

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS EM
ÁGUA UTILIZANDO TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

Claudia Pereira da Silva

São Cristóvão/SE
2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS EM
ÁGUA UTILIZANDO TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS**

CLAUDIA PEREIRA DA SILVA

Dissertação apresentada ao
Núcleo de Pós-Graduação em
Química da Universidade
Federal de Sergipe como um
dos pré-requisitos para
obtenção do título de Mestre
em Química.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Navickiene

São Cristóvão/SE

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S586d Silva, Claudia Pereira da
Determinação de ácidos haloacéticos em água
utilizando técnicas cromatográficas / Claudia Pereira da
Silva. – São Cristóvão, 2010.
63f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de
Pós-Graduação em Química, Pró-Reitoria de Pós-
Graduação e Pesquisa, Universidade Federal de
Sergipe, 2010.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Navickiene

1. Química analítica. 2. Análise cromatográfica. 3.
Água - Análise. I. Título.

CDU 543.544:543.3

A meus queridos pais, aos quais, com esse meu jeito seco, quase nunca consigo demonstrar o quanto sou apaixonada por eles. Estes que me concederam a enorme e maravilhosa família, a educação, o amor e o carinho. Os que enfrentaram inúmeros sacrifícios para me conceder essa oportunidade. Os quais foram, são e sempre serão tudo pra mim (Tereza e Gedeão)

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

...especialmente ao professor Dr. Sandro Navickiene pelo compromisso, pela atenção, e pela paciência. Também aos professores Dr. Haroldo Dórea e Dr. Marcelo Rosa pela bastante proveitosa colaboração e incentivo, as professoras Dr^a Luciane Pimenta, Dr^a Maria de Lara e demais professores do Departamento de Química pelo auxílio.

...ao CNPq pela bolsa e pelo auxílio financeiro (nº do processo 550063/2007-2)

...ao pessoal do Laboratório de Compostos Orgânicos e Poluentes (LCP). Márcia, Rogério e Vanessa esses três fizeram com que esse dois anos se mostrassem mais alegres e radiantes. Agradecimento especial vai também para Elissandro e Marcell pela amizade, companheirismo e pela boa vontade de sempre ajudar. Esses dois além de muita inteligência e competência possuem uma humildade imensurável; Agradeço de coração viu!!! Agradeço também a Alex, Daniela, Daniele, Débora, Fabrício, Gisele, Michel, Renata e Samia pelo carinho, pela força, e pela boa convivência.

... também ao pessoal do LEMON e METABIO pela colaboração, descontração e amizade. Em especial a minha “grande” amiga Amanda pelo companheirismo, pelas palavras de ânimo, pelos conselhos, pela confiança enfim pela maravilhosa “irmã” que ela se mostrou nesses seis anos de UFS.

...e, agradecimentos mais que especiais vão aos meus maninhos Teninho, Jato, Nanã, Nega, Zilda, Aninha, José, Marcio, Valéria e Nando, com ênfase para Valéria, pelo enorme carinho, ternura e apoio de sempre. Aos meus amados pais Gedeão e Tereza e também aos meus queridos e adorados sobrinhos. Todos estes por darem a minha vida um sentido mais que especial para ir em frente.

...por fim, agradeço enormemente a Deus por me ter concedido mais essa oportunidade em meio a todas essas conveniências (pessoas).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – OBJETIVOS.....	5
2.1. – Objetivo geral	5
2.2. – Objetivos específicos:.....	5
3 – JUSTIFICATIVA.....	6
4 – REVISÃO DA LITERATURA.....	7
4.1. – Subprodutos de desinfecção organoclorados	7
4.2. – Métodos analíticos para a determinação de DBPs em água.....	13
4.2.1. – Cromatografia a gás	15
4.2.1.1. – Método EPA 552.1	15
4.2.1.2. – Método EPA 552.2	16
4.2.1.3 – Método EPA 552.3	16
4.2.1.4. – Método Padrão 6251 B.....	16
4.3 – Extração dos ácidos haloacéticos da água.....	17
4.3.1 – Troca iônica.....	18
4.3.1.1 – Troca aniônica.....	19
4.4 – Derivação de ácidos haloacéticos	20
4.5 – Validação dos procedimentos analíticos	23
4.5.1. – Curva analítica.....	24
4.5.2. – Seletividade	25
4.5.3. – Recuperação	25
4.5.3.1. – Padrão externo.....	26
4.5.4. – Limite de detecção.....	27
4.5.5. – Limite de quantificação	28
5. – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	29
5.1. – Equipamentos e materiais	29

5.2. – Padrões, reagentes e gases.....	30
5.3. –Limpeza da vidraria.....	31
5.4. – Método de extração	31
5.4.1. – Extração líquido-líquido (Método EPA 552.3)	31
5.4.2. – Extração em fase sólida (Método EPA 552.1)	32
5.5. – Branco do método	32
5.6. – Condições cromatográficas	35
5.7. – Validação do procedimento	36
5.7.1. – Curva analítica e linearidade.....	36
5.7.2. – Seletividade	36
5.7.3. – Recuperação	37
5.7.4. – Limite de detecção.....	37
5.7.5. – Limite de quantificação	37
6. – RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6.1. – Cromatografia a líquido	38
6.2. – Cromatografia a gás	42
6.2.1. – Extração líquido-líquido (LLE).....	43
6.2.2. – Extração em fase sólida (SPE).....	45
6.2.2.1. – Seleção da fase sólida.....	46
6.2.2.2. – Condicionamento e purificação do cartucho de SPE	51
6.2.2.3. – Carregamento da amostra	51
6.2.2.4. – Lavagem	52
6.2.2.5. – Eluição e derivação	52
6.2.2.6. – Derivação da amostra.....	52
6.3. – Validação do procedimento analítico	53
6.3.1 – Curva analítica.....	53
6.3.2 – Seletividade.....	54
6.3.3 – Recuperação.....	54
6.3.4 – Limites de detecção e quantificação.....	55
7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
8 – PERSPECTIVA FUTURA.....	57
9. – REFERÊNCIAS	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação dos compostos organoclorados adaptado de (PAULL e BARRON, 2004).....	8
Figura 2: Etapas do processo de extração em fase sólida (SPE).....	17
Figura 3: Etapas do processo de troca aniônica.....	20
Figura 4: Mecanismo de derivação dos ácidos haloacéticos. Onde X pode ser hidrogênio, cloro ou bromo (MCMURRY, 2006).	22
Figura 5: Fluxograma do processo de extração líquido-líquido e derivação dos HAAs.	33
Figura 6: Fluxograma do processo de extração em fase sólida e derivação dos HAAs.	34
Figura 7: Cromatograma obtido por IC da solução padrão do MCAA (0,1 mg/mL).....	39
Figura 8: Cromatograma obtido por IC da solução padrão do DCAA (0,1 mg/mL).....	40
Figura 9: Cromatograma obtido por HPLC da solução padrão do MCAA (0,1 mg/mL), usando uma coluna C18, no modo isocrático ACN:H ₂ O (75:25, v/v).....	41
Figura 10: Cromatograma obtido por HPLC da solução padrão do DCAA (0,1 mg/mL), usando uma coluna C18, no modo isocrático ACN:H ₂ O (75:25, v/v).....	42
Figura 11: Cromatograma obtido por GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando uma coluna Rtx®-5Sil MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), temperatura de injeção 150 °C, temperatura do forno 50 °C e temperatura do detector 330 °C.	

Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA. 44

Figura 12: Cromatograma obtido por GC-ECD para o branco do método, usando uma coluna Rtx®-5Sil MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), temperatura de injeção 150 °C, temperatura do forno 50 °C e temperatura do detector 330 °C..... 45

Figura 13: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando o cartucho Discovery DSC-SAX (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA..... 46

Figura 14: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Discovery DSC-SAX (6 mL)..... 47

Figura 15: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100µg/L), usando o cartucho Supelclean SAX-PSA (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA..... 47

Figura 16: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Supelclean SAX-PSA (6 mL). 48

Figura 17: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando o cartucho Supelclean ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA..... 48

Figura 18: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Supelclean ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL)..... 49

Figura 19: Comparação das áreas obtidas quando utilizados os cartuchos: DISCOVERY DSC-SAX, SUPELLEAN SAX-PSA e SUPELLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂ na extração dos HAAs da água. 50

Figura 20: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução dos HAAs (derivada) (100 µg/L) nas condições descritas na Tabela 2 usando o cartucho SUPELLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA. 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nomenclatura, abreviação, fórmulas, solubilidade e valores de pKa dos HAAs.....	10
Tabela 2: Condições cromatográficas de determinação.	35
Tabela 3: Equação da reta, coeficientes de correlação e determinação obtidos para a determinação dos HAAs.....	54
Tabela 4: Valores obtidos para o LD e LQ e recuperações do procedimento na determinação dos HAAs.	55

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN – acetonitrila.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BCAA – ácido bromocloroacético.

BDCAA – ácido bromodicloroacético.

CE – eletroforese capilar.

DBAA – ácido dibromoacético.

DBCAA – ácido dibromocloroacético.

DBPs – subprodutos de desinfecção.

DCAA – ácido dicloroacético.

DCM – diclorometano.

EPA – Agência de Proteção Ambiental.

GC/ECD – cromatografia a gás com detector por captura de elétrons.

GC/MS – cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa

HAAs – ácidos haloacéticos.

HANs – haloacetronitrilas.

HKs – halocetonas.

HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência.

IC – cromatografia iônica.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.

LD – limite de detecção.

LLE – extração líquido-líquido.

LQ – limite de quantificação.

MBAA – ácido monobromacético.

MCAA – ácido monocloroacético.

MCL – nível de contaminação máximo.

MTBE – metil terc-butil éter.

NOM – matéria orgânica natural.

SAX – trocador forte de ânions.

SCX – trocador forte de cátions.

SPE – extração em fase sólida.

TAME –metil terc-amil éter.

TBAA – ácido tribromoacético.

TCAA – ácido tricloroacético.

THMs – trihalometanos.

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos.

UV – ultravioleta.

VIS – visível.

WHO – Organização Mundial de Saúde.

RESUMO

A desinfecção é uma etapa indispensável no tratamento de água. Esta etapa, na grande maioria das vezes, é feita pelo uso do cloro e seus derivados, os quais têm se mostrado bastante eficientes. Entretanto, o uso da cloração para desinfecção de água produz diferentes substâncias organocloradas, dentre elas, os ácidos haloacéticos (HAAs), em um total de nove espécies: ácido monocloroacético (MCAA), ácido dicloroacético (DCAA), ácido tricloroacético (TCAA), ácido monobromacético (MBAA), ácido dibromoacético (DBAA), ácido tribromoacético (TBAA), ácido bromocloroacético (BCAA), ácido bromodicloroacético (BDCAA) e ácido dibromocloroacético (DBCAA), que são ácidos carboxílicos halosubstituídos, os quais são tóxicos a seres humanos, animais e plantas. Estudos recentes têm demonstrado a associação entre o desenvolvimento de alguns tipos de câncer com os ácidos haloacéticos. Devido a isto, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) tem estabelecido para esses subprodutos de desinfecção um nível de contaminação máximo (MCL) em água tratada de 60µg/L para a soma de cinco HAAs (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA). A Organização Mundial de Saúde (WHO) também estabeleceu MCL para DCAA (50µg/L) e TCAA (100µg/L). No entanto, o Brasil e a Comunidade Européia não estabelecem limites para estas espécies. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método analítico para a determinação de HAAs em água, utilizando técnicas cromatográficas. Testes de separações cromatográficas foram realizados por cromatografia iônica (IC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia a gás (GC) para desenvolvimento de método para a determinação dos ácidos haloacéticos em água. A partir dos testes verificaram-se inconvenientes nas análises quando se usou IC ou HPLC. Ao se proceder a análise por GC, esta se mostrou com condições favoráveis para a análise, sendo que uma etapa prévia de derivação foi necessária. Quando se trabalhou na faixa de concentração 0,5 a 50 µg/L, obtiveram-se coeficientes de correlação (r) variando de 0,98 – 0,99, recuperações no intervalo de 67 – 179%, limite de detecção entre 0,08 – 7,2 µg/L e limite de quantificação entre 0,2 – 21,6 µg/L para as determinações dos HAAs em água.

Palavras chaves: água, ácidos haloacéticos, GC-ECD

ABSTRACT

Disinfection is an essential step in water treatment. This step, in most cases, is made by the use of chlorine and its derivatives, which have been quite effective. However, the use of chlorination to disinfect water produces various organic substances, among them, haloacetic acids (HAAs), a total of nine species: monochloroacetic acid (MCAA), dichloroacetic acid (DCAA), trichloroacetic acid (TCAA), monobromoacetic acid (MBAA), acid dibromoacetic (DBAA) tribromoacetic acid (TBAA) bromochloroacetic acid (BCAA), bromodichloroacetic acid (BDCA) and dibromochloroacetic acid (DBCA), which are haloreplaced carboxylic acids, which are toxic to humans, animals and plants. Recent studies have demonstrated an association between the development of some types of cancer with the haloacetic acids. Because of this, the Environmental Protection Agency (EPA) has established for the disinfection by-products a maximum contamination level (MCL) in treated water from 60 µg/L for the sum of five HAAS (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA). The World Health Organization (WHO) also established MCL for DCAA (50 µg/L) and TCAA (100 µg/L). However, Brazil and the European Community do not set limits for these species. Therefore, this study aimed to develop an analytical method for the determination of Haas in water, using chromatographic techniques. Tests chromatographic separations were performed by ion chromatography (IC), high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) method development for the analysis of haloacetic acids in water. From the tests there were drawbacks in the analysis when it used IC or HPLC. By carrying out analysis by GC, that was with favorable conditions for the analysis, and a prerequisite for bypass was necessary. When the band worked with 0,5 to 50,0 µg/L were obtained correlation coefficients (r) ranging from 0,98 to 0,99, recoveries in the range 67 to 179%, detection limit of 0,08 to 7,2 µg/L and limit of quantification between 0,2 to 21,6 µg/L for the determination of Haas in water.

Keywords: water, haloacetic acid, GC-ECD

1 – INTRODUÇÃO

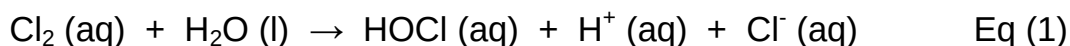
Para manter-se vivo, o ser humano precisa consumir vários litros de água regularmente. Isso não seria um problema, já que habitamos um planeta com grande abundância de água. Entretanto, de toda água 97,2% é salgada e, portanto, inadequada ao consumo humano, restando apenas 2,8% propícia ao consumo, sendo que 2,1 estão contidas em coberturas de gelo e geleiras e somente 0,7 estão disponíveis em lagos, rios e subsolo (BROWN et al., 2005).

Essa inadequação ou inacessibilidade tornam a água propícia ao consumo humano relativamente escassa. Isso não significa que a água da Terra esteja chegando ao fim. O volume que circula por mares, rios e lagos, que é guardado nos depósitos subterrâneos, como gelo nas calotas polares ou em umidades da atmosfera jamais diminui ou aumenta. No entanto, um recurso renovável não se mantém necessariamente inesgotável e de boa qualidade todo o tempo. Tudo depende do equilíbrio entre a renovação e o consumo. Historicamente isso sempre foi assim, o que muda nas últimas décadas é o desperdício, o crescimento populacional e o conseqüente aumento das atividades industriais com a contribuição para o agravamento dos problemas ambientais. E com respeito à preservação das águas superficiais e subterrâneas é menos uma questão de escassez e mais de mau gerenciamento do uso desse recurso (BRAGA et al., 2008; TUCCI, 2008; TUNDISI, 2008). Em função disso, a legislação vem se tornando cada vez mais restritiva e a fiscalização, mais presente (TIBURTIUS et al., 2004; UYAK et al., 2008). Visto que a qualidade da água é tão importante como a quantidade.

Antes de sua distribuição ao consumo humano, ela necessita passar por tratamento adequado. Pois, mesmo que a maior parte do suprimento de água seja devolvida ao fluxo das correntes após o uso, sua qualidade é

inevitavelmente degradada¹. A qualidade da água “bruta” (não tratada), a qual é extraída de fontes superficiais ou subterrâneas, cujo uso final é o consumo humano, varia amplamente desde a quase pura até a altamente poluída, ou seja, os tipos e as quantidades de poluentes da água são variáveis. Então, os processos usados na purificação variam de um lugar para outro (BAIRD, 2002).

Entretanto, o tratamento de água antes da distribuição para as torneiras geralmente envolve algumas etapas habituais. Dentre estas, o estágio final da operação normalmente emprega tratar a água com um agente químico para assegurar a destruição dos vírus, bactérias e outros organismos patogênicos, evitando desse modo doenças de veiculação hídrica². O cloro, Cl₂, é o agente mais usado por causa da sua maior conveniência devido a simplicidade e baixo custo. Sua ação esterilizante deve-se provavelmente não ao Cl₂ propriamente dito, mas ao ácido hipocloroso, que se forma quando o cloro reage com a água Eq.: (1) (BROWN et al., 2005).



Este agente, o mais comumente empregado para purificação de água, o ácido hipocloroso, HOCl, composto neutro e covalente, mata microorganismos ao passar facilmente através de suas membranas celulares. Além de ser efetiva, a desinfecção pelo método da cloração ela é também relativamente barata. E o uso de pequeno excesso do reagente

¹ Os efeitos de degradação são: o resfriamento das usinas de força pela circulação da água eleva a temperatura (poluição térmica), com efeitos adversos sobre a biota das águas receptoras. As descargas de esgotos domiciliares e comercial reduz o teor de oxigênio dissolvido, novamente perturbando o equilíbrio biológico das águas. As atividades industriais e de mineração contaminam a água com uma variedade de materiais tóxicos. A agricultura pode poluir as águas de superfície e as subterrâneas com excesso de nutrientes e pode levar a salinização do solo, quando a água de irrigação evapora, deixando os sais para trás. (SPIRO e STIGLIANI, 2009)

² Dentre as doenças de veiculação hídrica causadas por vírus, encontram-se a paralisia infantil e as hepatites A, B. As bactérias causam com maior frequência a febre tifóide, a cólera e as disenterias bacilares. Já os protozoários podem causar amebíase e giardíase.

pode fornecer água com um poder residual de desinfecção, durante seu armazenamento e fornecimento (BAIRD, 2002).

