

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRIALOMETANOS E
ÁCIDOS HALOACÉTICOS DECORRENTES DA
CLORAÇÃO DE ÁGUAS DE ABASTECIMENTO
CONTENDO CIANOBACTÉRIAS**

Elton Santos Franco

Belo Horizonte

2018

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRIALOMETANOS E
ÁCIDOS HALOACÉTICOS DECORRENTES DA
CLORAÇÃO DE ÁGUAS DE ABASTECIMENTO
CONTENDO CIANOBACTÉRIAS**

Elton Santos Franco

Elton Santos Franco

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRIALOMETANOS E
ÁCIDOS HALOACÉTICOS DECORRENTES DA
CLORAÇÃO DE ÁGUAS DE ABASTECIMENTO
CONTENDO CIANOBACTÉRIAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Doutor em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Qualidade e tratamento de água para consumo humano

Orientador: Dr. Marcelo Libânio

Coorientador: Dr. Jairo Lisboa Rodrigues

**Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG
2018**

F825a

Franco, Elton Santos.

Avaliação da formação de trihalometanos e ácidos haloacéticos decorrentes da cloração de águas de abastecimento contendo cianobactérias [manuscrito] / Elton Santos Franco.- 2018.
244 f.: il.

Orientador: Marcelo Libânio.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Engenharia.

Anexos e apêndices: f. 206-244.

Bibliografia: f. 178-205.

1. Engenharia sanitária- Teses. 2. Meio ambiente - Teses. 3. Cloro - Teses. 4. Água - Purificação - Cloração - Teses. 5. Cromatografia de gás - Teses. I. Libânio, Marcelo, 1960-. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos
Avenida Antônio Carlos, 6627 - 4ª andar - 31279-901 - Belo Horizonte - BRASIL
Telefone: 55 (31) 3109-1882 - posgrad@desa.ufmg.br
<http://www.smarh.eng.ufmg.br>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Avaliação da Formação de Trihalometanos e Ácidos Haloacéticos Decorrente da
Cloração de Águas de Abastecimento Contendo Cianobactérias

ELTON SANTOS FRANCO

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelas Senhores:

Prof. MARCELO LIBÂNIO

Prof. JAIRO LISBOA RODRIGUES

Prof. CESAR ROSSAS MOTA FILHO

PESQ. FERNANDO ANTÔNIO JARDIM

Prof. CRISTINA FILOMENA PEREIRA ROSA PASCHOALATO

Prof. SÉRGIO FRANCISCO DE AQUINO

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

Prof. Nilo de Oliveira Nascimento
Coordenador

Versão Final aprovada por

Prof. Marcelo Libânio
Orientador

Belo Horizonte, 19 de março de 2018.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, presença e amor que me fortalecem e proporcionam fé.

Aos meus pais Adonias e Edna, por aceitarem os momentos de ausência e pela base fornecida.

Não poderia deixar de listar todos os que estiveram envolvidos comigo no desenvolvimento deste trabalho, a seguir: Prof. e orientador Dr. Valter Lúcio de Pádua pelos ensinamentos, pelo apoio operacional e pela paciência no desenvolvimento durante todo o processo desta pesquisa.

Ao professor Dr. Marcelo Libânio, por aceitar a continuação da minha orientação e pelos valiosos ensinamentos até aqui.

Ao professor Dr. Jairo Lisboa Rodrigues, pela co-orientação, apoio na parte experimental e por todo ensinamento na parte cromatográfica.

À professora Alessandra Giane e equipe do laboratório de Ficologia da UFMG, pela disponibilização das cepas e ensinamentos nos procedimentos de contagens das cianobactérias. Também à professora Christina Pascoalato, pelas valiosas dicas durante o procedimento de validação do método de AHAs.

A UFOP, minha base.

A UEMG, pelo apoio no início das atividades, sempre atendeu os meus pedidos de liberação para a execução das atividades presenciais em Belo Horizonte. Em especial, ao ex diretor José Arnaldo da Matta pelo incentivo, além dos demais ex diretores e professores que estiveram comigo, em especial o Prof. Leonardo Gouveia.

A UFVJM, pela estrutura laboratorial e pela qualificada equipe de professores que sempre me apoiou, tanto durante o cultivo das cianobactérias, quanto na parte experimental na cromatografia. Em especial, aos professores Dr. Márcio Perreira, Dra. Cleide Bonfetti e Dra. Márcia Faria. Aos diretores e coordenadores, pelo apoio e pelas liberações nas atividades em Belo Horizonte.

A UFMG, principalmente ao programa SMARH, por me conceder a oportunidade de realizar este doutorado e toda a equipe de professores, que de alguma forma me apoiaram durante as disciplinas, principalmente as de seminários.

A FUNED, em especial a equipe de gestão ambiental e do pesquisador Dr. Marcos Paulo Mol, pela orientação e esclarecimentos durante a preparação e operação no cromatógrafo.

À minha amiga Luciene, que sempre esteve presente, mesmo de longe, sempre tão perto, ajudando, apoiando, incentivando com carinho e bom humor. Ao Frederico Baeta, pelo incentivo e apoio antes e após a entrada do doutorado.

À minha mamãe acadêmica, amiga, e detentora de vários adjetivos que não caberiam nesse item, Aurélia de Cássia, pelos momentos agradáveis, embora tensos, no decorrer das atividades.

Ao Diego Francis, pelo apoio no difícil começo na operação do CG-EM e, também, nas constantes rotinas de validação dos TAMs e AHAs. Não posso esquecer de Mariandry Rodriguez, também parte deste difícil começo, meu muito obrigado.

Em especial, aos discentes de iniciação científica Israel Santana, Ana Flávia Assis, Núbia Aguiar, Paulo Henrique, Júlia Camargo e Bruno Miranda pelas “operações de guerra” durante as madrugadas e finais de semana, onde nunca hesitaram em estar comigo durante as difíceis análises laboratoriais. Aos demais discentes do projeto, meu obrigado pelo apoio nas demais rotinas.

À COPASA, por todo apoio na parte experimental. Em especial, ao Dr. Fernando Antônio Jardim (BH), Francisco Ferreira, Ravi Prates e técnicos, pelo fornecimento de reagentes de consumo, imprescindíveis para a continuidade das atividades.

Aos meus irmãos republicanos e da vida, Alexandre Masokatto, Juber Henrique e Marco Antônio pelo começo de tudo, “lá” em 2002...

A todos da República Antares (OP), refúgio nos meus momentos de estresse, aturando-me nessa caminhada de 5 anos.

À minha querida República Ovelha Negra (OP), pelo carinho que tiveram comigo nesta jornada. Às Repúblicas Tabajara e Peripatus (OP), amigos por toda a vida, pelos momentos de desabafo e brincadeiras que tornaram as notícias difíceis em incentivo para seguir em frente.

À República Turquia (BH), ex-moradores e moradores, pelo apoio logístico e estadias durante as atividades presenciais em Belo Horizonte.

À República Ebola (BH), aos “filhos” Caleu Costa, Rodrigo Rocha, Lucas Tavares e Athur Henrique, meu agradecimento especial ao meu primo / irmão / “filho” Marcos Marchesi.

Layde Sierau, técnica da UFVJM, pelo carinho que teve na preparação dos meios de cultura, rotinas de laboratório e ensinamentos no cultivo das "Beres" e "Chicas". Minha amiga prof. Dra. Ana Cândida por todos os valiosos conselhos durante o doutoramento.

A Leticia Leal, por todo apoio desprendido durante a fase de estruturação do trabalho, principalmente quando estava em funções de docente na UFVJM. Muito obrigado mesmo!

À Igreja VIBN, pelas orações e mensagens.

Ao amigo e companheiro de Engenharia Ambiental, Rômulo Pereira, pela amizade incondicional e aprendizado à época dos trabalhos de campo, que muito me ajudou nesta caminhada. E Rodrigo Maioline e Ronderson Hilário, pelo apoio logístico durante as idas e vindas no início do doutorado.

A todos os não aqui citados, mas não menos importantes, que contribuíram de alguma forma para a conclusão dessa etapa. Obrigado!

RESUMO

Apesar dos benefícios do cloro para o controle de patógenos, estudos demonstram que sua utilização pode contribuir para a formação de subprodutos orgânicos halogenados (SOHs) indesejados e potencialmente carcinogênicos, tais como os trialometanos (TAMs) e os ácidos haloacéticos (AHAs). A matéria orgânica algogênica (MOA), composta por algas e cianobactérias, com amplos registros em eventos de florações no país, tais como *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, pode ser precursora da formação de TAMs e AHAs. Neste cenário, este estudo foi dividido em quatro etapas: na primeira etapa, foi proposto um método analítico para detecção de TAMs e AHAs por extração líquido-líquido (ELL), seguida pela determinação por cromatografia a gás (CG) acoplada ao detector de espectrometria de massa (EM). Na segunda etapa, analisou-se a demanda de cloro em variadas doses em amostras de água contendo espécies *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* nas densidades $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ e $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹, respectivamente. A terceira etapa consistiu em avaliar a formação dos subprodutos em função de doses de oxidantes químicos (hipoclorito de cálcio e cloro gasoso), sob os seguintes parâmetros: temperatura da água (25°C e 30°C), pH (6,5 e 8,5) e tempo de contato (30 min e 24 h), condições essas recorrentes no Brasil. Na quarta etapa, avaliou-se o uso do carvão ativado granular domiciliar (CAGD) e a agitação como estratégias de remoção, caso ocorra a formação, após a contaminação de amostras para distintas concentrações de trabalho (TAMs = 100 e 150 µg.L⁻¹; AHAs = 58 e 116 µg.L⁻¹). Para os TAMs, a ELL mostrou-se eficaz e, junto ao CG-EM, pôde-se dispensar etapas de extração automatizadas e mais onerosas. Para os AHAs, foi possível obter um cromatograma com poucas interferências em ácidos haloacéticos com menos sensibilidade ao detector EM. Os ensaios de demanda de cloro para ambos oxidantes, na dose mais elevada, demonstraram altos valores de consumo e baixas concentrações residuais de cloro. Em relação aos parâmetros estudados, as formações de TAMs e AHAs ocorreram apenas na concentração de $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹. O triclorometano foi a espécie presente de TAMs na concentração máxima (45,88 µg.L⁻¹) para *Microcystis aeruginosa* nas condições: dose 5,0 mg.L⁻¹ de cloro gasoso, temperatura da água de 30°C, pH de 8,5 e tempo de detenção de 24 h. Para os AHAs, dose 2,5 mg.L⁻¹ de hipoclorito de cálcio, temperatura de 30°C, pH de 8,5 e tempo de 24 h para *Cylindrospermopsis raciborskii* acarretaram a maior concentração dentre as análises (4,81 µg.L⁻¹). Não foram observadas formações na concentração de $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹, sendo a maioria dos resultados abaixo do limite de detecção do método validado. De acordo com a literatura, metabólitos liberados pelas células podem interferir na formação de TAMs e AHAs. A adsorção em carvão ativado granular removeu os TAMs (93,74%) e AHAs (84,66%) em condições satisfatórias, enquanto que na agitação observou-se menor remoção de TAMs (83,74%) e AHAs (10,08%).

Palavras-chave: Trialometanos, Ácidos Haloacéticos, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, demanda de cloro, remoção de subprodutos da cloração, ELL-CG-EM.

ABSTRACT

Despite the benefits of using chlorine for pathogens control, studies show that the use of this substance can contribute to the formation of unwanted and carcinogenic halogenated organic by-products (HOS), such as Trihalomethanes (THMs) and Haloacetic Acids (HAAs). Algogenic organic matter (AOM), composed of algae and cyanobacteria, that usually occur due to blooming events in water bodies, including *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii*, can be the precursor of THMs and HAAs formation. This study was divided in four stages: It was proposed that in the first stage, an analytical method by liquid liquid extraction (LLE), followed by gas chromatography (GC) linked to a mass spectrometry (MS) detector, in substitution of an electron capture detector (ECD) for the quantification of THMs and HAAs. In the second phase, chlorine demand was determined for varied dosages of samples containing species of *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii* in density of 1.0×10^4 and 1.0×10^6 cell.mL⁻¹. In the third phase, the formation of THMs and HAAs in function of chemical oxidant doses (calcium hypochlorite and chlorine gas) were evaluated, using the following parameters: water temperature (25°C and 30°C), pH (6.5 and 8.5) and contact time (30 min and 24 h), recurrent conditions in Brazil. In the fourth phase, the use of granular activated carbon (GAC) and agitation were evaluated as removal strategies, in case the formation occurs after the contamination of samples for different concentrations (THMs = 100 and 150 µg.L⁻¹; HAAs = 58 and 116 µg.L⁻¹). For THMs, LLE was effective in association with GC-MS, so it was possible to dispense onerous and automated extraction steps. For HAAs, chromatograms were obtained with few interferences in haloacetic acids with less sensitivity to the MS detector. The chlorine demand assays at the highest concentration for both oxidants showed great consumption values and low residual chlorine concentrations. With regard to the parameters studied, the formation of THMs and HAAs occurred only in the concentration of 1.0×10^6 cell.mL⁻¹. Trichloromethane was the specie of THMs that presented in the maximum concentration (45,88 µg.L⁻¹) for *Microcystis aeruginosa* in the following conditions: 5.0 mg.L⁻¹ of chlorine gas, 30°C water temperature, pH of 8.5, and detention time of 24 h. For HAAs, 2.5 mg.L⁻¹ dose of calcium hypochlorite, 30°C of temperature, pH 8.5 and 24 h to *Cylindrospermopsis raciborskii*, resulted in the highest concentration among the analyzes (4.81 µg.L⁻¹). No formations were observed in the concentration of 1.0×10^4 cell.mL⁻¹, as the majority of the results were below of the detection limit of the validated method. According to the literature, metabolites released by cells can interfere in the formation of THMs and HAAs. We found that THMs (93,74%) and HAAs (84,66%) were removed in satisfactory conditions by adsorption in granular activated carbon, but agitation resulted in less removal of THMs (83,74%) and HAAs (10,08%).

Keywords: Trihalomethanes, Haloacetic Acids, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, Chlorine Demand, removal of chlorination by-products, LLE-GC-MS.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 HIPÓTESES	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 <i>Objetivo geral</i>	31
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	31
4 REVISÃO DA LITERATURA	32
4.1 <i>Cloro como agente oxidante no processo de tratamento de água</i>	32
4.2 <i>Subprodutos orgânicos halogenados advindos da cloração no tratamento da água</i>	37
4.3 <i>Trihalometanos – TAMs</i>	39
4.3.1 Aspectos toxicológicos e riscos à saúde em águas destinadas ao consumo humano	41
4.3.2 Fatores de formação	46
4.3.2.1 <i>Matéria Orgânica Natural (MON)</i>	46
4.3.2.2 <i>pH do meio</i>	48
4.3.2.3 <i>Tempo de contato</i>	48
4.3.2.4 <i>Temperatura</i>	49
4.3.2.5 <i>Bromo</i>	51
4.4 <i>Ácidos haloacéticos – AHAs</i>	53
4.4.1 Aspectos toxicológicos e riscos à saúde em águas destinadas ao consumo humano	58
4.4.2 Fatores de formação	59
4.4.2.1 <i>Matéria Orgânica Natural (MON)</i>	59
4.4.2.2 <i>pH</i>	60
4.4.2.3 <i>Tempo de contato</i>	61
4.4.2.4 <i>Temperatura</i>	62
4.4.2.5 <i>Bromo</i>	64
4.5 <i>Matéria orgânica algogênica (MOA) como precursora na formação de TAMs e AHAs</i>	65
4.6 <i>Análise sobre a classificação das agências de proteção ambiental</i>	67
4.7 <i>Cianobactérias</i>	71
4.6.1 Legislação	75
4.6.2 Registro de ocorrência de cianobactérias	76
4.6.3 Ocorrência de cianobactérias após etapas de clarificação	81
4.6.4 <i>Cylindropermopsis raciborskii</i>	83
4.6.4.1 <i>Ocorrência da espécie Cylindropermopsis raciborskii e após etapas de clarificação</i>	84
4.6.5 <i>Microcystis aeruginosa</i>	87
4.6.5.1 <i>Ocorrência de Microcystis aeruginosa e após etapas de clarificação</i>	88
4.7 <i>Técnicas para o controle de SOHs</i>	90
4.7.1 Remoção de precursores	90
4.7.2 Oxidantes alternativos ao uso do cloro	90

4.7.2.1 Ozônio	90
4.7.2.2 Dióxido de Cloro	91
4.7.2.3 Peróxido de Hidrogênio	91
4.7.2.4 Permanganato de Potássio	91
4.7.2.5 Cloraminas	92
4.7.2.6 UV	92
4.7.3 Remoção de SOHs após a formação	93
<i>4.8 Técnicas de detecção de SOHs.....</i>	<i>94</i>
4.8.1 Métodos de extração.....	95
4.8.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG - EM)	96
4.8.3 Metodologias para quantificação de TAMs	97
4.8.3.1 Método USEPA 551.1	97
4.8.3.2 <i>Standard Methods</i> 6200B	97
4.8.3.3 <i>Standard Methods</i> 6232B	97
4.8.4 Metodologias para quantificação de AHAs.....	98
4.8.4.1 Método USEPA 552.1	98
4.8.4.2 Método USEPA 552.2	98
4.8.4.3 Método USEPA 552.3	98
4.8.4.4 <i>Standard Methods</i> 6251B	99
4.8.5 Validação analítica de métodos cromatográficos	99
4.8.5.1 Curva analítica.....	100
4.8.5.2 Linearidade e faixa de aplicação.....	100
4.8.5.3 Precisão.....	100
4.8.5.4 Limite de detecção (LD).....	101
4.8.5.5 Limite de Quantificação (LQ)	101
4.8.5.6 Seletividade	102
4.8.5.7 Exatidão.....	102
4.8.5.8 Robustez	103
5 MATERIAIS E MÉTODOS	104
<i>5.1 Manutenção, cultivo e contagens de células</i>	<i>104</i>
<i>5.2 Cloração da água contendo células de cianobactérias</i>	<i>106</i>
5.2.1 Determinação da demanda de cloro para a escolha das doses utilizadas nos ensaios	106
5.2.2 Avaliação dos potenciais fatores que influenciam a formação de TAMs e AHAs após a cloração.....	108
<i>5.3 Validação das metodologias empregadas nas análises de TAMs e AHAs</i>	<i>110</i>
<i>5.4 Subprodutos investigados e desenvolvimento de métodos de analíticos para detecção de TAMs e AHAs.....</i>	<i>111</i>
5.4.1 Métodos analíticos para detecção de TAMs e AHAs.....	111
5.4.2 Reagentes e materiais – TAMs	111
5.4.3 Preparo e extração para a curva de calibração - TAMs.....	112
5.4.4 Preparo e extração nas espécies cloradas – TAMs	113
5.4.5 Instrumentação e condições cromatográficas – TAMs	113

5.4.6 Reagentes e materiais – AHAs.....	114
5.4.7 Preparo e extração/derivatização para a curva de calibração -AHAs	114
5.4.8 Preparo e extração nas espécies cloradas – AHAs.....	116
5.4.9 Instrumentação e condições cromatográficas – AHAs.....	116
5.5 Avaliação de técnicas de remoção após formação de TAMs e AHAs	117
5.5.1 Ensaio de remoção dos subprodutos TAMs e AHAs por adsorção por carvão ativado granular domiciliar e agitação.....	117
5.5.2 Determinação da concentração de subprodutos antes dos ensaios	117
5.5.3 Preparação do procedimento experimental	118
5.5.3.1 Adsorção por carvão ativado granular	118
5.5.3.2 Agitação.....	119
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
6.1 Ensaio da demanda de cloro	120
6.1.1 <i>Microcystis aeruginosa</i> (30 min e 24 h).....	120
6.1.2 <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (30 min e 24 h)	122
6.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE TAMs.....	124
6.2.1 Otimização das condições de extração.....	124
6.2.2 Otimização das condições cromatográficas.....	124
6.2.3 Parâmetros de validação analítica	125
6.2.3.1 Curva analítica e linearidade	129
6.2.3.2 Precisão.....	129
6.2.3.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ).....	129
6.2.3.4 Seletividade	130
6.2.3.5 Exatidão.....	131
6.2.3.6 Robustez	132
6.2.4 Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura.....	132
6.3 Validação do método para quantificação de AHAs	137
6.3.1 Otimização das condições de extração.....	137
6.3.2 Otimização das condições cromatográficas.....	137
6.3.3 Parâmetros de validação analítica	140
6.3.3.1 Curva analítica e linearidade	148
6.3.3.2 Precisão.....	148
6.3.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ).....	148
6.3.5 Seletividade	149

6.3.6 Exatidão.....	151
6.3.7 Robustez	151
6.3.8 Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura.....	151
6.4 Formação de TAMs e AHAs após cloração de água contendo cianobactérias.....	160
6.4.1 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL ⁻¹ de <i>Microcystis aeruginosa</i>	160
6.4.2 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL ⁻¹ de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	160
6.4.3 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ de <i>Microcystis aeruginosa</i>	160
6.4.3.1 Formação de TAMs por meio da cloração de águas contendo <i>M. aeruginosa</i>	160
6.4.3.2 Formação de AHAs por meio da cloração de águas contendo <i>M. aeruginosa</i>	165
6.4.4 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> .	169
6.4.4.1 Formação de TAMs por meio da cloração de águas contendo <i>C. raciborskii</i>	169
6.4.4.2 Formação de AHAs por meio da cloração de águas contendo alta densidade <i>C. raciborskii</i>	170
6.5 Ensaio de adsorção por carvão ativado granular e agitação	173
7 CONCLUSÕES.....	175
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	177
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	178
APÊNDICE A - Estudos relacionados à formação dos subprodutos após cloração de matéria orgânica natural e algal	206
APÊNDICE B – Cromatogramas trihalometanos	208
APÊNDICE C – Cromatogramas ácidos haloacéticos	221
APÊNDICE D – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^4$ células.mL ⁻¹ de <i>Microcystis aeruginosa</i> com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso	231
APÊNDICE E – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ de <i>Microcystis aeruginosa</i> com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso	232
APÊNDICE F – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^4$ células.mL ⁻¹ de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso	233
APÊNDICE G – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ de <i>Cylindrospermopsi raciborskii</i> com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso	234
Anexo A – CERTIFICADO DE REFERÊNCIA DE MATERIAIS	235

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Principais subprodutos formados no tratamento de água utilizando cloro	38
Tabela 4.2	Trihalometanos, fórmula química e abreviatura	39
Tabela 4.3	Valores máximos permissíveis (VMP) para TAM _T	40
Tabela 4.4	Classificação e descrição do potencial de carcinogenicidade dos TAMs	42
Tabela 4.5	Nomenclatura, fórmula química e abreviatura dos AHAs	54
Tabela 4.6	Valores máximos permissíveis (VMP) para AHAs	56
Tabela 4.7	Classificação sobre potencial carcinogênicos dos TAMs segundo USEPA e IARC	69
Tabela 4.8	Classificação sobre potencial carcinogênicos dos AHAs segundo USEPA e IARC	70
Tabela 4.9	Tabela de padrão de cianotoxinas na água para consumo humano	76
Tabela 4.10	Níveis de monitoramento de células de cianobactérias	76
Tabela 4.11	Gêneros e espécies de cianobactérias no cenário nacional e internacional	77
Tabela 4.12	Trabalhos sobre remoção de cianobactérias após etapas de clarificação	82
Tabela 4.13	Registro de florações da espécie <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	85
Tabela 4.14	Trabalhos sobre remoção de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> após etapas de clarificação	86
Tabela 4.15	Registro de florações da espécie <i>Microcystis aeruginosa</i>	88
Tabela 4.16	Trabalhos sobre remoção de <i>Microcystis aeruginosa</i> após etapas de clarificação	89
Tabela 5.1	Concentrações das amostras nos ensaios de remoção de TAM _s por carvão ativado granular domiciliar e agitação	117
Tabela 5.2	Concentrações das amostras nos ensaios de remoção de AHAs por carvão ativado granular domiciliar e agitação	118
Tabela 6.1	Tempo de retenção, íons monitorados (m/z) e massa molar dos TAMs	126
Tabela 6.2	Regressões lineares dos TAMs obtidas pelas curvas de calibração	126

