 m/z, onde 83 m/z é de maior intensidade e os outros de intensidades menores, mas que confirmam esse composto. Na figura 4 tem o pico do cloroformio com seu respectivo espectro de massa ao lado e embaixo tem espectro de massa do cloroformio na biblioteca Nist. Com este resultado podemos afirmar que o pico com o tempo de retenção em 2.31 minutos do método proposto corresponde ao composto cloroformio.

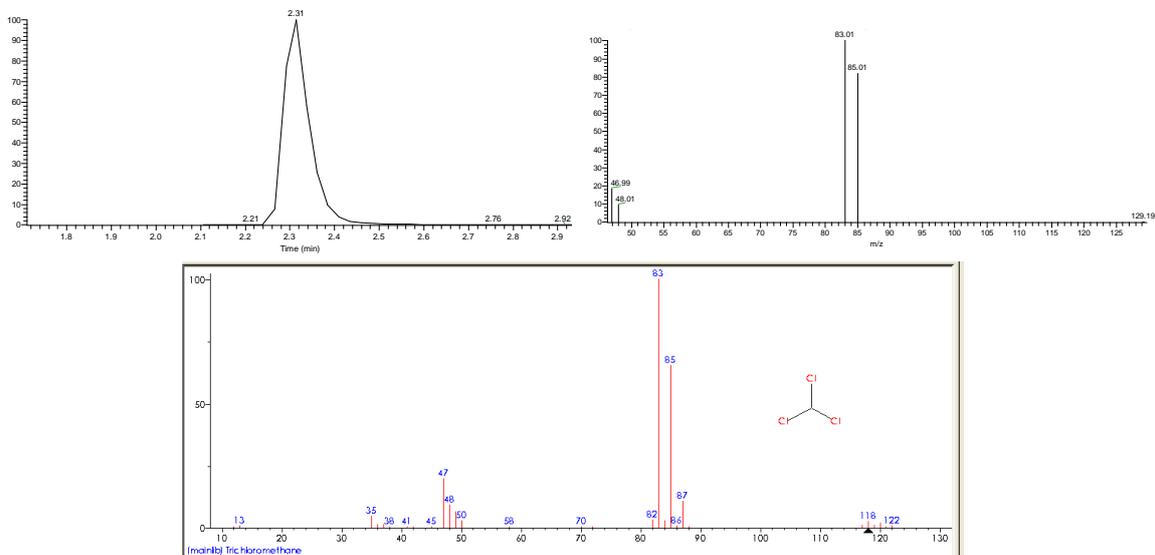


Figura 4 – Pico do cloroformio e seu respectivo espectro de massa e o espectro de massa da biblioteca Nist

Nas figuras 5, 6 e 7 temos os outros compostos com seus respectivos picos e tempos de retenção, bem como o espectro de massa comparado com o espectro de massa da biblioteca Nist. Todos confirmando que no devido tempo de retenção, seu espectro é igual ao da biblioteca Nist. Na figura 5 é o composto diclorobromofórmio, na figura 6 é o composto dibromocloroformio e na figura 7 é o composto bromoformio.