A cloração (desinfecção com cloro e seus derivados) tem produzido excelentes resultados em termos de inativação de microrganismos patogênicos, uma vez que possui características importantes no que diz respeito à capacidade de penetração através da membrana celular e as reações produzidas com as enzimas da célula. Além de ser um excelente desinfetante, ele remove ferro, manganês, cor e reduz o gosto e odor dos efluentes tratados (RICHTER, e NETTO, 2002).

Mas esse grande benefício tem um inconveniente. Na década de 70, os cientistas descobriram que a cloração da água produz um grupo de produtos secundários que anteriormente tinha passado despercebido, pois a atenção concentrava-se apenas em elementos e ânions inorgânicos sendo que poucos estudos tratavam dos subprodutos de desinfecção (DBPs) (LIU e MOU, 2004-b). Mas como esses subprodutos têm causado preocupação devido ao seu potencial efeito nocivo para longos períodos de exposição, eles começaram a despertar atenção. A apreensão inicial surgiu com a descoberta dos riscos associados à saúde com o consumo de trihalometanos (THMs), sub-produtos de cloração voláteis. Enquanto a presença de outros DBPs, tais como os ácidos haloacéticos (HAAs), sub-produtos de cloração não-voláteis, foram um tanto ignorados. Contudo, o risco potencial à saúde, quando os consumidores são expostos por longos períodos, em particular aos não-voláteis, tem levado ao aumento dos esforços para monitorar e reduzir suas concentrações em água potável (NIKOLAOU et al., 2002; PAULL e BARRON, 2004).

Não obstante a discussão anterior sobre os prejuízos causados a saúde pelos subprodutos de cloração, é imprescindível destacar que a desinfecção da água é extremamente importante para a proteção da saúde pública, já que a cloração salva mais vidas prevenindo doenças de

veiculação hídrica do que as que são afetadas negativamente com os DBPs formados no processo de desinfecção. Por exemplo, tanto a tifo quanto a cólera estavam disseminadas na Europa e na América do Norte havia um século, mas foram quase completamente erradicadas no mundo desenvolvido, graças à cloração e outros métodos de desinfecção da água servida, e a melhoria do saneamento em geral (BAIRD, 2002).

Desse modo, sendo o processo de desinfecção da água extremamente necessário e sabendo-se que o método mais utilizado, a cloração, além de oferecer inativação de microrganismos patogênicos também promove a formação de subprodutos de desinfecção, os quais são relatados como cancerígenos, verifica-se a necessidade de um método analítico eficiente para determinar esses subprodutos de desinfecção em água tratada, em especial dos DBPs não voláteis.

2 – OBJETIVOS

2.1. – Objetivo geral

- Desenvolver método analítico para a determinação de ácidos haloacéticos em água.

2.2. – Objetivos específicos:

- Obter as condições cromatográficas para análise dos HAAs;
- Desenvolver e validar procedimento analítico para extração dos HAAs, utilizando extração em fase sólida (SPE);

3 – JUSTIFICATIVA

Os ácidos haloacéticos (ácido monocloraacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido monobromacético, ácido dibromoacético, ácido tribromoacético, ácido bromocloroacético, ácido bromodicloroacético, ácido dibromocloroacético) são encontrados em água tratada devido à reação entre a matéria orgânica natural presente em água e o cloro, agente de desinfecção utilizado no tratamento da água de abastecimento público. São compostos tóxicos a seres humanos, animais e plantas. Estudos recentes têm demonstrado a associação entre o desenvolvimento de alguns tipos de câncer com os ácidos haloacéticos. Consequentemente, as legislações ambientais limitam os níveis de HAAs em água tratada para consumo humano em nível de micrograma por litro. Dessa forma, os métodos que detectam e quantificam tais compostos em matrizes aquosas devem apresentar grande sensibilidade a fim de atender a este requisito. A cromatografia em fase gasosa, acoplada a um detector por captura de elétrons tem sido utilizada para esse propósito. E como os HAAs existem em água tratada em níveis traço, um método de pré-concentração eficaz deve ser utilizado.

A técnica de extração em fase sólida (SPE) é dentre outros aspectos simples de ser aplicada e apresenta algumas vantagens frente ao método de extração líquido-líquido (LLE), como a menor utilização de solventes orgânicos e grandes volumes de água podem ser passados pelo cartucho, restando os HAAs retidos e, em seguida, eluídos com um pequeno volume de solvente orgânico para possibilitar a análise instrumental.

4 – REVISÃO DA LITERATURA

4.1. – Subprodutos de desinfecção organoclorados

Conforme já mencionado, um inconveniente importante no uso da cloração para desinfecção de água é a produção concomitante de substâncias orgânicas cloradas – algumas das quais são tóxicas – pela ação do HOCl, que não é apenas um agente oxidante, mas também um agente de cloração (BAIRD, 2002; CHANG et al, 2009).

A matéria orgânica natural (NOM) em água é conhecida por sofrer oxidação pelo halogênio, incluindo espécies desinfectantes, para formar uma grande variedade de DBPs, inclusive HAAs (Eq. 2). O fato de apenas 40% desses subprodutos serem classificados (Figura 1) tem sido causa de preocupação nos últimos anos. E ainda, dessa pequena percentagem, no contexto europeu apenas THMs são comumente abrangidos pela legislação e limitados dentro da União Européia (PAULL e BARRON, 2004). Outro motivo de apreensão é que segundo NIKOLAOU et al, 2002; WANG e WONG, 2005 para as condições rotineiras de tratamento de água, a formação de subprodutos halogenados não-voláteis tem sido reportado para ser de três a cinco vezes maior que o dos voláteis.



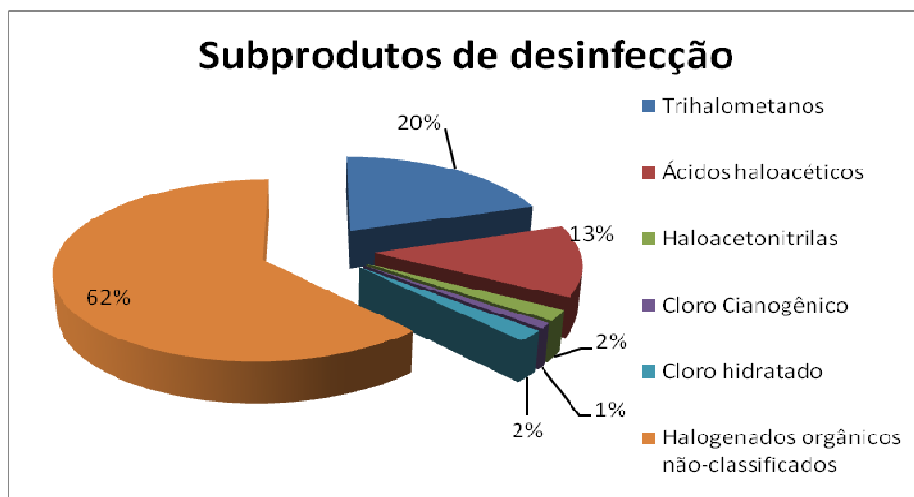


Figura 1: Classificação dos compostos organoclorados adaptado de (PAULL e BARRON, 2004).

4.1.1. – Ácidos haloacéticos

É recente a preocupação despertada pelos ácidos haloacéticos. Embora, uma vez descobertos os prejuízos que podem causar à saúde humana, tais como má formação embrionária, mutação, retardação do crescimento, aborto espontâneo e defeitos cardíacos congênitos (PORTER et al., 2005; BAYTAK et al., 2008) é crescente o interesse por esses compostos. Estudos epidemiológicos ainda indicam uma ligação entre o desenvolvimento de câncer de bexiga e subprodutos de desinfecção. Outros trabalhos com animais têm demonstrado que tumores no fígado, rim e intestino estão associados a água tratada com cloro e seus derivados (SCHUCK, 2004). Também, HAAs têm sido associados com resultados adversos de reprodutibilidade após exposição durante a gravidez (LIU e MOU, 2004-a). Devido a esses fatores verifica-se a necessidade do monitoramento da água de consumo após o procedimento de cloração.

Os ácidos haloacéticos são compostos formados pela interação da matéria orgânica natural (NOM) com o ácido hipocloroso e bromo, se presente (PAULL e BARRON, 2004). Eles são em um total de nove espécies: contendo cloro – ácido monocloraacético (MCAA), ácido dicloroacético (DCAA) e ácido tricloroacético (TCAA) – contendo bromo –

ácido monobromacético (MBAA), ácido dibromoacético (DBAA) e ácido tribromoacético (TBAA) – e contendo uma mistura das espécies cloro e bromo – ácido bromocloroacético (BCAA), ácido bromodicloroacético (BDCAA) e ácido dibromocloroacético (DBCAA). A Tabela 1 mostra suas fórmulas estruturais, fórmulas químicas, solubilidade em água e valores de pKa (DEBRE et al., 2000; LIU e MOU, 2004-a; JUMNOODOO, 2006).

Devido ao efeito potencial adverso desses compostos à saúde humana, nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) tem estabelecido para eles um nível de contaminação máximo (MCL) em água tratada, sendo esse nível de 60 µg/L para a soma de cinco HAAs (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA). Nessa regulamentação, DCAA nunca deve estar presente e a concentração de TCAA não deve ser maior que 30 µg/L. A Organização Mundial de Saúde (WHO) também estabeleceu MCL para MCAA (20 µg/L) DCAA (50 µg/L) e TCAA (100 µg/L) (BARRON e PAULL, 2004-a; LIU e MOU, 2004-a; CHANG et al., 2009). O Brasil e a Comunidade Européia não estabelecem valor limite para os ácidos haloacéticos em água potável e efluentes domésticos (SCHUCK, 2004).

Sabe-se, pelo seu uso histórico como pesticida, que ácidos haloacéticos clorados são tóxicos para organismos aquáticos. Fitoplâncton são particularmente sensíveis aos efeitos dos ácidos haloacéticos (AGUS et al. 2009). Esses compostos são tóxicos em particular para algas, mas também a humanos e plantas. A Agência de Proteção Ambiental tem classificado DCAA como um composto do grupo dos prováveis cancerígenos humanos e TCAA como compostos do grupo dos possíveis cancerígenos humanos. Além disso, descarboxilação de HAAs contribui para formação de THMs que também são cancerígenos (ZHANG e MINEAR, 2002; KOU et al., 2004; RATASUK et al., 2009).

Tabela 1: Nomenclatura, abreviação, fórmulas, solubilidade e valores de pKa dos HAAs.

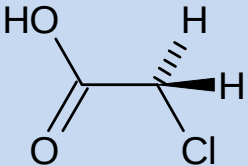
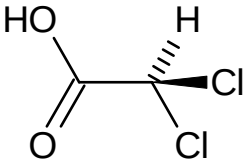
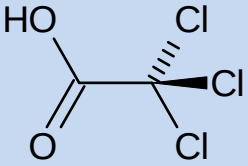
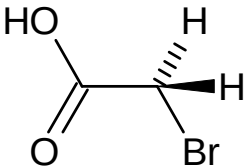
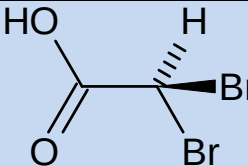
Nomenclatura	Abreviação	Fórmula química	pKa	Solubilidade em água (g/mL) a 25°C	Fórmula estrutural
Ácido Monocloroacético	MCAA	$\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H}$	2,86	1.09	
Ácido Dicloroacético	DCAA	$\text{Cl}_2\text{CHCO}_2\text{H}$	1,25	miscível	
Ácido Tricloroacético	TCAA	$\text{Cl}_3\text{CCO}_2\text{H}$	0,63	1.50	
Ácido Monobromacético	MBAA	$\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{H}$	2,87	1.75	
Ácido Dibromoacético	DBAA	$\text{Br}_2\text{CHCO}_2\text{H}$	1,47	2.11	

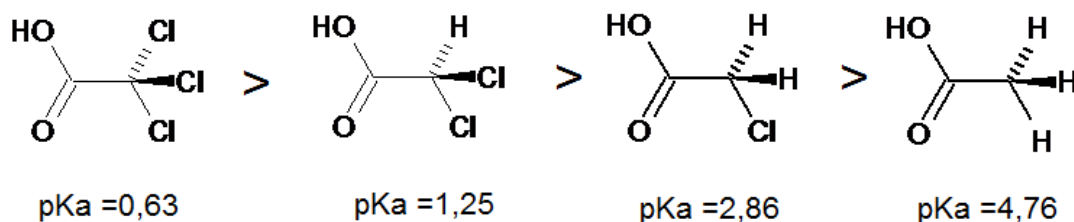
Tabela1 (continuação)

Nomenclatura	Abreviação	Fórmula química	pKa	Solubilidade em água (g/mL) a 25°C	Fórmula estrutural
Ácido Tribromoacético	TBAA	$\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{H}$	0,66	---	
Ácido Bromocloroacético	BCAA	$\text{BrClCHCO}_2\text{H}$	1,39	---	
Ácido bromodicloroacético	BDCAA	$\text{Cl}_2\text{BrCCO}_2\text{H}$	1,09	---	
Ácido dibromocloroacético	DBCAA	$\text{Br}_2\text{ClCCO}_2\text{H}$	1,09	---	

Fonte: Adaptado de DEBRE et al., 2000; LOOS e BARCELÓ, 2001; MCMURRY, 2006; AGUS et al., 2009; SARAJI e BIDGOLI, 2009; SRINIVASAN et al., 2009

4.1.1.1 – Características físico-químicas

Os ácidos haloacéticos são ácidos carboxílicos que possuem grupos retiradores de elétrons, os quais, por sua vez, são mais fortes que os ácidos não-substituídos. Os ácidos cloroacéticos, por exemplo, apresentam a seguinte ordem de acidez:



Esse aumento da acidez, provocado por grupos retiradores de elétrons, aparece devido à combinação dos efeitos indutivos e entrópicos (SOLOMONS e FRYHLE, 2002). Pois, como a dissociação de um ácido carboxílico é um processo em equilíbrio, qualquer fator que estabilize o ânion carboxilato, relativo a um ácido carboxílico não dissociado, resulta no aumento da acidez. Por exemplo, um grupo retirador de elétrons ligado a um íon carboxilato deslocaliza a carga negativa, estabilizando o íon e, portanto, aumentando a acidez. Ao contrário, qualquer fator que descentralize o carboxilato, relativo ao ácido não dissociado, resultará em um decréscimo de acidez. Um grupo doador de elétrons, por exemplo, desestabiliza o grupo carboxilato diminuindo a acidez (MCMURRY, 2006).

Os substituintes eletronegativos, como os halogênios, tornam o ânion carboxilato mais estável pelo efeito retirador de elétrons. Os ácidos monocloraacético e monobromoacético são, portanto, ácidos mais fortes que ácido acético. A introdução de dois substituintes eletronegativos torna o ácido dicloroacético e o dibromoacético ainda mais ácido que o monocloraacético e monobromoacético. O mesmo raciocínio é válido para as trihalossubstituições (MCMURRY, 2006).

A maioria dos ácidos carboxílicos tem valores de pKa (Tabela1) próximos de 5, mas o pKa exato de um dado ácido depende da estrutura. Quando substituídos por grupos retiradores de elétrons mais ácidos apresentam um pKa menor, porque seus íons carboxilatos estão estabilizados (MCMURRY, 2006).

Os ácidos carboxílicos são espécies polares e apresentam pontos de ebulição relativamente altos, porque formam ligações de hidrogênio intermoleculares, dando a eles pesos moleculares efetivos maiores (BRUICE, 2006), já um dos seus derivados, os ésteres, mesmo sendo compostos polares, devido ao fato de não apresentarem um hidrogênio ligado ao oxigênio, suas moléculas não podem formar ligações de hidrogênio fortes umas com as outras. Como resultado os ésteres possuem pontos de ebulição menores que os ácidos de pesos moleculares semelhantes (SOLOMONS e FRYHLE, 2002).

E tanto os ácidos carboxílicos como os seus derivados, quando apresentam baixos pesos moleculares (substâncias com menos que 4 carbonos) apresentam apreciável solubilidade em água. O que se verifica para todos os ácidos haloacéticos (espécies com apenas 2 carbonos).

4.2. – Métodos analíticos para a determinação de DBPs em água

De um modo geral a determinação de DBPs é realizada por métodos cromatográficos. THMs e outros DBPs (haloacetronitrilas – HANs, halocetonas – HKs) podem ser isoladas da matriz aquosa pela técnica de purg and trap ou extração líquido-líquido (LLE), seguido pela determinação por cromatografia a gás por captura de elétrons (GC – ECD) ou cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa (GC – MS) (NIKOLAOU et al., 2005). Contudo, GC é aplicada apenas para uma categoria particular dos DBPs, os voláteis e semi-voláteis. E não é apropriada para espécies com grupos funcionais reativos mais polares,

como por exemplo os HAAs. Na a determinação dessa categoria, uma etapa de derivação é necessária (NETO e NUNES, 2003). Para evitar a etapa de derivação um limitado número de estudos tem utilizado cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), eletroforese capilar (CE) e cromatografia iônica para determiná-los (MARTINEZ et al. 1998; LOOS e BARCELÓ, 2001; LIU e MOU, 2003, 2004-a; KOU et al., 2004; BARRON e PAULL 2004-a, 2004-b, 2006; BARRON et al., 2005). Contudo, estas geralmente não são aplicáveis no caso de água potável, porque seu limite de detecção é significativamente maior que o do método GC, e propensa a interferências (SARRION et al., 2000; NIKOLAOU et al., 2005).

A análise dos HAAs é mais complicada que a análise dos DBPs voláteis por causa de sua força ácida e caráter hidrofílico, eles são mais que 99,99% dissociados para ânions halocetato sob condições da água potável. Devido a sua natureza polar e ácida, HAAs não podem ser determinados por métodos GC diretamente, já que a cromatografia a gás é utilizada para separação de compostos voláteis e semi-voláteis, ou seja, os analitos a serem separados devem apresentar uma razoável pressão de vapor à temperatura de separação. Do mesmo modo, à medida que aumenta o caráter iônico do composto e portanto diminui a sua volatilidade, também é reduzida a possibilidade de separação via GC. Dessa maneira, é necessária uma etapa de derivação – esterificação de seus grupos carboxílicos (NETO e NUNES, 2003; NIKOLAOU et al., 2005).