Tabela 6.3	Parâmetros de validação dos TAMs – coeficiente de correlação e determinação, precisão, limite de detecção e quantificação	127
Tabela 6.4	Parâmetros de validação dos TAMs - Exatidão e ensaios de recuperação	128
Tabela 6.5	Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura (faixa linear, R, LD e LQ)	133
Tabela 6.6	Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura (precisão, ensaios de recuperação e seletividade)	134
Tabela 6.7	Tempo de retenção, íons monitorados (m/z), massa molar dos AHAs	140
Tabela 6.8	Regressões lineares dos AHAs obtidas pelas curvas de calibração (MCAA, MBBA, DCAA e TCAA)	141
Tabela 6.9	Regressões lineares dos AHAs obtidas pelas curvas de calibração (BCAA, DBAA, BDCAA, DBCAA e TCAA)	141
Tabela 6.10	Parâmetros de validação dos AHAs (MCAA, MBAA, DCAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação	142
Tabela 6.11	Parâmetros de validação dos AHAs (TCAA, BCAA, DBAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação	143
Tabela 6.12	Parâmetros de validação dos AHAs (BDCAA, DBCAA, TBAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação	144
Tabela 6.13	Parâmetros de validação dos AHAs (MCAA, MBAA, DCAA) - Exatidão e ensaios de recuperação	145
Tabela 6.14	Parâmetros de validação dos AHAs (TCAA, BCAA, DBAA) - Exatidão e ensaios de recuperação	146
Tabela 6.15	Parâmetros de validação dos AHAs (BDCAA, DBCAA, TBAA) - Exatidão e ensaios de recuperação	147
Tabela 6.16	Comparação dos resultados analíticos de AHAs com trabalhos da literatura (faixa linear, R, LD e LQ, precisão, ensaios de recuperação e seletividade)	152
Tabela 6.17	Formação de TAMs após cloração de água contendo <i>Microcystis aeruginosa</i> ($1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ ; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)	161
Tabela 6.18	Formação de AHAs após cloração de água contendo <i>Microcystis aeruginosa</i> ($1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ ; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)	166
Tabela 6.19	Formação de TAMs após cloração de água contendo da <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> ($1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ ; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio; 30 min; 24 h)	169

Tabela 6.20	Formação de AHAs após cloração de água contendo <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> ($1,0 \times 10^6$ células.mL ⁻¹ ; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)	171
Tabela 6.21	Ensaio de adsorção por carvão ativado granular e agitação	173

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1	Formação (%) do íon hipoclorito e ácido hipocloroso em função do pH	35
Figura 4.2	CR estimada de TAM _T para consumo, inalação e contato dérmico para: esquerda, homens e direita, mulheres	45
Figura 4.3	Potencial de formação de SOHs em tempos de contato de 30 min, 7 dias de água e um branco em amostras contendo algas	49
Figura 4.4	Variação sazonal nas concentrações de TAMs em amostras de água da torneira	50
Figura 4.5	Formação de TAMs em função da temperatura da reação (tempo de contato 0,5 h, pH 7)	51
Figura 4.6	Efeito de íon brometo na formação de TAMs e TAM _T totais (esquerda) a amostra A e (direita) a amostra B. Condições de análise: pH 7, tempo 30 min, temperatura 20°C, doses Cl ₂ 15 mg.L ⁻¹ (esquerda) e 12 mg.L ⁻¹ (direita)	53
Figura 4.7	Concentrações médias de diferentes categorias de SOHs em (a) Piscina A, (b) Piscina B, e (c) Piscina C - M, e (d) concentrações médias de diferentes categorias de SOHs	57
Figura 4.8	Influência do pH em distintas amostras de efluentes na formação de AHAs ₉	60
Figura 4.9	Efeito do tempo de contato na formação dos AHAs ₉	62
Figura 4.10	Variações temporais do DCAA, TCAA dentro da estação de tratamento de Quebec	63
Figura 4.11	Variação sazonal nas concentrações de AHAs ₅ , DCAA e TCAA em amostras de água da torneira	63
Figura 4.12	Relação da temperatura com a formação dos AHAs	64
Figura 4.13	Gêneros de cianobactérias	72
Figura 4.14	Floração de cianobactérias	73
Figura 4.15	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	83
Figura 4.16	<i>Microcystis aeruginosa</i>	87
Figura 5.1	Representação cultivo <i>Microcystis aeruginosa</i> (a) e <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (b); Imagens obtidas pelo software ISCapture V3.6 do microscópio Nikon Eclipse E200: <i>Microcystis aeruginosa</i> (c) e <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (d)	105

Figura 5.2	Condição de cultivo das espécies de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> e <i>Microcystis aeruginosa</i>	105
Figura 5.3	Processo de repicagem em Erlenmeyer de 6L. À esquerda, <i>Microcystis aeruginosa</i> e à direita, <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	106
Figura 5.4	Determinação de D1 e D2 utilizadas nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs - <i>Microcystis aeruginosa</i>	107
Figura 5.5	Determinação de D1 e D2 nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs - <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	108
Figura 5.6	Fluxograma representativo das doses escolhidas nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs para a <i>Microcystis aeruginosa</i> . D1: Dose 1, D2: Dose 2	109
Figura 5.7	Fluxograma representativo das doses escolhidas para os ensaios de determinação de TAMs e AHAs para a <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> D1: Dose 1, D2: Dose 2	110
Figura 5.8	Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrometria de Massas (CG-EM)	111
Figura 5.9	Representação da fase orgânica e aquosa – Extração dos TAMs	113
Figura 5.10	(a) Extração dos AHAs; (b) Extrato obtido após a etapa de derivatização	116
Figura 5.11	(a) Aparato para os ensaios por adsorção por filtro de carvão ativado granular domiciliar (b) Vela de carvão ativado	119
Figura 5.12	Shaker utilizado no processo de agitação	119
Figura 6.1	Fluxograma das doses escolhidas (D1 e D2) para <i>Microcystis aeruginosa</i>	121
Figura 6.2	Fluxograma das doses escolhidas (D1 e D2) para <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	123
Figura 6.3	Cromatograma modo TIC da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, obtido por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 µg.L ⁻¹	124
Figura 6.4	Cromatogramas modo TIC e SIR obtidos da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 µg.L ⁻¹ (A - SIR 2, TCM; B - SIR 3, fluorbenzeno; C - SIR 4, BDCM; D - SIR 5, DBCM; E - SIR 6, TBM)	125
Figura 6.5	Cromatograma modo TIC obtido do teste de seletividade do método analítico proposto de TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, advindo de injeção da extração de um padrão na concentração 200 µg.L ⁻¹	130

Figura 6.6	Cromatogramas modo TIC e SIR obtido do teste de seletividade do método analítico proposto para os TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, advindo de injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 µg.L ⁻¹ (A - SIR 2, TCM; B -SIR 3, fluorbenzeno; C - SIR 4, BDCM; D - SIR 5, DBCM; E - SIR 6, TBM)	131
Figura 6.7	Cromatograma modo TIC da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, obtido por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 80-800 µg.L ⁻¹	138
Figura 6.8	Cromatogramas modo TIC e SIR da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, obtido por injeção a partir de uma extração na concentração 80-800 µg.L ⁻¹ (A - SIR 2, MCAA; B - SIR 3, MBAA; C - SIR 4, DCAA; D - SIR 5, TCAA; E - SIR 6, BCAA; F - SIR 7, 1,2,3 - tricloropropano, G - SIR 8, DBAA; H - SIR 9, BDCAA; I - SIR 10, DBCAA; J - SIR 2, TBAA)	139
Figura 6.9	Cromatograma modo TIC obtido do teste de seletividade do método analítico proposto de AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, advindo de injeção da extração de um padrão na concentração 80-800 µg.L ⁻¹	149
Figura 6.10	Cromatogramas modo TIC e SIR da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano obtido por injeção a partir de uma extração na concentração 80-800 µg.L ⁻¹ (A - SIR 2, MCAA; B - SIR 3, MBAA; C - SIR 4, DCAA; D - SIR 5, TCAA; E - SIR 6, BCAA; F - SIR 6, 1,2,3 - tricloropropano, G - SIR 8, DBAA; H - SIR 9, BDCAA; I - SIR 10, DBCAA; J - SIR 2, TBAA)	150
Figura 6.11	Comparação da interferência nos cromatogramas (m/z) nos AHAs no uso de H ₂ SO ₄ destilado	157
Figura 6.12	Espectro obtido do MCAA advindo por extração/metilação ácida com H ₂ SO ₄ não destilado H ₂ SO ₄ (a) e destilado (b). Espectro obtido do BDCAA por extração/metilação ácida com H ₂ SO ₄ não destilado H ₂ SO ₄ (c) e destilado (d)	158
Figura 6.13	Espectro obtido do DBCAA advindo por extração/metilação ácida com H ₂ SO ₄ não destilado H ₂ SO ₄ (e) e destilado (f). Espectro obtido do TBAA advindo por extração/metilação ácida com H ₂ SO ₄ não destilado H ₂ SO ₄ (g) e destilado (h)	159

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	Água para abastecimento público
°C	Graus célsius
$\mu\text{g.mL}^{-1}$	Microgramas por mililitro
AHAs	Ácidos Haloacéticos
AHAS ₃	Soma de BDCAA, DBCAA e TBAA
AHAS ₅	Soma de MCAA, MBAA, DCAA, DBAA e TCAA
AHAS ₆	Soma de MCAA, MBAA, DCAA, DBAA, TCAA e BCAA
AHAS ₉	Soma de AHAS ₃ + AHAS ₆
AHAS _{PF}	Potencial de formação de Ácidos Haloacéticos
AHA _T	Ácido Haloacético totais
ANB	Água não destinada para o abastecimento público
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	<i>AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater</i>
BCAA	Ácido bromocloroacético
BCIM	Bromocloroiodometano
BDCAA	Ácido bromodicloroacético
BDCM	Bromodiclorometano
BDIM	Bromodiiodometano
BIAA	Ácido bromoiodoacético
C	Coagulação
DBCAA	Ácido Dibromocloroacético
CDIM	Clorodiiodometano
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CG–DCE	Cromatografia a gás por captura de elétrons
CG–EM	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa
CIAA	Ácido cloroiodoacético

COPASA	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
CP1	Pré-filtração ascendente 1
CP2	Pré-filtração ascendente 2
CP3	Pré-filtração ascendente 3
CR	<i>Lifetime Cancer Risk</i> ou <i>Lifetime</i>
CRC	Cloro residual combinado
CRL	Cloro residual livre
DALAPON	2,2 – Dicloropropiônico
DBCM	Dibromoclorometano
DBIM	Dibromoiodometano
DCAA	Ácido dicloroacético
DCE	Detector de captura de elétrons
DCIM	Dicloroiodometano
DF	Dupla filtração
DIAA	Ácido diiodoacético
DIC	Detector de ionização por chama
EBCT	<i>Empty-bed contact time,</i>
EFS	Extração em fase sólida
ELL	Extração líquido-líquido
ELL-CG-EM	Extração líquido-líquido cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa
EM	Espectrometria de massas
ETA	Estação de Tratamento de Água
eV	Eletronvolt (energia de ionização)
F	Floculação
FAP	Filtração ascedente em pedregulho
FC	Filtro convencional
FCAR	Filtro de carvão ativado residencial
FDD	Filtração direta descendente

FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
FLA1	Filtração lenta ascendente 1
FLA2	Filtração lenta ascendente 2
FtAD	Flotação por ar dissolvido
h	Hora
HADs	Haloaldeídos
HCs	Haleto cianogênicos
HFs	Halofenóis
HKs	Halocetonas
HPs	Halopirinas
HS	<i>Headspace</i>
ICH	<i>Human Use</i>
LLE	<i>Liquid- Liquid Extration</i>
m/z	íons monitorados
MBAA	Ácido dibromoacético
MCAA	Ácido monobromoacético
MEFS	Microextração em fase sólida
mg.L ⁻¹	Miligramas por litro
MIB	2-metil-isoborneol
min	Minuto
mL	Mililitro
mL.min ⁻¹	Mililitro por min
MOA	Matéria orgânica algogênica
MOE	Matéria orgânica extracelular
MOI	Matéria orgânica intracelular
MON	Matéria orgânica natural
MS	<i>Mass Spectrometer</i>
MS ₁	Ministério da Saúde
MTBE	<i>Methyl tert-butyl ether</i>

P&T	<i>Purge and Trap</i>
PO	Pré-oxidação
RSD	Desvio padrão relativo
RSSCT	<i>Rapid smallscale column tests</i>
S	Sedimentação
SIR	<i>Surface-induced reaction</i>
SOHs	Subprodutos orgânicos halogenados
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	<i>Solid Phase Micro-Extraction</i>
TAMs	Trihalometanos
TAM _{SPF}	Potencial de formação de trihalometanos
TAM _T	Trihalometanos totais
TBAA	Ácido tribromoacético
TBM	Tribromometano
TCAA	Ácido tricloroacético
TCM	Triclorometano
TIC	<i>Total ion current</i>
TIM	Triiodometano
TraceCERT®	Material de padrão certificados Sigma
<i>trap</i>	Íon <i>trap</i> (armadilha de íons)
USEPA	U.S. Environmental Protection Agency
<i>vial</i>	Frasco <i>vial</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

1 INTRODUÇÃO

As águas destinadas ao consumo humano, no Brasil, devem adequar-se a determinadas características físicas, químicas, biológicas e radiológicas para que possa atender aos padrões de qualidade estabelecidos pela Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (MS₁), que dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância de qualidade da água para consumo humano e padrão de potabilidade (BRASIL, 2011). Em complementaridade, necessitam também ser submetidas a processos de desinfecção com o objetivo de promover a inativação de micro-organismos prejudiciais à saúde. Neste contexto, a utilização de oxidantes químicos tem merecido a atenção dos pesquisadores.

Os oxidantes químicos são utilizados no tratamento de água visando à inativação de patógenos, à oxidação de espécies inorgânicas reduzidas como ferro, manganês, sulfetos e compostos causadores de gostos e odores e, à redução da cor. O principal agente oxidante utilizado nas Estações de Tratamento de Água (ETA) é o cloro, devido ao seu baixo custo, praticidade de aplicação, residual persistente e efetividade na inativação de micro-organismos patogênicos quando comparados aos demais oxidantes.

Apesar dos benefícios no processo de controle de patógenos, estudos demonstram que a utilização do cloro pode contribuir para a formação de subprodutos orgânicos halogenados (SOHs) indesejados, tais como os trihalometanos (TAMs) e ácidos haloacéticos (AHAs), quando há presença de matéria orgânica natural (MON) na água. A MON pode ser derivada da decomposição da vegetação terrestre, aquática e matéria orgânica algogênica (MOA), composta por algas e cianobactérias. Outros subprodutos potencialmente prejudiciais à saúde humana decorrentes da cloração da água também são relatados na literatura, como os haloaldeídos (HADs), halocetonas (HKs), halofenóis (HFs), halopicrinas (HPs) e tricloronitrometano (TCNM). (LEGAY *et al.*, 2010; FLORENTIN *et al.* 2011; BUTIÃO, 2011; LIMA, 2014; CARDADOR *et al.*, 2015).

Pesquisas indicam que TAMs e AHAs, assim como os outros subprodutos mencionados no parágrafo anterior, são potenciais agentes carcinogênicos e, além das substâncias orgânicas às quais tradicionalmente se atribui a sua formação, as cianobactérias também se constituem em importantes precursores de formação desses subprodutos (FUNASA, 2007; MA *et al.*, 2012a;

ZAMYADI *et al.*, 2012; CORAL *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014).

Soma-se ainda aos fatores anteriormente citados a questão dos metabólitos produzidos pelas cianobactérias, dos quais as cianotoxinas, parte da matéria orgânica intracelular (MOI) destacam-se como indesejáveis, devido às características químicas que apresentam. Elas são responsáveis por problemas relacionados à qualidade da água, podendo conferir gosto e odor e, além de serem alergênicas e tóxicas, ainda podem apresentar relação com a formação de subprodutos quando submetidas à cloração. (CORAL, 2009; MA *et al.*, 2012a; ZAMYADI *et al.*, 2012; CORAL *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014).

Florações de cianobactérias tóxicas em ambientes de água doce e/ou marinhos são comuns em todo mundo, podendo formar densas camadas de células com vários centímetros de profundidade na superfície dos corpos d'água. A carga de nutrientes, o tempo de retenção da água, a estratificação e a temperatura são os fatores que influenciam a formação e a intensidade de florações. Ademais, são responsáveis também por alterações operacionais nos sistemas de tratamento de água. A Resolução Conama nº 357/2005 (BRASIL, 2005) contempla o monitoramento destes organismos, assim como a mencionada Portaria 2914 (BRASIL, 2011), que estabelece que os responsáveis por ETA para abastecimento público devem realizar monitoramento de cianobactérias e controle de cianotoxinas nos mananciais superficiais quando a densidade for superior a $2,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹, no ponto de captação.

A revisão da Portaria nº 518/2004 (BRASIL, 2004), realizada no período de 2009 a 2011, sob a coordenação do Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador, da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e que deu origem à Portaria 2914, motivou a proposta da presente pesquisa, ao tornar obrigatória a quantificação dos AHAs que, juntamente com os TAMs, são os principais subprodutos indesejados formados a partir da reação do cloro com compostos orgânicos naturais. Há poucos estudos específicos desenvolvidos com o objetivo de avaliar a influência da matéria orgânica algogênica (MOA), com foco em cianobactérias, na formação de TAMs e, especialmente, de AHAs, em condições de pH, tempo de contato e temperatura da água, para diferentes doses de oxidantes. Nesse cenário, destacam-se os gêneros *Microcystis* e *Cylindrospermopsis*, que apresentam ampla distribuição geográfica no Brasil. A *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* são consideradas espécies tóxicas amplamente distribuídas no Brasil (MELCHER, 2004; SANT'ANNA *et al.*, 2008;

ARAGÃO, 2011; BARROS *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2013) e também mencionadas na literatura internacional (DIV *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012; ISAACS *et al.*, 2013; RZYMSKI e PONIEDZIAŁEK, 2014; WILLIS *et al.*, 2016; LEHMAN *et al.*, 2017; OEHRLE *et al.*, 2017).

De modo geral, pode-se determinar SOHs pela técnica de cromatografia e, por estarem em baixas concentrações, recomenda-se uma etapa de pré-concentração. Podem ser isolados da matriz aquosa pelas técnicas de *headspace* (HS), de *purge and trap* (P&T) ou de extração líquido-líquido (ELL), seguidas pela determinação por cromatografia a gás por captura de elétrons (CG – DCE) ou cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa (CG–EM). Autores mencionam também o detector de ionização por chama (DIC) para a determinação dos compostos. (USEPA, 1995a ; USEPA, 1995b; NIKOLAU *et al.*, 2002; CULEA *et al.*, 2006; PEREIRA, 2007; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009; ALLARD *et al.* 2012).

Os SOHs não voláteis, como os AHAs, podem também ser analisados por CG, porém, em virtude de suas características fortemente ácidas e hidrofílicas (cerca de 99,99% dos AHAs estão na forma dissociada em íon haloacetato em água potável). Torna-se, assim, necessária uma etapa prévia de derivatização (esterificação ácida, técnica pela qual se transforma por metilação ácida, um ácido em éster volátil, o mesmo que uma substância em outra derivada, por meio de reação química) (USEPA, 1995b; XIE, 1998; XIE, 2001; XIE *et al.*, 2002; LIU e MOU, 2004a; SHUCK, 2004; da SILVA, 2010). O desenvolvimento, otimização e validação de métodos analíticos simples, sensíveis e com espaço de resposta mais curto são essenciais ao monitoramento de TAMs e, principalmente, para AHAs, devido à recente inclusão dos últimos no padrão de potabilidade brasileiro.

A remoção de precursores e/ou a utilização de oxidantes alternativos são técnicas empregadas para controle da formação de SOHs, no entanto, são de difícil aplicação e podem formar outros subprodutos de efeitos ainda desconhecidos. A alternativa para solucionar este problema é a aplicação de técnicas para a remoção dos subprodutos, mesmo que inevitavelmente formados em situações específicas, como adsorção em carvão ativado (pó ou granular), aeração, agitação, membranas, dentre outras (CRINI, 2006; UYAK *et al.*, 2008; KRASNER, 2009; CUNHA, 2010).

Desse modo, torna-se relevante investigar a formação dos SOHs, como os TAMs e os AHAs, utilizando-se espécies de cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis*

raciborskii em condições experimentais, buscando reproduzir o efeito da cloração em florações típicas encontradas em sistemas de abastecimento no Brasil e, em número de células quando submetidas à etapa de desinfecção, uma vez que a literatura sobre o tema ainda é recente e escassa. Também é importante observar, sob condições recorrentes no Brasil, a influência da temperatura, tempo de contato, pH e diferentes tipos de oxidantes, parâmetros frequentemente mencionados na literatura, essenciais à formação dos TAMs e AHAs.

Por fim, torna-se primordial avaliar a eficiência de técnicas de baixo custo como adsorção de carvão ativado e agitação para remoção e controle dos TAMs e AHAs, assim como validar procedimentos de análise dos compostos por meio da ELL-CG-EM (extração líquido-líquido, cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa), técnica de detecção de simples preparo de amostra, com custos compatíveis para aplicação em centros de análise responsáveis pelos subprodutos de catalogação obrigatória prevista pela atual Portaria 2914 (BRASIL, 2011).

2 HIPÓTESES

1) Diferentes doses de cloro associadas à densidade ($1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ - recorrentes após clarificação e, $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ - usuais em mananciais de abastecimento eutrofizados) das cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, amplamente reportadas na literatura, influenciam na formação de subprodutos tais como os TAMs e AHAs.

PREMISSA: Cianobactérias, parte importante da matéria orgânica natural presente em águas captadas para o abastecimento público, ao serem oxidadas à base de cloro, podem acarretar a formação de TAMs e AHAs, subprodutos de maior relevância no tratamento de águas para abastecimento, uma vez que possuem possível efeito carcinogênico.

2) Os parâmetros temperatura, pH e tempo de contato sob a ação dos oxidantes químicos hipoclorito de cálcio e cloro gasoso em águas contendo *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* influenciam na formação de TAMs e AHAs.

PREMISSA: As espécies *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* são de ampla ocorrência no Brasil e presentes em mananciais de água doce superficiais. Não obstante, são pouco reportadas na literatura a influência dessas espécies e o entendimento na formação de TAMs e AHAs, sob condições recorrentes no Brasil de temperatura da água (25°C e 30°C), pH (6,5 e 8,5) e tempo de contato (30 min e 24 h), utilizando os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso.

3) A adsorção por carvão ativado granular e a agitação após tratamento podem ser estratégias de remoção de TAMs e AHAs.

PREMISSA: As técnicas conhecidas para a remoção e/ou controle dos TAMs e AHAs, fundamentadas na possibilidade de remoção de precursores naturais (MON) ou na substituição dos oxidantes à base de cloro, tornam-se, muitas vezes, inviáveis do ponto de vista econômico. O uso de técnicas simples e menos onerosas, como a agitação (na rede de distribuição) e adsorção por filtro de carvão ativado granular (ponto de consumo), constitui alternativa para minimizar possíveis prejuízos à saúde da população quando em contato com os subprodutos mencionados. Ressalta-se ainda que existe uma lacuna nos estudos que relacionam as técnicas citadas com a remoção e/ou controle de subprodutos para os AHAs, visto que as pesquisas, em sua grande maioria, direcionam-se aos TAMs.

4) O método analítico por ELL-CG-EM pode ser aperfeiçoado e utilizado para a análise de TAMs e AHAs, em substituição a outras metodologias tradicionais.

PREMISSA: Métodos para a determinação destes compostos têm sido frequentemente estudados e aperfeiçoados. Embora o CG-DCE (cromatografia gasosa por detector captura de elétrons) seja a base dos Métodos da USEPA, adaptações de metodologias para detecção por CG-EM (cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas) pela ELL podem ser empregadas para simplificação da análise. Na extração dos TAMs por ELL pode-se dispensar etapas de extração mais onerosas, como o HS e P&T. Para os AHAs, o uso de substâncias de alto grau de pureza, como o H₂SO₄, após o processo de destilação, pode influenciar positivamente a etapa de metilação ácida e melhorar a sensibilidade de detecção de alguns compostos, como o MCAA e espécies bromadas. Porém, para que um método seja utilizado, ressalta-se a necessidade de análise de parâmetros para validação de métodos de separação. Para tal, incluem-se curva analítica, linearidade, seletividade, recuperação, limite de detecção, limite de quantificação e robustez, também conhecidos como parâmetros de desempenho analítico.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Avaliar, em escala de bancada, a influência da cloração de águas contendo espécies de cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* na formação de TAMs e AHAs.

3.2 *Objetivos específicos*

- Validar um método analítico por ELL-CG-EM para análise de TAMs e AHAs;
- Analisar a formação de TAMs e AHAs em função da dose de cloro, após ensaios de demanda de cloro em densidades $1,0 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*;
- Analisar a influência dos parâmetros temperatura, pH, tempo de contato na formação de TAMs e AHAs após oxidação com hipoclorito de cálcio e cloro gasoso;
- Avaliar o emprego da adsorção em carvão ativado granular e da agitação como estratégias de controle de TAMs e AHAs.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Cloro como agente oxidante no processo de tratamento de água

Os oxidantes químicos são frequentemente utilizados para inativação de micro-organismos no tratamento de água. Pode-se citar como exemplos, o cloro gasoso, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, ácido peracético, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, ozônio, cloraminas e radiação ultravioleta. De acordo com Mondardo (2004), Di Bernardo e Paz (2008) e Libânio (2010), os compostos penetram através da membrana celular dos micro-organismos e atacam os constituintes celulares de importância vital, alterando a estrutura e organização das células, além de promover a inativação de enzimas importantes para o metabolismo dos micro-organismos, interferindo na biossíntese de macromoléculas, como ácidos nucleicos e proteínas, impossibilitando a sobrevivência dos mesmos.