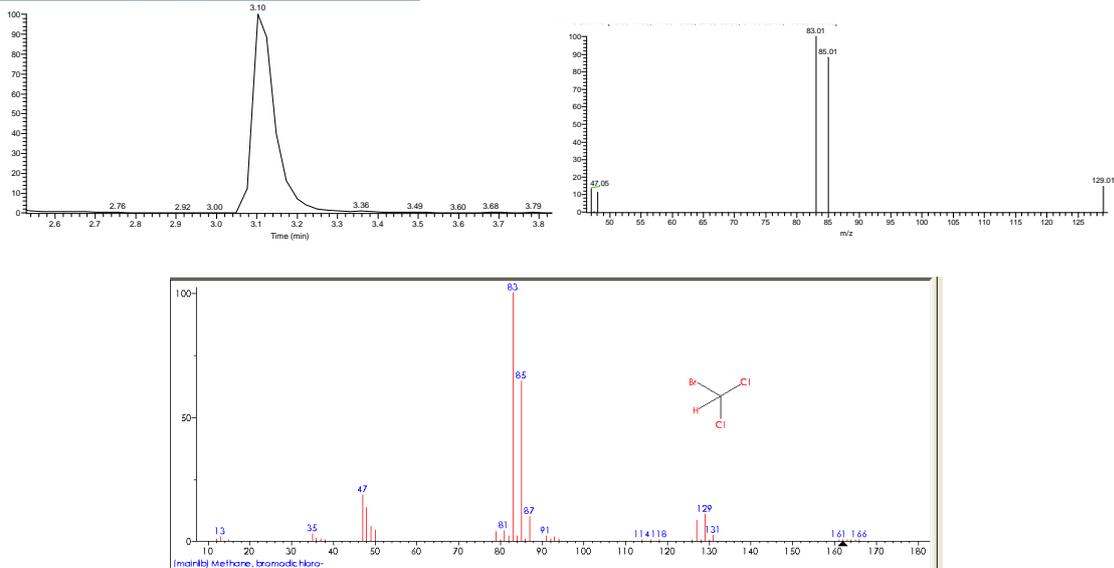


Figura 5 – Pico do diclorobromofórmio e seu respectivo espectro de massa e o espectro de massa da biblioteca Nist

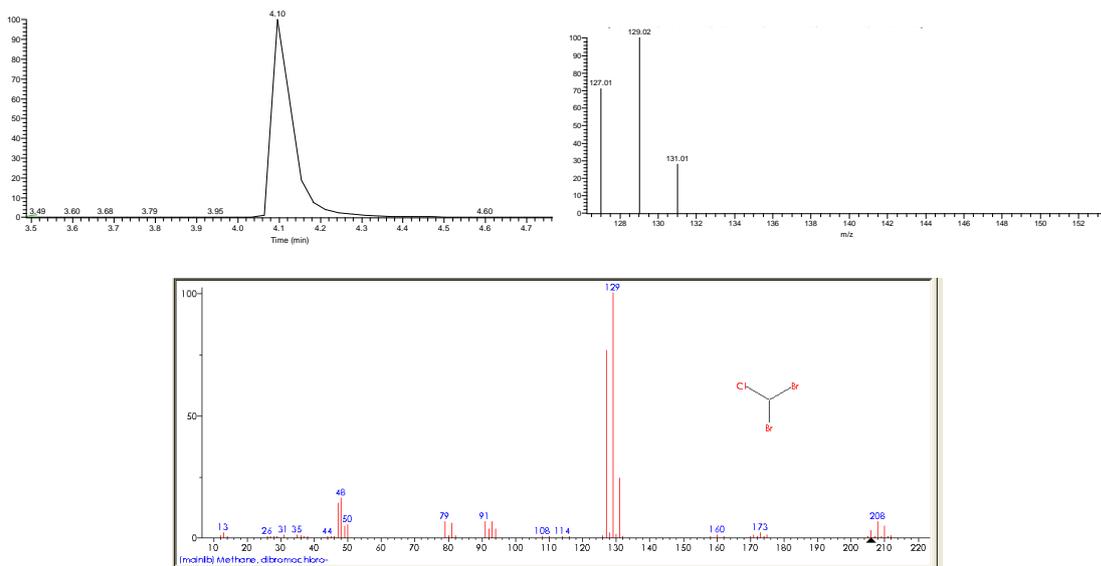


Figura 6 – Pico do dibromoclorofórmio e seu respectivo espectro de massa e o espectro de massa da biblioteca Nist