A maioria dos métodos requer a conversão dos ácidos haloacéticos em ésteres que são mais voláteis e menos polares, apesar do procedimento de derivação consumir tempo e fazer uso de algumas substâncias tóxicas e cancerígenas. Essa abordagem pode garantir suficiente sensibilidade para análise (SWITAJ, 2006).

Correntemente, os métodos aprovados pela USEPA para análise de ácidos haloacéticos são: Método 552.1, 552.2, 552.3 e Método Padrão (USEPA 6251B). Em todos eles, HAAs são extraídos da amostra de água

usando metil terc-butil éter (MTBE) ou resina de troca aniônica, e são convertidos em ésteres metílicos, usando diazometano ou metanol acidificado, e a análise é feita usando cromatografia a gás com detector por captura de elétrons (GC/ECD) (XIE, 2001; SARAJI e BIDGOLI, 2009).

4.2.1. – Cromatografia a gás

Cromatografia a gás é a principal técnica instrumental empregada na análise de HAAs em água potável. A cromatografia a gás pode ser acoplada a um detector seletivo de massas (GC-MS) ou acoplada a um detector por captura de elétrons (GC-ECD). Quando se utiliza esse acoplamento torna a técnica mais sensível por um fator cerca de 1000 vezes. GC-ECD é a base dos Métodos EPA por causa da baixa concentração com que os ácidos haloacéticos são encontrados em água potável (URBANSKY, 2000; DOMINO et al, 2004; SARAJI e BIDGOLI, 2009). Como já mencionado, antes da análise GC é necessário a extração da amostra, que é feita com MTBE, resina de troca aniônica ou TAME e derivação dos ácidos haloacéticos, essa derivação foi frequentemente realizada com o reagente diazometano que é uma substância perigosa. Mas, em muitos casos, diazometano tem sido substituído por metanol acidificado.

4.2.1.1. – Método EPA 552.1

Um volume de 100 mL de amostra de água é ajustado para pH $5 \pm 0,5$ usando ácido sulfúrico, então extraído usando uma coluna pré-condicionada de troca aniônica. Os compostos a serem determinados são primeiramente eluídos usando 4 mL de metanol acidificado, e são então esterificados diretamente nesse meio, sob aquecimento (50°C) por 2 h após adição de 2,5 mL de MTBE. Os ésteres metílicos são particionados na fase MTBE e são identificados usando cromatografia a gás com detector por captura de elétrons (GC/ECD) (USEPA, 1992).

4.2.1.2. – Método EPA 552.2

Um volume 40 mL de amostra de água é ajustado com ácido sulfúrico para um pH igual 0,5 e a amostra é extraída usando MTBE. Os ácidos haloacéticos que foram particionados são então convertidos para seus ésteres metílicos, pela adição de metanol acidificado e aquecidos por 2 h a 50°C. O extrato ácido é então retornado para pH neutro usando uma solução saturada de bicarbonato de sódio. Os analitos são identificados e avaliados usando cromatografia a gás com detector por captura de elétrons (GC/ECD) (USEPA, 1995).

4.2.1.3 – Método EPA 552.3

O pH de 40 mL de uma amostra de água é ajustado para 0,5 usando ácido sulfúrico concentrado. A amostra é então extraída com MTBE ou TAME. Os ácidos haloacéticos são convertidos para seus ésteres metílicos pela adição de metanol seguida pelo aquecimento por 2 h a 50°C. Uma quantidade de 18 g de sulfato de sódio é adicionado para separar os ácidos haloacéticos metilados protonados do metanol acidificado e a fase aquosa é descartada. O extrato é neutralizado com uma solução saturada de bicarbonato de sódio e a fase orgânica é removida para análise. Um cromatógrafo a gás equipado com detector por captura de elétrons (GC/ECD) é usado para análise (USEPA, 2003).

4.2.1.4. – Método Padrão 6251 B

A amostra de água é extraída usando MTBE em um pH 0,5. Sulfato de sódio é adicionado durante o processo para aumentar a eficiência da extração. Uma vez extraídos, os compostos são metilados usando uma solução de diazometano para produzir ésteres metílicos ou outros ésteres derivados que possam ser separados em um cromatógrafo a gás equipado com detector por captura de elétrons (GC/ECD) (USEPA, 1995).

4.3 – Extração dos ácidos haloacéticos da água

Quando se tem uma amostra de água para determinar contaminantes orgânicos tais como ácidos haloacéticos, o problema analítico apresentado para esse tipo de amostra é que quase sempre tais contaminantes estão presentes em níveis traço e, assim, a etapa de extração é em geral associada à concentração da amostra. Extração líquido-líquido tem sido amplamente aplicada para o isolamento dos analitos e o uso de grandes volumes de água e de solventes orgânicos é sem dúvida, o maior inconveniente a ser deste procedimento. A extração em fase sólida (SPE) esquematizada na Figura 2 tem sido aplicada com sucesso, uma vez que um volume grande de água pode ser passado pelo cartucho, ficando os compostos orgânicos retidos e posteriormente eluidos com um volume mínimo de solvente orgânico. A SPE é usualmente mais eficiente que a extração líquido-líquido e altos percentuais de recuperação são conseguidos (CASS e DEGANI, 2001).

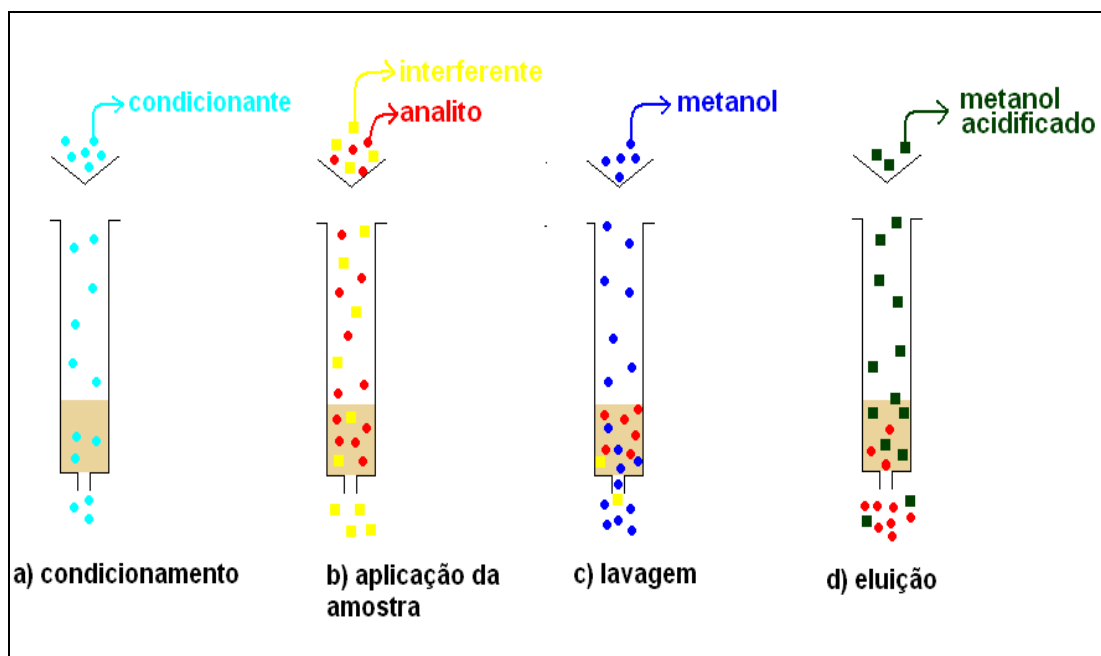


Figura 2: Etapas do processo de extração em fase sólida (SPE).

Os princípios gerais da extração em fase sólida são praticamente os mesmos empregados em cromatografia líquida: partição, adsorção, troca iônica, bioafinidade etc. E como os HAAs são quase completamente dissociados em íons nas condições típicas de água tratada, troca iônica mostra-se como a escolha ideal na extração desses analitos da água (LIU e MOU, 2004-a).

4.3.1 – Troca iônica

As resinas de troca iônica têm um importante papel nas determinações de compostos em níveis traços. Empregadas não apenas na purificação de reagentes tais como a água. Mas também, na pré-concentração e separação dos analitos das espécies interferentes. Atualmente, há um grande número de fases de troca iônica disponíveis comercialmente. Todos consistem de um núcleo sólido com uma superfície quimicamente reativa. Os íons trocados saem em três principais categorias: cátion, ânion e trocadores quelantes (HOWARD e STATHAM, 1997; NETO e NUNES, 2003; COLLINS, 2006).

Nessa troca, a fase estacionária é altamente carregada, e os analitos com cargas e sinais contrários a esta são seletivamente adsorvidos pela fase móvel. Os analitos adsorvidos podem ser subsequentelemente eluidos, por deslocamento com outros íons, com o mesmo tipo de carga, porém com maior força de interação com a fase estacionária (COLLINS, 2006).

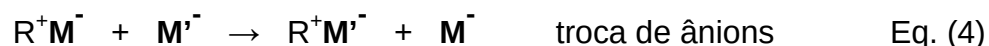
A fase estacionária possui íons fracamente ligados a sítios de carga fixa. Eles podem ser trocados por íons que estão livres em solução. Os íons da troca podem estar positivamente carregados (cátions) ou negativamente carregados (ânions): (SPIRO e STIGLIANI, 2009).



4.3.1.1 – Troca aniônica

Uma resina trocadora de ânions tem em sua superfície moléculas de carga positiva, como por exemplo, o grupo de amônio quaternário. Existem dois tipos principais de resinas de troca de ânions fortes, categorizados como tipo 1, no qual o grupo funcional é uma forma derivada triálquilamina, e resinas tipo 2, formadas a partir de dimetiletanolamina. As resinas tipo 2 tem menor capacidade e menor caráter básico que as resinas tipo 1 e são quimicamente menos estáveis (HOWARD e STATHAM, 1997).

E para garantir a neutralidade de carga da partícula o contra-íon é neste caso carregado negativamente.



O mecanismo de ação de um trocador iônico está brevemente resumido na Figura 3. O trocador aniônico está em equilíbrio com o eluente inicial contendo os íons X^- . Os íons B^- e C^- são materiais a serem separados. Quando quantidades determinadas de tais amostras são colocadas em contato com o trocador ocorre adsorção, liberando quantidades equivalentes dos íons X^- , anteriormente ligados a matriz. Após a adsorção é aplicado um eluente que contem íons Z^- com uma afinidade pouco maior pelos grupos trocadores da matriz. Esses íons vão provocar a liberação da substância B^- , ligados mais fracamente a matriz que a substância C^- . Passando a seguir o segundo eluente, contendo os íons W^- com maior afinidade ainda pela matriz, haverá a liberação do material C^- (COLLINS, 2006).

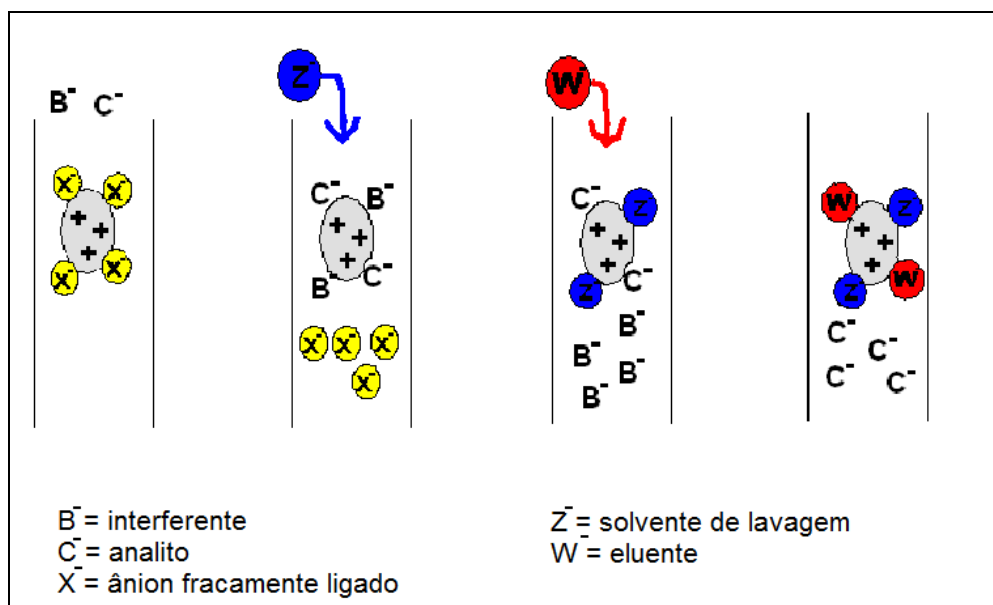


Figura 3: Etapas do processo de troca aniônica.

4.4 – Derivação de ácidos haloacéticos

Conforme já mencionado, a cromatografia a gás é útil para análise de gases, substâncias voláteis, semi-voláteis e termicamente estáveis. Quando isso não acontece, particularmente no caso de substâncias contendo grupos funcionais fortemente polares (o que acontece com os HAAs), há necessidade de derivação. Esta consiste em esterificar os ácidos haloacéticos, obtendo derivados com características adequadas para serem analisados por GC/ECD (COLLINS, 2006).

O processo de derivação dos ácidos haloacéticos para ésteres consiste na reação entre o ácido haloacético com um álcool Figura 4. Entretanto, ácidos carboxílicos de um modo geral, não são suficientemente reativos para serem atacados pelos alcoóis. Mas sua reatividade é aumentada por um ácido forte, com por exemplo, o ácido sulfúrico. O ácido mineral protona o átomo de oxigênio do grupo carbonila, fornecendo ao ácido carboxílico uma carga positiva e tornando-o muito mais reativo (MCMURRY, 2006). Ou seja, para formação de ésteres, quando ácidos

carboxílicos reagem com álcool a reação deve ser efetuada em solução ácida para catalisar a reação, e para manter o ácido carboxílico na sua forma ácida. Desse modo, ele atua como um nucleófilo. Como o intermediário tetraédrico formado tem dois grupos de saída potenciais com aproximadamente as mesmas basicidades, a reação deve ser realizada com excesso de álcool para direcioná-la na formação dos produtos. (BRUICE, 2006). Assim a subsequente perda de água do intermediário leva a formação do éster.

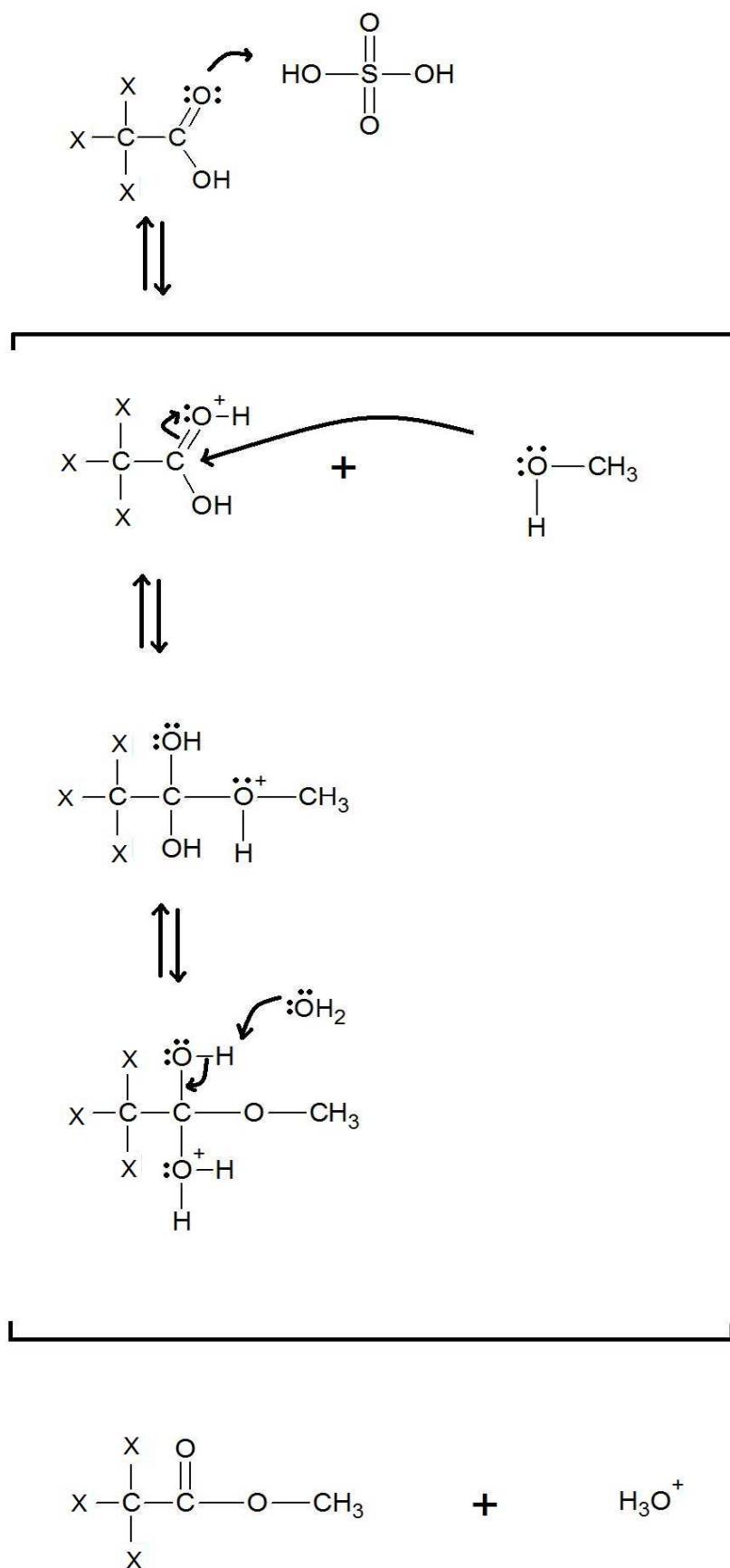


Figura 4: Mecanismo de derivação dos ácidos haloacéticos. Onde X pode ser hidrogênio, cloro ou bromo (MCMURRY, 2006).