Para a definição do oxidante a ser empregado, os seguintes critérios são de extrema relevância (LIBÂNIO, 2010):

- Capacidade de inativação de ampla margem de patogênicos nos tempos de contato usuais no tratamento de água;
- Menor susceptibilidade às variações de temperatura e de outras características da água;
- Disponibilidade a custo acessível, inclusive para sistemas de pequeno porte, e facilidade de aplicação e de acondicionamento;
- Não confere toxicidade à água de consumo ou outras características que suscitem a rejeição pela população abastecida;
- Capacidade de conferir residual que favoreça o monitoramento da qualidade da água e minimize o crescimento microbiológico nas redes de distribuição e reservatórios;
- Disposição de técnicas precisas de determinação das concentrações aplicadas e de fácil execução.

Nesse sentido, por atender de forma eficiente a todos os critérios citados anteriormente, o cloro, sob diversas formas, tornou-se o oxidante mais difundido no tratamento de água. A preponderância de certa forma tem favorecido a identificação do processo como cloração que,

segundo Di Bernardo e Paz (2008) e Libânio (2010), tornou-se essencial no tratamento de água, tendo como objetivo inativar ou eliminar micro-organismos patogênicos, causadores de graves enfermidades no homem, seja ao longo das tubulações da rede de distribuição ou mesmo nos reservatórios domiciliares dos pontos de consumo. Alcançam-se, desta maneira, condições dentro da legislação, além de remover, por exemplo, a matéria orgânica dissolvida causadora de cor, odor e gosto na água.

O cloro é um gás amarelo esverdeado, pertence ao Grupo 17 da tabela periódica, também denominado halogênio. Foi descoberto em 1774 por Carl Wilhelm Scheele em uma reação de ácido clorídrico com dióxido de manganês, e em 1808, Humprey Davy reconheceu-o como um novo elemento. Inicialmente, utilizou-se o cloro no tratamento de água para conter casos de epidemias, como a cólera que ocorreu em 1831 na Europa, como agente profilático. Com relação àquela época, há relatos sobre seu uso como germicida, em 1846. Em 1854, começou a se disseminar pelos sistemas de abastecimento de água, após o médico inglês, John Snow, comprovar empiricamente a relação intrínseca entre a água consumida e a transmissão de cólera. No fim do século XIX, a geração eletrolítica do cloro e de formas de hipoclorito tornou-se economicamente viável, possibilitando seu uso nos processos finais de tratamento, popularmente conhecido como desinfecção (LIBÂNIO, 2010).

Em 1881, o bacteriologista Koch, demonstrou em condições de laboratório, as propriedades bactericidas do cloro. A posteriori, em 1886, o uso do cloro como oxidante foi aprovado pela *American Public Health Association* (APHA) (MONDARDO, 2004; BUTIÃO, 2011). Com a necessidade de um agente químico eficaz para desinfecção de águas para abastecimento público no início do século XIX, os Estados Unidos começaram a utilizar o cloro no processo de tratamento de água de Chicago, Nova Jersey, Nova Iorque, Cleveland, entre outras cidades. A prática da pós-cloração (desinfecção da água por adição de hipoclorito ou de cloro gasoso) das águas de abastecimento resultou numa drástica redução na incidência e mortalidade por doenças infecciosas naquele país entre 1900 e 1960 (DI BERNARDO e PAZ, 2008; RODRIGUES, 2014).

Na Europa, há registros do emprego intermitente de cloro nos sistemas de tratamento da cidade de Maidstone, Inglaterra, em 1897 (LIBÂNIO, 2010). A utilização ininterrupta na Bélgica (MEYER, 1994), assim como em Lincoln, Inglaterra, ocorreu em 1902 e 1905, respectivamente. A cloração teve início no Brasil em 1926 na cidade de São Paulo, como mecanismo eficiente para

combater a febre tifoide e outras doenças intestinais infecciosas (OLIVEIRA, 2009; BERTHOLINI *et al.*, 2011). Segundo os autores, a introdução do cloro (cloração) no processo de tratamento de água foi seguida de uma redução mundial notável na ocorrência de doenças como a cólera, disenteria e febre tifoide.

Em alguns sistemas de tratamento de água, há a necessidade de inserção de uma etapa de pré-cloração (pré-oxidação, popularmente conhecida como pré-desinfecção). É praticada em muitas estações de tratamento de água no Brasil, na qual se adiciona o cloro à água antes que a mesma seja submetida aos processos químicos e as operações unitárias do tratamento. Normalmente é utilizada quando há necessidade de oxidar metais (ferro e manganês), matéria orgânica e inativar micro-organismos de interesse, objetivando também, reduzir cor e compostos que causam gosto e odor na água quando necessário. A prática da cloração para oxidação de ferro e manganês é comum em diversas estações brasileiras, em particular, conforme Libânio (2010), na região do Quadrilátero Ferrífero, no estado de Minas Gerais.

Comercialmente, o cloro é aplicado na forma líquida ou gasosa. Comparando-se com hipoclorito de cálcio ou sódio, por economizar volumes ocupados dentro da estação e reduzir problemas logísticos no abastecimento dos oxidantes, o cloro gasoso é normalmente utilizado nas estações de grande porte. O cloro é dissociado, na forma de cloro livre ou como hipocloritos, combinando-se com a água para a formação do ácido hipocloroso (HClO) e do íon hipoclorito (OCl⁻), representados respectivamente pelas equações 4.1 e 4.2:



O HClO é um ácido fraco, que em solução aquosa se dissocia para formar o íon hidrogênio e o íon hipoclorito:



Libânio (2010) ressalva que com o aumento do pH, o HClO tem uma dissociação acelerada e conseqüentemente ocorre a formação de íon hipoclorito como mostra a Figura 4.1:

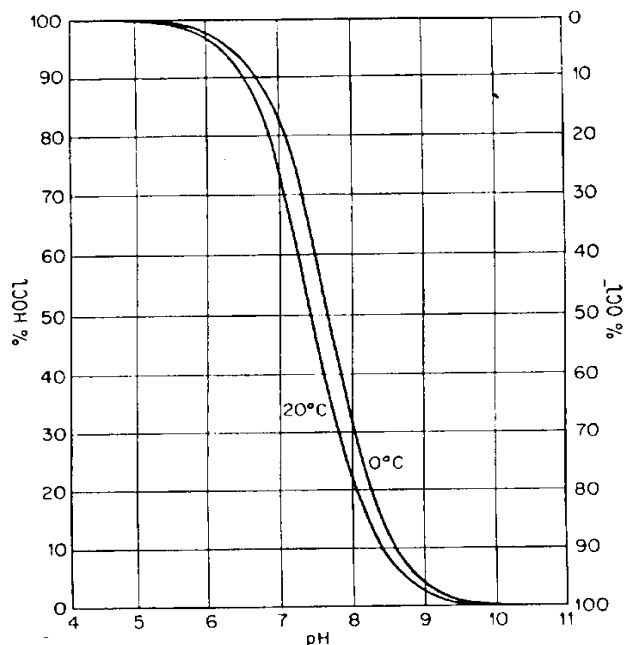


Figura 4.1 - Formação (%) do íon hipoclorito e ácido hipocloroso em função do pH
 Fonte: Libânio, 2010

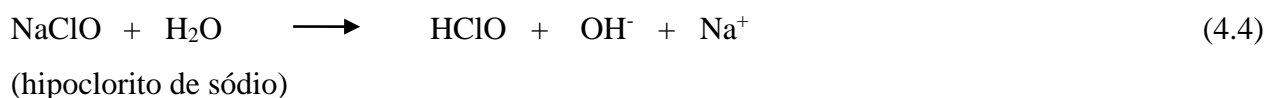
Tendo maior prevalência em baixos valores de pH, o HClO apresenta maior eficiência como agente oxidante do que o íon hipoclorito por ter baixo peso molecular e não possuir carga, características que facilitam a sua penetração nas células dos micro-organismos. Outros fatores, tais como a temperatura da água, concentração de cloro e tempo de contato, alteram a eficiência da cloração em uma relação direta (DI BERNARDO e PAZ, 2008).

Ao realizar a cloração, uma das premissas, segundo Libânio (2010), consiste em atender à demanda de cloro, definida como a diferença entre a dose aplicada e a concentração residual à saída do tanque de contato, em função da temperatura e pH da água. Sabe-se que a capacidade de oxidação com cloro não é seletiva e muitas substâncias, como amônia, ferro, manganês, sulfatos e matéria orgânica, podem inibir a ação oxidante para com os micro-organismos.

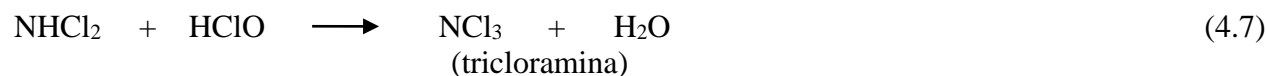
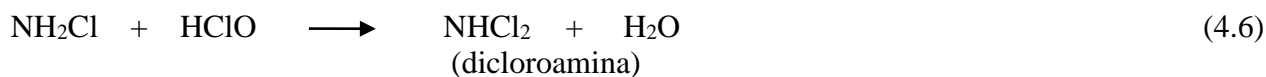
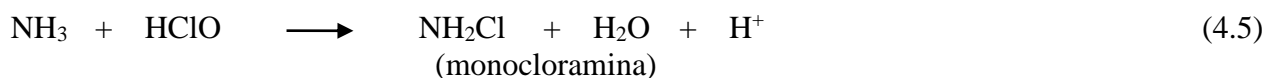
Com a supremacia do uso de cloro nos sistemas de maior porte, os hipocloritos de cálcio e de sódio passaram a ser utilizados em sistemas de menor porte. O primeiro é comercialmente encontrado na forma granulada ou em tabletes e possui maior quantidade de cloro disponível, na ordem de 65%. Mais estável que o hipoclorito de sódio, é preparado em tanques de resina ou polietilenos com agitadores e bombas dosadoras (DI BERNARDO e PAZ, 2008). A Equação 4.3 apresenta a formação do HClO a partir do hipoclorito de cálcio:



O hipoclorito de sódio é resultado da mistura de cloro gasoso em solução de hidróxido de sódio, apresenta pH entre 9 e 11 e teor de cloro entre 12 a 15% da massa. Recomendam-se cuidados com estocagem, pois a decomposição do cloro ativo inicial inicia-se após a mistura, inviabilizando a estocagem do produto durante tempos mais longos, podendo ser instalados sistemas de geração de solução dentro das estações de tratamento (DI BERNARDO e PAZ, 2008). A Equação 4.4 apresenta a formação do HClO a partir do hipoclorito de sódio:



Se a amônia ou compostos amoniacais estão presentes na água, o HOCl pode reagir e formar compostos, denominados cloraminas, que contribuem para a concentração do cloro residual combinado (CRC) (MEYER, 1994; LIBÂNIO, 2010). Estes compostos são resultantes da reação da amônia com o ácido hipocloroso, conforme equações 4.5, 4.6 e 4.7:



Portanto, o cloro total disponível constitui-se do somatório do cloro residual livre (CRL) (HClO + OCl⁻) com o CRC (pouco reativos com a matéria orgânica que traz um caráter mais estável na água). Apesar de possuírem baixo potencial oxidante em relação ao CRL, são adicionados posteriormente à água tratada para prevenir possíveis contaminações ao longo da rede de distribuição. Devido à fraca reatividade, as cloraminas originam em torno da metade de subprodutos organoclorados em relação aos que são produzidos a partir da adição do cloro (MEYER, 1994; LIBÂNIO, 2010).

No Brasil, é obrigatória a manutenção de CRL em redes públicas de abastecimento de água, conforme Portaria 2914 deve-se manter, no mínimo, $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de CRL ou 2 mg.L^{-1} de CRC ou de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de dióxido de cloro em toda a extensão do sistema de distribuição. Entretanto, recomenda-se teor de cloro residual abaixo de 2 mg.L^{-1} e pH entre 6,0 a 9,5.

4.2 Subprodutos orgânicos halogenados advindos da cloração no tratamento da água

A água bruta contém uma série de constituintes, entre elas, a matéria orgânica natural (MON), composta por uma mistura heterogênea de substâncias de ocorrência natural (precursores), incluindo substâncias húmicas e não húmicas. Os ácidos húmicos e fúlvicos, principais constituintes das substâncias húmicas, apresentam-se como importantes precursores dos subprodutos formados através de reações com o cloro. Dentre eles, estão os subprodutos halogenados e não halogenados, sendo os primeiros formados com a reação de compostos orgânicos e agentes oxidantes com cloro livre, bromo livre ou iodo livre. Os subprodutos não halogenados podem ser formados quando precursores reagem com outros tipos de oxidantes. Pode-se resumir a formação de SOHs por meio da Equação 4.8 e representados pela Tabela 4.1



Tabela 4.1 - Principais subprodutos formados no tratamento de água utilizando cloro

Trialometas (TAMs)	Triclorometano Bromodiclorometano Dibromoclorometano Tribromometano Dicloroiodometano Bromocloroiodometano Dibromoiodometano Clorodiiodometano Bromodiiodometano Triiodometano
Ácidos haloacéticos (AHAs)	Ácido monocloroacético Ácido monobromoacético Ácido dicloroacético Ácido dibromoacético Ácido tricloroacético Ácido tribromoacético Ácido bromocloroacético Ácido clorodibromoacético Ácido bromodicloroacético Ácido cloroiodoacético Ácido bromoiodoacético Ácido diiodoacético
Haloacetoneitrilas (HANs)	Dicloroacetoneitrila Tricloroacetoneitrila Dibromoacetoneitrila Tribromoacetoneitrila Bromocloroacetoneitrila
Haletos cianogênicos (HCs)	Cloro cianogênico Bromo cianogênico
Halopictinas (HPs)	Cloropictina Bromopictina
Haloacetonas (HKs)	1,1- dicloropropanona 1, 1,1- tricloropropanona 1,1- dicloro-2-butanona 3,3 - dicloro-2-butanona 1,1,1 - tricloro-2-butanona
Haloaldeídos (HADs)	Dicloroacetaldeído Tricloroacetaldeído (cloro hidrato)
Halofenóis (HFs)	2 - clorofenol 2,4 - diclorofenol 2,4,6 - triclorofenol
Tricloronitrometano (TCNM)	Tricloronitrometano

Fonte: Florentin *et al.* 2011, da Silva, 2010; Cardador *et al.*,2015

Pesquisas têm apontado a existência de vários efeitos na saúde humana e estudos epidemiológicos indicam que há relação com desenvolvimento de câncer resultante da exposição aos SOHs (HSU *et al.*, 2001; TOKMAK *et al.*, 2003; PORTER *et al.*, 2005; VILLANUEVA *et al.* 2006; WANG *et al.*,2007; BAYTAK *et al.*, 2008, USEPA, 2008; LEGAY *et al.*, 2010; USEPA, 2011; FLORENTIN *et al.* 2011; WHO, 2011; LEE *et al.*, 2013; RODRIGUES, 2014). Os mais importantes e conhecidos SOHs são os TAMs e AHAs, cujo monitoramento é obrigatório pela atual portaria brasileira de potabilidade.

4.3 Trialometanos – TAMs

Constituem uma das primeiras famílias de SOHs a serem descobertas na água e é a classe mais intensivamente estudada. Apresentam um átomo de carbono, em que três átomos de hidrogênio são substituídos por diferentes halogênios como o bromo, o cloro e o iodo. A fórmula geral dos TAMs pode ser representada por CHX_3 sendo que ‘X’ representa o elemento halogênio (cloro, bromo e/ou iodo). Os TAMs reportados na literatura estão apresentados na Tabela 4.2:

Tabela 4.2 – Trialometanos, fórmula química e abreviatura

Trialometano	Fórmula Química	Abreviatura
Triclorometano	$CHCl_3$	TCM
Bromodiclorometano	$CHBrCl_2$	BDCM
Dibromoclorometano	$CHBr_2Cl$	DBCIM
Tribromometano	$CHBr_3$	TBM
Dicloroiodometano	$CHCl_2I$	DCIM
Bromocloroiodometano	$CHBrClI$	BCIM
Dibromoiodometano	$CHBr_2I$	DBIM
Clorodiodometano	$CHClI_2$	CDIM
Bromodiodometano	$CHBrI_2$	BDIM
Triiodometano	CHI_3	TIM

Fonte: USEPA, 1996; Rodrigues, 2014; Cardador *et al.* 2015

Os TAMs são, em estado puro, substâncias líquidas (TCM e TBM) ou sólidas (TIM) à temperatura ambiente (10 a 30 °C); de odor característico (uns agradáveis e outros repulsivos); pouco solúveis em água, mas muito solúveis em substâncias orgânicas. Diversas agências estabelecem limites à exposição de TAMs devido a indícios de riscos à saúde humana. A Agência

de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*U.S. Environmental Protection Agency*, USEPA) estabeleceu de maneira preventiva, em 1979, o limite máximo permitido de TAMs totais (TAM_T, soma algébrica de TCM; BDCM; DBCM e TBM) na água potável em 100 µg.L⁻¹ tendo por base experiências realizadas em 113 ETAs. Este valor foi alterado para 80 µg.L⁻¹ em 1998, com base em 29 novas evidências de características carcinogênicas desses compostos e levando-se em consideração avaliações de risco de exposição (USEPA, 1996a; USEPA, 1998; WHO, 2011). Os mais frequentes na água, e por isso objeto de controle através de normas de qualidade da água cada vez mais restritivas, são o TCM, BDCM, DBCM e TBM. Diversos países têm então estabelecido o monitoramento de TAM_T no tratamento de água potável como mostrado na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Valores máximos permissíveis (VMP) para TAM_T

País	VMP para TAM _T (µg.L ⁻¹)
Alemanha	50
USEPA	80
Brasil	100
Canadá	100
França	100
Holanda	100
Portugal	100
União Europeia	100
México	200

Fonte: USEPA, 1998; UE, 1998; UmweltBundessamt, 2001; WHO, 2011; HEALTH CANADA, 2014; Rodrigues, 2014

A despeito dos limites citados, observa-se significativa discrepância entre os valores nos países desenvolvidos. A *World Health Organization* (WHO), na 4ª edição do guia para orientações de qualidade da água potável, ainda define um limite para cada um dos TAMs, na qual a concentração máxima permitida de TCM, BDCM, DBCM e TBM são, respectivamente, 300 µg.L⁻¹, 60 µg.L⁻¹, 100 µg.L⁻¹ e 100 µg.L⁻¹ (WHO, 2011). O mesmo acontece para a norma do Japão (JWWA, 2009), sendo mais restritiva que a WHO, com valores 60 µg.L⁻¹, 30 µg.L⁻¹, 10 µg.L⁻¹ e 90 µg.L⁻¹. À semelhança do que ocorre com a legislação internacional, países como a Alemanha fixam ainda um limite máximo de TCM no valor total de TAM_T (RODRIGUES, 2014). No Brasil, a concentração máxima de TAM_T, 100 µg.L⁻¹, foi estabelecida pela Portaria do

Ministério da Saúde nº 36 em 1990, sendo mantida nas Portarias nº 1496 e 518. Tal valor foi reafirmado pela Portaria 2914, contando ainda com o acréscimo do parâmetro AHAs.

Uma medida frequentemente usada para avaliar a formação de TAMs é conhecida como potencial de formação de TAMs (TAM_{SPF}), relacionado com a medida indireta da quantidade do material precursor total que está na água em um dado ponto do sistema em estudo, como manancial ou mesmo uma estação de tratamento. Portanto, se a água apresenta um alto TAM_{SPF} , é porque ela apresenta características propícias para a formação de TAMs. No *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* existem ensaios que auxiliam em pesquisas qualitativas e quantitativas em relação aos TAMs. O TAM_{SPF} (pH 7,0; 25°C; 7 dias de incubação com 3-5 mg.L⁻¹ de CRL) é normalmente utilizado para comparar o potencial de formação de TAMs entre mananciais ou sistemas de tratamento diferentes entre países do hemisfério norte (APHA, 2012).

4.3.1 Aspectos toxicológicos e riscos à saúde em águas destinadas ao consumo humano

O primeiro pesquisador a levantar o problema acarretado com o uso do cloro em ETA e seus efeitos negativos sobre a saúde humana foi R. H. Harris, na década de 70. Indicações pioneiras da possibilidade da correlação entre a água destinada ao abastecimento e o câncer foram fornecidas por ele. Desde a identificação do TCM, os TAMs permanecem como um dos mais problemáticos grupos de subprodutos orgânicos existentes em águas oxidadas com compostos clorados, por apresentarem efeitos carcinogênicos (MEYER, 1994; FUNASA, 2007).

Os EUA destacam-se mundialmente nesta área, pelo fato de liderarem o desenvolvimento de bases de dados e ferramentas analíticas para a realização de avaliações do risco para a saúde humana, por meio das suas agências governamentais. A USEPA publica e revê anualmente um índice que classifica compostos químicos e outros agentes, segundo a evidência científica do seu efeito carcinogênico. A Tabela 4.4 descreve a classificação e a descrição do potencial de carcinogenicidade.

Tabela 4.4 - Classificação e descrição do potencial de carcinogenicidade

Classificação de câncer	Descrição
Grupo A: Carcinogênico para humanos	Evidências suficientes em estudos epidemiológicos mostram associação entre exposição e o câncer
Grupo B: Provável carcinogênico para humanos	Evidências limitadas em estudos epidemiológicos (B1) e/ou evidências suficientes de estudos em animais (B2)
Grupo C: Possível carcinogênico para humanos	Evidências limitadas de estudos em animais e dados inadequados ou inexistentes para humanos
Grupo D: Não classificado como carcinogênico	Evidências inadequadas ou inexistentes em estudos com animais e humanos
Grupo E: Sem evidências de ser carcinogênico para humanos	Sem evidências de ser carcinogênico em pelo menos dois testes adequados em animais de diferentes espécies ou em estudos adequados epidemiológicos e em animais

Fonte: USEPA, 1996

Os TAMs são substâncias classificadas como classe B2 para o TCM, BDCM e TBM e classe C no caso específico do DBCM. Isto significa que é real a possibilidade de serem agentes carcinogênicos em seres humanos, no qual a importância da realização de trabalhos de avaliação do risco se torna evidente. Desde a descoberta da formação de SOHs na água potável, têm-se realizado vários estudos toxicológicos em animais, constatando-se danos ao fígado e rim quando expostos a experimentos de longo prazo e elevadas doses de TCM e TBM (USEPA, 1999a; WHO, 2011; HEALTH CANADÁ, 2014). Ainda, demonstraram por meio de bioensaio, o composto provocou aumento em tumores no intestino grosso em ratos de ambos os sexos, ao passo que o DBCM induziu tumores hepáticos em camundongos fêmeas e, possivelmente, em machos. Outro composto, o BDCM causou danos nos rins e tumores no intestino grosso em ratos de ambos os sexos (USEPA, 1996; WHO, 2011; PENTAMWA *et al.* 2013).

Segundo Villanueva *et al.* (2006), Florentin *et al.* (2011) e Legay *et al.* (2010), em seres humanos, a presença de TAMs está comprovadamente relacionada com o aumento do risco de câncer da bexiga e do cólon, problemas reprodutivos, entre eles o atraso de crescimento intrauterino, maior frequência de partos prematuros e de más formações congênitas. WHO (2011) aponta o TBM, DBCM e o BDCM como compostos que podem ser facilmente absorvidos pelo

trato gastrointestinal. Segundo Basu *et al.* (2011) e Rodrigues (2014), trabalhos realizados ao nível da estimativa do risco de câncer associado à água para consumo usualmente relacionava apenas a componente aliada à ingestão. Recentemente têm ocorrido diversos estudos, considerando as múltiplas vias de exposição: ingestão, inalação e absorção dérmica.

A caracterização do risco associado aos TAMs pode ser traduzida por meio de um indicador adimensional que representa a quantificação da probabilidade acrescida de contrair câncer ao longo da vida (*Lifetime Câncer Risk ou Lifetime CR*). O valor CR de 1 para 1 milhão ($1,0 \times 10^{-6}$), traduz a probabilidade de uma única pessoa contrair câncer, no universo de um milhão de pessoas, quando igualmente expostas de modo permanente, ao agente contaminante durante o tempo total de vida. O parâmetro CR exprime exclusivamente o risco que excede aquele intrínseco ao indivíduo quando não existe exposição à substância em análise. O espaço de tempo considerado pela comunidade científica é que a ocorrência de câncer esteja associada à exposição em longo prazo, ao invés de eventos pontuais.