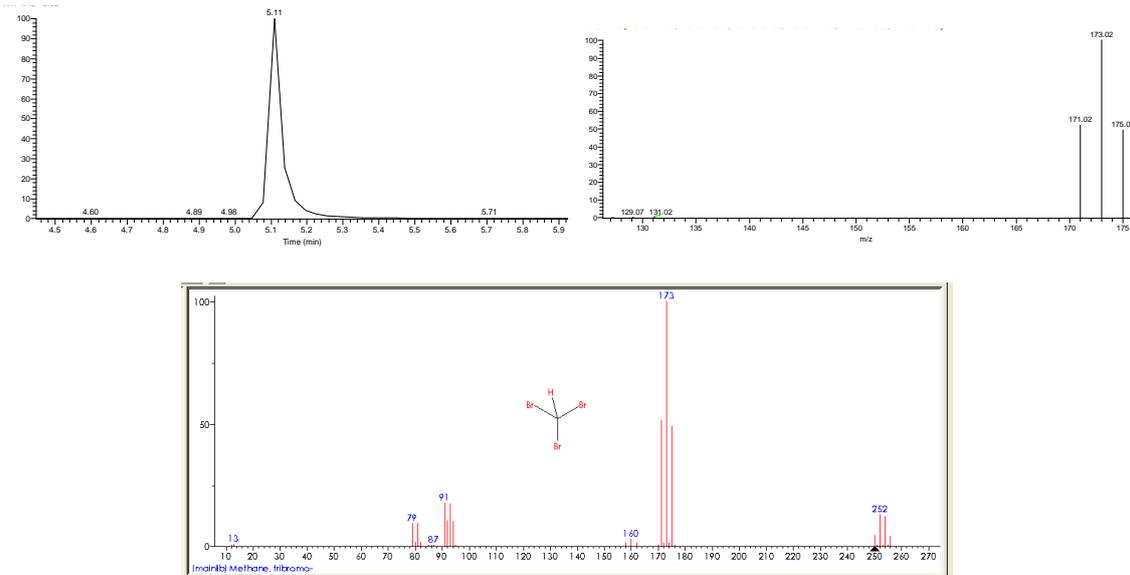


Figura 7 – Pico do bromofórmio e seu respectivo espectro de massa e o espectro de massa da biblioteca Nist

Na tabela 2 estão dispostos os resultados de todas as concentrações, calculados a partir da equação da reta de cada composto com a integração da área. Posteriormente foi feito a soma dos THM para o resultado final, pois na legislação brasileira o resultado é descrito como a soma dos quatro compostos de THM. Podemos concluir que todas as amostras tiveram valores inferiores ao limite máximo permitido que é 0,1 mg/L.

Tabela 2: Resultados das concentrações das seis amostras analisadas

| Composto | Concentração das amostras (mg/L) | | | | | |
|---------------------|----------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | A | B | C | D | E | F |
| Clorofórmio | 0,033 | <LD | 0,006 | 0,005 | 0,055 | 0,038 |
| Diclorobromofórmio | 0,017 | <LD | <LD | <LD | 0,012 | 0,032 |
| Dibromoclorofórmio | 0,005 | <LD | <LD | <LD | 0,005 | 0,009 |
| Bromofórmio | <LD | <LD | <LD | <LD | <LD | <LD |
| Soma dos THM | 0,055 | <LD | 0,006 | 0,005 | 0,072 | 0,079 |

O composto bromofórmio não foi encontrado em nenhuma amostra. Já o clorofórmio foi encontrado em quase todas as amostras, exceto na amostra B, como também em maiores quantidades, sendo o maior valor encontrado na amostra E com 0,055 mg/L. O mesmo valor foi encontrado por Vargas et. al (2015) em seu trabalho sobre a determinação de trihalometanos em água para o consumo humano em Pereira na Colômbia.

A amostra B apresentou resultados abaixo do limite de detecção do método para todos os compostos. As figuras 8, 9 e 10 são os cromatogramas das amostras A, E e F, respectivamente, que foram as amostras que apresentaram os maiores valores para a soma dos THM.

Nas figuras 8, 9 e 10 podemos observar que o clorofórmio foi o pico de maior intensidade, bem como os resultados das concentrações mostrados na tabela 2. O diclorobromofórmio teve pico de maior intensidade na amostra F, já o dibromoclorofórmio obteve intensidades menores em relação aos dois primeiros compostos e o bromofórmio não apresentou pico. Esses resultados foram semelhantes ao trabalho de Carlos (2011), que determinou trihalometanos e agrotóxicos em amostras de água, onde foi também encontrado em suas amostras o clorofórmio, diclorobromofórmio e dibromoclorofórmio, porém em concentrações menores.

Os picos identificados nas figuras 8, 9 e 10 no tempo de retenção 2.32, 3.11 e 4.11 minutos são respectivamente, o clorofórmio, diclorobromofórmio e dibromoclorofórmio.