4.5 – Validação dos procedimentos analíticos

Os parâmetros analíticos para validação de métodos de separação normalmente encontrados na literatura são: curva analítica, linearidade, seletividade, recuperação, limite de detecção e limite de quantificação. Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico (LEITE, 2002; BRITO et al., 2003).

Existem razões legais, técnicas e comerciais que justificam a implantação da validação de métodos analíticos de separação, apesar de não haver uma norma estabelecida de âmbito nacional ou internacional. Atualmente, para mostrar competência técnica os laboratórios que executam as análises devem submeter-se a um credenciamento (“accreditation”) de um órgão vigente de âmbito nacional ou internacional (RIBANI et al., 2004).

Então, para que um método seja validado, e que para essa validação ocorra adequadamente e os dados gerados sejam confiáveis, é essencial obter uma curva analítica bem elaborada e interpretada. A curva corresponde ao modelo matemático que estabelece uma relação entre a resposta instrumental (área/altura da banda cromatográfica) e a concentração do analito. As concentrações dos analitos são determinadas por meio de regressões obtidas a partir das curvas analíticas e, embora em alguns casos seja necessária a utilização de calibração não-linear, normalmente se opta pela regressão linear, por sua maior simplicidade e aplicabilidade (CASSIANO et al., 2009).

A elaboração de um modelo de regressão pressupõe a existência de um conjunto de pontos que apresentam uma tendência regular os quais podem ser representados por uma função matemática. Normalmente a função é escolhida através de um processo de ajuste conhecido como método dos mínimos quadrados. Portanto, estabelece-se a tendência da variável dependente (y) em função da variável independente (x) que, para uma regressão linear, pode ser expressa como $y = ax + b$, onde a é o

coeficiente angular da reta e b seu intercepto com o eixo y (ou coeficiente linear) (CASSIANO et al., 2009).

Geralmente o número de pontos aceito nos gráficos de calibração varia entre cinco pontos e seis pontos. Os gráficos de calibração devem ser apresentados juntamente com um tratamento estatístico adequado, o qual deve envolver, no mínimo, a equação da função (usualmente uma reta), a análise da regressão dos dados de correlação (r) e determinação (r^2) (LANÇAS, 2004-b).

4.5.1. – Curva analítica

A correlação entre o sinal medido e a massa ou concentração da espécie a ser quantificada. Na maior parte dos casos, determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas dessa espécie. Como já aludido, essa relação, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta chamada de *curva analítica*. Embora somente dois pontos definam uma reta, na prática as linhas devem ser definidas por um número mínimo de pontos que não incluam o ponto zero na curva, devido aos possíveis erros associados (RIBANI et al., 2004).

Matematicamente, a estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático conhecido como regressão linear, conforme já mencionado. Além dos coeficientes de regressão **a** e **b**, também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação **r**. Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um coeficiente de correlação maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o Instituto Nacional de Metrologia,

Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) um valor acima de 0,90. (RIBANI et al., 2004)

4.5.2. – Seletividade

O termo seletivo refere-se a um método que fornece resposta a um grupo de entidades químicas que podem ou não ser distinguíveis umas das outras, parâmetro de grande importância na análise de amostras complexas. A seletividade é definida como habilidade em medir, de forma exata, um analito na presença de interferências as quais estejam presentes na matriz da amostra (LANÇAS, 2004-b).

A seletividade pode ser obtida de várias maneiras. A primeira forma de avaliar a seletividade é comparando a matriz isenta da substância (padrão), sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção da substância de interesse, que deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra. Em geral, essa forma é a mais simples de verificar a seletividade do método cromatográfico. Uma segunda maneira é através da avaliação com detectores. O método de adição padrão também pode ser aplicado para os estudos de seletividade. Outro procedimento é através da coleta do composto de interesse e realização de nova análise por outra técnica cromatográfica, ou com métodos e técnicas que são específicos para a estrutura da substância de interesse (RIBANI et al., 2004).

4.5.3. – Recuperação

A recuperação é uma medida da eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente. Este parâmetro é calculado comparando-se a resposta obtida para o analito adicionado na matriz e extraído com a resposta obtida para o analito em amostras preparadas em solvente e, conseqüentemente, não extraídas, as quais representam 100%. A recuperação é determinada pela relação (LANÇAS, 2004-b; CASSIANO et al., 2009):

$$\text{Recuperação(\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

Após efetuada a adição das soluções do padrão analítico de interesse de concentração conhecida à matriz isenta do analito, aplica-se o método analítico e o valor do analito é, então, determinado. Empregando-se esses valores na Eq. (5), encontra-se a recuperação, ou seja, quanto do analito adicionado foi determinado no método (LANÇAS, 2004-b).

Embora altos valores de recuperação sejam desejáveis para maximizar a sensibilidade do método, não é necessário que este valor seja de 100% e, sim, que a recuperação seja consistente, precisa e reprodutiva. (CASSIANO et al., 2009).

A quantificação do analito durante os estudos de recuperação é geralmente feita por meio dos métodos do padrão externo (o qual foi utilizado nesses ensaios), padrão interno ou adição padrão.

4.5.3.1. – Padrão externo

O método de padronização externa compara a área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas com soluções de concentrações conhecidas preparadas a partir de solução padrão. Preparam-se soluções da substância a ser quantificada em diversas concentrações; obtém-se o cromatograma correspondente a cada uma delas e, em um gráfico, relacionam-se as áreas obtidas com as concentrações. Utilizando este gráfico ou a equação da curva resultante, pode-se calcular a concentração desta substância na amostra a partir da área da substância obtida no cromatograma resultante de uma injeção separada (LANÇAS, 2004-b; RIBANI et al., 2004).

Nesse caso, a porcentagem em massa de uma amostra de concentração desconhecida é determinada a partir de um gráfico de

calibração. Prepara-se a calibração lançando-se em gráficos as áreas dos picos obtidos em função das massas, determinam-se suas áreas e lança-se no gráfico. Cabe ressaltar que é necessário elaborar a curva para cada analito que se deseja determinar e para cada corrida analítica (LANÇAS, 2004-b).

4.5.4. – Limite de detecção

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. Ele pode ser estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável (*método visual*), no caso de métodos instrumentais CG a estimativa do limite de detecção pode ser feita com base na relação de 3 vezes o ruído da linha de base (*método relação sinal-ruído*). O LD ainda pode ser calculado através do (*método baseado em parâmetros da curva analítica*) (ANVISA, 2003; RIBANI et al., 2004, INMETRO, 2007).

Para o método baseado em parâmetros da curva analítica a obtenção do limite de detecção (LD) consiste em determinar, com o mínimo de 7 corridas, o desvio padrão da concentração que gera picos cerca de três vezes maiores que o ruído. As áreas dos picos são convertidas em concentrações e calcula-se o desvio padrão. A equação empregada foi:

$$LD = t_{98\%} \times s \quad \text{Eq. 6}$$

onde: *LD* é o limite de detecção, *s* é a estimativa do desvio padrão das concentrações e *t*_{99%} é o fator t de Student para um nível de confiança de 99% (t unilateral) (ANVISA, 2003; RIBANI et al., 2004, INMETRO, 2007).

4.5.5. – Limite de quantificação

É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação é um parâmetro expresso como concentração do analito na amostra.

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o LQ, utilizando a relação 10:1, ou seja, o LQ pode ser calculado utilizando o método visual, a relação sinal-ruído ou a relação entre a estimativa do desvio padrão da concentração, a partir da equação (RIBANI et al., 2004, INMETRO, 2007):

$$LQ = 10 \times s \qquad \text{Eq. 7}$$

5. – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para a execução desse trabalho, inicialmente foram adquiridos os padrões certificados dos ácidos haloacéticos. Então foram feitas as otimizações das condições cromatográficas e do procedimento de extração. E finalmente, foi realizada a validação do procedimento de determinação dos HAAs em água.

5.1. – Equipamentos e materiais

- Cromatógrafo a gás 2010 SHIMADZU (Kyoto, Japão) equipado com: injetor modo split/splitless com insensor (liner) de vidro sinalizado; detector por captura de elétrons, isótopo ^{63}Ni e sistema de aquisição de dados GC Solution;
- Coluna capilar DB5-MS (5% fenil e 95% polidimetilsiloxano), 30 m de comprimento, 0,25 mm d.i. e 0,25 μm de espessura do filme (J & W Scientific, EUA);
- Cromatógrafo de íons DIONEX ICS-3000 (Brasil) equipado com auto amostrador modelo AS40; desgaseificador modelo EG; sistema de bombas modelo DP; supressor modelo ASRS; detector no modo condutividade madelo DC e sistema de aquisição de dados Dionex Chromeleon;
- Coluna AS18 (2x250mm);
- Cromatógrafo a líquido SHIMADZU *Prominience* (Kyoto, Japão) equipado com desgaseificador modelo DGU-20A; sistema de bombas recíprocas modelo LC-6AD/7A e CBM-20A; injetor automático modelo SIL-20A; detector no UV-Visível com arranjo de fotodiodos modelo SPD-M20A e sistema de aquisição de dados LC Solution;
- Coluna:
 - 1) Microsorb-MV 100-5 C18 (250 mm x 4,6 mm x1/4”) (Varian),
 - 2) Microsorb-MV 100-5 C8 (250 mm x 4,6 mm x1/4”) (Varian)

- Balança analítica de precisão com 4 casas decimais, modelo TE214S (Sartorius);
- Micropipetadores automáticos de capacidade variável (BOECO, Alemanha);
- Cartuchos SPE:
 - 1) SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂, 500mg, 6mL (Supelco, USA);
 - 2) SUPELCLEAN SAX-PSA, 6 mL (Supelco, USA);
 - 3) DISCOVERY DSC-SAX, 6 mL (Supelco, USA);
- Sistema para SPE vacuum manifold (Varian, EUA);
- Evaporador-rotatório (Fisatom 802D);
- Banho-maria (Fisatom);
- Vidraria comum de laboratório.

5.2. – Padrões, reagentes e gases

Os ácidos haloacéticos estudados foram: ácido monocloroacético (MCAA) (1,0 mg/mL); ácido dicloroacético (DCAA) (1,0 mg/mL); ácido tricloroacético (TCAA) (1,0 mg/mL); ácido monobromoacético (MBAA) (1,0 mg/mL); ácido dibromoacético (DBAA) (1,0 mg/mL); ácido tribromoacético (TBAA) (200 µg/mL); ácido bromocloroacético (BCAA) (1,0 mg/mL); ácido bromodicloroacético (BDCAA) (40 µg/mL) e ácido dibromocloroacético (DBCAA) (100 µg/mL) obtidos como solução em MTBE (AccuStandard USA).

MTBE grau HPLC (Tedia Company, USA), metanol grau HPLC (J. T. Baker, USA), sulfato de sódio anidro (Qhemis Brasil), bicarbonato de sódio (Reagen, Brasil), cloreto de amônio (Carlo Erba Reagents, Itália), ácido sulfúrico (Merck, Alemanha), ácido clorídrico (Merck, Alemanha), hidróxido de sódio (Synth, Brasil).

O gás utilizado tanto para arraste como para make up foi o nitrogênio com grau de pureza 99,997% (White Martins, Brasil).

5.3. – Limpeza da vidraria

A limpeza da vidraria consistiu da lavagem com água de torneira, quando então, foi deixada em contato com uma solução de Extran (2%) por um período de 24 h. Após esse período os materiais foram enxaguados com água em abundância, seguido por água destilada e por fim com acetona p.a., quando então foram levados a estufa por um período de 2h a 100°C, exceto a vidraria volumétrica que foi seca a temperatura ambiente. Os materiais limpos e secos foram então embalados com papel filme e guardados em armários fechados.

5.4. – Método de extração

5.4.1. – Extração líquido-líquido (Método EPA 552.3)

Em um frasco âmbar com tampa, colocar um volume de 40 mL de solução aquosa dos ácidos haloacéticos, adicionar 4 mg de cloreto de amônio granular. Ajustar o pH para 0,5 com 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, proceder imediatamente com a adição de 18 g de sulfato de sódio, agitar vigorosamente até quase completa dissolução do Na_2SO_4 . Em seguida adicionar 4 mL de MTBE, agitar por 3 min e deixar em repouso por 5 min para separação das fases. Então para uma proveta (graduada) de 10 mL transferir o extrato etéreo, adicionar 2 mL de uma solução de H_2SO_4 :MeOH (1:9, v/v), tampar proveta e levar a aquecimento em banho maria por 2 h (± 10 min) a 50°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Em seguida, adicionar ao extrato 5 mL de sulfato de sódio 150 g/L, 1 mL de bicarbonato de sódio. Então, remover os ésteres metílicos dos HAAs formados (camada superior) para um balão volumétrico, secá-los sob fluxo de nitrogênio até volume de 1 mL, transferi-los para um vial e estocar no refrigerador a 4°C até a análise por GC-ECD (Figura 5).

5.4.2. – Extração em fase sólida (Método EPA 552.1)

Um cartucho com uma resina trocadora de ânions (SAX) foi usado no procedimento de SPE. Cartuchos descartáveis de 6 mL com 500 mg de fase foram empregados. Esses cartuchos foram ativados e condicionados previamente, usando a seguinte seqüência de solventes: 10 mL de metanol, 10 mL de água deionizada, 10 mL de HCl/MeOH (1M), 10 mL de água deionizada, 10 mL de NaOH (1M) e 10 mL de água deionizada. Após ativados, 100 mL de amostra de água é passada no cartuchos. Uma etapa de limpeza foi feita usando 10 mL de metanol. Os HAAs adsorvidos são eluídos com 5 mL de uma solução de H₂SO₄:MeOH (1:9, v/v) e simultaneamente esterificados para seus derivados metílicos. Ao extrato obtido, foi adicionado 2,5 mL de MTBE, agita-se levemente por 4 s e leva-o ao aquecimento por 2 h a 50°C. Transcorrido esse tempo, são retirados do aquecimento, deixados em repouso por 10 min até que estes estejam a temperatura ambiente. Em seguida, uma solução de Na₂SO₄:H₂O (1:9, v/v) é adicionada. A fase orgânica é extraída, esta é repetida com mais 1 mL de MTBE. O extrato orgânico é concentrado em evaporador rotatório (80 rpm; 50°C) e sob fluxo de nitrogênio até um volume de 1,0 mL. Essa alíquota é transferida para um vial e estocada no refrigerador a 4°C até a análise por GC-ECD (Figura 6).

5.5. – Branco do método

O branco do método foi obtido da mesma maneira que as amostras, utilizando água destilada/deionizada sem a adição dos HAAs.

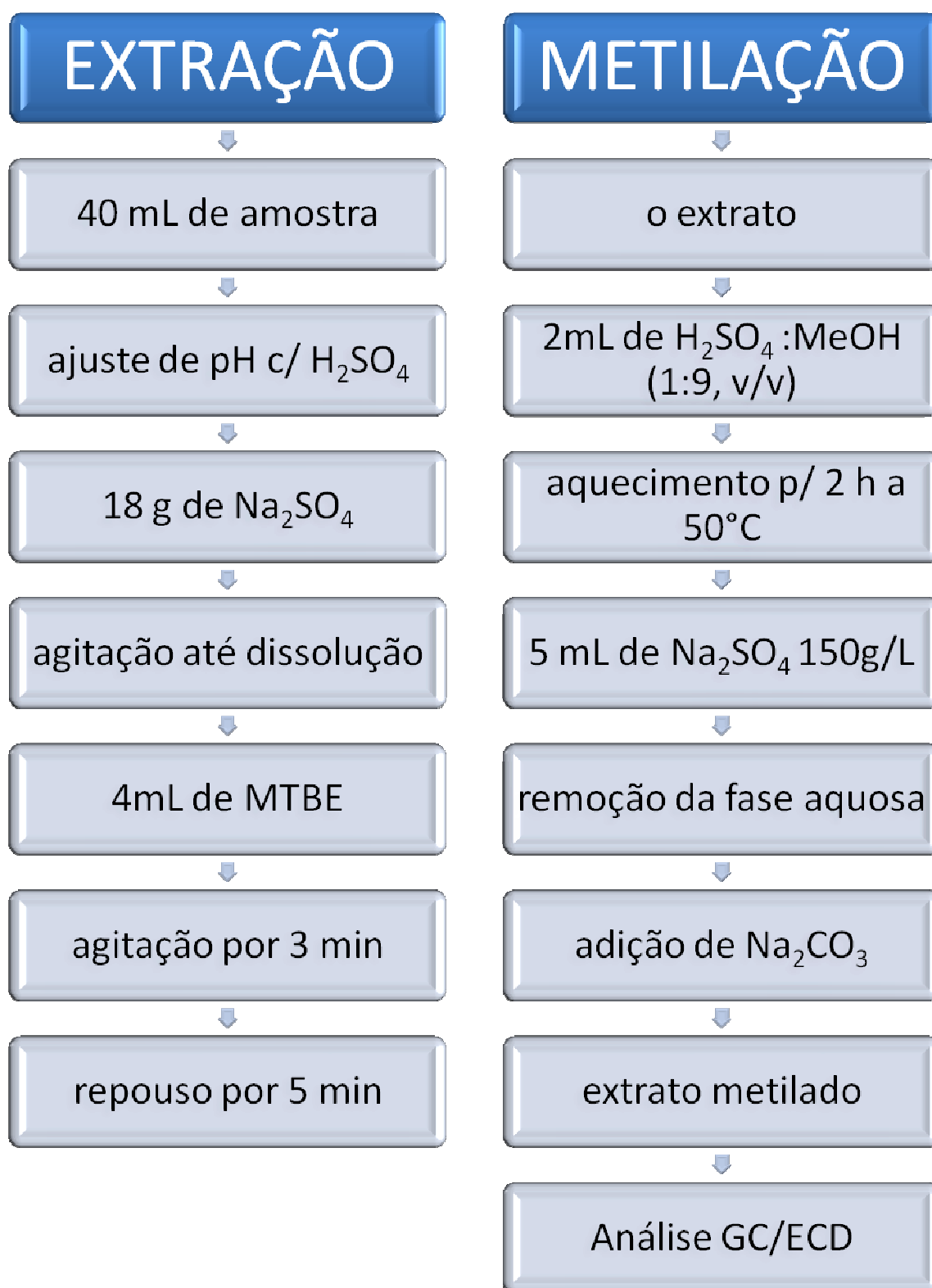


Figura 5: Fluxograma do processo de extração líquido-líquido e derivação dos HAAs.