A metodologia é empregada por diversos autores para modelos de previsibilidade de ocorrência de doenças cancerígenas ligadas à exposição de TAMs, em diferentes vias (oral inalação e absorção dérmica). Estudos de Hsu *et al.* (2001) demonstraram que os riscos estão relacionados com as características e com taxas de consumo de água nos três sistemas de abastecimento de Taiwan (norte, central e sul). Com base em uma taxa de consumo de 1 a 3 litros.dia⁻¹, riscos para TCM, DBCM, BDCM e TBM das três áreas de abastecimento de água foram superiores $1,0 \times 10^{-6}$, considerado a extremidade inferior do intervalo de risco aceitável pela USEPA. O maior CR para o TCM, na ingestão de 3 litros.dia⁻¹, foi $1,8 \times 10^{-4}$ (180 vezes maior que o nível aceitável de risco definido pela USEPA), detectada no sistema sul da cidade. Destaca-se a maior formação de TAMs na região mencionada (38,5 µg.L⁻¹), com aproximadamente 72% respondendo pelo TCM (27,6 µg.L⁻¹).

Tokmak *et al.* (2003) investigaram a ocorrência de TAMs na água na cidade de Ancara, Turquia. Foram realizadas análises em 22 distritos diferentes, juntamente com as amostras retiradas do tratamento de água que atende 90% da cidade. As concentrações de TAMs variaram de 25 a 110 µg.L⁻¹ e os resultados da avaliação demonstraram que o maior CR para os moradores masculinos e femininos acontece através da ingestão oral, superiores ao nível de risco aceitável da USEPA ($1,0 \times 10^{-6}$) para todos os distritos. O risco médio devido ao TCM foi o mais alto, cerca de $1,2 \times$

10^{-5} (12 vezes maior que o nível aceitável). Não houve formação de TBM, assim, o CR foi, em ordem decrescente, TCM, BDCM e DBCM, para ambos os sexos.

Wang *et al.* (2007) calcularam os CRs resultantes da ingestão de TAMs em água potável com base na presença de cada espécie considerando diferentes vias de exposição (ingestão oral, inalação e absorção cutânea) em quatro distritos de Taiwan. A maior concentração de TAMs foi no distrito de Kinmen ($62,5 \mu\text{g.L}^{-1}$), destacando também para os maiores riscos, $7,77 \times 10^{-5}$ (aproximadamente 78 vezes maior que o nível aceitável) e $7,88 \times 10^{-5}$ (aproximadamente 79 vezes maior do nível aceitável) para homens e mulheres, respectivamente. Os resultados revelaram que os maiores CRs vêm da exposição por inalação de TCM, BDCM e DBCM durante o banho (ducha) em todos os distritos. No entanto, os autores ressaltam que a contribuição do consumo oral não pode ser ignorada para os compostos.

Rodrigues (2014) analisou a ocorrência de TAMs, CR e de efeitos não carcinogênicos ao longo da vida pelas múltiplas vias de exposição (ingestão, inalação e absorção dérmica) nos 14 municípios que constituem o distrito de Braga, em Portugal. Foram consideradas apenas as concentrações máximas anuais de TAMs de modo a evidenciar o cenário mais preocupante. Diferentemente dos autores anteriores, o TBM foi mais abundante seguido de perto pelo TCM. O DBCM ocorreu em menor concentração que o BDCM na maioria dos municípios estudados. Entre as três vias de exposição analisadas, a ingestão foi a mais relevante com uma contribuição para o risco de câncer de 60 a 80%, seguida da inalação e da absorção dérmica. O maior CR foi detectado no distrito de Amares, com valores de $6,11 \times 10^{-4}$ (611 vezes maior do nível aceitável para homens) e $6,22 \times 10^{-4}$ (622 vezes maior do nível aceitável para mulheres). Todos os 14 municípios apresentaram risco superior a $1,00 \times 10^{-6}$.

SOHs foram medidos na água de abastecimento provenientes de 10 estações de tratamento de água em três cidades chinesas (Guangzhou, Foshan e Zhuhai) por Gun *et al.* (2013). Os níveis de TAMs variaram de 0,7 a 62,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$, sendo que o TCM apareceu como espécie dominante em Guangzhou, enquanto que as espécies bromadas predominaram em Zhuhai. Os maiores CRs foram ocasionados pela via oral, todos maiores que $1,0 \times 10^{-6}$, exceto na estação FS1 (Figura 4.2):

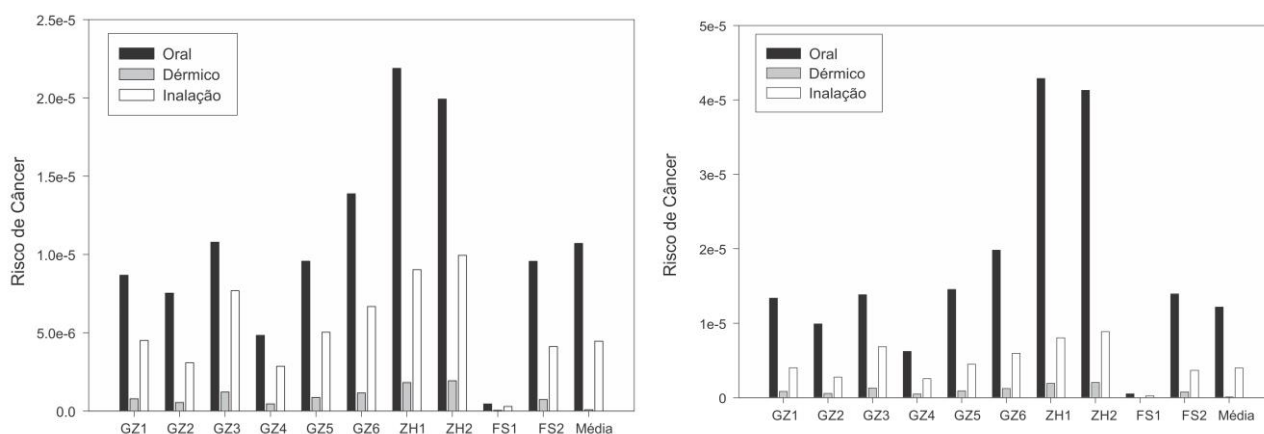


Figura 4.2 - CR estimada de TAM_T para consumo, inalação e contato dérmico para: esquerda, homens e direita, mulheres
 Fonte: Adaptado de Gun *et al.*, 2013

Costet *et al.* (2011) publicaram estudo que aponta um alto risco de desenvolvimento de câncer em homens, que foram expostos a níveis acima de 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de TAMs, em ingestão de água de torneira. Concentrações inferiores aos encontrados nos estudos de Hsu *et al.* (2001), Tokmak *et al.* (2003), Wang *et al.* (2007), Villanueva *et al.* (2006), Florentin *et al.* (2011), Legay *et al.* (2010) e Rodrigues (2014) sugerem ser capazes de induzir o desenvolvimento da doença.

Diante dos estudos, conclui-se que há relação dos TAMs às doenças, com destaque para diversas tipologias de câncer. Evidencia-se, portanto, a necessidade do gerenciamento integrado de vários parâmetros quando se trata do controle da cloração, mencionados em diversas literaturas, incluindo: o tempo de contato do oxidante, a temperatura e pH do meio, matéria orgânica natural presente na água, concentração de cloro e brometos (RODRIGUEZ *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2009a; SUN *et al.*, 2009b; LEE *et al.*, 2010; LEE *et al.*, 2013).

4.3.2 Fatores de formação

Vários são os fatores que podem influenciar a reação de formação de TAMs, destacam-se os seguintes:

4.3.2.1 Matéria Orgânica Natural (MON)

As consequências da presença da MON na água ganharam repercussão mundial após a constatação de que ela diminui a eficácia de algumas etapas do processo de tratamento de água, como a oxidação, coagulação, adsorção e desinfecção, reagindo com agentes oxidantes clorados e formando compostos halogenados (MOLNAR *et al.*, 2012). A formação dos SOHs está fortemente relacionada à concentração de MON presente na água que está sendo tratada, já que são formados através da reação com cloro/bromo/iodo. Lima (2014) menciona a matéria orgânica como a principal precursora, com a qual esses halogênios reagem para formar os SOHs.

Assim sendo, a natureza e a concentração dos precursores nos corpos d'água para o abastecimento podem variar sazonalmente e dependem do tipo de manancial (rios, lagos ou reservatórios), tipo de solo, vegetação predominante, mata ciliar, ocupação urbana, industrial e agrícola. Geralmente são caracterizados quanto à origem e podem ser classificados em substâncias húmicas e não húmicas. As substâncias húmicas, caracterizadas pelos ácidos húmicos e fúlvicos, são representativas na formação de SOHs e provenientes da decomposição de matéria orgânica e encontradas em concentrações mais representativas em águas naturais, porém, outras formas de precursores podem eventualmente estar presentes (KAWAHIGASHI, 2011; RODRIGUES, 2014).

MON é também definida como fração dominante de carbono orgânico, em concentrações que variam de 0,5 a 100 mg.L⁻¹, é normalmente mensurada na forma de carbono orgânico total (COT) e carbono orgânico dissolvido (COD). O COD é definido após filtragem do COT em filtro com porosidade de 0,45 µm de diâmetro e a diferença entre COT e COD é atribuída pelo COP (carbono orgânico particulado). No entanto, o COP das águas superficiais é baixo em comparação ao COD, geralmente menos de 1%, exceto para alguns lagos eutróficos. Em resumo, o COD compõe-se entre 90 a 99% do COT para as águas superficiais utilizadas para abastecimento. O COT representa uma medida direta da presença de matéria orgânica em uma amostra de água, pois resulta da quantificação do carbono em diferentes estágios de oxidação (MEYER, 1994; CUNHA, 2010; LIMA, 2014). Segundo Leão (2008), na Alemanha, onde a água possui níveis de COT reduzidos (inferiores a 2 mg.L⁻¹) e dose

de cloro usualmente menor que 1 mg.L^{-1} , os níveis de TAMs são bem mais baixos que nos EUA, justificado pelo uso de processos de pré-cloração. Ainda, no Reino Unido, os níveis de TAMs mais altos estão relacionados aos processos e à utilização de águas com alto teor de COT.

Quando reagido com oxidantes, o COD proporciona um oneroso controle de tratamento para as ETAs e, segundo Leão (2008), é considerado um importante precursor de formação de TAMs. A USEPA, por exemplo, recomenda que 35% do COT seja removido durante o processo de coagulação em função da magnitude da alcalinidade da água bruta. Uma grande diversidade de coagulantes é usada para esse fim, por exemplo, sais metálicos de ferro e de alumínio, sais de metais polimerizados e polímeros orgânicos (CUNHA, 2010).

As substâncias húmicas constituem cerca de 30 a 50% do COD na água, uma vez que são considerados o principal precursor dos compostos TAMs e outros SOHs presentes na água potável como resultado da cloração da água. O aumento da concentração de precursores de ácidos húmicos na presença de altas doses de cloro, com outras condições de reação constante, provoca aumento em proporção direta da produção de TAMs (LATIF, 1991; CUNHA, 2010).

Por meio de uma estação de tratamento em escala de bancada, Judd e Black (2000) simularam um modelo operacional de tratamento de água de uma piscina para avaliar a formação de SOHs, como TAMs e cloroaminas, baseados na dissolução de componentes orgânicos e inorgânicos de transpiração e urina humana. Os autores demonstraram que maiores concentrações de componentes orgânicos levam a um aumento de 33% de TAMs e a diminuição do oxidante reduz cerca de 50% na sua formação. E dentre as espécies, o TCM representou o principal composto formado.

A formação de SOHs (TAMs, AHAs, HANs e HADs) em águas de piscinas provenientes de três diferentes métodos de desinfecção (cloração, ozônio com cloro e oxidantes químicos) foram estudados por Lee *et al.* (2010). As concentrações totais encontradas, respectivamente nos três métodos, foram de 72,6%, 64,3%, e 60,8% de AHAs, 13,7%, 21,4% e 25,5% de TAMs, 10,3%, 8,3% e 7,1 % de cloro hidrato e 3,4%, 6,0% e 6,6% de HANs. Do estudo, comprovou-se a correlação entre a quantidade de COT, SOHs e a concentração de nitrato.

4.3.2.2 pH do meio

O aumento da taxa de formação com o pH é esperado, porque a reação halogênica clássica é catalisada por base (LATIF, 1991), assim como relata Meyer (1994). Lee *et al.* (2010) e Molnar *et al.* (2012) mencionam o pH como parâmetro de importância na formação e especiação dos SOHs, já que a variação do pH pode alterar a eficiência de remoção do COT presente na água, atuar na hidrólise de precursores dos subprodutos e afetar a especiação do cloro. A importância do pH pode ser também na formação do HOCl, mais oxidante que o OCl⁻.

Singer (1999) relata que a formação de TAMs é influenciada positivamente com a elevação do pH e estudos elaborados por Hua e Reckow (2008) também demonstraram a mesma tendência, com concentrações de TAMs na ordem de 148, 246 e 420 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para valores de pH de 5, 7 e 10, respectivamente, para um tempo de contato de 72 h. Segundo os estudos de Oliveira e Ferreira Filho (2003), houve um ligeiro aumento na formação de TAMs e TCM com o aumento do pH de coagulação. Sendo pH 7 na pré-cloração, observou-se uma tendência crescente de formação de TAMs e TCM, enquanto que com valores menores que 7 a formação dos subprodutos foi minimizada. No entanto, para as espécies bromadas não houve aumento de concentração com o aumento de pH (5,5 a 8,5).

4.3.2.3 Tempo de contato

A formação de TAMs em condições naturais não é instantânea. Algumas reações de formação podem ser completadas no intervalo de minutos a horas e, em outras circunstâncias, vários dias podem ser necessários (LATIF, 1991; MEYER, 1994; RODRIGUES, 2014). Em princípio, quanto maior o tempo de contato entre o cloro e os precursores, maior será a probabilidade de formação dos TAMs (MEYER, 1994; CESCO, 2007; BUKAVECKAS *et al.*, 2007). Ainda, segundo Paschoalato (2005), o tempo de contato entre o oxidante e os precursores têm aumento proporcional na formação de TAMs.

Na Figura 4.3 está representada a média dos resultados dos ensaios realizados por Butião (2011), para a formação de SOHs em piscinas com água contaminada com algas em tempo de contato de 30 min, 7 dias e um branco. Pelos resultados obtidos, observa-se que à medida em que o tempo de contato aumenta, a concentração de SOHs formados é maior. Com o tempo de contato de 30 min, houve formação em torno de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e após 7 dias, 110 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

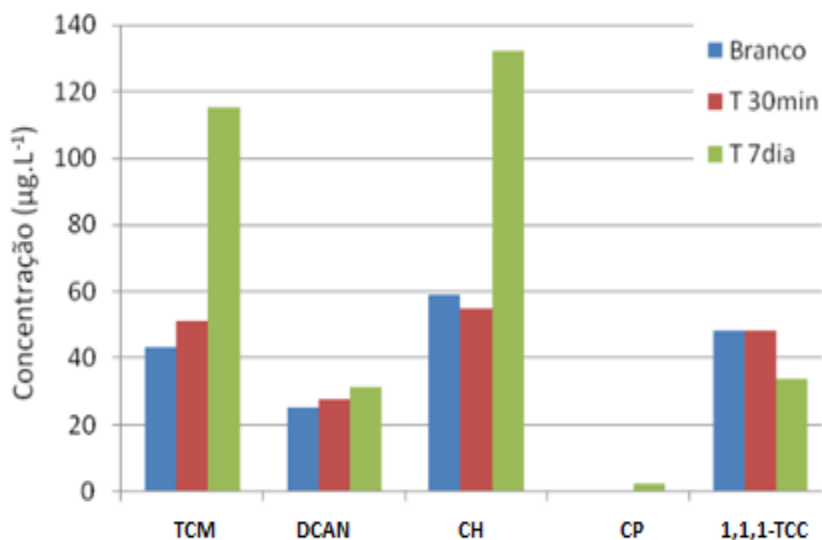


Figura 4.3 – Potencial de formação de SOHs em tempos de contato de 30 min, 7 dias e um branco em amostras contendo algas
 Fonte: Adaptado de Butiño, 2011

De acordo com experimentos realizados por El-Aty *et al.* (2009), em amostras contendo clorofila-a ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$), as concentrações de TCM aumentam com o tempo de contato utilizados nos experimentos envolvendo *Anabaena flos-aquae* (5 min, $19,04 \mu\text{g.L}^{-1}$; 10 min, $19,54 \mu\text{g.L}^{-1}$; 20 min, $20,99 \mu\text{g.L}^{-1}$; 30 min, $21,41 \mu\text{g.L}^{-1}$; 60 min, $25,98 \mu\text{g.L}^{-1}$; 120 min, $31,11 \mu\text{g.L}^{-1}$). Nos resultados de Rodrigues (2014), verificou-se que, em amostras cloradas com 48 h de tempo de contato, houve um incremento da concentração na ordem de 225%, quando comparada à de 6 h. Segundo as análises de Braga *et al.* (2000), em três amostras analisadas, o tempo de contato contribuiu com o aumento de TAMs nas duas primeiras amostras. No entanto, a terceira apresentou resultado divergente da literatura, sendo que o tempo de contato diminuiu a formação possivelmente devido ao seu caráter volátil, já que essa foi submetida a alta temperatura.

4.3.2.4 Temperatura

Latif (1991) constatou que concentrações de compostos TAMs na água tratada foram mais baixas no inverno e mais altas no verão devido à cinética de reação mais rápida em altas concentrações de compostos precursores em água bruta no verão. Esta última causa é devido à lixiviação de material orgânico a partir de matéria em decomposição vegetativa a temperaturas de água mais quentes. Foi possível determinar que o potencial para a formação de TAMs aumenta linearmente com o aumento dos níveis de cloro residual e exponencialmente com a temperatura.

Segundo Singer *et al.* (1995), foram observados efeitos sazonais acentuados na taxa de formação de SOHs, devido às altas temperaturas no verão, explicada pelo aumento da velocidade das reações químicas, ocasionando aumento na demanda de cloro e, elevando, portanto, a concentração dos SOHs. Mohamed e Ali (1995) também abordam a temperatura como relevante parâmetro que influencia positivamente a formação dos SOHs. Tito e Borges (2003) analisaram a formação de TAMs em função da temperatura ao clorar amostras de cianobactérias da espécie *Microcystis panniformis*, com doses de cloro variando entre 10 a 20 mg.L⁻¹ e temperatura, 20 e 25°C. Os resultados provenientes deste estudo indicaram acréscimos da ordem de 13% nas concentrações ao elevar a temperatura da água de 20 para 25°C.

FUNASA (2007) também menciona pesquisas sobre formação dos TAMs em estudos com águas do Rio Nilo, no Egito, onde se observou que a elevação da temperatura da água influenciou positivamente a formação do subproduto. Alvarenga (2010), em estudos em ETA na Região Metropolitana de Belo Horizonte - MG, concluiu que o TCM apresentou maior formação em períodos com temperaturas mais altas.

Os TAMs foram analisados em amostras de água provenientes de ETAs e do sistema de distribuição na Coréia do Sul, entre os meses de janeiro e dezembro/2008 por Lee *et al.* (2013). A influência da variação sazonal nas concentrações para amostras de água da torneira é mostrada na Figura 4.4.

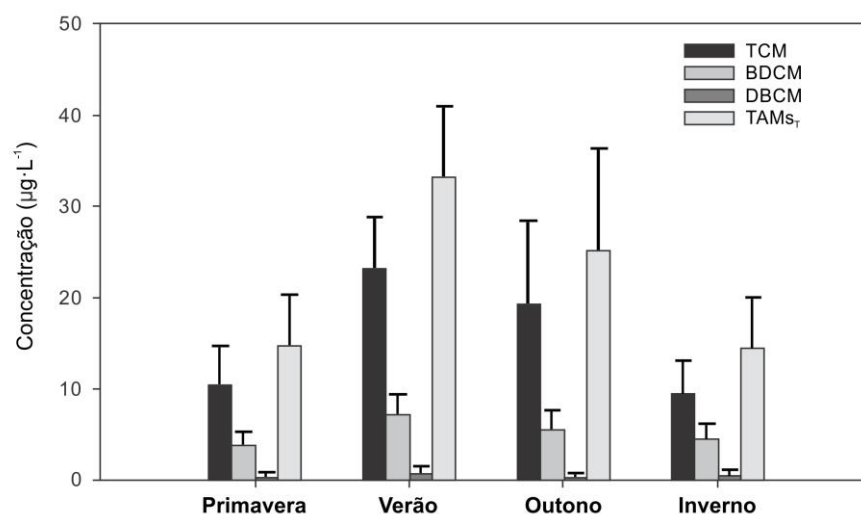


Figura 4.4 - Variação sazonal nas concentrações de TAMs em amostras de água da torneira
Fonte: Adaptado de Lee *et al.*, 2013

As concentrações mais elevadas de TAMs foram observadas no verão ($33,3 \mu\text{g.L}^{-1}$), enquanto as mais baixas foram no inverno ($5 \mu\text{g.L}^{-1}$). Além da temperatura, o resultado pode ser associado ao uso de doses mais elevadas de cloro no período do verão ($3,68 \text{ mg.L}^{-1}$), em comparação ao inverno ($1,78 \text{ mg.L}^{-1}$), porque há necessidade de eficiência na oxidação dos micro-organismos, já que maiores concentrações de matéria orgânica natural são observadas durante o período chuvoso.

Sun *et al.* (2009a) estudaram a influência da temperatura em distintas amostras de efluentes na formação de TAMs, representados na Figura 4.5 por A e B, com a amostra A apresentando um valor de COD superior ao da B. A formação, contrariando estudos anteriores, permaneceu constante com o aumento da temperatura na amostra A devido, segundo os autores, à composição heterogênea (moléculas complexas e relutantes em reagir com os halogêneos) que retardam a cinética de formação de TAMs.

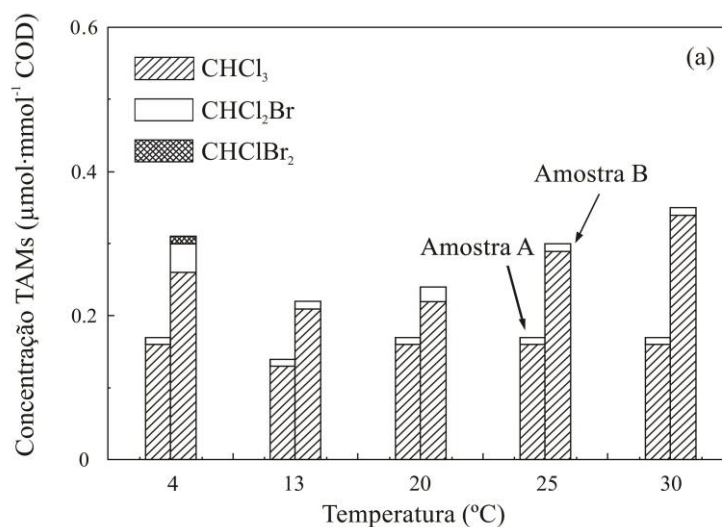


Figura 4.5 - Formação de TAMs em função da temperatura da reação (tempo de contato 0,5 h; pH 7)

Fonte: Adaptado de SUN *et al.*, 2009a

4.3.2.5 Bromo

O bromo e iodo, na presença de cloro aquoso, são oxidados a espécies capazes de participar da reação de substituição orgânica, resultando na formação de TAMs bromados e iodados. O bromo apresenta maior afinidade que o cloro nas reações de substituição com os compostos orgânicos,

mesmo que o cloro esteja presente em excesso quando comparado com o bromo inicial (MEYER, 1994). É oxidado pelo cloro, formando o ácido hipobromoso (HOBr) ou íon hipobromito (BrO^-), dependendo dos valores de pH da água. As espécies formadas, por sua vez, reagem com a matéria orgânica presente na água, formando os subprodutos bromados (SUN et al 2009b; RABELO, 2014).

Íons brometo (Br^-) participam na etapa de halogenação da sequência de reação dos compostos TAMs de modo mais eficaz que o cloro. O aumento do total de TAMs pode ser até duas vezes mais elevado que na ausência de íons brometo (LATIF,1991). Sun *et al.* (2009b) relatam a importância na formação dos SOHs e, de acordo com os autores, alguns compostos orgânicos bromados apresentam maior risco à saúde humana que os congêneres organoclorados. Na presença do íon Br^- , o HOCl pode oxidar os brometos a HOBr, agente halogenante mais forte que o HOCl (Equação 4.9).



Por outro lado, o cloro tende a atuar preferencialmente como agente oxidante enquanto o bromo atua como agente substituinte (RABELO, 2014).