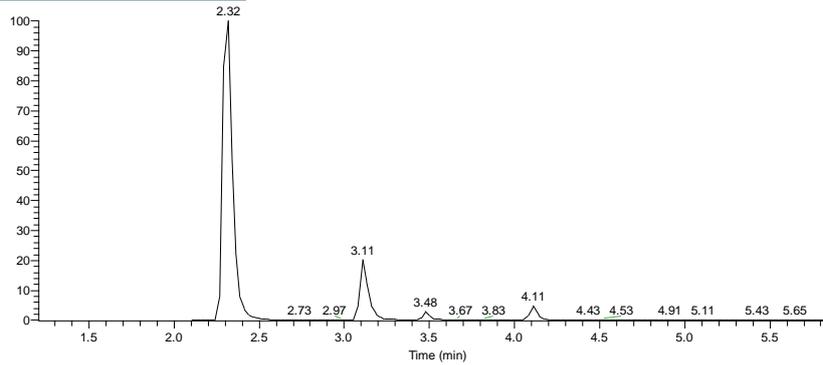


Figura 8 – Cromatograma da amostra A

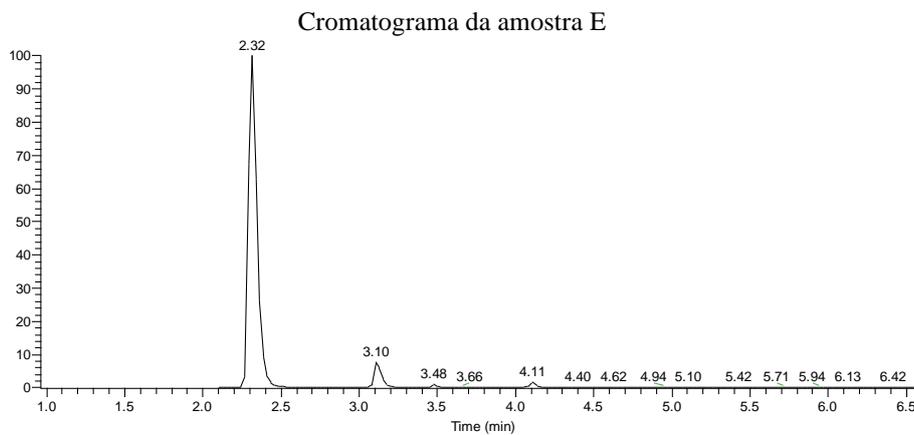


Figura 9 – Cromatograma da amostra E

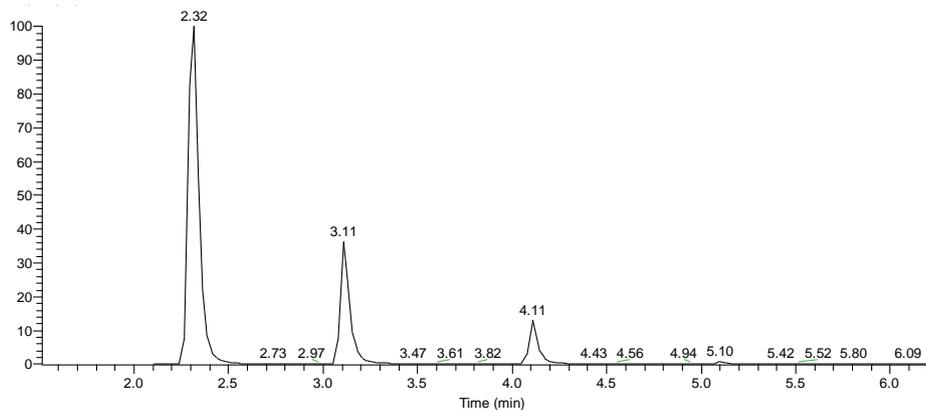


Figura 10 – Cromatograma da amostra F

CONCLUSÕES

De acordo com toda a metodologia proposta foi possível a identificação e quantificação dos trihalometanos em amostras de água. A técnica de microextração em fase sólida apresenta vantagens pois não utiliza solventes orgânicos para a extração, é uma técnica simples de operação e de rápida execução.