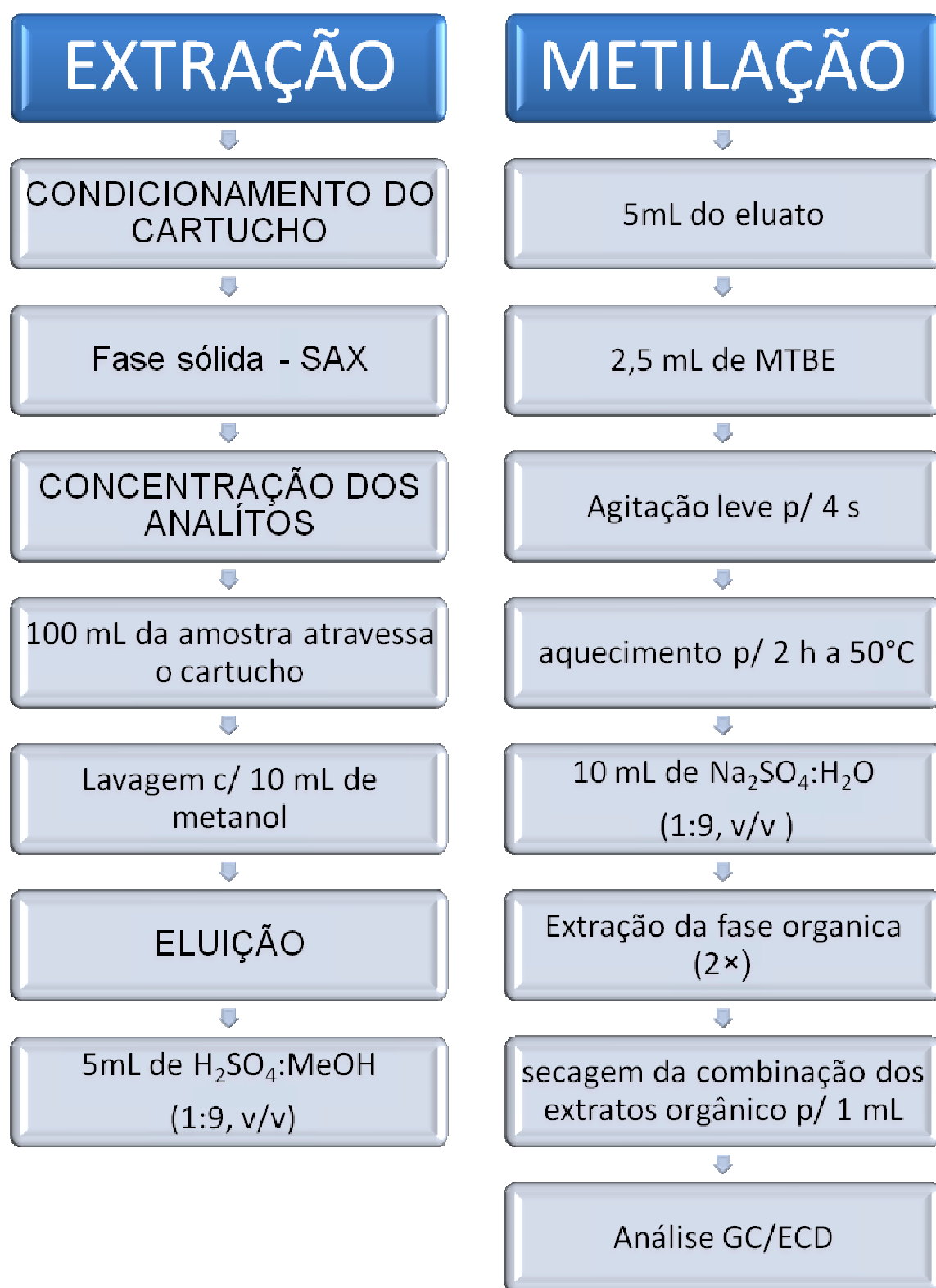


Figura 6: Fluxograma do processo de extração em fase sólida e derivação dos HAAs.

5.6. – Condições cromatográficas

As condições cromatográficas de determinação de HAAs foram otimizadas e estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Condições cromatográficas de determinação.

GC	GC – 2010 (SHIMADZU)
Injetor	split/splitless
Volume de injeção (µL)	1,0
Temperatura do injetor (°C)	250
Modo de injeção	splitless
Pressão (KPa)	74,3
Fluxo da coluna (mL/ min)	1,0
Fluxo total (mL/min)	29,0
Velocidade linear (cm/sec)	25,6
Fluxo de purga (mL/min)	3,0
Razão split	25:1
Gás de arraste	nitrogênio
Forno da Coluna	
Coluna	DB5-MS (5% fenil e 95% polidimetilsiloxano), 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm
Programação de temperatura	40°C (5 min), 5°C/min até 80°C (1 min) 2,5°C/min até 110°C (1 min) 25°C/min até 220°C (2 min).
Detector	ECD
Temperatura (°C)	330
Gás makeup	nitrogênio
Fluxo do gás makeup (mL/min)	30

5.7. – Validação do procedimento

Após a obtenção das melhores condições cromatográficas para a determinação simultânea dos ácidos, bem como o procedimento de extração dos nove ácidos haloacéticos da água, procedeu-se a validação do procedimento.

5.7.1. – Curva analítica e linearidade

Foi preparada uma solução estoque contendo os nove HAAs em uma concentração de 100 µg/L para cada analito, pela diluição das soluções padrão individuais em água ultrapura.

Alíquotas dessa solução estoque foram tomadas, de modo a se obter soluções de trabalho dos HAAs nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 50,0 µg/L. Um volume de 100mL de cada uma das soluções de trabalho foi extraída e derivada conforme descrito no item 5.4.2. Então 1,0 µL dos extratos obtidos foram injetados no GC/ECD, obtendo-se as áreas e os tempos de retenção de cada um dos analitos com o auxílio do software GC Solution do cromatógrafo.

Os analitos em estudo foram quantificados utilizando-se o método da padronização externa. As curvas foram plotadas, concentração do analito *versus* área do pico. A partir destas, foi feito o tratamento estatístico necessário para determinar os valores dos coeficientes de correlação e determinação.

5.7.2. – Seletividade

A seletividade desse método foi avaliada através da comparação da matriz isenta da substância de interesse (branco) e a matriz adicionada com a substância de interesse (padrão).

5.7.3. – Recuperação

Para avaliar o percentual de recuperação foram preparadas amostras de água (100 mL) nas concentrações 1,0, 2,0 e 20,0 µg/L, as quais foram submetidas ao procedimento de extração por SPE, e os extratos foram determinados por GC/ECD.

O estudo de recuperação foi realizado por meio do uso de padronização externa. Utilizando-se as equações das curvas analíticas (plotadas individualmente para cada um dos nove HAAs) obtidas conforme descrito no item 5.7.1. foi feito o cálculo da concentração de cada HAAs a partir da área do pico obtida com o auxílio do software GC Solution. A concentração obtida foi então aplicada na Eq. 5, obtendo-se os valores de recuperação.

5.7.4. – Limite de detecção

Os limites de detecção foram calculados a partir do método baseado em parâmetros da curva analítica.

Foram preparadas sete soluções nas concentrações 0,1µg/L para DCAA, TCAA, DBAA, BCAA e BDCAA, 0,3 µg/L para MBAA e 0,5 µg/L para MCAA, TBAA e CDBAA, as quais foram analisadas por GC/ECD. Então, dessas 7 alíquotas, temos $7-1=6$ graus de liberdade de uma matriz de branco da amostra com adição da menor concentração aceitável do analito. Para esses graus de liberdade, o valor de t unilateral, para 99% de confiança é 3,143 vezes o desvio padrão da concentração (s).

5.7.5. – Limite de quantificação

Procedimentos e critérios similares aos utilizados para o cálculo do LD foram adotados para a determinação dos limites de quantificação dos HAAs.

6. – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ácidos haloacéticos são ácidos carboxílicos substituídos por grupos retiradores de elétrons, o que os torna mais ácidos. Eles são compostos que apresentam em sua estrutura um hidrogênio ligado a um oxigênio o que viabiliza a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares. Como consequência HAAs apresentam pontos de ebulição relativamente altos (189 - 250 °C) e também apresentam-se como compostos polares (SOLOMONS e FRYHLE, 2002; CHANG et al., 2009; RATASUK et al., 2009).

Devido a esse caráter ácido, hidrofílico e polar é que a determinação direta dos ácidos haloacéticos é inviável por cromatografia a gás, pois se degradam em temperaturas elevadas. Essa degradação acontece, pois a separação por cromatografia a gás exige que a amostra em questão disponha de algumas características indispensáveis, tais como: estabilidade térmica, volatilidade ou semi-volatilidade (CIOLA, 2003).

Dessa forma, para evitar que na separação dos HAAs fosse necessário fazer derivação dos analitos, para que estes apresentem condições favoráveis para serem determinados por GC, optou-se por testar a viabilidade de determinações utilizando outras técnicas instrumentais. Na literatura, cromatografia a líquido tem sido usada para separação de ácidos haloacéticos sem ser necessária a derivação dos analitos (LOOS e BARCELÓ, 2001; LIU e MOU, 2003, 2004-a; KOU et al., 2004; BARRON e PAULL 2004-a, 2004-b, 2006; BARRON et al., 2005)

6.1. – Cromatografia a líquido

Testes iniciais foram efetuados com a técnica de cromatografia iônica, pois os analitos apresentam caráter hidrofílico e têm valores de pKa inferiores a 2,87. Eles existem, portanto como ânions em água. Desse modo, podem ser determinados diretamente por IC (YING-XUE e PING, 2007; BRUZZONITI et al., 2008). Então, procedeu-se a determinação dos HAAs

sem um prévio tratamento da amostra, ou seja, sem derivá-la. Assim, foram injetadas as soluções de MCAA (0,1 mg/mL); DCAA (0,1 mg/mL); TCAA (0,1 mg/mL); MBAA (0,1 mg/mL); DBAA (0,1 mg/mL); TBAA (0,02 mg/mL); BCAA (0,1 mg/mL); BDCAA (0,004 mg/mL) e DBCAA (0,01 mg/mL) em um cromatógrafo de íons com detecção por condutividade. Mas como IC sofre interferências de outros íons devido ao seu modo de detecção não seletivo (URBANSKY, 2000), os cromatogramas obtidos tiveram bastantes interferências de outros ânions (cloreto, brometo, sulfato etc.), os quais dificultaram a determinação dos ácidos haloacéticos (RAZPOTNIK et al., 2003; FU et al., 2008).

As Figuras 7 e 8 evidenciam a pequena diferença no tempo de retenção entre os picos dos íons cloreto e MCAA, bem como dos íons sulfato e DCAA, dificultando assim a separação dos analitos de interesse dos interferentes, e, conseqüentemente, a quantificação, conforme já relatado por FU et al., 2008.

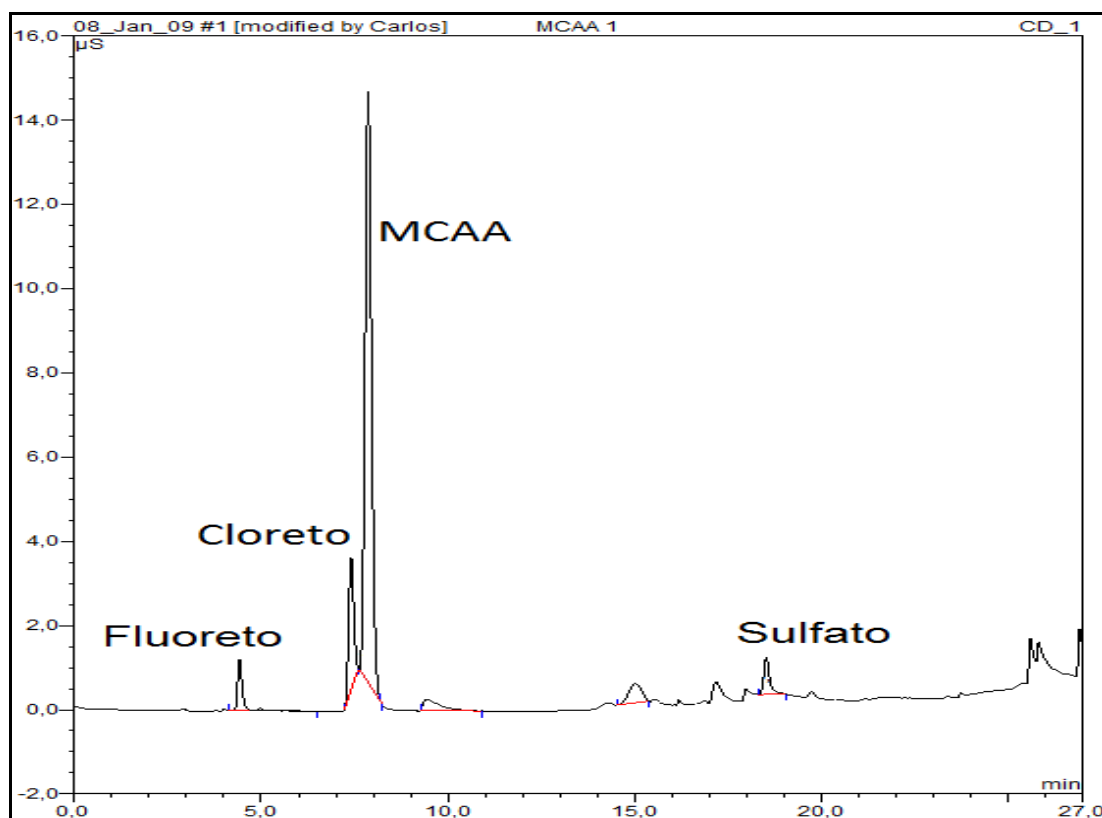


Figura 7: Cromatograma obtido por IC da solução padrão do MCAA (0,1 mg/mL).

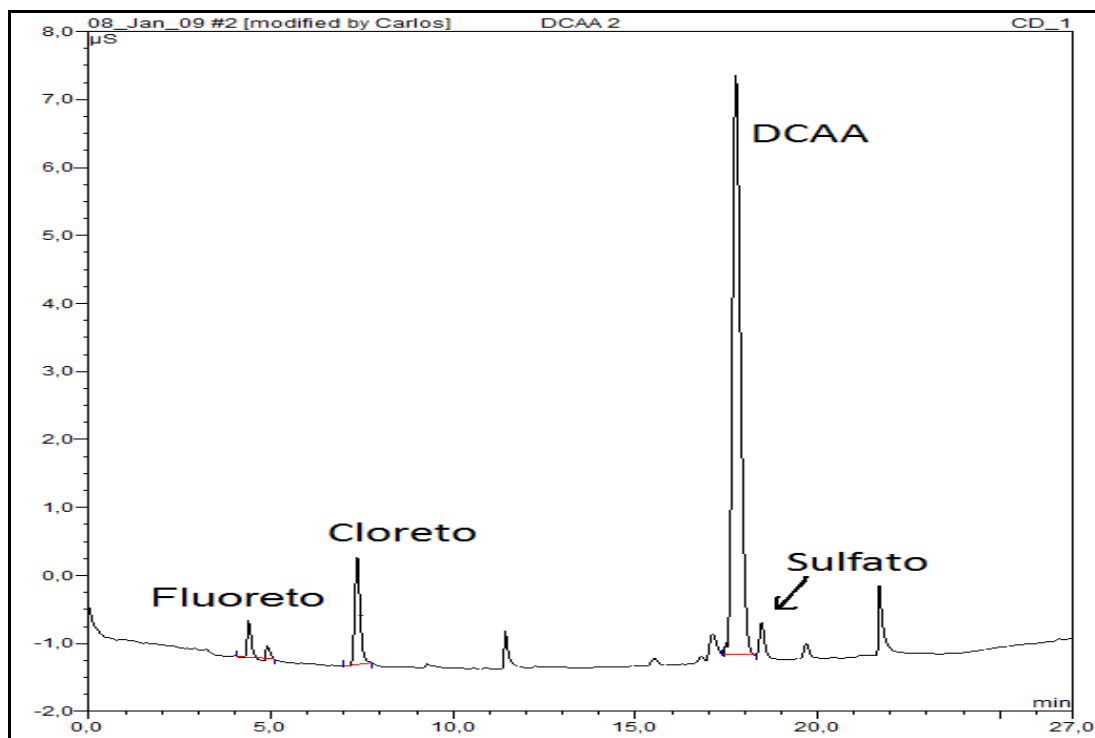


Figura 8: Cromatograma obtido por IC da solução padrão do DCAA (0,1 mg/mL).

Depois de realizados os testes usando cromatografia iônica, ainda na tentativa de não acrescentar a etapa de derivação da amostra à determinação, tentou-se também fazer a separação usando cromatografia líquida de alta eficiência, pois devido a seu caráter polar, HAAs podem ser determinados por essa técnica (LOOS e BARCELÓ, 2001).

Desta forma, as soluções MCAA (0,1 mg/mL); DCAA (0,1 mg/mL); TCAA (0,1 mg/mL); MBAA (0,1 mg/mL); DBAA (0,1 mg/mL); TBAA (0,02 mg/mL); BCAA (0,1 mg/mL); BDCAA (0,004 mg/mL) e DBCAA (0,01 mg/mL), foram injetadas no HPLC (Shimadzu) usando uma coluna C18 – Varian, trabalhando no modo isocrático ACN:H₂O (75:25, v/v). Os cromatogramas obtidos apresentaram tempos de retenção bastante próximos, favorecendo desse modo sobreposições de picos e conseqüentemente má resolução. Novos testes foram realizados fazendo-se uso de solução de tampão fosfato:ACN (25:95) no modo isocrático de análise e verificaram-se também tempos de retenção muito próximos. Nesses ensaios ainda se tentou a separação usando o modo gradiente de eluição e os resultados igualmente

não foram satisfatórios. Ensaio posteriores foram realizados com fase C8 e mesma fase móvel. Mas os resultados obtidos também não foram satisfatórios.