À semelhança da reação de formação de TAMs a partir do HOCl (Equação 3.4), a cinética da formação a partir do HOBr ainda não é tão clara (Equação 4.10), apesar desta última reação ser muito mais rápida que a primeira (LATIF,1991; RABELO, 2014):



De acordo com os autores, a incorporação de brometos nos TAMs é influenciada positivamente com o acréscimo da relação molar Br^-/COD e também está relacionada com a dose de cloro e com a relação Br^-/NH_3 . Sun *et al.* (2009b) analisaram a formação de TAMs com diferentes concentrações de brometo (Figura 4.6) em duas amostras sintéticas distintas mostrando que a formação dos TAM_T foi consistente com os níveis crescentes de brometo. Na amostra A, com menor concentração de bromo, a formação de TCM diminuiu enquanto TBM aumentou com as maiores concentrações de brometo. Além disso, constatou-se aumento de BDCM e DBCM de 0 a 3,2 mg.L⁻¹ e depois observou-se a estabilização na formação dos compostos.

A formação de espécies de TAMs, quando a adição inicial de brometo foi menor que $1,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foi: $\text{TCM} > \text{DCBM} > \text{DBCM} > \text{TBM}$. Quando a concentração de íon brometo foi superior a $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, passou para o seguinte comportamento: $\text{TBM} > \text{DBCM} > \text{DCBM} > \text{TBM}$. Concluiu-se que a transformação da especiação TAMs, de TCM para DCBM e DBCM para TBM nas amostras foi justificado pelo aumento na concentração de Br^- , já que o HOBr é um agente halogenante mais poderoso que o HOCl.

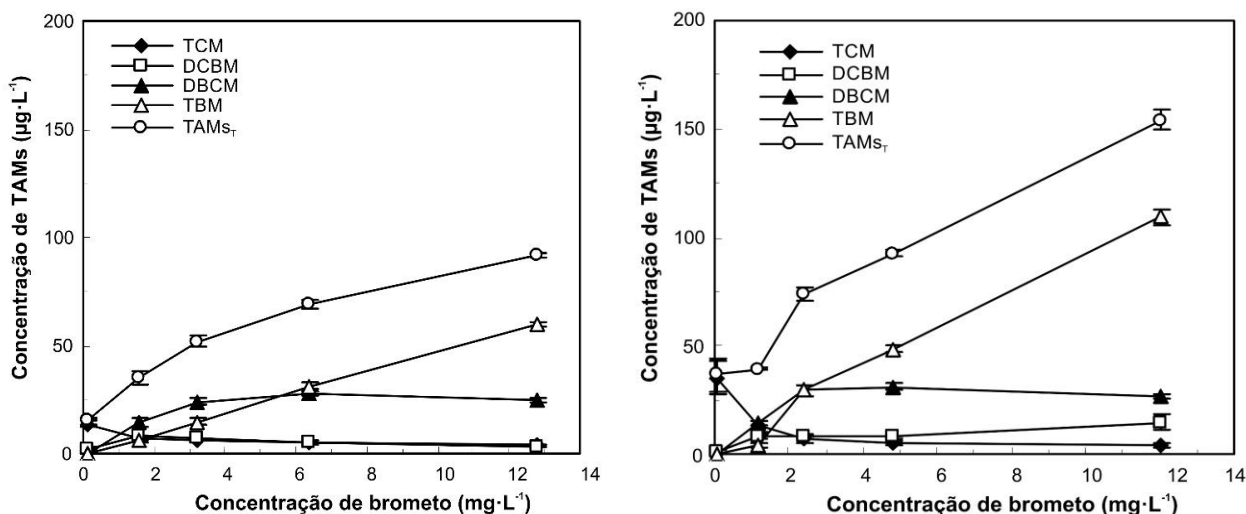


Figura 4.6 - Efeito de íon brometo na formação de TAMs e TAM_T totais (esquerda) a amostra A e (direita) a amostra B. Condições de análise: pH 7, tempo 30 min, temperatura 20°C , doses Cl_2 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (esquerda) e $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (direita)
Fonte: Adaptado de Sun *et al.*, 2009b

4.4 Ácidos haloacéticos – AHAs

São compostos derivados do ácido acético para os quais os hidrogênios do grupo metilo podem ser substituídos por cloro e/ou bromo e iodo. Dependendo do grau de substituição, ocorre a formação de diferentes AHAs, que estão apresentados na Tabela 4.5, assim como a fórmula química e abreviatura.

Tabela 4.5 - Nomenclatura, fórmula química e abreviatura dos AHAs

Ácidos haloacéticos	Fórmula Química	Abreviatura
Ácido monocloroacético	ClCH_2COOH	MCAA
Ácido monobromoacético	BrCH_2COOH	MBAA
Ácido dicloroacético	Cl_2CHCOOH	DCAA
Ácido dibromoacético	Br_2CHCOOH	DBAA
Ácido tricloroacético	Cl_3CCOOH	TCAA
Ácido tribromoacético	Br_3CCOOH	TBAA
Ácido bromocloroacético	BrClCHCOOH	BCAA
Ácido dibromocloroacético	$\text{Br}_2\text{ClCCOOH}$	DBCAA
Ácido bromodicloroacético	$\text{BrCl}_2\text{CCOOH}$	BDCAA
Ácido cloroiodoacético	ClICHCOOH	CIAA
Ácido bromoiodoacético	BrICHCOOH	BIAA
Ácido diiodoacético	I_2CHCOOH	DIAA

Fonte: Health Canada, 2014; Cardador *et al.* 2015; Toronto Research Chemical, 2016

A soma das concentrações de BDCAA, DBCAA e TBAA são denominadas AHAs₃, concentrações de MCAA, MBAA, DCAA, DBAA e TCAA são conhecidas como AHAs₅ e os AHAs₆ referem-se à soma das concentrações de AHAs₅ e BCAA. Juntos, os AHAs₆ e os AHAs₃ formam o AHAs₉ e apresentados os AHAs que se formam durante o processo de cloração (HEALTH CANADA, 2014). Ainda de acordo com Lima (2014), os principais ácidos podem ser distribuídos em três grupos distintos.

- Mono-haloacéticos: representados pelos MCAA e MBAA, com uma molécula de cloro ou bromo, ligada ao carbono;
- Di-haloacéticos: possuem dois halogênios, sendo eles cloro e/ou bromo, formando os DCAA, DBAA e BCAA;
- Tri-haloacéticos: formados por três halogênios em sua composição, podendo ser cloro, bromo ou uma combinação entre ambos. São eles: TCAA, TBAA, BDCAA e DBCAA.

A inquietação acerca dos possíveis riscos à saúde dos seres humanos ocasionou a modificação da legislação de potabilidade de vários países, sendo incluído alguns dos compostos como obrigatórios no processo de monitoramento nas ETAs (Tabela 4.6). Os AHAs formam um grupo de substâncias de interesse para os gerenciadores das estações de tratamento de água, vigilância da qualidade da água e comunidade científica.

No Brasil, foram regulamentados pela primeira vez na Portaria 2914, com valor máximo permitido na água destinada ao abastecimento público de $80 \mu\text{g.L}^{-1}$, valor esse correspondente ao somatório dos MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, BCAA, DBAA, BDCAA e 2,2 - dicloropropiônico (DALAPON). Junto com os TAMs, representam os SOHs que ocorrem em maior frequência em águas de abastecimento. Apesar de vários autores destacarem os TAMs como principal grupo de SOHs, trabalhos revelam que a formação de AHAs pode inclusive superar a formação de TAMs em algumas situações (PASCHOALATO, 2005; HONG *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2010). Os resultados obtidos por Paschoalato (2005), por meio das análises de oxidação com cloro em substâncias húmicas, revelaram formação superior de AHAs à formação de TAMs.

Tabela 4.6 – Valores máximos permissíveis (VMP) para AHAs

País	MCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	DCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	TCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	MBAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	DBAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	TBAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	BCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	DBCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	BDCAA ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	VMP para AHAs ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
USEPA	M	M	M	M	M	NM	NM	NM	NM	60*
Brasil	M	M	M	M	M	NM	M	NM	M	80*
Canadá	M	M	M	M	M	NM	NM	NM	NM	80*
Japão	20**	40**	200**	NM	NM	NM	NM	NM	NM	-
WHO	20**	50**	200**	NM	NM	NM	NM	NM	NM	-
Austrália	150**	40**	100**	NM'	NM	NM	NM	NM	NM	-

Legenda: * Soma das espécies com obrigatoriedade de monitoramento; M = monitorado e a soma definida pelo órgão legislador; NM = não monitorado. **Valores individuais para a espécies, segundo as referidas agências reguladoras.

Fonte: USEPA, 1998; JWWA, 2009; WHO, 2011; HEALTH CANADA, 2014; Lima, 2014

Autores como Lee *et al.* (2010) afirmaram, após pesquisas sobre formação de subprodutos em águas de piscinas provenientes de diferentes métodos de desinfecção, que a formação de AHAs foi maior, precedido de TAMs e dos demais subprodutos. Comportamento também observado por Hang *et al.* (2015), em que concentrações de diferentes categorias de SOHs em amostras de três piscinas (A, B e C - M) foram analisadas, incluindo TAMs, AHAs, HANs, HKs e TCNM como mostrado na Figura 4.7:

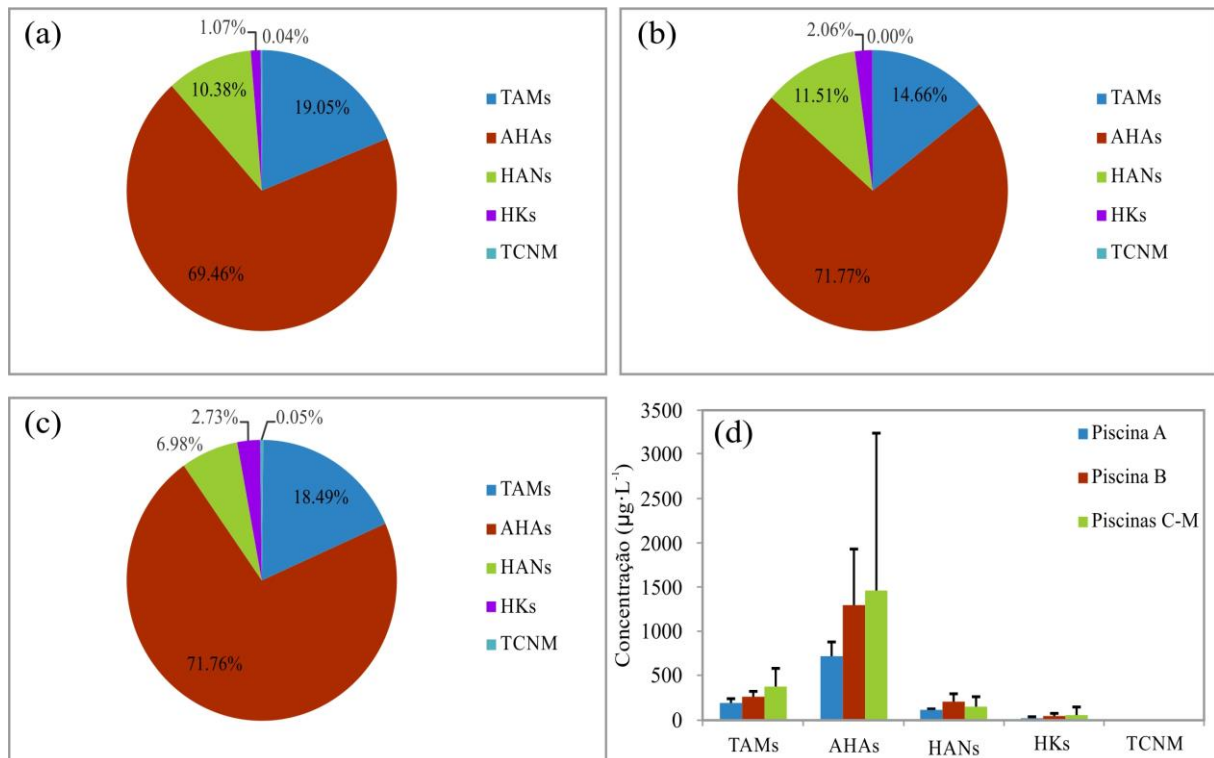


Figura 4.7 - Concentrações médias de diferentes categorias de SOHs em (a) Piscina A, (b) Piscina B, e (c) Piscina C - M, e (d) concentrações médias de diferentes categorias de SOHs
Fonte: Adaptado de Hong *et al.*, 2015

Em todas as piscinas, a categoria dominante foi o AHAs, seguido por TAMs, HANs, HKs e TCNM, 700 a 1500, 190 a 380, 100 a 210, 10 a 60 e 0 a 1 µg.L⁻¹ respectivamente. As concentrações de AHAs foram mais elevadas que as de TAMs, justificados pelas elevadas doses de cloro em piscinas, sendo que o BCAA foi a espécie dominante.

O potencial de formação deste grupo de subprodutos, assim como os TAMs, é obtido pela quantidade formada ao fim de sete dias de contato (AHAs_{PF}), devendo ser estabelecido por meio de ensaio de demanda. Para evitar interferência de pH e temperatura, o ensaio é realizado com adição de uma solução tampão de fosfato para a manutenção do pH em 7,0 durante sete dias e mantido em temperatura constante de 25°C. A dose de cloro empregada

deve ser tal que após sete dias resulte em um teor de cloro residual entre 3,5 a 5 mg Cl₂.L⁻¹ (APHA, 2012).

4.4.1 Aspectos toxicológicos e riscos à saúde em águas destinadas ao consumo humano

Apesar da maioria dos estudos estar relacionada aos TAMs, algumas contribuições importantes podem ser relatadas, já que além do câncer, alguns compostos demonstraram apresentar efeitos toxicológicos em cobaias, interferindo na reprodução e no desenvolvimento fetal (PHAC, 2008). Experimentos em animais de laboratório demonstram que tumores no fígado, rim e intestino estão associados à água tratada com cloro e seus derivados (USEPA, 1996; WHO, 2011).

Dentre as espécies mais detectadas na literatura, está o DCAA e TCAA. O DCAA é classificado como B2 pela USEPA, sendo relacionado com doenças como câncer e problemas em gestação. Já o TCAA recebe classificação C, com possíveis efeitos sobre rim, baço, fígado e assim como o DCAA, na gestação. Os estudos realizados em longo prazo relacionando AHAs ao câncer foram suficientes para comprovar a suscetibilidade dos DCAA e TCAA na ocorrência de tumores malignos em cobaias (USEPA, 1996; WHO, 2011; USEPA, 2012).

Komulainen (2004) analisou o efeito do DCAA e TCAA em ratos, concluindo que são hepatocarcinogênicos. Em estudos de curto e longo prazo, o DCAA induziu a redução no peso corporal, danos nos testículos e no cérebro e é considerado neurotóxico, causando problemas neuromusculares, entre eles fraqueza dos membros, problemas no equilíbrio corporal e retardo a simples reflexos. Embora tenham sido observadas alterações no peso corporal, fígado, rins e testículos em ratos, o MCAA apresenta baixo risco no desenvolvimento de câncer em relação do DCAA (USEPA, 1996; WHO, 2011; USEPA, 2012).

Em seres humanos, os AHAs têm sido associados com resultados adversos de reprodutibilidade após exposição durante a gravidez, além de má formação embrionária, mutação, retardamento do crescimento, aborto espontâneo e defeitos cardíacos congênitos. Indução de tumores, toxicidade às células, interferências na reprodução, problemas no desenvolvimento fetal, entre outros, são relatados em trabalhos presentes na literatura (LIU e MOU, 2004b; PORTER *et al.*, 2005; BAYTAK *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2013; GRELLER *et al.*, 2015). O DCAA é considerado um possível carcinogênico em seres humanos, já que estudos verificaram ligações entre a exposição e tumores em ratos.

Apesar da maioria das análises sobre previsibilidade e comprovação carcinogênica de SOHs ser voltado para TAMs, recentes pesquisas vêm dando atenção também aos AHAs. A definição da caracterização do risco associado também pode ser traduzida por meio do indicador adimensional CR e também foi usado por Gan *et al.* (2013) para avaliar possíveis riscos para diferentes ETAs. Os níveis de AHAs variaram de 0,3 a 81,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e todas as estações apresentaram CR acima do recomendado pela USEPA. Legay *et al.* (2010) estudaram a formação de AHAs em ETAs nas cidades de Québec e Lévis, Canadá, e alertaram que, em valores de DCAA superiores que 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ requerem maior atenção dos gerenciadores.

As evidências anteriormente mencionadas corroboram para a necessidade de mais estudos envolvendo os AHAs. O tempo de contato do oxidante, a temperatura e pH do meio, matéria orgânica natural presente na água, concentração de cloro e brometos, assim como para os TAMs, podem influenciar na formação dos compostos (FUNASA, 2007; LEGAY *et al.*, 2010; GAN *et al.*, 2013). No entanto, destaca-se que existem poucos trabalhos no Brasil sobre as variáveis citadas acerca do tema AHAs, havendo deste modo uma necessidade de gerar informações específicas para as condições brasileiras.

4.4.2 Fatores de formação

Apresentam-se os fatores que podem influenciar a reação de formação de AHAs destacando-se os seguintes:

4.4.2.1 Matéria Orgânica Natural (MON)

Assim como para os TAMs, a matéria orgânica presente na água é o principal precursor para formação de AHAs. Substâncias húmicas (hidrofóbicas) e não húmicas (hidrofílicas) formam uma mistura de compostos com diferentes estruturas e composição química. Tanto a porção hidrofílica quanto a hidrofóbica subdividem-se em ácidas, básicas e neutras. A contribuição destas frações na formação varia de acordo com a fonte da MON.

Marhaba e Van (2000) verificaram que a fração hidrofóbica neutra foi mais reativa com o cloro, no entanto, concluíram que todas as frações estão envolvidas na formação de SOHs. Já Marhaba *et al.* (2006) constataram que a fração hidrofóbica básica, embora encontrada na água de estudo em menor quantidade, foi mais reativa com o cloro na formação de algumas espécies de AHAs e as frações hidrofóbicas ácidas e neutras foram mais abundantes e

contribuíram para maior formação global AHAs.

4.4.2.2 pH

A literatura apresenta dados divergentes, podendo a concentração de AHAs diminuir com o aumento do pH ou não mostrar tendência definida em relação à variação do referido parâmetro, contradizendo Singer *et al.* (1994), que mencionam que a diminuição do pH pode elevar a concentração de AHAs.

Hong *et al.* (2013) realizaram um estudo sobre a influência do pH e outros fatores na formação dos SOHs e concluíram que em condições básicas dá-se baixa formação de AHAs, independentemente da quantidade de precursores presentes na água.

Da mesma forma que foram para os TAMs, Sun *et al.* (2009a) estudaram a influência do pH em distintas amostras de efluentes na formação de AHAs, representados na Figura 4.8 e também identificada por A e B, com a amostra A apresentando um valor de COD superior a B.

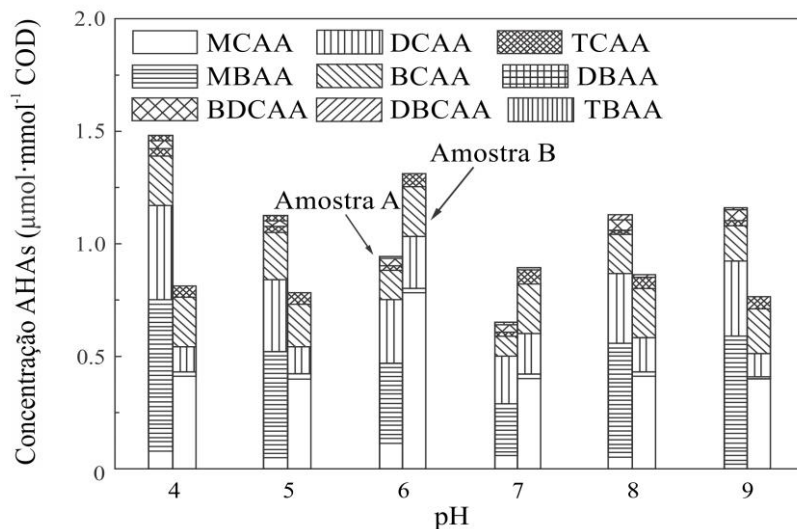


Figura 4.8 - Influência do pH em distintas amostras de efluentes na formação de AHAs.
Fonte: Adaptado de SUN *et al.*; 2009a

No efluente A, o valor de pH 7 teve menor influência na formação destes ácidos e, tanto o meio ácido quanto o básico favoreceram o aumento na concentração. Para o efluente B, a maior formação foi em pH 6. Schuck (2004) comparou valores de pH e a concentração de AHAs em quatro efluentes com dose de $13 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cl}_2$ em 1, 24 e 168 h e observou-se que os valores de AHAs não alteraram com o aumento do pH. Alguns estudos indicam que a

formação do DCAA independe dos valores de pH da água, enquanto valores de pH mais baixos favorecem a formação de TCAA (LIMA, 2014).

WHO (2011) afirma que diferentes valores de pH durante a cloração afetam a distribuição de SOHs. De acordo com o guia, reduzir o pH pode ser uma alternativa para a menor formação de TAM, mas em contrapartida com o aumento da formação de AHAs. Por outro lado, aumentar o pH pode reduzir a formação de AHAs e aumentar a de TAMs. Comumente nas estações a cloração realiza-se em pH mais ácido decorrente da aplicação dos coagulantes na unidade de mistura rápida, ocorrendo posterior elevação para água distribuída pela aplicação da cal secundária.

4.4.2.3 Tempo de contato

Enquanto a concentração de TAMs aumenta com o tempo de residência no sistema de distribuição de água, os AHAs podem ser degradados ao longo do tempo. Isso pode resultar em concentrações relativamente baixas de AHAs em pontos do sistema de distribuição onde o residual de oxidante apresenta pequena concentração (USEPA, 2005). De acordo com experimentos realizados por El-Aty *et al.* (2009), em amostras contendo clorofila-a ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$), as concentrações de TCA e TBA aumentaram com os tempos de contato utilizados nos experimentos envolvendo *Anabaena flos-aquae* (30 min, $17,18 \mu\text{g.L}^{-1}$; 60 min, $18,20 \mu\text{g.L}^{-1}$; 120 min, $21,23 \mu\text{g.L}^{-1}$; 240 min, $24,96 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Sun *et al.* (2009a) também avaliaram o efeito do tempo de contato na formação dos AHAs. Concluíram, como observado na Figura 4.9, que para o efluente. As concentrações aumentaram no intervalo de 0,25 a 2 h, à exceção do MCAA. Já entre o tempo de 2 a 6 h, houve expressivo decréscimo na concentração dos AHAs bromados e após 6 h mantiveram-se constantes.

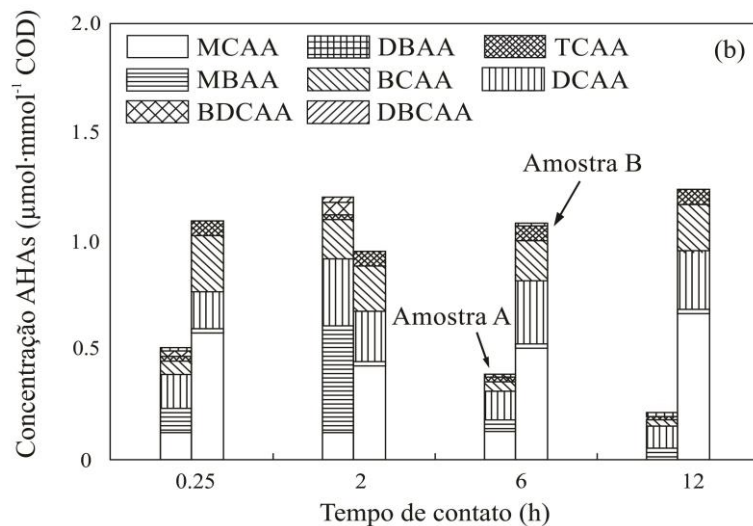


Figura 4.9 - Efeito do tempo de contato na formação dos AHAs₉
 Fonte: Adaptado de SUN *et al.*, 2009a

O decréscimo de BDCAA, DBCAA e TBAA pode ser explicado pela decomposição destas espécies em TAMs em pH neutro (próximo a 7). O decaimento na formação de AHAs₉ pode ocorrer pela indisponibilidade de precursores e pela degradação microbiológica realizada por colônias de bactérias heterotróficas, que se proliferam à medida que os valores de residual de cloro se tornam mais baixos (SINGER *et al.*, 2002; LIMA, 2014).

4.4.2.4 Temperatura

A variação da temperatura da água nos países temperados tende a ser maior, como no Canadá, onde a variação média mensal ao longo do ano chega a 18°C, enquanto em Belo Horizonte (Brasil) dificilmente supera 5°C. As concentrações de AHAs podem se alternar em condições sazonais de temperatura, conforme características da água bruta e do processo de tratamento.