O método proposto apresentou resultados satisfatórios quanto a seletividade, linearidade, precisão e exatidão. Os limites de detecção e quantificação do método são menores que o limite máximo da RDC nº 717, de 1º de julho de 2022 e também da portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021 que dispõe sobre a qualidade de água para consumo humano.

Apenas a amostra B não apresentou os trihalometanos e nenhuma das amostras apresentaram o composto bromofórmio. As amostras que apresentaram maiores concentrações foram a amostras A, E e F, onde o clorofórmio foi encontrado em maiores concentrações. A soma dos trihalometanos para todas as amostras foram menores que 0,1 mg/L, dessa forma pode-se afirmar que todas as amostras analisadas atenderam ao padrão de potabilidade estabelecido pela RDC nº 717, de 1º de julho de 2022.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTONIOU, Chrysoula V.; KOUKOURAKI, Elisavet E.; DIAMADOPOULOS, Evan. Determination of chlorinated volatile organic compounds in water and municipal wastewater using headspace–solid phase microextraction–gas chromatography. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 1132, n. 1-2, p. 310-314, nov. 2006. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.082>. Acesso em: 16 jan. 2023.
2. ANVISA. **Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 717, de 1º de julho de 2022**. 2022. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_717_2022_.pdf/46974199-1976-43d8-8a0d-565152cbeada. Acesso em: 26 jan. 2023.
3. CARLOS, Elenice A.; NEVES, Antônio A.; REIS, César; QUEIROZ, Maria Eliana L. R. de. Determinação simultânea de trihalometanos e agrotóxicos em água por cromatografia gasosa. **Química Nova**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 272-278, 2011. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422011000200019>. Acesso em: 10 dez. 2022.
4. DI BERNARDO, Luiz e DANTAS, Angela Di Bernardo. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. Ed. Rima, São Carlos – SP, 2005.
5. GARCÍA, Yesenia Mendoza; LEMOS, Eurico Eduardo Pinto de; RAMOS, Ana Luiza Coeli Cruz; REINA, Luisa del Carmen Barrett; OLIVEIRA, Altamir Fernandes de; PAULA, Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira de; MELO, Angelita Cristine de; AUGUSTI, Rodinei; ARAËJO, Raquel Linhares Bello de; MELO, Júlio Onésio Ferreira. EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR SPME-HS E GC-MS – UM BREVE REFERENCIAL TEÓRICO. **Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil - Volume 1**, [S.L.], p. 68-83, 2021. Editora Científica Digital. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.org/articles/210504640.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2023.
6. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo. Brasília, DF: INMETRO, 2016. Disponível em: [DOQ-CGCRE-8_05.pdf \(inmetro.gov.br\)](http://www.inmetro.gov.br/DOQ-CGCRE-8_05.pdf). Acesso em: 12 dez. 2022.
7. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária**. – Brasília: Mapa/ACS, 2011. Disponível em: [guia-de-validacao-controle-de-qualidade-analitica.pdf \(www.gov.br\)](http://www.gov.br/guia-de-validacao-controle-de-qualidade-analitica.pdf). Acesso em: 12 dez. 2022.
8. PASCHOALATO, C. F. P. R.; TRIMAILOVAS, M. R.; BERNARDO, L. di. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peróxônio e pós-cloração em água contendo substância húmica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 313-322, set. 2008. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522008000300011>. Acesso em: 16 jan. 2023.
9. SANTOS, Marcel Silveira dos. **Determinação de trihalometanos em amostras de refrigerantes e cervejas por microextração em fase sólida e cromatografia gasosa**. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Química, A Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/94593/277981.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 11 jan. 2023.

10. VARGAS, Olga I. Vallejo; BELTRÁN, Leonardo; FRANCO, Paola; NAVARRETE, Carlos H. Montoya; RODRÍGUEZ, Edwin Jhovany Alzate; REYES, Henry. Determinación de trihalometanos en aguas de consumo humano por microextracción en fase sólida- cromatografía de gases en Pereira, Colombia. **Revista Colombiana de Química**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 23-29, 8 fev. 2015. Universidad Nacional de Colombia. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n1.54041>. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28042015000100004&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 23 mar. 2023.