Os cromatogramas das Figuras 9 e 10 são referentes as injeções realizadas com a coluna C18, no modo isocrático ACN:H₂O (75:25, v/v), para apenas dois dos nove HAAs. Assim como eles os sete demais também apresentam tempos de retenção muito próximos todos os picos saíram na faixa de tempo de 22 – 26 min.

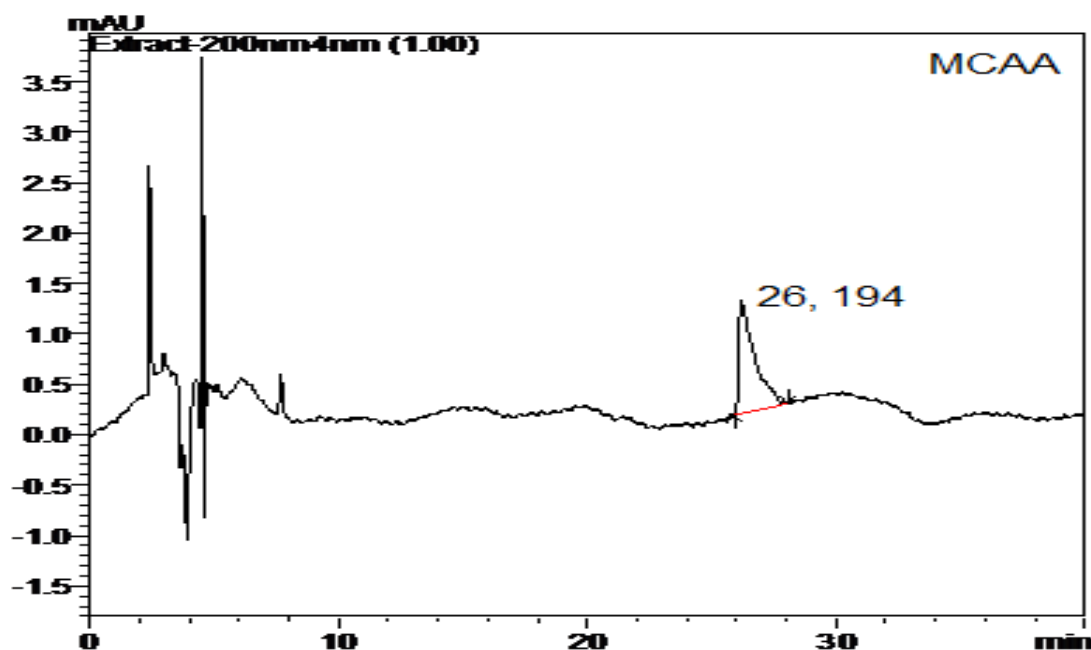


Figura 9: Cromatograma obtido por HPLC da solução padrão do MCAA (0,1 mg/mL), usando uma coluna C18, no modo isocrático ACN:H₂O (75:25, v/v).

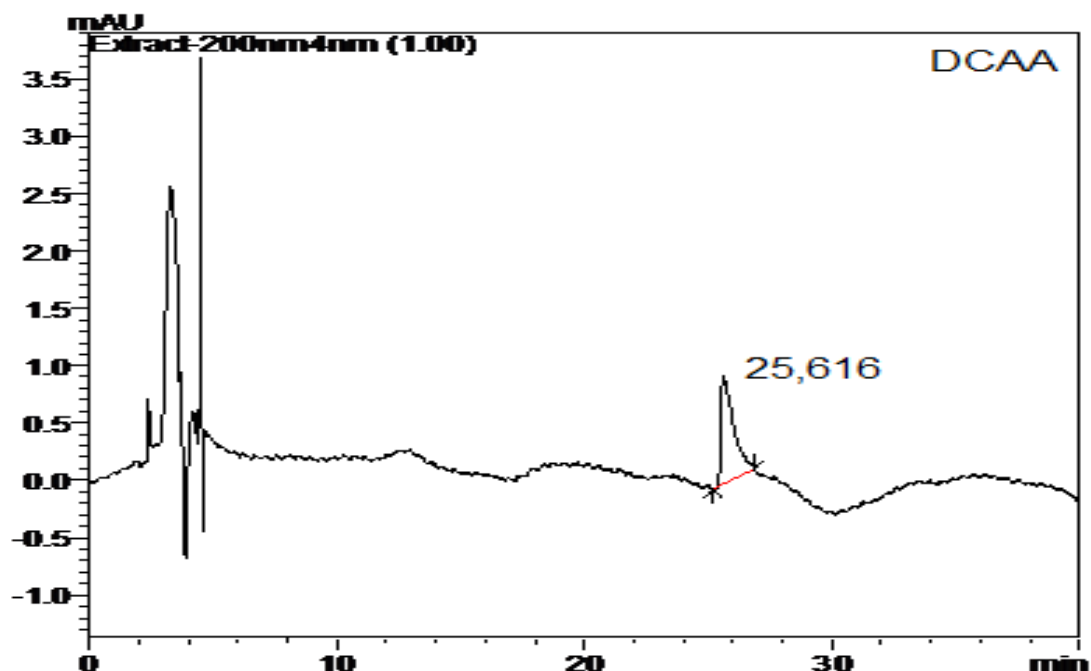


Figura 10: Cromatograma obtido por HPLC da solução padrão do DCAA (0,1 mg/mL), usando uma coluna C18, no modo isocrático ACN:H₂O (75:25, v/v).

6.2. – Cromatografia a gás

Diante das interferências de outros íons quando empregada IC ou das sobreposições de picos quando HPLC, optou-se por fazer a análise por GC, pois, mesmo que a análise GC necessite a adição de etapa de derivação, ela oferece à análise sensibilidade suficiente, a qual não é proporcionada por IC ou HPLC.

Como já aludido, na literatura a determinação de haloacéticos por cromatografia a gás é precedida pela extração e derivação da amostra que se dá como foi proposto pelo (item 5.4).

Antes de efetuar a extração/ derivação dos HAAs, adicionou-se cloreto de amônio granular à água que em amostras reais tem o objetivo de converter cloro residual livre em cloro combinado, não reagindo futuramente para formar ácidos haloacéticos adicionais em concentrações significativas,

além de proteger da degradação biológica (USEPA, 2003; PEPICH et al., 2004).

6.2.1. – Extração líquido-líquido (LLE)

O ajuste do pH das amostras de água é feito com o intuito de garantir o sucesso da pré-concentração. A adição imediata do Na_2SO_4 tem a finalidade de aumentar a força iônica da fase aquosa e favorecer o deslocamento dos HAAs para a fase orgânica. Além disso, a adição desse sal também diminui a solubilidade do MTBE na fase aquosa e permite uma maior recuperação volumétrica do extrato.

O metanol acidificado é adicionado ao extrato etéreo. A reação entre o ácido carboxílico e o MeOH é favorecida pela adição do ácido sulfúrico, porque o H_2SO_4 mantém o ácido carboxílico na forma ácida para que seja atacado pelo nucleófilo e então formem os derivados. Para acelerar essa reação de metilação, emprega-se o aquecimento. O tempo e temperatura de reação devem ser cuidadosamente controlados, mesmo que o aumento da temperatura resulte em um aumento na eficiência de metilação, deve ser mantida inferior a 55 °C, pois esta é a temperatura em que o MTBE entra em ebulição. Então, a temperatura reacional é mantida a 50°C para evitar perdas de solvente (DOMINO et al., 2004).

Após a derivação da solução padrão obteve-se o cromatograma da Figura 11. Neste pode-se verificar a presença dos nove picos correspondentes aos nove ácidos haloacéticos, dado constatado pela comparação com seus tempos de retenção obtidos de derivações individuais.

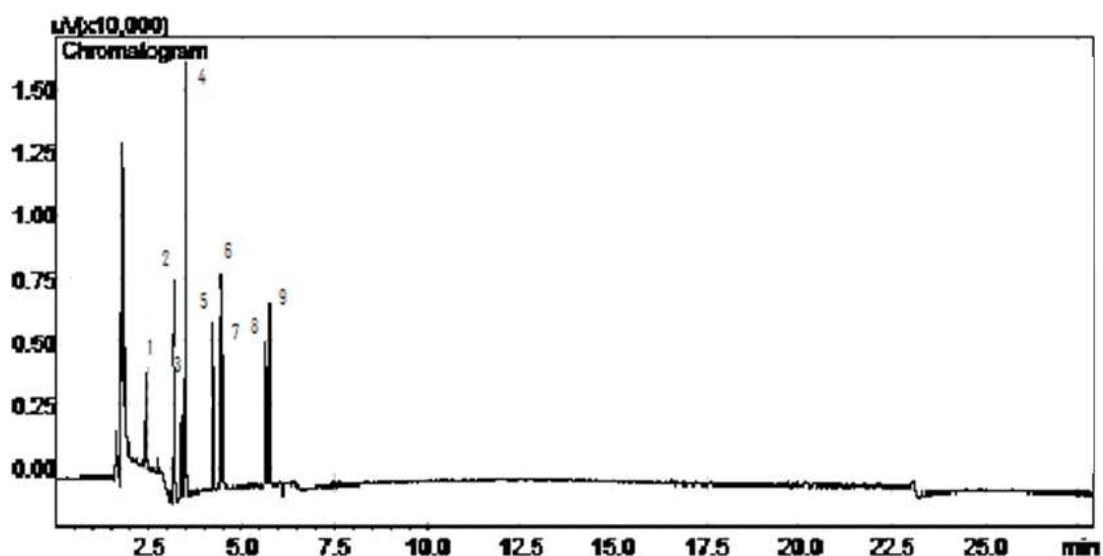


Figura 11: Cromatograma obtido por GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando uma coluna Rtx®-5Sil MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), temperatura de injeção 150 °C, temperatura do forno 50 °C e temperatura do detector 330 °C. Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA.

As mesmas condições e procedimentos para derivar a amostra também foram usadas para o preparo do branco do método (Figura 12). Esse foi realizado com o intuito de avaliar se os solventes e materiais utilizados no procedimento de extração, derivação e determinação apresentam picos interferentes nos tempos de retenção ou próximo deles que pudessem interferir na quantificação. E pela comparação da Figura 12 com a 11 pode-se evidenciar que nenhum interferente eluiu no tempo ou próximo do tempo de eluição dos analitos, confirmando dessa maneira a ausência de interferentes oriundos de solventes ou materiais usados durante o procedimento desenvolvido.

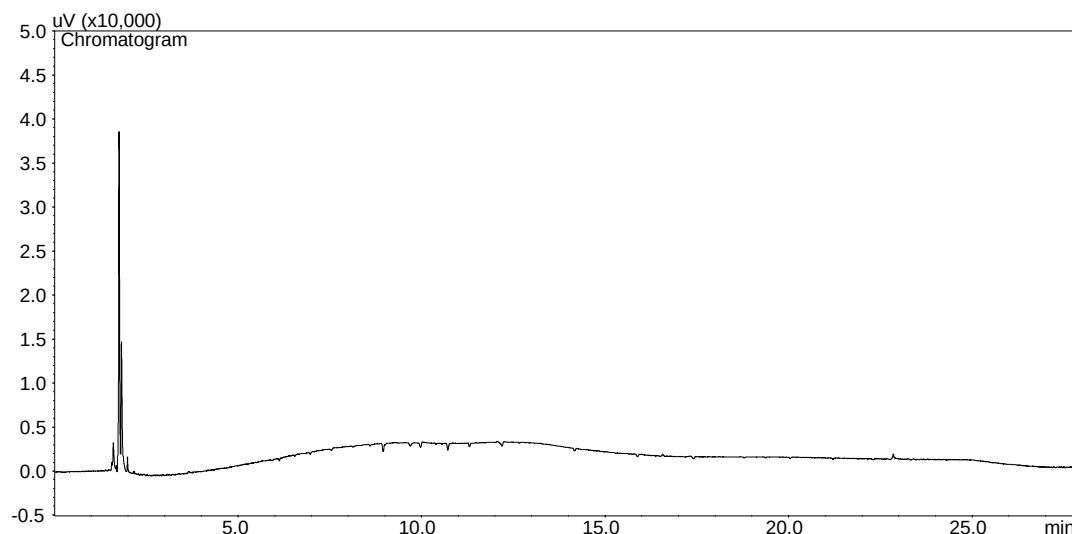


Figura 12: Cromatograma obtido por GC-ECD para o branco do método, usando uma coluna Rtx®-5Sil MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), temperatura de injeção 150 °C, temperatura do forno 50 °C e temperatura do detector 330 °C.

6.2.2. – Extração em fase sólida (SPE)

Os mecanismos de separação em SPE são os mesmos da cromatografia a líquido; como consequência, as fases sólidas empregadas em SPE são as mesmas empregadas em cromatografia a líquido de baixa pressão. A escolha da fase sólida apropriada depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra (LANÇAS, 2004 - a). Os HAAs são ácidos moderadamente fortes, portanto dissociam-se quase completamente (>99%) para íons haloacéticos sob condições típicas de água tratada (pH>6). Desta forma, o mecanismo de troca iônica foi utilizado na extração dos HAAs da água (MARTINEZ et al., 1998; LIU e MOU, 2004-a).

A troca iônica é, geralmente, empregada em SPE para o isolamento de analitos de caráter ácido ou básico presentes em soluções aquosas. Os compostos são usualmente retidos por intermédio da fase sólida, consistindo de um trocador forte de cátions (SCX) aprisionado à estrutura básica da sílica, enquanto os compostos ácidos, a exemplo dos ácidos haloacéticos, são retidos por trocadores fortes de ânions (SAX) (LANÇAS, 2004-a).

6.2.2.1. – Seleção da fase sólida

Três fases SAX foram avaliadas para extração dos HAAs em água. Cartuchos comercialmente disponíveis foram avaliados DISCOVERY DSC-SAX, 6 mL, 500 mg (Supelco, USA); SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂, 6mL, 500 mg (Supelco, USA) e SUPELCLEAN SAX-PSA, 6 mL, 500 mg (Supelco, USA). Destes, aquele que apresentou melhores resultados na extração dos analitos alvo foi o SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂. As Figuras de 13 a 18 apresentam os cromatogramas obtidos para os ensaios de extração utilizando estas fases trocadoras.

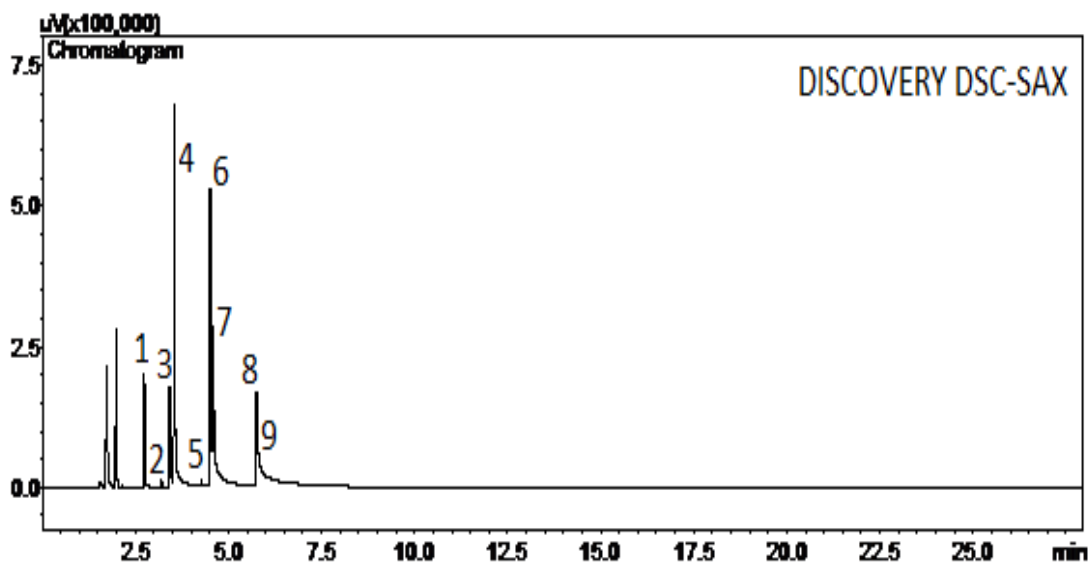


Figura 13: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando o cartucho Discovery DSC-SAX (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA.

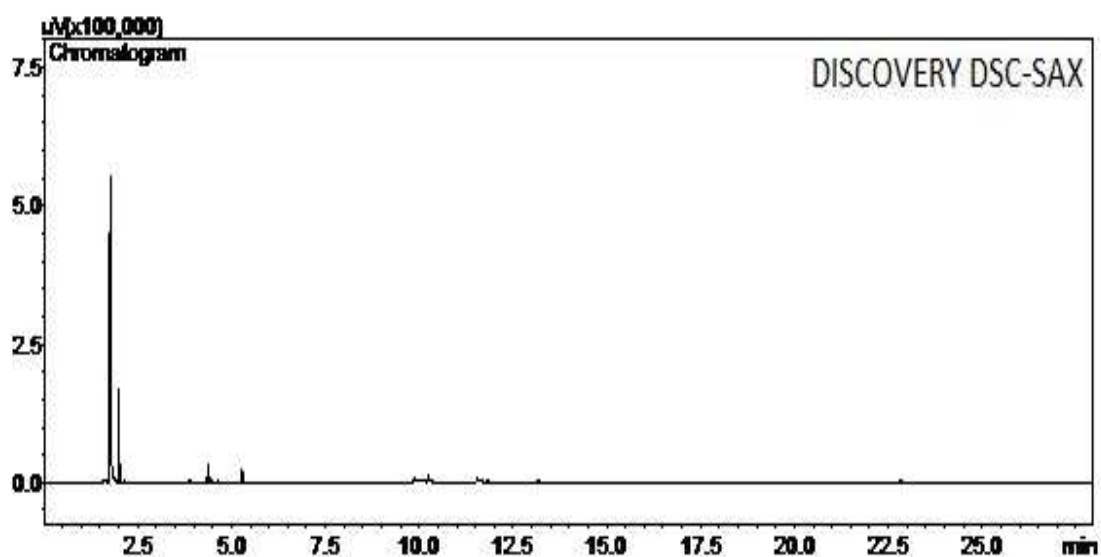


Figura 14: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Discovery DSC-SAX (6 mL).