Estudos em amostras de água coletadas de ETA na cidade de Quebec, no Canadá, em quatro pontos diferentes do tratamento, foram realizados por Rodriguez *et al.* (2007), durante o período de 1 ano. Os autores mencionaram que a temperatura na região varia ao longo do ano e pode influenciar na formação dos AHAs. O período do verão (21,3°C) teve maior influência na formação do DCAA e TCAA, enquanto que no inverno (5,7°C) houve menor formação destes AHAs. A Figura 4.10 demonstra a variação em três pontos de amostragem durante o ano na referida estação.

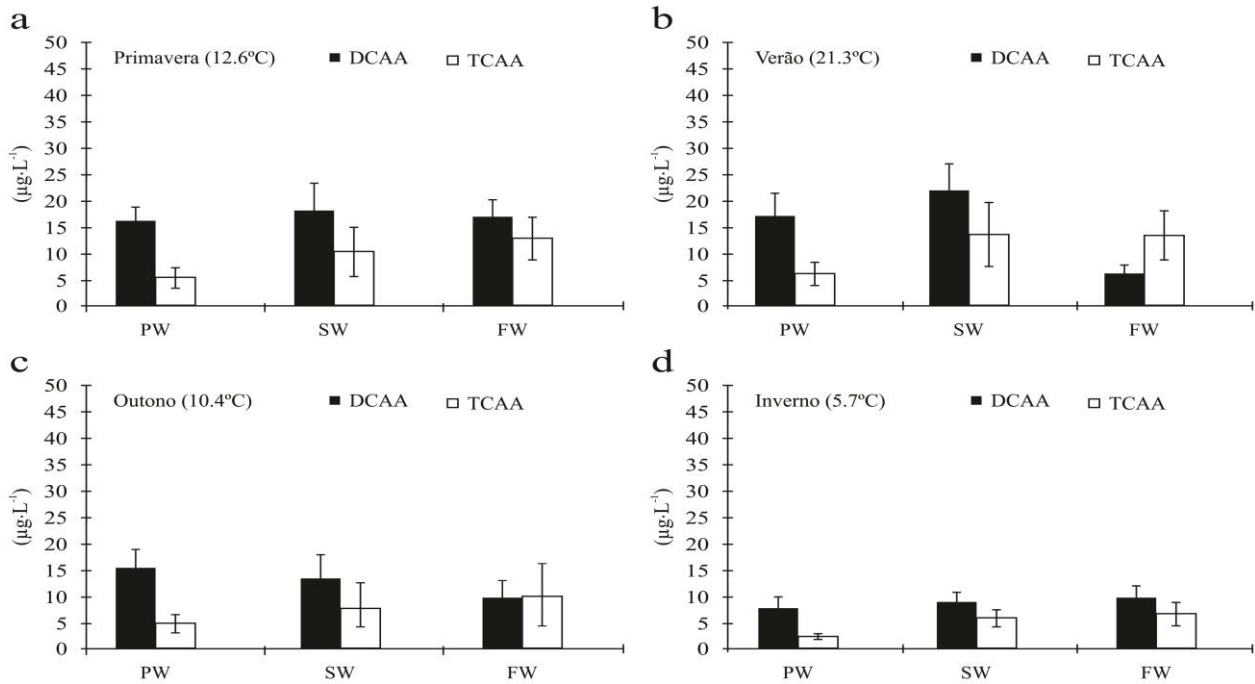


Figura 4.10 - Variações temporais do DCAA, TCAA dentro da estação de tratamento de Quebec
 Fonte: Rodriguez *et al.*, 2007

Assim como os TAMs, Lee *et al.* (2013) também analisaram em Seul, Coréia do Sul, a influência da variação sazonal nas concentrações para amostras de água da torneira para os AHAS₅, que além do DCAA e TCAA, são mostrados na Figura 4.11:

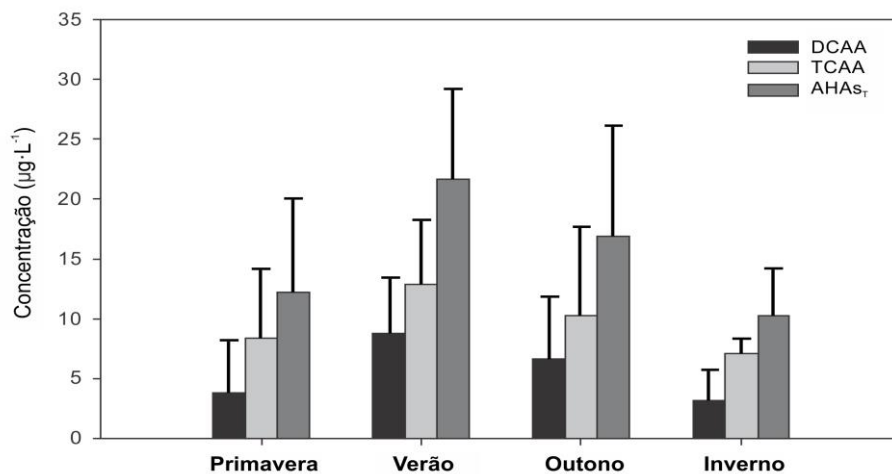


Figura 4.11 - Variação sazonal nas concentrações de AHAS₅, DCAA e TCAA em amostras de água da torneira
 Fonte: Adaptado de Lee *et al.*, 2013

As concentrações mais elevadas foram observadas no verão enquanto que os níveis mais baixos foram detectados no inverno. Este resultado também pode ser justificado no caso de efeito combinado de doses mais elevadas de cloro utilizadas no verão (devido ao maior carregamento de substâncias pelas chuvas, influenciando positivamente o teor e composição da MON) e, assim como o TAMs, os AHAs tendem a se formar em épocas do ano com temperaturas mais elevadas.

Sun *et al.* (2009a), além do pH e do tempo de contato, avaliaram a relação da temperatura com a formação dos AHAs₉. Na amostra A, diminuiu acentuadamente com o aumento da temperatura de reação de 4 a 13°C e, em seguida, de forma gradual. No entanto, na cloração da amostra B a formação não era sensível às mudanças de temperatura (Figura 4.13). A tendência de formação dos AHAs bromados em função da temperatura pode ser explicada, segundo os autores, pela termodinâmica química das reações, conhecida como hidrólise de reação, acelerada com o aumento da temperatura por apresentar características endotérmicas. TAMs são muito mais estáveis que os AHAs, explicando assim a diferença de comportamento em temperaturas elevadas.

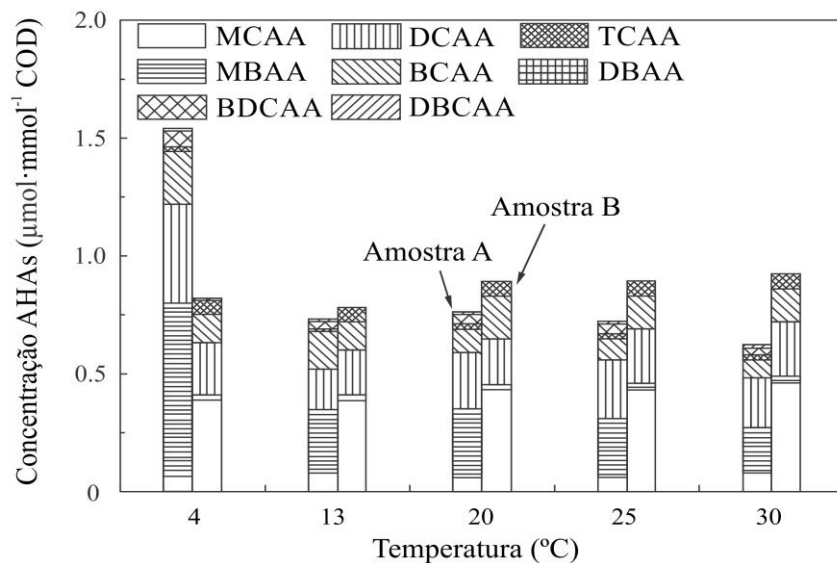


Figura 4.12 - Relação da temperatura com a formação dos AHAs₉
 Fonte: Adaptado de SUN *et al.*, 2009a

4.4.2.5 Bromo

Assim como os TAMs, a presença do bromo na água favorece a formação espécies bromadas de AHAs, que em determinadas situações podem ser formados mais rapidamente que os compostos clorados (ATES *et al.*, 2007; SUN *et al.* 2009a; RABELO, 2014).

O impacto da combinação de brometo e a MON em água clorada foi verificado por Ates *et al.* (2007), que concluíram que a adição de brometo influencia positivamente na concentração de AHAs, sendo o DCAA o principal composto formado no estudo. Nos ensaios de Sun *et al.* (2009a), os resultados mostraram que a formação de AHAs clorados pode ser mais estável que as formas bromadas com o aumento da temperatura e do tempo de reação de cloração em águas residuais.

Para o tempo de contato de 24 h, o DCAA e MCAA apareceram entre as principais espécies formadas em estudos de Li *et al.* (2008) sugerindo que uma das vias de formação do MCAA é devido à decomposição dos BDCAA e DBCAA formados nas horas iniciais de contato. Outras pesquisas apontam que a quantidade de subprodutos bromados passíveis de serem formados na água contendo cloro sofre influência do tempo de contato e do pH (HONG *et al.*, 2008).

4.5 Matéria orgânica algogênica (MOA) como precursora na formação de TAMs e AHAs

Faz-se de grande utilidade a realização de estudos para caracterização dos mananciais que abastecem as ETAs, pois a MON presente tem seu potencial elevado pelas descargas de efluentes com nutrientes nos corpos d'água. Estudos de diversos pesquisadores demonstram que no processo de cloração, TAMs e AHAs podem ser formados, justificados pela associação com a MOA, frequentemente associados a microalgas (algas verdes ou diatomáceas) e cianobactérias e proveniente de metabolismo destes organismos ou de sua decomposição. São contribuintes importantes para as águas superficiais, especialmente em lagos e reservatórios. As proteínas, aminoácidos, polissacarídeos e outras formas de matéria orgânica produzidas a partir de respiração e processos de decomposição representam o COD e são atribuídas a esses organismos (FUNASA, 2007; ZAMYADI *et al.*, 2012).

Butião (2011) avaliou a formação de 12 subprodutos da cloração em águas de piscina, tais como: TAMs, HKs, HANs, cloro hidrato e HPs e a influência da presença de algas e urina no potencial de formação dos SOHs, devido ao uso do cloro no tratamento. Concluiu-se que os precursores estudados, com destaque para algas, são causadores da formação de SOHs. Desta forma, recomenda-se que os tratamentos das águas de piscinas sejam adequados, evitando-se o uso excessivo de agentes oxidantes à base de cloro, bem como promover a inibição do desenvolvimento de algas e a conscientização dos banhistas.

Alvarenga (2010) analisou a formação de subprodutos da cloração em ETAs, avaliando a formação de TAMs e AHAs. A pesquisa concluiu que a elevada densidade de fitoplâncton em um dos mananciais de abastecimento de uma das ETAs analisadas foi responsável por maior formação de TAMs e AHAs. O TCM apresentou maior formação dentre os subprodutos estudados nos períodos em que se registraram as maiores temperaturas. Desse modo, concluiu-se que a MOA é uma importante precursora da formação de SOHs.

Hong *et al.* (2008) investigaram a formação de subprodutos pela cloração de biomoléculas como proteínas, carboidratos e lipídios provenientes de cianobactérias, algas e diatomáceas. O estudo demonstrou que os precursores mais reativos são as proteínas e que as diatomáceas (*Nitzschia sp.*) produziram maior quantidade de TCM em comparação às algas (*Chlamydomonas sp.*) e a cianobactéria (*Oscillatoria sp.*), não tão relevantes para a formação de AHAs.

El-Aty *et al.* (2009) concluíram que as algas verdes apresentavam elevada influência na formação de subprodutos. Os autores investigaram a formação de TAMs e AHAs pela cloração de água doce contendo a espécie de alga verde *Scenedesmus obliquus* e a cianobactéria *Anabaena flos-aquae*. As algas verdes demonstraram níveis de formação mais elevados de subprodutos, principalmente de TCM.

Corroborando com os trabalhos citados, as algas verdes constituíram-se as mais produtivas na formação de TAMs em comparação com diatomáceas e cianobactérias (NGUYEN *et al.*, 2005). Os autores mencionam que a formação de TAMs é influenciada pelas espécies, fase de crescimento, bem como as condições de cloração (por exemplo pH, temperatura, tempo de contato). Sobre o papel na formação de AHAs, os resultados mostram-se contraditórios e requerem uma atenção maior em estudos futuros.

Apesar de estudos apontarem algas verdes como importante precursora, vários pesquisadores destacam e relacionam gêneros de cianobactérias como parte importante na composição da MOA e, também, na formação de TAMs e AHAs, devido à sua predominância em eventos de eutrofização. Algumas cianobactérias são fixadoras de nitrogênio e podem liberar até 45% em nitrogênio orgânico, o que pode levá-las a ser contribuintes significativos para TAMs e AHAs (YANG *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012; ZAMYADI *et al.*, 2012; ZAMYADI *et al.*, 2013).

Cianobactérias podem ser representadas pela presença de células, matéria orgânica

intracelular (MOI, liberada no ambiente aquático após lise celular e induzida pelo envelhecimento da população, principalmente constituídas por cianotoxinas) e matéria orgânica extracelular (MOE, resultante da atividade metabólica das células durante crescimento das fases exponenciais e estacionárias, substâncias como polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos). Podem ser produzidos de acordo com a baixa concentração de nutrientes (competição por bactérias ou vírus) ou outras condições (luz, pH ou temperatura em condições desfavoráveis), com contribuições significativas para a formação de SOHs (YANG *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012; ZAMYADI *et al.*, 2012; ZAMYADI *et al.*, 2013). Estudos relacionados à formação dos subprodutos após cloração de matéria orgânica natural e algal são mencionados no APÊNDICE A.

4.6 Análise sobre a classificação das agências de proteção ambiental

Segundo USEPA (2012), o *Health Advisory* (HA), órgão da *EPA's Office of Water*, publica as concentrações de substâncias em água potável com riscos de ocasionar câncer e as em que os efeitos adversos não são cancerosos para a saúde. De acordo com *Drinking Water Standards and Health Advisories* (DWSHA), o tempo de vida de contaminantes em água potável é calculado a partir do seu nível equivalente em água potável (*Drinking Water Equivalent Level*, DWLQ). Este é obtido pela dose de Referência (*Reference Dose*, RfD) e incorpora uma contribuição de fonte relativa de água potável (*Relative Source Contribution*, RSC) de dados específicos de contaminantes ou por um padrão de exposição total de todas as fontes. Para alguns contaminantes regulados em água são também publicados seus níveis máximos (*Maximum Contaminant Levels*, MCL) e metas de nível máximo (*Maximum Contaminant Levels Goals*, MCLg). A evidência quanto à probabilidade de um agente ser um carcinógeno para seres humanos e as condições sob as quais os efeitos carcinogênicos são expressos também é abordado pela USEPA (2012). Nela foram substituídas as designações alfanuméricas anteriores do Grupo Câncer (USEPA 1986 *guidelines*), conforme classificação:

(H) Carcinogênico em seres humanos;

(L) Potencialmente carcinogênico em seres humanos;

(L/N) Potencialmente carcinogênico a partir de uma determinada dose chave, mas que abaixo disso não podem ser descartadas eventuais formações de tumores;

(S) Algumas evidências apontam como potencialmente carcinogênicos;

(I) Informações insuficientes para se avaliar o potencial carcinogênico;

(N) Não possuem potencial carcinogênico.

De forma a fomentar a discussão, foram elaboradas as tabelas 4.7 e 4.8, comparando-se as classificações das agências USEPA e IARC (*International Agency for Research on Cancer*), outra importante e reconhecida agência de classificação.

Tabela 4.7 – Classificação sobre potencial carcinogênico dos TAMs segundo USEPA e IARC

TAMs	Classificação IARC (1999a)	Classificação IARC (1999b)	Classificação USEPA (1996)	Classificação USEPA (2012)
Triclorometano	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)	-	B2 (Evidências indicam que é carcinogênico em animais, mas pouca ou nenhuma evidência aponta que possam causar câncer em seres humanos)	L/N (Potencialmente carcinogênico a partir de uma determinada dose chave, mas que abaixo disso não pode ser descartado eventuais formações de tumores)
Bromodiclorometano	-	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)	B2 (Evidências indicam que é carcinogênico em animais, mas pouca ou nenhuma evidência aponta que possam causar câncer em seres humanos)	L (Potencialmente carcinogênico em seres humanos)
Dibromoclorometano	-	3 (Não classificado quanto à sua carcinogenicidade em humanos)	C (Há possibilidades de causar câncer em humanos)	S (Algumas evidências apontam como potencialmente carcinogênicos)
Tribromometano	-	3 (Não classificado quanto à sua carcinogenicidade em humanos)	B2 (Evidências indicam que é carcinogênico em animais, mas pouca ou nenhuma evidência aponta que possam causar câncer em seres humanos)	L (Potencialmente carcinogênico em seres humanos)

Tabela 4.8 - Classificação sobre potencial carcinogênico dos AHAs segundo USEPA e IARC

TAMs	Classificação IARC (1999a)	Classificação IARC (1999b)	Classificação USEPA (1996)	Classificação USEPA (2012)
Ácido Monocloroacético	-	-	-	I (Informação insuficiente para se avaliar o potencial carcinogênico)
Ácido Dicloroacético	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)	-	B2 (Evidências indicam que é carcinogênico em animais, mas poucas ou nenhuma evidência apontam que possam causar câncer em seres humanos)	L (Potencialmente carcinogênico em seres humanos)
Ácido Tricloroacético	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)		C Há possibilidades de causar câncer em humanos)	S (Algumas evidências apontam como potencialmente carcinogênicos)
Ácido Dibromoacético	-	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)	-	-
Ácido Bromocloroacético	-	2B (Possivelmente carcinogênico em humanos)	-	-

Tanto a USEPA quanto a IARC utilizam classificações sobre a possibilidade e a real chance de desenvolvimento da doença. Ao se comparar as informações das referidas agências em algumas espécies, diferentes classificações sobre as evidências de câncer em humanos são observadas, como DCAA (IARC; 1999 e 1999b) e até mesmo entre a mesma instituição como o TBM (USEPA; 1996 e 2012). Isso pode ser justificativa das distorções sobre valores máximos de TAM_r em alguns países (Alemanha e México), das diferenças significativas observadas em algumas espécies monitoradas de AHAs (USEPA e Austrália) e das diferenças dos valores máximos permitidos observados. Também, revela o desconhecimento do real efeito dos compostos na saúde humana, já que os estudos são realizados em caráter de presivibilidade.

4.7 Cianobactérias

As cianobactérias figuram entre os primeiros micro-organismos existentes sobre a Terra, junto com as bactérias, são procariontes, uni ou pluricelulares, aeróbios e fotoautotróficos. Pertencem a Classe Cyanophyceae, dividida nas Ordens: Chroococcales; Oscillatoriales; Nostocales e Stigonematales. São considerados componentes significativos do ciclo do nitrogênio marinho e consistem em micro-organismos estruturalmente semelhante às bactérias, podendo ser unicelulares, coloniais e filamentosas. Com relação às funções metabólicas se assemelham às algas por realizarem a fotossíntese. (FUNASA, 2007; ACERO *et al.*, 2005; ZAMYADI *et al.*, 2012).

As atividades antrópicas têm afetado diretamente os corpos d'água, pois os despejos de poluentes provenientes do aumento da produção de efluentes domésticos, agrícola e industrial com alto teor de matéria orgânica e nutrientes propiciam o fenômeno conhecido como eutrofização, e têm sido uma das causas da proliferação excessiva de algas e cianobactérias potencialmente tóxicas em reservatórios e corpos hídricos usados para abastecimento público. Também conhecido na literatura como floração ou *bloom*, o fenômeno tem-se tornado frequente e é relevante uma vez que promove alterações nas características físico-químicas e na cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos. (FUNASA, 2007; MA *et al.*, 2012a; ZAMYADI *et al.*, 2012).

As florações podem ocasionar a liberação de substâncias que conferem odor e gosto à água, dentre outras desagradáveis como metabolitos conhecidos como cianotoxinas, que podem ocorrer e permanecer, ou não, por um longo período de tempo na água. Apresentam potencial tóxico

intrínseco das cianobactérias, sendo necessário um cuidadoso monitoramento pelos possíveis riscos à saúde pública (FUNASA, 2003; ACERO *et al.*, 2005; ZAMYADI *et al.*, 2012). A Figura 4.13 retrata diversos gêneros e florações de cianobactérias em mananciais que são frequentemente relatadas como ilustrado na Figura 4.14 (CETESB, 2013).

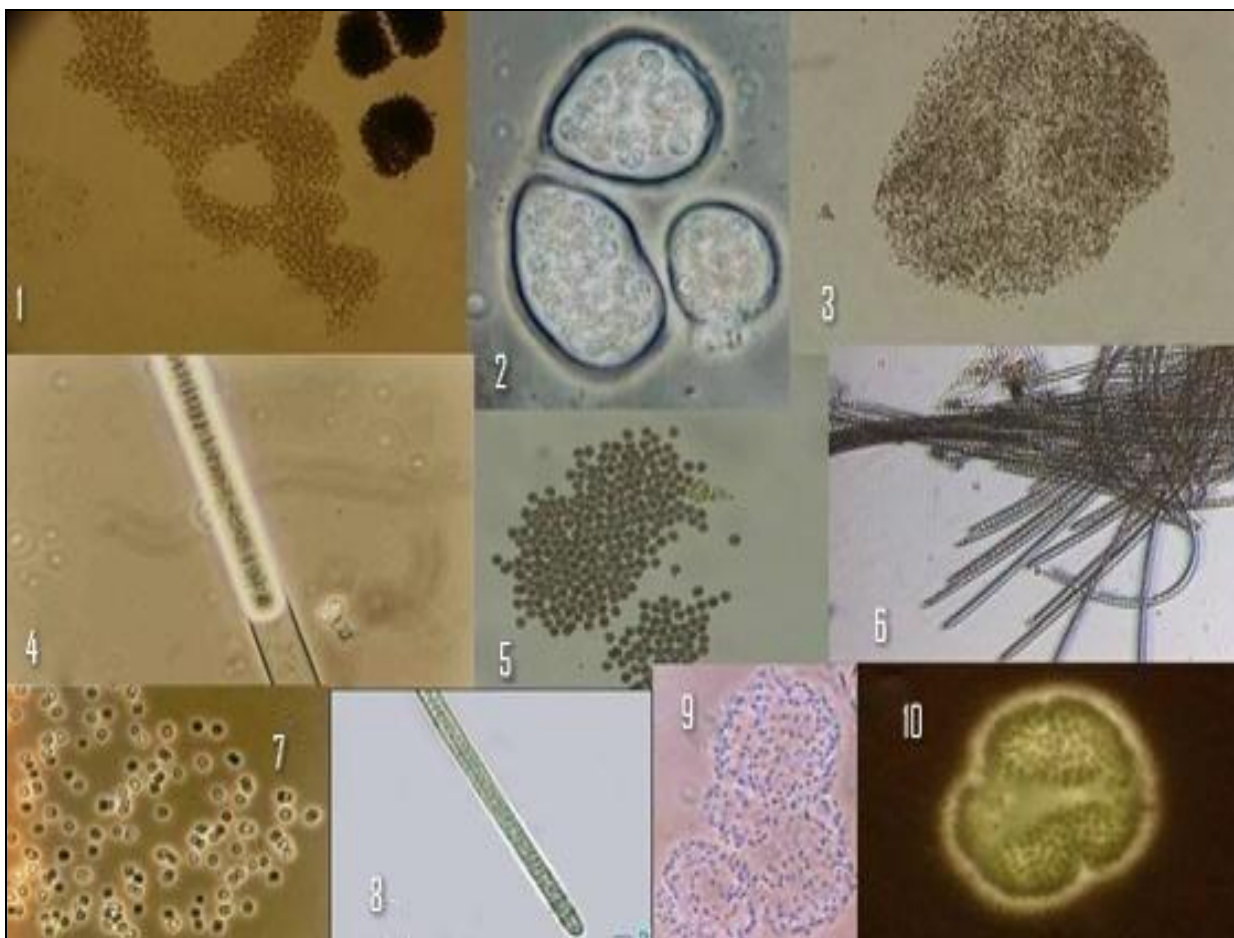


Figura 4.13 - Gêneros de cianobactérias

1,2,3 e 7 - *Microcystis sp.*; 4 - *Lyngbya sp.*; 5- *Radiocystis sp.*; 6 - *Trichodesmium sp.*;
8 - *Planktothrix sp.*; 9 - *Cyanodictyon iac sp.*; 10 - *Woronichinia sp.*

Fonte: Adaptado de CETESB, 2013

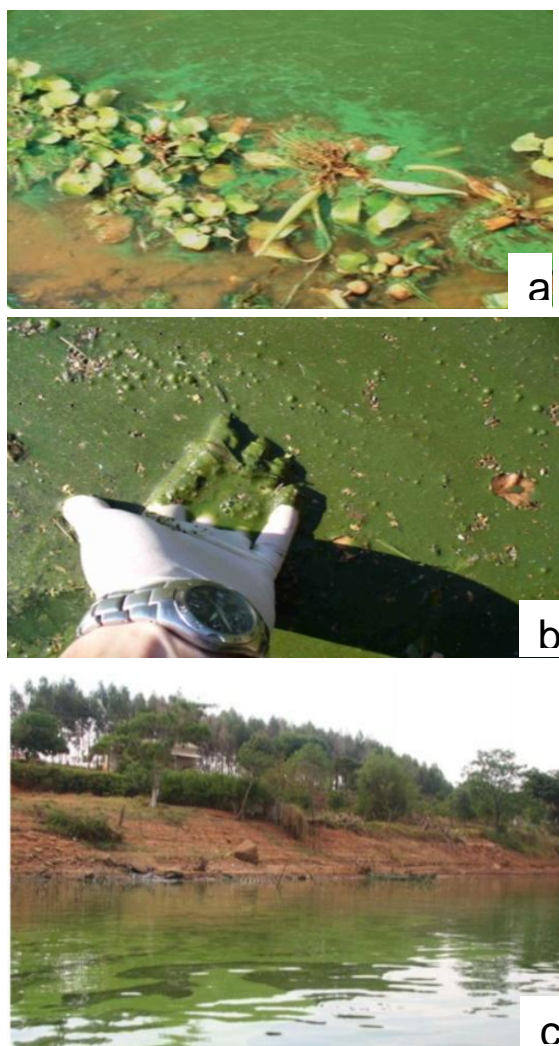


Figura 4.14 - Floração de cianobactérias
(a) Floração junto a macrófitas aquáticas (b) Floração de cianobactérias
(c) Floração de cianobactérias próximo do Reservatório de Furnas, Boa Esperança/MG
Fonte: Adaptado de CETESB, 2013

Há grande incidência de cianobactérias em corpos d'água brasileiros e pelo menos 20 das espécies catalogadas são potencialmente tóxicas, incluídas em 14 gêneros. *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum* (antiga *Anabaena*), *Planktothrix* e *Aphanizomenon* são gêneros associados às florações tóxicas e citadas na literatura como potenciais produtoras de cianotoxinas, devido à lise celular, quando submetidas ao processo de cloração, ou pela própria senescência. As cianobactérias tóxicas podem produzir principalmente neurotoxinas hepatotóxicas e podem causar sérios danos à saúde humana e à vida de outros animais quando presentes em água de consumo ou recreação (FUNASA, 2003; ACERO *et al.*, 2005; FUNASA,

2007).

Dentre as neurotoxinas já identificadas, destacam-se a anatoxina-a, anatoxina (s) e saxitoxinas, comuns nas florações de *Cylindrospermopsis raciborskii*. No Brasil, são caracterizadas por sua ação rápida podendo até causar a morte de vertebrados por parada respiratória após poucos mins de contato. Os gêneros *Aphanizomenon*, *Arthrospira*, *Cylindrospermum*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Raphidiopsis*, *Cylindrospermopsis*, *Planktolyngbya*, *Hydrocoleum* e *Lyngbya* já foram descritos como produtores de neurotoxinas, sendo que outros gêneros também podem ser produtores dessas toxinas (FUNASA, 2003; ANDRADE, 2007; FUNASA, 2007).

As hepatotoxinas podem ser microcistinas, nodularinas e cilindropermopsinas, com ação mais lenta, se comparada às neurotoxinas. Os gêneros relacionados à produção de hepatotoxinas são *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanocapsa*, *Arthrospira*, *Fischerella*, *Gloeotrichia*, *Hapalosiphon*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatória*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Plectonema*, *Radiocystis*, *Synechocystis*, *Woronichinia*, *Cylindrospermopsis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya*, *Raphidiopsis*, *Umezakia*, *Nodularia*. Entretanto, todas as cianobactérias são potencialmente produtoras de toxinas (FUNASA, 2003; ANDRADE, 2007; FUNASA, 2007).

Registros de mortes por contaminação com toxina de cianobactérias foram registrados, como em em 1996, em Caruaru, cidade situada a 135 km de Recife/PE, quando devido à escassez da água, o reabastecimento das clínicas de hemodiálise foi realizado de forma irregular e sem tratamento adequado por caminhões-pipa, o que ocasionou a contaminação por microcistinas-LR e acarretou a morte de cerca de 60 pacientes, reforçando, assim, a necessidade de melhorar a qualidade da água para hemodiálise (FUNASA, 2003).

Ainda não foi confirmada nenhuma morte de humanos por neurotoxinas, apesar de alguns gêneros de dinoflagelados marinhos, também produtores de toxinas do grupo das saxitoxinas, já terem causado morte em humanos que consumiram mariscos contaminados (FUNASA, 2003; CETESB, 2013). Assim sendo, recomenda-se que as cianobactérias sejam monitoradas constantemente e, com a análise dos dados obtidos, seja possível diagnosticar os gêneros e espécies que são potencialmente tóxicos, auxiliando na avaliação da estrutura dos ecossistemas

aquáticos e as características das florações (BRASIL, 2011).

4.6.1 Legislação

A Portaria 2914 se aplica à água destinada ao consumo humano e estabelece que deve ser objeto de controle e vigilância, independente da forma de acesso da população. O responsável pelo sistema de abastecimento para consumo humano deve manter e controlar a qualidade da água produzida e distribuída, monitorar a qualidade no ponto de captação e comunicar os órgãos ambientais, caso esta venha a ser alterada.

O artigo nº 24 da Portaria afirma que toda água para consumo humano, fornecida coletivamente, deverá passar por processo de desinfecção. No controle feito, por desinfecção da água por meio da cloração, devem ser observados os tempos de contato e os valores de concentrações de oxidante na saída do tanque de contato, conforme artigo nº 32.

Visando minimizar os riscos de contaminação da água para consumo humano com cianotoxinas, deve-se realizar o monitoramento das cianobactérias, a fim de identificar os diferentes gêneros no ponto de captação do manancial superficial. Caso necessário, estabelecer frequência de monitoramento, considerando o resultado da última amostragem (BRASIL, 2011):

- Quando a densidade de cianobactérias (células.mL⁻¹) for $\leq 1,0 \times 10^4$ o monitoramento deve ser mensal;
- Quando a densidade de cianobactérias (células.mL⁻¹) for $> 1,0 \times 10^4$ o monitoramento deve ocorrer semanalmente.

Recomenda-se também a análise de clorofila-a no manancial com frequência semanal por ser um indicador de potencial aumento da densidade de cianobactérias. Se a densidade exceder $2,0 \times 10^5$ células.mL⁻¹, deverão ser realizadas semanalmente análises de cianotoxinas na água do manancial, no ponto de captação do mesmo. Através deste monitoramento das cianobactérias e analisando a densidade celular é possível detectar organismos possivelmente tóxicos e, se necessário, os gestores poderão tomar decisões rapidamente a respeito de alterações no tratamento da água. A Tabela 4.9 representa as cianotoxinas de obrigatoriedade de monitoramento, assim como os valores máximos permitidos pela Portaria 2914:

Tabela 4.9 - Tabela de padrão de cianotoxinas na água para consumo humano

Parâmetro	Unidade	Valor Máximo Permitido (VMP)
Microcistinas	$\mu\text{g.L}^{-1}$	1
Saxitoxinas	$\mu\text{g equivalente STX.L}^{-1}$	3

Fonte: BRASIL, 2011

Essas concentrações devem representar as contribuições da fração intracelular e extracelular na amostra analisada. Ainda, quando apresentar gêneros produtores de cilindropermopsinas nesse monitoramento, recomenda-se a análise apresentando um valor máximo aceitável de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$, caso sejam gêneros produtores de anatoxina-a(s) também recomenda-se a análise.

CETESB (2013) menciona os níveis de monitoramento conforme o número de células de cianobactérias (Tabela 4.10).

Tabela 4.10 - Níveis de monitoramento de células de cianobactérias

Nível monitoramento	Células de cianobactérias (células.mL ⁻¹)
Baixa – Nível 1	20.000 ($2,0 \times 10^4$)
Moderada – Nível 2	100.000 ($1,0 \times 10^5$)
Alta – Nível 3	1.000.000 ($1,0 \times 10^6$)

Fonte: CETESB, 2013

Os limites considerados para um alerta de nível 2 (concentração de células de cianobactérias igual ou superior a $1,0 \times 10^5$ células.mL⁻¹, com presença de cianotoxinas confirmada por análises químicas ou bioensaios), são condições que retratam um risco significativo de efeitos adversos à saúde humana pelo abastecimento de água não tratada.

4.6.2 Registro de ocorrência de cianobactérias

No Brasil, estudos são realizados ainda de forma pontual na tentativa de monitorar e catalogar e floração dessas espécies, na busca pela manutenção da qualidade da água dos mananciais. A Tabela 4.11 aborda alguns registros no cenário nacional e internacional.

Tabela 4.11 - Gêneros e espécies de cianobactérias no cenário nacional e internacional

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Espécie/Gênero	Origem	Referências
Alfenas - Represa de Furnas (MG)	2000	NI	<i>Microcystis viridis e Cyndrospermopsis raciborskii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Belo Horizonte - Represa Vargem das Flores (MG)	2000	NI	<i>M. aeruginosa, M. viridis, C. raciborskii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Belo Horizonte - Rio das Velhas (MG)	2000	NI	<i>Bacillariophyceae, Aphanizomenon manguinii, C. raciborskii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Belo Horizonte - Rio Manso (MG)	2000	NI	<i>Chlorophyceae, C. raciborskii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Conselheiro Lafaiete (MG)	2000	NI	<i>Oscillatoria splendida</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Divinópolis (MG)	2000	NI	<i>Oscillatoria splendida</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Montes Claros (MG)	2000	NI	<i>Chlorophyceae, M. viridis, M. aeruginosa, Nodularia cf. implexa</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Ubá - Ribeirão Ubá (MG)	2000	NI	<i>M. viridis, Anabaena spp., Oscillatoria sp.</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Carmo do Rio Claro - Represa de Furnas (MG)	2000	NI	<i>M. viridis, C. raciborskii, Aphanizomenon tropicale</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Fama - Represa de Furnas (MG)	2000	NI	<i>M. viridis, M. aeruginosa, M. pseudofilamentosa, M. flos-aquae, Anabaena planctonica</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Fronteira e Planura - Rio Grande (MG)	2000	NI	<i>M. viridis, Anabaena planctonica</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Três Marias (MG)	2000	NI	<i>M. wesenbergii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Lagoa de Ibitaré - Refinaria Gabriel Passos (MG)	2000	NI	<i>M. aeruginosa, M. flosaquae.</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Ribeirão das Neves - Lagoa de estabilização (MG)	2000	NI	<i>M. aeruginosa, M. flosaquae, M. novacekii</i>	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Espécie/Gênero	Origem	Referências
Lomba do Sabão, Lago Guaíba (RS)	NI	NI	NI		Cybis <i>et al.</i> , 2006
Reservatório do Carpina (PE)	2006	1,0 x 10 ⁵	<i>Raphidiopsis cuevata</i> , <i>Raphidiopsis mediterrânea</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Microcystis sp.</i> , <i>Geitlerinema amphibium</i>	AB	Andrade, 2007
Reservatório de Tapacurá (PE)	2006 - 2007	7,2 x 10 ³ a 3,4 x 10 ⁵	NI	AB	Lira, 2008
Represa Billings (SP)	2004	NI	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Microcystis panniformis</i> , <i>Microcystis protocystis</i> , <i>Woronichinia naegeliana</i> , <i>Geitlerinema unigranulatum</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isothrix</i> , <i>Anabaena circinalis</i> , <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	AB	Rodrigues, 2008
Represa Guarapiranga (SP)	NI	NI	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Geitlerinema unigranulatum</i>	AB	Rodrigues, 2008
Reservatório do Funil (RJ)	NI	NI	<i>Microcystis spp.</i> , <i>Anabaena circinalis</i> , <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	AB	Ferrão-Filho <i>et al.</i> , 2009
Rio Tapajós (PA)	NI	NI	<i>Anabaena</i> , <i>Microcystis</i>	AB	Sá, 2010
Lagoa do Peri (SC)	2010	3,9 a 6,8 x 10 ⁴	NI	AB	Amaral, 2011
Represa de Alagados (PR)	NI	NI	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Aphanizomenom sp.</i> , <i>Choococcales</i> , <i>Leptolyngbya ssp.</i>	AB	Gomes, 2011
Lago Jaó (GO)	2003 - 2008	NI	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Dolichospermum circinalis</i> , <i>D. crassum</i> , <i>D. flos-aquae</i> , <i>D. planctonicum</i> , <i>D. spiroides</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>M. protocystis</i> , <i>M. wesenbergii</i> , <i>Radiocytis fernandoi</i> , <i>Geitlerinema amphibium</i> .	ANB	Nogueira <i>et al.</i> , 2011

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Espécie/Gênero	Origem	Referências
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,8 x 10 ⁶	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Limnothrix planctônica</i> e <i>Clorófitas</i> <i>Planktolyngbya sp.</i>	ANB	Machado e Sens, 2012
Rio Grande do Sul (RS)	2009	NI	<i>Planktothrix</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Microcystis</i>	AB	Müller <i>et al.</i> , 2012
Bacia Hidrográfica do Rio Doce (ES – MG)	NI	NI	NI	AB	Romeiro (2012)
Rio da Velhas (MG)	2007 - 2011	8,5 x 10 ⁴	<i>Microcystis novacekii</i> , <i>Sphaerocayum brasiliense</i> , <i>Planktothrix spp.</i>	AB	Ferraz (2012)
Lagoa do Gambá (MG)	NI	NI	<i>Microcystis novacekii</i>	ANB	Freitas (2012)
Matozinhos (MG)	2009	NI	<i>Sphaerocavum brasiliense</i> , <i>Microcystis botrys</i>	AB	Tupinambá <i>et al.</i> (2012)
Alfenas (MG)	2012	1,28 x 10 ⁶	NI	ANB	Vallef <i>et al.</i> (2012)
Porteirinha (MG)	2012	1,64 x 10 ⁶	<i>Spaerocavum brasiliense</i> , <i>Radiocystis fernandoi</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>M. novacekii</i> , <i>Planktrothrix isothrix</i> , <i>Arthospira fusiformis</i> .	ANB	Jardim <i>et al.</i> (2012)
Reservatório de Barra Bonita (SP)	2011 - 2012	NI	NI	AB	Buzelli e Cunha-Santino (2013)
Companhia de Água e Esgoto do Ceará- CAGECE (CE)	2013	NI	<i>Planktolyngbyasp</i> , <i>Aphanocapsasp</i> , <i>Cylindrospermopsis sp.</i> , <i>Raphidiopsis sp.</i>	AB	Barros (2013)
Reservatório de Mundaú (PE)	2010 - 2011	1,6 a 6,0 x 10 ⁶	<i>Microcystis panniformis</i> , <i>Microcystis protocystis</i> , <i>Raphidiopsis curvata</i> , <i>Raphidiopsis mediterrânea</i> , <i>Geitlerinema amphibium</i> , <i>Synechocystis aquatilis</i> , <i>Coelomonon tropicale</i>	AB	Silva <i>et al.</i> , 2013

Local	Período	Densidade (células.mL ¹)	Espécie/Gênero	Origem	Referências
Reservatório Maestra (RS)	2013	2, 3 x 10 ⁴ 5,3 x 10 ³	<i>Microcystis sp.</i> , <i>Ceratiumfurcoides</i>	AB	Almeida, 2014
Sub-bacia do Taiacupeba (SP)	2013	2,0 x 10 ⁴	NI	AB	Arruda <i>et al</i> , 2014
Açude Pereira de Miranda (CE)	NI	NI	<i>Aphanizomenon sp</i> , <i>Sphaerocavum sp</i> , <i>Geitlerinema amphibium</i> , <i>Aphanocapsa sp</i> , <i>Pseudanabaena catenata</i> , <i>Pseudanabaena sp</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Aulacoseira sp</i>	AB	Rebouças, 2014
Antártica, China, Israel, Japão, Tailândia, Vietnã, Austrália, Polônia, Alemanha, República Checa, Espanha, Hungria, França, Finlândia, Nova Zelândia, Itália, Grécia, Estados Unidos, Brasil, México e Uruguai	NI	NI	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Lyngbya wollei</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Raphidopsis curvata</i> , <i>Raphidopsis Mediterrânea</i> , <i>Umezakia natans</i>	AB/ANB	Rzymiski e Poniedziałek, 2014
Lagoa Juara e Lagoa Jacuném (ES)	2013	NI	<i>Synechococcus nidulans</i> , <i>Synechococcus sigmoideus</i> , <i>Microcystis proctocystis</i> , <i>Planktothrix isothrix</i>	ANB	Almeida, 2015
Barragem de Joanes I (BA)	NI	NI	<i>Cylindrospermopsis sp</i> , <i>Merismopedia tenuissima</i> , <i>Limnotrix sp.</i>	AB	DIFIM, 2015
Lagoa do Peri (SC)	NI	NI	<i>Cylindrospermopsis raciborskii e Pseudanabaena galeata</i>	ANB	Souza, 2015
Rio de Ohio (EUA)	2015	NI	NI	AB/ANB	United States Geological Survey (USGS)
São Francisco (Califórnia - EUA)	2014	5,7 x 10 ⁶	<i>Microcystis</i>	AB	Lehman <i>et.al.</i> , 2017

Legenda: **NI** – Período ou densidade não informada; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento.

4.6.3 Ocorrência de cianobactérias após etapas de clarificação

Considerando que grande parte das ETAs apresenta o tratamento do tipo convencional, são abordados (Tabela 4.12) estudos que relatam a remoção em etapas anteriores à desinfecção (clarificação), obrigatória de acordo com a Portaria 2914 (BRASIL, 2011).

Tabela 4.12 - Trabalhos sobre remoção de cianobactérias após etapas de clarificação

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Gênero/Espécie	Origem	Tecnologia empregada	Referências
Laboratório da Escola de Engenharia de São Carlos (USP)	NI	2,0 x 10 ⁴ a 5,0 x 10 ⁴	<i>Microcystis spp.</i>	ANB	PO/FAP	Kuroda, 2006
Cariacica (ES)	2005-2006	6,1 x 10 ⁴	NI	AB	FAD	Pavani <i>et. al.</i> , 2007
Cariacica (ES)	2005-2006	1,0 x 10 ⁴	NI	AB	FDD	Pavani <i>et. al.</i> , 2007
Lagoa da Pampulha (MG)	2008	1,1 x 10 ⁴	<i>Sphaerocavum brasiliense</i>	ANB	PFA	Silva, 2008
Lagoa do Peri (SC)	2010	6,8 x 10 ⁴ a 3,9 x 10 ⁴	NI	AB	C	Amaral, 2011
Açude Argemiro de Figueiredo (PB)	2002-2012	1,0 x 10 ⁵	<i>Planktothrix agardhii</i>	AB	C/F/S	Oliveira, 2013
Reservatório de Maestra (RS)	2012-2013	2,3 x 10 ⁴	<i>Microcystis sp.</i>	AB	S/F	Almeida, 2014
Reservatório de Maestra (RS)	2012-2013	5,3 x 10 ³	<i>Ceratium furcoides</i>	AB	C/F/FtAD	Almeida, 2014

Legenda: **NI** – Período ou densidade não informada; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento; **C** – Coagulação; **F** – Floculação; **S** – Sedimentação; **FtAD** – Flotação por ar dissolvido; **PFA** – Pré-filtro de areia; **PO** – Pré-oxidação; **FAP** - Filtração ascendente em pedregulho; **FDD** – Filtração direta descendente.

4.6.4 *Cylindropermopsis raciborskii*

Cylindropermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju 1972 são tricomas solitários, retos ou levemente curvos, células cilíndricas, 2 a 3 µm diâmetro, 7 a 11 µm comprimento, com aerótopos; célula apical acuminada; heterocitos cônicos, terminais, 3 a 5 µm diâmetro, 10 a 13 µm comprimento; acinetos cilíndricos, distantes dos heterocitos, 4 a 5 µm diâmetro, 13 a 16 µm comprimento. A Figura 4.15 retrata a espécie (SANT'ANNA *et al.*; 2012).



Figura 4.15 - *Cylindropermopsis raciborskii*
Fonte: Sant'Anna *et al.*, 2012

Nove novas espécies dos gêneros foram descritas (KOMÁREK e HAUER, 2004; MELCHER, 2004). Nos últimos 10 anos, a frequência de florações do gênero aumentou nos trópicos, sendo observada também em área subtropical e nas regiões temperadas (FASTNER *et al.*, 2003; MELCHER, 2004). Algumas delas são de importância sanitária crescente, em função da capacidade de produção de alcalóides neuro e citotóxicos (saxitoxinas, neosaxitoxinas e cilindropermopsinas) (VIDAL e KRUK, 2008).

A espécie *Cylindropermopsis raciborskii* foi registrada pela primeira vez em Java/Indonésia, e classificada como uma espécie tropical de ótimo desenvolvimento a 25°C (BRIAND *et al.*, 2004). Na América do Sul, a espécie é bem conhecida em águas tropicais do Brasil. Autores

apontam o primeiro relato da ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii*, em 1969, no Lago Paranoá em Brasília (DF). Grande expansão na distribuição ocorreu a partir da década de 1990, coincidindo com o aumento da eutrofização dos sistemas aquáticos nas mais diversas regiões do país (MELCHER; 2004; SANT'ANNA *et al.* 2008; GOMES *et al.* 2009; ARAGÃO; 2011).

Apesar de comportarem de maneira distinta, as toxinas liberadas por *Cylindrospermopsis raciborskii* têm como resultado a paralisação da atividade muscular, levando os animais, utilizados em bioensaio, à morte por parada respiratória, após poucos min de exposição (ARAGÃO, 2011). Segundo Oliveira e Molica (2003), em 1979 ocorreu o primeiro caso de intoxicação humana provocada pela espécie, relatado na Austrália, onde 141 pessoas apresentaram sintomas de hepatoenterite, após o consumo da água de um reservatório tratado com algicida para eliminação da floração.

4.6.4.1 Ocorrência da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* e após etapas de clarificação

A Tabela 4.13 apresenta registros de ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* no cenário nacional e internacional. A Tabela 4.14 apresenta estudos relacionados à remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* em diferentes mecanismos de clarificação, dados que devem ser analisados e sempre comparados para efetividade dos métodos de remoção.

Tabela 4.13 - Registro de ocorrências da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Origem	Referências
Barragens Bom Sucesso (PE)	NI	4,9 x 10 ⁵ a 2,9 x 10 ⁶	AB	Silvestre <i>et al.</i> , 1999
Lage dos Gatos (PE)	NI	1,2 x 10 ⁵ a 3,5 x 10 ⁶	AB	Silvestre <i>et al.</i> , 1999
Confins (MG)	NI	NI	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Pedra Azul (MG)	NI	NI	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Medina (MG)	NI	NI	AB	Jardim <i>et al.</i> , 2000
Lago das Garças (SP)	NI	NI	AB	Tucci; Sant'Anna, 2003
Lago do Peri (SC)	2001 - 2002	NI	AB	Mondardo, 2004
Córrego Santa Bárbara (MG)	2004	NI	AB	Fraietta <i>et al.</i> , 2005
Reservatório de Tapacurá (PE)	2006	6,9 x 10 ³ a 3,3 x 10 ⁵	AB	Lira, 2008
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,8 x 10 ⁶	AB	Machado e Sens, 2012
Barragem Farroupilha (RS)	NI	NI	AB	Muller <i>et al.</i> , 2012
Açude Madeiro (CE)	2011	2,0 x 10 ⁵	AB	Barros, 2013
Açude Edson Queiroz (CE)	2010	1,4 x 10 ⁶	AB	Barros, 2013
Açude Acarapé do Meio (CE)	2011	7,8 x 10 ⁵	AB	Barros, 2013
Açude Serafim Dias (CE)	2010	1,6 x 10 ⁶	AB	Barros, 2013
Ribeirão João Leite (GO)	2010	NI	AB	Pina, 2013
Barragem Eng. Armando Ribeiro Gonçalves (CE)	2009 - 2011	2,39 x 10 ⁵	AB	Vieira, 2013
Lago Bytynskie (Polonia)	NI	NI	AB	Rzymiski <i>et al.</i> , 2014
Lago Waahi, Waikare e Whangape (Nova Zelândia)	2013	NI	AB	Wood <i>et al.</i> , 2014
Reservatório da Pampulha (MG)	2010 - 2012	NI	AB	Costa, 2015
Reservatório de Alagados (PR)	NI	1 x 10 ⁶	AB	Calado, 2015
Açude Pereira Miranda (CE)	2012 - 2013	NI	AB	Lina, 2016
Queensland (Austrália)	2013	6,5 x 10 ⁵	AC	Willis <i>et al.</i> , 2016

Legenda: **NI** – Período ou densidade não informada; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento.