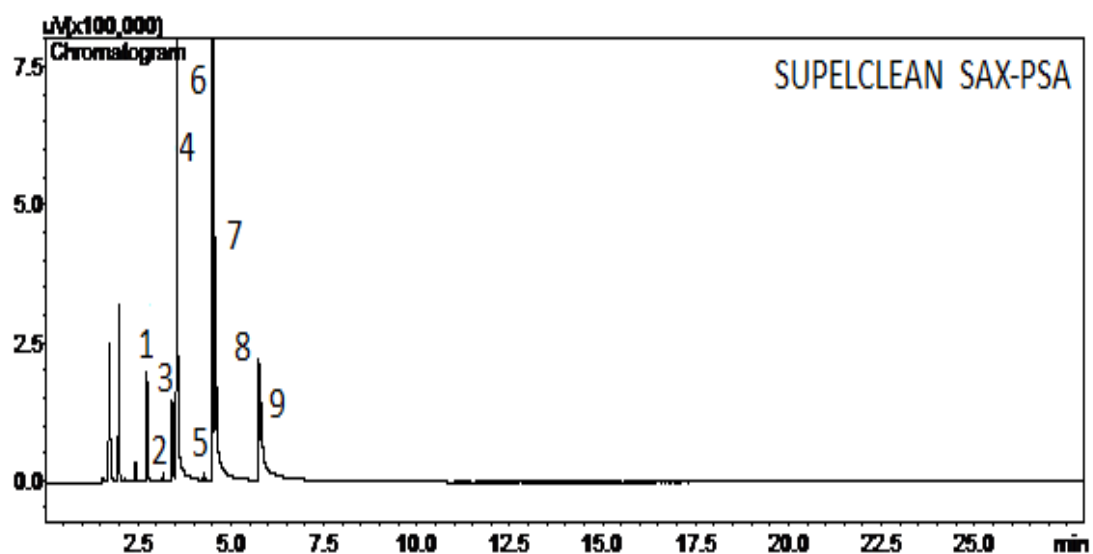


Figura 15: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100µg/L), usando o cartucho Supelclean SAX-PSA (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA.

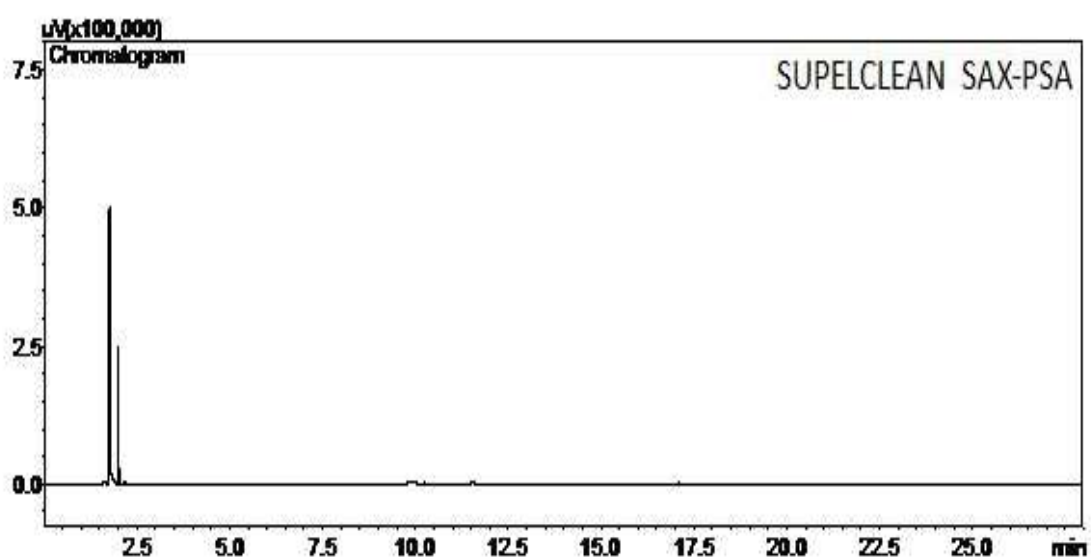


Figura 16: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Supelclean SAX-PSA (6 mL).

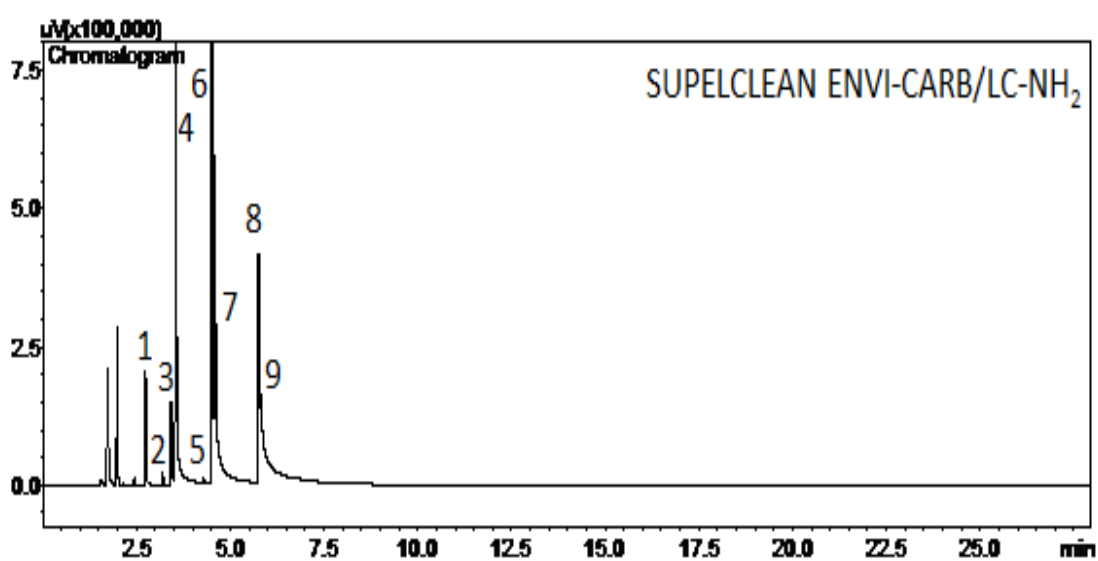


Figura 17: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução padrão dos HAAs (derivada) (100 µg/L), usando o cartucho Supelclean ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA.

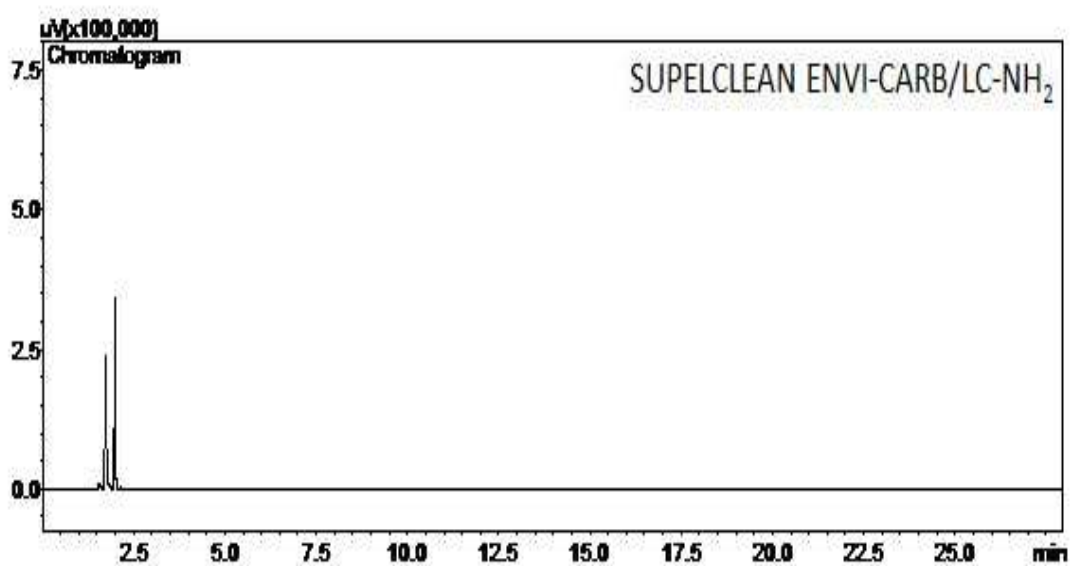


Figura 18: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD para o branco do método, usando o cartucho Supelclean ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL).

A Figura 19 apresenta a comparação das áreas obtidas para cada HAA (100 µg/L), quando usado cada cartucho. Com exceção do DCAA e do BDCAA, todos apresentaram maiores área quando extraídos utilizando o cartucho ENVI-CARB/LC-NH₂.

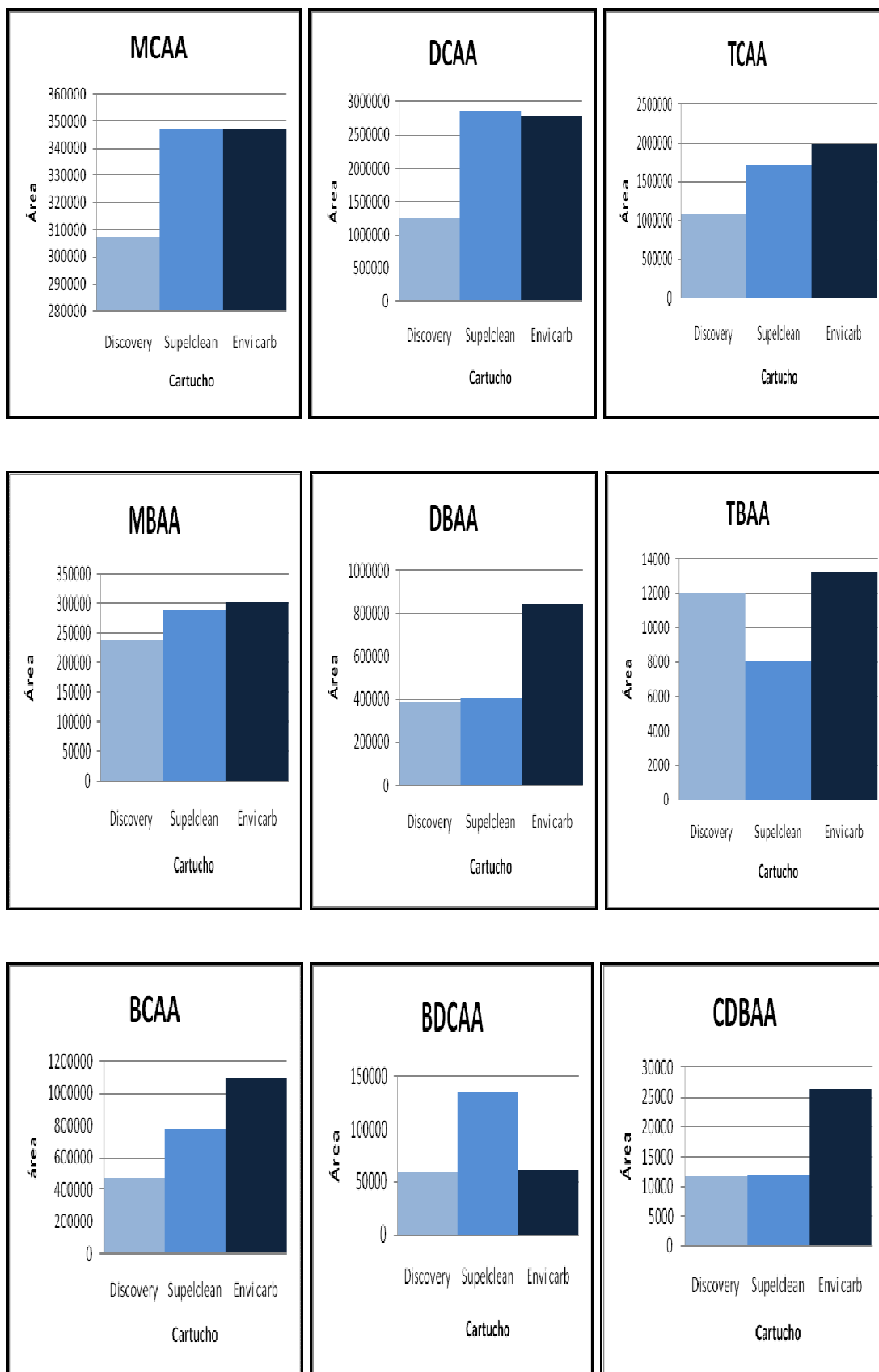


Figura 19: Comparação das áreas obtidas quando utilizados os cartuchos: DISCOVERY DSC-SAX, SUPELCLEAN SAX-PSA e SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂ na extração dos HAAs da água.

6.2.2.2. – Condicionamento e purificação do cartucho de SPE

Há dois principais motivos para a realização do condicionamento e purificação da resina de troca iônica. Primeiro as resinas são frequentemente feitas por processos de fabricação que as deixa contendo altos níveis de impurezas orgânicas e inorgânicas. Essas devem ser removidas da resina para prevenir interferências na análise. E segundo, porque as resinas devem ser convertidas na forma requerida para análise (HOWARD e STATHAM, 1997).

As resinas aniônicas são normalmente lavadas com água e então tratadas com uma solução de alta concentração de um anion que será ligado a resina. Essa pode ser, por exemplo, uma solução de hidróxido de sódio (1M) para converter a resina para a “forma hidróxido” (HOWARD e STATHAM, 1997).

Os cartuchos utilizados nesse estudo como trocadores iônicos de SPE foram purificados e condicionados, conforme propõe o Método EPA 552.1, com uma seqüência de solventes. A passagem dessa série de solvente tem a finalidade de ativar o material existente dentro do cartucho e remover possíveis contaminantes no adsorvente (SADIA e PAUZI, 2009).

6.2.2.3. – Carregamento da amostra

As amostras de água são ajustados para pH $5 \pm 0,5$ usando ácido sulfúrico para melhor retenção dos ácidos haloacéticos na fase e eluição ou precipitação dos demais compostos. A transferência das amostras para o cartucho deve ser feita de forma quantitativa. A amostra é então percolada através do cartucho usando um sistema manifold para SPE. Nessa etapa o fluxo foi de ≈ 2 mL/min. Segundo recomendações do fabricante o fluxo nunca deve ser superior a 5 mL/min, já que alguns compostos podem ser afetados por essa alta taxa de fluxo. Considerando que as interações em troca iônica são acentuadamente mais lentas que aquelas ocorrentes em processos de partição empregando-se sílica quimicamente ligada com

grupos polares (“fase normal”) ou grupos apolares (“fase reversa”), nessa modalidade o fluxo deve ser reduzido (LANÇAS, 2004 - a).

6.2.2.4. – Lavagem

A lavagem foi realizada com 10 mL de metanol que além de remover possíveis contaminantes, também é utilizado para secagem da resina.

6.2.2.5. – Eluição e derivação

Os HAAs retidos na fase foram eluidos com pequeno volume (5 mL) de metanol acidificado, que além de eluente é também o agente de derivação dos ácidos haloacéticos. Ao eluato recolhido foi adicionado solvente orgânico imiscível (MTBE) para extração dos HAAs.

6.2.2.6. – Derivação da amostra

A derivação de ácidos haloacéticos fez-se necessária, porque esses analitos apresentam características inadequadas a serem determinados diretamente por cromatografia a gás. Dessa forma, eles são convertidos para espécies com menor polaridade e maior volatilidade para satisfazer as condições de análise por GC. Dessa forma, os HAAs foram derivados para ésteres metílicos.

Após a etapa de derivação, os ácidos haloacéticos metilados foram extraídos na fase orgânica cuidadosamente, para que estes não apresentem nenhum traço de água, já que a presença desta na amostra pode hidrolisar os ésteres formados para ácido e álcool (MA e CHIANG, 2005).

A Figura 20 apresenta um cromatograma obtido quando se fez o uso do cartucho SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂ na extração dos HAAs da água, utilizando as condições cromatográficas otimizadas (Tabela 2).

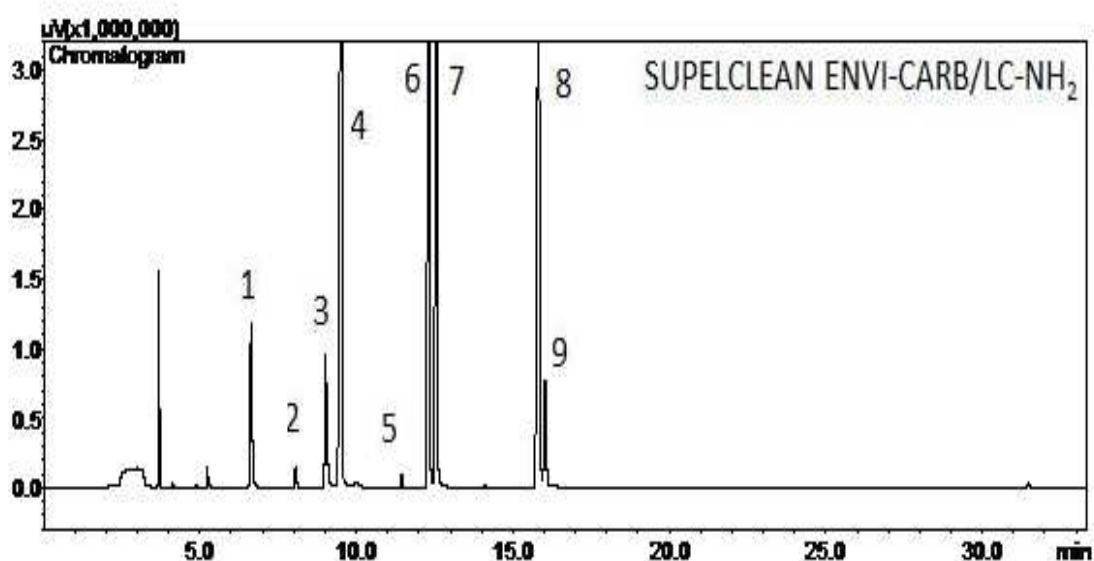


Figura 20: Cromatograma obtido por SPE-GC-ECD da solução dos HAAs (derivada) (100 µg/L) nas condições descritas na Tabela 2 usando o cartucho SUPELCLEAN ENVI-CARB/LC-NH₂ (6 mL). Identificação dos picos cromatográficos 1) MCAA; 2) DBCAA; 3) MBAA; 4) DCAA; 5) TBAA; 6) TCAA; 7) BCAA; 8) DBAA; 9) BDCAA.

6.3. – Validação do procedimento analítico

Depois de obtidas as condições para extração dos ácidos haloacéticos da água e as melhores condições cromatográficas para sua determinação procedeu-se com a validação do método. Para isso fez-se uso dos parâmetros: curva analítica, seletividade, recuperação, limite de detecção e limite de quantificação.

6.3.1 – Curva analítica

Os analitos em estudo foram quantificados utilizando-se o método da padronização externa. As curvas analíticas obtidas para as soluções dos nove HAAs nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 50,0 µg/L estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Equação da reta, coeficientes de correlação e determinação obtidos para a determinação dos HAAs.

Analito	Equação da reta ($y = ax + b$)	Coeficiente de correlação (r)	Coeficiente de determinação (r^2)
MCAA	$y = 990,63x - 946,21$	0,996	0,992
DCAA	$y = 6293,9x + 15265$	0,998	0,997
TCAA	$y = 14760x + 51579$	0,999	0,998
MBAA	$y = 4506,6x + 4174,3$	0,996	0,992
DBAA	$y = 7896,6x + 17186$	0,998	0,996
TBAA	$y = 550,23x + 1377$	0,995	0,990
BCAA	$y = 8342,5x + 17340$	0,998	0,996
BDCAA	$y = 8717,1x + 45949$	0,997	0,994
DBCAA	$y = 413,71x + 2186,7$	0,983	0,966

De acordo com as equações da reta para os nove ácidos haloacéticos, o método mostra-se linear e adequado para a determinação dos analito em estudo. Os coeficientes de correlação (r) são superiores a 0,98, evidenciando um ajuste satisfatório no intervalo de 0,5 a 50 µg/L (RIBANI et al., 2004).

6.3.2 – Seletividade

A seletividade foi avaliada continuamente durante todo o período de desenvolvimento. Essa foi monitorada através da comparação do branco do método com as amostras contendo os HAAs. E a partir desta constatou-se que nenhum pico interferente eluiu no tempo de retenção dos analitos, conforme foi mostrado nas Figuras 12, 14, 16 e 18.

6.3.3 – Recuperação

Os valores encontrados para os testes de recuperação estão expostos na Tabela 4. Esses são considerados satisfatórios, pois encontram-se na faixa aceitável (70 – 130%) conforme propõe o Método

EPA 552.1. Com exceção do ácido tricloroacético, do ácido tribromoacético, e do ácido bromodicloroacético que se encontram fora dessa faixa.

6.3.4 – Limites de detecção e quantificação

Tabela 4: Valores obtidos para o LD e LQ e recuperações do procedimento na determinação dos HAAs.

Analito	Limite de detecção (LD) (µg/L)	Limite de quantificação (LQ) (µg/L)	Recuperação (2,0–20,0 µg/L) (%)
MCAA	1,3	3,9	104
DCAA	0,9	2,8	69
TCAA	0,4	1,2	179
MBAA	0,5	1,7	121
DBAA	0,6	1,9	114
TBAA	2,1	6,6	157
BCAA	0,5	1,7	103
BDCAA	0,08	0,2	67
DBCAA	6,8	21,6	108

O Método EPA 552.1 é aprovado apenas para seis dos nove componentes da família dos HAAs (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA e BCAA). Os limites de detecção obtidos por esse método (EPA 552.1) para os seis HAAs estão na faixa 0,2 – 1,0 µg/L. Já o método desenvolvido obteve limites de detecção para esses 6 HAAs na faixa 0,4 – 1,3 µg/L e LD iguais a 2,1; 0,08 e 6,8 µg/L para TBAA, BDCAA e DBCAA respectivamente, para os analitos que não são citados pelo Método EPA 552.1.

7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A determinação por cromatografia líquida de alta eficiência ou cromatografia iônica é inviável, pois estas técnicas não ofereceram sensibilidade suficiente à determinação. Dessa forma, a determinação dos HAAs foi eficientemente realizada por Cromatografia a gás com detector por captura de elétrons. No entanto, análise direta por CG mostrou-se inviável devido a natureza polar e a acidez dos HAAs. Assim, foi necessário que os analitos fossem extraídos e derivados para ésteres, os quais apresentam características adequadas para serem determinados por CG.

As condições cromatográficas para análise foram estabelecidas por cromatografia a gás com detector por captura de elétrons. E a extração/derivação foi realizada por SPE segundo o Método EPA 552.1.

O presente método apresenta boa linearidade na faixa de 0,5 a 50,0 µg/L com coeficientes de correlação (r) entre 0,98 – 0,99. Os valores médios de recuperação obtidos estiveram dentro da faixa aceitável (70-130%) para seis dos nove HAAs. Os limite de detecção encontrados para os ácidos haloacéticos nesse trabalho foram comparáveis com aqueles obtidos pelo Método EPA 552.1, estes variaram entre 0,08 – 6,8 µg/L para os nove HAAs.

Os resultados encontrados dão evidência de que o método pode ser utilizado na determinação dos ácidos haloacéticos em água. Esta pesquisa é de grande relevância, pois, até o presente, não há no Brasil regulamentação indicando o MCL desses compostos em água.

8 – PERSPECTIVA FUTURA

Para concluir o trabalho de desenvolvimento de método analítico para determinação simultânea de resíduos dos ácidos haloacéticos em água tratada com cloro e/ ou derivados, o método será aplicado em amostras de água reais da cidade de Aracaju/ SE.

9. – REFERÊNCIAS

AGUS, E.; VOUTCHKOV, N.; SEDLAK, D L. Disinfection by-products and their potential impact on the quality of water produced by desalination systems: A literature review. **Desalination**, v.237, p.241 – 237, 2009.

ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária Resolução RE nº 899, de 29/05/2003.

BAIRD, C. Química Ambiental. Porto Alegre, Bookman, 2002. 622 p

BARRON, L.; PAULL, B. Determination of haloacetic acids in drinking water using suppressed micro-bore ion chromatography with solid phase extraction. **Analytica Chimica Acta**, v.522, p.153–161, 2004-a.

BARRON, L.; PAULL, B. Direct detection of trace haloacetates in drinking water using microbore ion chromatography improved detector sensitivity using a hydroxide gradient and a monolithic ion-exchange type suppressor. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, p. 205–212, 2004-b.

BARRON, L.; NESTERENKO, P N.; PAULL, B. Use of temperature programming to improve resolution of inorganic anions, haloacetic acids and oxyhalides in drinking water by suppressed ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1072, p. 207–215, 2005.

BARRON, L.; PAULL, B. Simultaneous determination of trace oxyhalides and haloacetic acids using suppressed ion chromatography-electrospray mass spectrometry. **Talanta**, v. 69, p. 621–630, 2006.

BAYTAK, D.; SOFUOGLU, A.; INAL, F.; SOFUOGLU, S. C. Seasonal variation in drinking water concentrations of disinfection by products in IZMIR and associated human health risks. **Science of the Total Environment**, v. 407 p. 28 – 296, 2008.

BRAGA, B P F.; FLECHA, R.; PENA, D S E.; KELMAN, J.; Pacto federativo e gestão de águas. **Estudos Avançados**, v.22, n.63, p.17-42, 2008.

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

BROWN, T L.; LEMAY Jr, H E.; BURSTEN, B E. Química: a Ciência Central, 9.ed, São Paulo, Pearson, prentice Hall, 2005. 972 p.

BRUCE, P Y. Química Orgânica, 4.ed, São Paulo, Pearson, Prentice Hall, 2006. 641 p. v.2.

BRUZZONITI, M C.; CARLO, R M D.; HORVATH, K.; PERRACHON, D.; PRELLE, A.; TOFALVI, R.; SARZANINI, C.; HAJOS, P. High performance ion chromatography of haloacetic acids on macrocyclic cryptand anion exchanger. **Journal of Chromatography A**, v.1187, p.188 – 196, 2008.

CASS, Q B.; DEGANI, A L G., Desenvolvimento de método por HPLC fundamentos, estratégias e validação. São Carlos EdUFSCar – Editora da Universidade Federal de São Carlos, 2001. 77 p.

CASSIANO, N M.; BARREIRO, J C.; MARTINS, L R R.; OLIVEIRA, R V.; CASS, Q B.; Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. *Química Nova*, v.32, p.1021-1030, 2009.

CHANG, H H.; TUNG, H H.; CHAO, C C.; WANG, G S. Occurrence of haloacetic acids (HAAs) and trihalomethanes (THMs) in drinking water of Taiwan. **Environmental Monitoring and Assessment** DOI 10.1007/s10661-009-0792-1, 2009.

CIOLA, R. Fundamentos de cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC. 1.ed, São Paulo, Edgard Blucher, 2003. 179 p.

COLLINS, C H.; BONATO, P.; BRAGA, G L. Fundamentos de Cromatografia. Campinas – São Paulo, Unicamp, 2006. 453 p.

DEBRE, O.; BUDDE, W L.; SONG, X. Negative ion electrospray of bromo and chloroacetic acids and an evaluation of exact mass measurements with a bench-top time-of-flight mass spectrometer. **American Society for Mass Spectrometry**, v.11, p.809–821, 2000.

DOMINO, M M.; PEPICH, B V.; MUNCH, D J.; FAIR, P S. Optimizing the determination of haloacetic acids in drinking waters. **Journal of Chromatography A**, v.1035, p.9 –16, 2004.

FU, H T.; ZHAO, L M.; LUO, M.; ZHANG, H Y.; ZHANG, J. Determination of chloroacetic acids in drinking water by ion chromatography using silver oxide as precipitant eliminating interference of chlorate in matrix. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v.36, p.1407-1410, 2008.

HOWARD, A G.; STATHAM, P J. Inorganic trace analysis: Philosophy and practice. ISBN: 978-0-471-97672-1, 1997, 194 p.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Revisão 01, DOQ-CGCRE-008, 2003. 35p.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Revisão 02, DOQ-CGCRE-008, 2007. 25p.

JUMNOODOO, Vijayalaxmi. Haloacetic Acids in Distribution. Cranfield University, 2006. 86p. Dissertação (Mestrado) - School of Industrial and Manufacturing Science.

KOU, D.; WANG, X.; MITRA, S. Supported liquid membrane microextraction with high-performance liquid chromatography–UV detection for monitoring trace haloacetic acids in water. **Journal of Chromatography A**, v.1055, p.63 – 69, 2004.

LANÇAS, F M. Extração em Fase Sólida (Solid Phase Extraction). São Carlos – São Paulo, RiMa, 2004(a). 93 p.

LANÇAS, F M. Validação de métodos cromatográficos de análise (Solid Phase Extraction). São Carlos – São Paulo, RiMa, 2004(b). 62 p.

LEITE, F. Validação em Análise Química. Campinas – São Paulo, Átomo, 2002. 278p.

LIU Y J, MOU S F. Determination of trace levels of haloacetic acids and perchlorate in drinking water by ion chromatography with direct injection. **Journal of Chromatography A**, v. 997, p.225 – 235, 2003.

LIU, Y.; MOU, S. Determination of trace-levels of haloacetic acids in drinking by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1039, p.89 – 95, 2004(a).

LIU, Y.; MOU, S. Determination of bromate and chlorinated haloacetic acids in bottled drinking water with chromatographic methods. **Chemosphere**, v.55, p.1253–1258, 2004(b).

LOOS, R.; BARCELÓ, D. Determination of haloacetic acids in aqueous environments by solid-phase extraction followed by ion-pair liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometric detection **Journal of Chromatography A**, v.938, p. 45 – 55, 2001.

MA, Y. CHIANG. C. Evaluation of the effects of various gas chromatographic parameters on haloacetic acids disinfection by-products analysis. **Journal of Chromatography A**, v.1076, p.216 – 219, 2005.

MARTINEZ, D.; BORRULL, F.; CALULL, M. Comparative study of a solid-phase extraction system coupled to capillary electrophoresis in the determination of haloacetic compounds in tap water. **Journal of Chromatography A**, v.827, p.105 – 112, 1998.

MCMURRY, J. Química Orgânica, 6 ed. São Paulo, Pioneira Thomson Learning, 2006. 925 p.

NETO, F R A.; NUNES, D S S.; Cromatografia, Princípios Básicos e Técnicas Afins. Rio de Janeiro, Interciência, 2003. 187 p.

NIKOLAOU, A D.; GOLFINOPOULOS, S K.; KOSTOPOULOU, M N.; LEKKAS, D L. Determination of haloacetic acids in water by acidic methanol esterification – GC – ECD method. **Water Research**, v.36, p. 1089–1094, 2002.

NIKOLAOU, A.; GOLFINOPOULOS, S.; RIZZO, L.; LOFRANO, G.; LEKKAS, T.; BELGIOMO, 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.

PAULL, B.; BARRON, L. Using ion chromatography to monitor haloacetic acids in drinking water: a review of current technologies. **Journal of Chromatography A**, v.1046, p.1– 9, 2004.

PEPICH, B V.; DOMINO, M M.; DATTILIO, T A.; FAIR, P S.; MUNCH, D J. Validating sample preservation techniques and holding times for the approved compliance monitoring methods for haloacetic acids under the US EPA's stage 1 D/DBP rule. **Water Research**, v.38, p.895 – 902, 2004.

PERVOVA, M G.; KIRICHENKO, V E.; PASHKEVICH, K I. Determination of Chloroacetic Acids in Drinking Water by Reaction Gas Chromatography. **Journal of Analytical Chemistry**, v.57, p.326-330, 2002.

PORTER, C K.; PUTNAM, S D.; HUNTING, K L.; RIDDLE, M R. The effect of trihalomethane and haloacetic acid exposure on fetal growth in a maryland county. **American Journal of Epidemiology**, v.162, p.334 – 344, 2005.

RAHMAN, M A.; ABDULLAH, P.; DAUD, J M.; WASEEM, S. The development of an analytical method for the determination of haloacetic acid compounds (HAAs) in drinking water. **Malaysia Journal of Analytical Sciences**, v.10, n.1, p.75- 80, 2006.

RATASUK, C.; RATANATAMSKUL, C.; RATASUK, N. Removal of haloacetic acids by nanofiltration. **Journal of Environmental Sciences**, v.21 p.96–100, 2009.

RAZPOTNIK, P.; TURSIC J.; VEBER, M.; NOVIC, M. Efficiency and characteristics of solid-phase (ion-exchange) extraction for removal of Cl⁻ matrix. **Journal of Chromatography A**, v.991, p.23 – 29, 2003.

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

RICHTER, C A.; NETTO, J M A. Tratamento de água – tecnologia atualizada. 1ª Ed, São Paulo, Edgard Blücher, 2002. 344 p.

SADIA, W.; PAUZI, A. SPE-GC-MS for the determination of halogenated acetic acids in drinking water. **Chromatographia**. DOI: 10.1365/s10337-009-1065-4, 2009.

SARAJI, M.; BIDGOLI, A A H. Single – drop microextraction with in – microvial derivatization for the determination of haloacetic acids in water sample by gas chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1216, p.1059 –1066, 2009.

SARRION, M N.; SANTOS, F J.; GALCERAN M T. In situ derivatization solid-phase microextraction for the determination of haloacetic acids in water. **Analytical Chemistry**, v.72, p.4865-4873, 2000.

SCHUCK, Carla Andréa. Ocorrências de trihalometanos e ácidos haloacéticos na desinfecção de efluentes tratados biologicamente. Porto Alegre, 2004. 81p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química Porto Alegre, Universidade do Rio Grande do Sul.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C., Química Orgânica. 7. Ed. Rio de Janeiro, LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2002. v.2. 542 p.

SPIRO, T G.; STIGLIANI, W M. Química Ambiental. 2ª ed. São Paulo Pearson, Prentice Hall, 2009. 334 p

SRINIVASAN, R.; LIN, R.; POHL, C. Recent advances in analysis of haloacetic acids by two-dimensional matrix elimination ion chromatography. Dionex Corporation, 2009.

SWITAJ, Kamila Jakubowska. Source identification of trichloroacetic acid with preparative capillary gas chromatography and accelerator mass spectrometry. Bayreuth, 2006. Dissertação (Mestrado) – Chemistry and Geosciences University of Bayreuth.

TIBURTIUS, E R L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E S.; **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.3, 2004.

TUCCI, C E M. Águas urbanas. **Estudos Avançados**, v.22, n.63, p.97-112, 2008.

TUNDISI, J G. Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. **Estudos Avançados**, v.22, n.63, p.7-16, 2008.

URBANSKY, E T. Techniques and methods for the determination of haloacetic acid in potable water. **Journal Environmental Monitoring**, v.2, p.285 – 291, 2000.

USEPA, Method 552.1. Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by ion exchange liquid-solid extraction and gas

chromatography with electron capture detection. environmental monitoring and system laboratory, Cincinnati, 1992.

USEPA, Method 552.2 Revision 1. Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection. in methods for the determination of organic compounds in drinking water. supplement iii, EPA document no. 600-r 95-13 i, GPO, Washington, DC, 1995.

USEPA, Method 552.3. Revision 1.0. Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid microextraction, derivatization, and gas chromatography with electron capture detection. EPA document No. 815-b-03-002; GPO, washington, DC, 2003.

USEPA, Standard Method 6251B, Disinfection by-products: haloacetic acids and trichlorophenol, micro liquid liquid extraction GC method, in: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. 1995.

UYAK, V.; OZDEMIR, K.; TOROZ, I. Seasonal variations of disinfection by-product precursors profile and their removal through surface water treatment plants. **Science of the Total Environment**, v.390, p.417 – 424, 2008.

WANG, Y H.; WONG, P K. Determination of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid in drinking water by acidic methanol esterification and headspace gas chromatography. **Water Research**, v.39, p. 1844–1848, 2005.

XIE, Y. Analyzing haloacetic acids using gas chromatography / mass spectrometry. **Water Research**, v.35, p.1599 – 1602, 2001.

YING-XUE, S.; PING, G. Determination of haloacetic acids in hospital effluent after chlorination by ion chromatography. **Journal of Environmental Sciences**, v.19 p.885–891, 2007.

ZHANG, X.; MINEAR, R A. Decomposition of trihaloacetic acids and formation of the corresponding trihalomethanes in drinking water. **Water Research**, v.36, p.3665 – 3673, 2002.