Tabela 4.14 - Trabalhos sobre remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* após etapas de clarificação

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Origem	Tecnologia empregada	Remoção (%)	Referências
Lagoa da Pampulha (MG)	2008	1,2 x 10 ⁵	ANB	PFA	42	Silva, 2008
Florianópolis (SC)	NI	1,0 x 10 ⁶	ANB	C/F/S	97,5 ⁽ⁱ⁾	Coral, 2009
Florianópolis (SC)	NI	1,0 x 10 ⁶	ANB	C/F/S	90 ⁽ⁱⁱ⁾	Coral, 2009
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,8 x 10 ⁶	AB	C/FAC	73	Machado e Sens, 2012
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,8 x 10 ⁶	AB	C/FAC/DF	68	Machado e Sens, 2012
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,0 x 10 ⁶	AB	PFAc	92	Souza, 2015
Lagoa do Peri (SC)	NI	1,0 x 10 ⁶	AB	FLA	88	Souza, 2015

Legenda: **NI** – Não informado; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento; **PFA** – Pré filtro de areia; **C** – Coagulação; **F** – Floculação; **S** – Sedimentação; **FAC** – Filtro ascendente convencional; **DF** – Dupla filtração; **FLA** – Filtração lenta ascendente; **PFAc** – Pré filtração ascendente. ⁽ⁱ⁾ Dose de policloreto de alumínio entre 30 e 70 mg.L⁻¹ e pH entre 5,6 e 6,9 ⁽ⁱⁱ⁾ Dose de policloreto de alumínio 50 mg.L⁻¹ e pH de 6,36.

4.6.5 *Microcystis aeruginosa*

A *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann 1907 são colônias micro ou macroscópicas, alongadas, irregulares ou lobadas (esféricas quando jovens), às vezes clatradas; mucilagem hialina, indistina, ampla; células esféricas, com aerótopos; conteúdo celular verde-escuro. A Figura 4.16 retrata a espécie (SANT'ANNA *et al.*; 2012):



Figura 4.16- *Microcystis aeruginosa*
Fonte: Sant'Anna *et al.* (2012)

A taxonomia do gênero *Microcystis* é problemática, principalmente devido à grande variabilidade morfológica apresentada pelas suas morfoespécies. Basicamente, a forma e o tamanho das colônias, a estrutura da mucilagem e o tamanho e arranjo das células nas colônias são características fundamentais para a identificação das espécies (FREITAS, 2012). A espécie *Microcystis aeruginosa* ocorre naturalmente em águas superficiais, com distribuição ampla no Brasil, ocorrendo de norte a sul do país (SANTA'ANNA *et al.* 2008, ARAGÃO 2011).

A proliferação da *Microcystis aeruginosa* forma um tapete microbiano que pode cobrir a superfície da água, reduzindo a incidência de luz solar, e, portanto, a atividade fotossintética do ecossistema. Assim, as concentrações de oxigênio dissolvido tendem a reduzir gerando microhabitats anaeróbios no corpo d'água e degradação do ecossistema local. É capaz de produzir uma potente cianotoxina, a microcistina, danosa principalmente ao fígado e potencialmente prejudicial ao ser humano. A ingestão de água ou de células de cianobactérias contendo microcistina tem produzido efeitos adversos em peixes, cães, gatos, animais e seres humanos (SANTA'ANNA *et al.* 2008).

4.6.5.1 Ocorrência de *Microcystis aeruginosa* e após etapas de clarificação

A Tabela 4.15 que segue abaixo expressa registros de florações da espécie *Microcystis aeruginosa*. Da mesma forma que a *Cylindrospermopsis raciborskii*, a Tabela 4.16 apresenta estudos relacionados com a remoção em etapas relacionadas à clarificação.

Tabela 4.15 - Registro de florações da espécie *Microcystis aeruginosa*

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Origem	Referências
Lagoa dos Patos (RS)	1994 - 1995	0,5 - 1,3 x 10 ⁶	ANB	Matthiensen <i>et al.</i> , 1999
Reservatório de Tapacurá (PE)	2006	6,9 x 10 ³	ANB	Lira, 2008
Lagoa Taihu (China)	2007	NI	AB	Liu <i>et al.</i> , 2010
Reservatório Dalton (Israel)	2000 - 2007	NI	AB	Adiv <i>et al.</i> , 2011
Lago Taihu (China)	2007 - 2008	NI	AB	Zhang <i>et al.</i> , 2012
Lagoa Camorim (RJ)	2011 - 2012	2,7 x 10 ⁵	ANB	Gômara, 2013
Lagoa Tijuca (RJ)	2011 - 2012	1,4 x 10 ⁵	ANB	Gômara, 2013
Slapy, Hracholusky, Rathan, Vajgar, Svihov, Plumlov (República Checa)	2008	NI	AB	Bláhová <i>et al.</i> , 2013
Rio Cape Fear (Carolina do Norte - EUA)	2009	NI	AB	Isaacs <i>et al.</i> , 2013
Reservatório Mundaú (PE)	2010 - 2011	1,6 x 10 ⁶ a 6,0 x 10 ⁶	AB	Silva <i>et al.</i> 2013
Reservatório Maestra (RS)	2012 - 2013	2,3 x 10 ⁴	AB	Almeida, 2014
Lagoa da Pampulha (MG)	NI	NI	ANB	Costa, 2015
Lago Erie (Canadá/EUA)	NI	NI	ANB	Steffen <i>et al.</i> , 2014; Ho e Michalak, 2015
Estuário de Saint Lucie (Florida - EUA)	2016	NI	AB	Oehrle <i>et al.</i> , 2017

Legenda: **NI** – Período ou densidade não informada; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento.

Tabela 4.16 - Trabalhos sobre remoção de *Microcystis aeruginosa* após etapas de clarificação

Local	Período	Densidade (células.mL ⁻¹)	Origem	Tecnologia empregada	% Remoção	Referências
Lago Paranoá (DF)	NI	1,0 x 10 ⁶	ANB	FC	98 ⁽ⁱ⁾	Sá <i>et al.</i> , 2002
Lago Paranoá (DF)	NI	1,0 x 10 ⁶	ANB	FC	80 ⁽ⁱⁱ⁾	Sá <i>et al.</i> , 2002
Açude Argemiro de Figueiredo (PB)	2002 - 2012	1,0 x 10 ⁵	AB	C/F/S	91	Oliveira, 2013
Campina Grande (PB)	NI	3,62 x 10 ⁴	ANB	C/F/S	91	Oliveira, 2014
Campina Grande (PB)	NI	3,80 x 10 ⁴	ANB	C/F/S	88,38	Oliveira, 2014

Legenda: **NI** – Não informado; **AB** – Água usada como fonte de abastecimento; **ANB** – Água não usada como fonte de abastecimento; **C** – Coagulação; **F** – Flocculação; **S** – Sedimentação; **FC** – Filtro Convencional; ⁽ⁱ⁾ taxa de filtração 2 m³.dia⁻¹ ⁽ⁱⁱ⁾ taxa de filtração de 3 m³.dia⁻¹.

4.7 Técnicas para o controle de SOHs

4.7.1 Remoção de precursores

A remoção de precursores a partir da otimização dos processos de coagulação é, segundo a USEPA, a melhor tecnologia para controlar a formação de subprodutos em sistemas de tratamento de água (USEPA, 1999b). Lara (2007) relata que uma das estratégias no controle de TAMs é a remoção dos compostos precursores (matéria orgânica) antes de sua reação com o cloro, impedindo assim a sua formação.

De acordo com *The Department of Environmental and Conservation* (DCE, 2016), a remoção de precursores também se enquadra como a melhor forma de controlar a formação de AHAs. Logo, a melhoria do processo de filtração, a diminuição do pH (para níveis mais baixos como 4 ou 5, já que o precipitado advindo da etapa de coagulação é formado em valores mais baixos) e o uso de coagulantes férricos em vez de alumínio podem otimizar a remoção destes precursores e assim, interferir na formação de SOHs.

Além disso, um eficiente ajuste do sistema de tratamento de água também pode conseguir uma redução dos subprodutos sem prejudicar a desinfecção. O gerenciamento da demanda de cloro pode ser usado como uma das primeiras opções de mitigação para controle dos AHAs.

4.7.2 Oxidantes alternativos ao uso do cloro

De acordo com Lima (2014), reações que envolvem a formação de SOHs podem ocorrer durante o tratamento de água nas etapas de pré-cloração e desinfecção, e ao longo da rede de distribuição. Existe uma variedade de pré-oxidantes substitutos do cloro, no entanto, estes não são uma opção adequada quando a pré-cloração é necessária para alcançar os valores obrigatórios de CT (produto da concentração residual oxidante e tempo eficaz de contato, mg.min.L⁻¹). A utilização na pré-desinfecção parece a mais adequada. A limitação de alguns desinfetantes prende-se à capacidade de não conferir residual estável.

4.7.2.1 Ozônio

Segundo Farren (2003), o ozônio é o oxidante mais efetivo na inativação de organismos que o cloro. Além disso, atua no controle de gosto e odor, na oxidação de substâncias húmicas orgânicas presentes na água, e na desestabilização das partículas. De acordo com o manual da USEPA (1999b), o ozônio não forma SOHs, a não ser que para o TAMs haja a presença de íons brometos na água, ou cloro seja adicionado como oxidante secundário. Nos estudos de Rodriguez *et al.* (2004) a utilização de ozônio permitiu uma redução média de TAMs e AHAs de 44% e 37%, respectivamente.

A ação oxidante se dá por meio dos radicais livres (oxigênio molecular), altamente instáveis e raramente encontrado na água após alguns minutos de sua aplicação. Sendo assim, uma das desvantagens do uso do ozônio no tratamento de água é que ele não fornece um residual para a rede de distribuição e, segundo a USEPA (1999b), este não deve ser usado como um oxidante secundário. Além disso, o ozônio pode produzir outros subprodutos como os bromatos, formaldeídos e halopropanonas. (FARREN, 2003).

4.7.2.2 Dióxido de Cloro

De acordo com Paschoalato (2005), o uso do dióxido de cloro como oxidante apresenta vantagens como maior eficiência que outros compostos à base de cloro e cloraminas na inativação de vírus, atua como oxidante de ferro, manganês e sulfetos, diminui a formação de subprodutos orgânicos além de fornecer satisfatória ação oxidante residual.

Segundo Farren (2003) as principais desvantagens da utilização de dióxido de cloro como oxidante em comparação com cloro são maiores custos operacionais, riscos para a saúde causados por oxidantes residuais e a criação de subprodutos nocivos. Ainda, segundo Tolerano *et al.* (2005), o dióxido de cloro dá origem a cloritos e cloratos como subprodutos, bem como outras espécies aniônicas cujo efeito à saúde é desconhecido. Além disso, deve ser preparado no local de aplicação, possui altos custos com treinamento de operadores e sofre decomposição com incidência de luz solar (USEPA, 1999b).

4.7.2.3 Peróxido de Hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é aplicado na etapa de pré-oxidação de modo a facilitar a remoção de impurezas suspensas e dissolvidas e diminuir a carga de cloro aplicado no tratamento. Tem sido sugerido como substituto do cloro no processo de pré-oxidação com intuito de minimizar a formação de SOHs.

Porém, a formação do SOHs pode ocorrer em contato com bromo ou quando o cloro é adicionado como oxidante secundário (USEPA, 1999b). Além disso, este produto é altamente perigoso no caso de contato com pessoas e se degrada facilmente com o tempo e normalmente não produz residual significativo.

4.7.2.4 Permanganato de Potássio

O permanganato de potássio vem sendo usado pelos EUA há mais de 100 anos e é utilizado em 16% das ETAs enquanto o cloro é utilizado em 63,8% destas (USEPA, 1999b). Nos ensaios realizados por Ferreira Filho *et al.* (2013), observou-se que a substituição da pré-cloração por pré-oxidação com permanganato de potássio proporcionou redução na formação

de TAMs. De acordo com o manual da USEPA (1999b), o uso do permanganato de potássio na pré-oxidação tem as seguintes vantagens: promove a oxidação do ferro, manganês e outros compostos que fornecem cor e gosto à água; realiza o controle de organismos indesejados e também o controle de formação de SOHs.

Como desvantagens, é necessário um longo tempo de contato, o residual pode gerar uma coloração rósea na solução, é irritante à pele e mucosas e pode ser fatal se for ingerido em concentrações elevadas. Paschoalato (2005) menciona que o uso de permanganato de potássio em doses menores que 2 mg.L^{-1} não apresenta vantagens na minimização da formação de TAMs devido à pouca redução dos precursores.

4.7.2.5 Cloraminas

As cloraminas podem ser utilizadas como oxidante alternativo ao uso do cloro na desinfecção. Segundo Santos (2013), a cloração combinada com amônia é um método que possibilita reduzir a formação de SOHs, uma vez que as cloraminas inorgânicas possibilitam menor formação destes compostos. Segundo Ferreira (2007), as cloraminas não causam problemas de gosto e odor, muitas vezes observados no uso de oxidantes à base de cloro. Nos estudos de Rodriguez e Sérodes (2004) a utilização dos compostos permitiu redução média de TAMs e AHAs de 98% e 93%, respectivamente. De acordo com a USEPA (1999b), as monoclорaminas são atrativas para o uso como oxidante secundário pela baixa produção de SOHs.

No entanto, a principal desvantagem é a aplicação de altas doses e elevado tempo de contato para fornecer uma desinfecção eficiente. Além disso, em termos de desinfecção, apresenta ação oxidante menor do que os desinfetantes à base de cloro (USEPA, 1999b).

4.7.2.6 UV

Segundo a USEPA (1999b), concentrações muito pequenas de SOHs são formados quando a oxidação por UV é utilizada. No entanto, a água com elevadas concentrações de minerais tais como ferro e cálcio, elevada turbidez e fenóis pode não ser aplicável à desinfecção por este método. Além disso, de acordo com Farren (2003), a alternativa não produz um residual e, por isso, só pode ser usado como um desinfetante primário. Assim, um oxidante secundário, tal como cloro gasoso, em combinação com radiação ultravioleta, deve ser utilizado no tratamento de água potável para que garanta o CRL na rede de distribuição.

4.7.3 Remoção de SOHs após a formação

O estudo de Hussien (2004), que avaliou a eficácia do uso de membranas éster policelulose, no qual a filtração ocorreu várias vezes sob a mesma membrana, demonstrou que a técnica tem a capacidade de remover TAMs. A filtração por duas vezes na mesma membrana foi mais eficiente para minimizar a produção quando se procedia à troca das membranas para uma filtração apenas.

De acordo com Cunha (2010), vários países, especialmente os desenvolvidos, utilizam a filtração com membrana e a nanofiltração com o objetivo de reduzir a formação ou a remoção de TAM. Uyak *et al.* (2008) relatam a eficiência da remoção dos TAMs utilizando a nanofiltração, atestando a eficiência da técnica. Outros autores, como Kitis *et al.* (2001) e Boodzek *et al.* (2002) também estudaram a viabilidade da utilização da osmose inversa, nanofiltração e ultrafiltração, sendo a última a técnica mais eficaz. Porém, segundo os autores e compactuando com Cunha (2010), são técnicas onerosas do ponto de vista econômico. O carvão ativado é uma alternativa ao uso das técnicas descritas anteriormente, além de comprovada eficiência na remoção de compostos voláteis como os TAMs. (CUNHA, 2010).

Segundo FUNASA (2007), sabendo-se que os TAMs são compostos orgânicos voláteis, a aeração também merece ser listada como alternativa para a redução da concentração de TAMs, pois tendem a se evaporar quando a água clorada é aerada por algum tempo. Se a água é armazenada à temperatura ambiente em recipientes abertos, por exemplo, por um período de três dias, ocorre a volatilização completa dos TAMs. Do ponto de vista econômico, é uma alternativa ao uso do carvão ativado (CUNHA, 2010).

Os resultados obtidos por Pádua *et al.* (2003) demonstraram que em um tempo de aeração de 15 min (28 ± 1 °C), houve 100% de remoção de BDCM, DBCM e de 23% de TCM. Portanto, sugere a possibilidade de remover cerca de 63,5% dos TAMs em 15 min de aeração.

A redução dos TAMs foi comparada, para águas cloradas e cloraminadas, nos estudos de Krasner e Wright (2005), após serem submetidas a tempos distintos de aquecimento (fervura). Os TAMs foram o grupo mais volátil dos subprodutos estudados, com 84% das espécies removidos após 2 min, ao passo que 97% durante 5 min. Não houve diferenças significativas entre a remoção de TAMs da água clorada e a cloraminada após maior tempo de aquecimento, com ambas as amostras com remoções na ordem de 97% após 5 min. A única espécie de TAMs iodados detectada, o DCIM, foi completamente eliminado após 1 min de aquecimento.

Para os AHAs os autores obtiveram resultados divergentes em relação ao TAMs nas duas amostras aquecidas de água. Ocorreu o aumento na formação após 1 min, destacando a alta concentração após 5 min. No aumento do tempo de 1 para 5 min, a concentração de DCAA em água clorada variou de 59 a 76% e para o BCAA e DBAA, aumento em pelo menos 50% em 1 min, permanecendo constantes com a continuação do processo. Nenhuma alteração na concentração TCAA foi observada para 1 min de aquecimento, mas 10% e 30% de reduções foram notadas durante 2 e 5 min, respectivamente.

Para as amostras cloraminadas, uma redução na concentração total de AHAs foi observada após 1 min, e os níveis pouco mudaram após novo aquecimento. Reduções um pouco maiores (9-37 %) em concentrações TCAA foram encontrados com maior tempo de aquecimento. Reduções semelhantes foram observadas ao longo do tempo para o BCAA nas amostras cloradas (57-100%) e cloraminadas (53-93 %). Pequenos aumentos na concentração de MCAA foram observados para a amostra clorada após o procedimento.

Embora simples, ressalta-se a inaplicabilidade das técnicas em ETAs e perspectiva de aplicação em domicílios mediante cuidados prévios (custos, segurança no manuseio, tempo de resfriamento, etc).

4.8 Técnicas de detecção de SOHs

A metodologia clássica para a quantificação de SOHs em amostras aquosas é por cromatografia gasosa, sendo reconhecida mundialmente e recomendada por vários organismos de padronização de ensaios para tratamento de água, tais como o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* e a USEPA. A cromatografia gasosa, GC (*Gas Chromatography*), tem como princípio que as substâncias voláteis e semi-voláteis, quando transportadas por um gás numa coluna, interajam com a fase estacionária da coluna, que pode ser sólida ou líquida ligada a um material sólido. Com a injeção de uma mistura de substâncias no cromatógrafo a gás, cada uma delas pode interagir e distribuir-se entre o gás transportador e o absorvente de uma forma específica. Esta interação, se existir, permite que cada substância seja retida na coluna em diferentes tempos, possibilitando a sua distinção e consequente especificação (USEPA, 1995a; USEPA, 1995b; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009).

Acoplados à CG estão normalmente diferentes detectores, sendo os mais comuns na análise dos SOHs voláteis, o espectrômetro de massa, EM (MS, *Mass Spectrometer*), o detector de ionização por chama, DIC (FID, *Flame Ionization Detector*) e o detector de captura de

elétrons, DCE (ECD, *Electron Capture Detector*) (USEPA, 1995a; USEPA, 1995b; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009).

Para SOHs em baixas concentrações, recomenda-se uma etapa de pré-concentração (USEPA, 1995a; USEPA, 1995b; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009). Os SOHs não voláteis, como os AHAs podem também ser analisados por CG, porém, em virtude de suas características fortemente ácidas e hidrofílicas (cerca de 99,99% dos AHAs estão na forma dissociada em íon haloacetato em água potável) não é possível fazê-lo diretamente, tornando-se necessária uma etapa prévia de derivatização (técnica pela qual se transforma uma substância em outra derivada, por meio de reação química).

4.8.1 Métodos de extração

Os métodos de extração mais comuns aplicados na preparação de amostras de água com SOHs (USEPA, 1995a; USEPA, 1995b; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009) são:

- *Purge&Trap* - P&T: a amostra de água é injetada em um frasco de purga – um tubo de vidro em forma de U – e os compostos orgânicos voláteis são extraídos pela passagem de um gás inerte – usualmente He ou N (através da amostra). Extraídos, os analitos na fase de vapor são coletados em um trap que contém material sorvente apropriado. Depois da adsorção no sorvente, os compostos retidos são dessorvidos por aquecimento e transferidos por meio de uma linha aquecida até o injetor do CG;
- *Headspace* - HS: técnica eficaz e sensível na análise de compostos em baixas concentrações em um meio aquoso. Permite uma análise dos compostos voláteis que se encontram na parte superior da solução (*overhead*) de forma direta no CG, sem necessidade de se recorrer ao pré-tratamento (aquecimento) da amostra;
- Microextração em fase sólida - MEFS (SPME, *Solid Phase Micro-Extraction*): realiza-se a preparação de amostras sem recorrer a solventes. Sendo muito simples e eficiente, é uma técnica que envolve, numa só etapa e equipamento, as fases de extração, concentração e transferência para o CG, diminuindo com isso a manipulação e o tempo de preparação de amostra;
- Extração em fase sólida - EFS (SPE, *Solid Phase Extraction*): método que usa uma fase sólida em uma líquida para isolar elementos em amostras aquosas. Pode ser considerado um meio de purificação de amostras, antes da análise por cromatografia gasosa ou líquida, com o propósito de eliminar outras substâncias que compõem a matriz. A sua aplicação é recomendada em compostos semi-voláteis, dado que, em compostos muito voláteis, pode

existir risco de perdas;

- Extração líquido-líquido - ELL (LLE, *Liquid Liquid Extraction*): é usada tanto no enriquecimento de compostos orgânicos semi-voláteis como voláteis em matrizes líquidas. A ELL de SOHs voláteis pode alcançar baixos limites de detecção.

4.8.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG - EM)

A espectrometria de massas começou a desempenhar papel fundamental na análise de contaminantes em água potável no início dos anos 1970, tendo a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permitido separar misturas complexas de diversas substâncias e identificar cada analito individualmente, como por exemplo, compostos orgânicos de contaminantes ambientais. Tem sido proposta por vários autores em substituição aos tradicionais cromatógrafos com detector de captura de elétrons (CG-DCE) (NIKOLAOU *et al.*, 2002; CULEA *et al.*, 2006, CARERI e MANGIA, 2008).

Em 1974, o pesquisador Rook utilizou a técnica CG-EM na identificação de TCM, além de outros subprodutos. A CG-EM combina alta resolução na separação de compostos com alta sensibilidade na detecção, consistindo na ionização das moléculas da amostra no estado de vapor, em um ambiente de baixa pressão, produzindo fragmentos iônicos e neutros derivados da molécula. Normalmente, são usadas colunas cromatográficas no método analítico para a detecção de SOHs, cuja finalidade é a separação efetiva dos componentes presentes na amostra, sendo assim, considerada a parte mais importante do sistema (CARERI e MANGIA, 2008; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009).

A coluna é considerada a fase estacionária e o gás de arraste é caracterizado como fase móvel na cromatografia gasosa, tendo como função transportar as substâncias presentes na amostra através da coluna até o detector. Geralmente o gás é armazenado em um cilindro sob alta pressão, controlado por um manômetro e também por um regulador de vazão, acoplado ao equipamento. Ainda, o gás de arraste deve apresentar alta pureza (> 99,999%), pois impurezas como ar, umidade, e traços de vapores de hidrocarbonetos podem danificar a coluna cromatográfica e reagir com a amostra, e também afetar a estabilidade e a resposta das análises. Os gases mais empregados como gás de arraste em CG são os gases nitrogênio (N₂), hidrogênio (H₂) e hélio (He) (CARERI e MANGIA, 2008; PAVOM *et al.*, 2008; LEITE, 2009).

4.8.3 Metodologias para quantificação de TAMs

A metodologia tradicional recomendada pela APHA e USEPA para a detecção dos TAMs em amostras de água é a CG. Padrões adicionados à água isenta de produtos orgânicos e amostras são extraídas e analisadas da mesma forma, sob condições idênticas. Este passo é essencial para ajustar para a eficiência de extração inferior a 100% da técnica de extração simplificada. Para análise dos TAMs uma das técnicas recomendadas pela USEPA é o método 551.1 (USEPA, 1995a). O *Standard Methods* recomenda os métodos 6200B e 6232B (APHA, 2012).

4.8.3.1 Método USEPA 551.1

Recomenda-se como modo de extração a ELL, em que uma alíquota de 50 mL da amostra é extraída com 3 mL de éter metil terc-butilíco (MTBE, *methyl tert-butyl ether*) ou 5 mL de pentano. 2 µL dessa alíquota é injetada no equipamento de CG equipado com uma coluna capilar de sílica fundida e com um DCE linearizado para análises e separação. O procedimento de calibração padrão é utilizado para quantificar os compostos de interesse (USEPA, 1995a).

4.8.3.2 Standard Methods 6200B

Nesse método (P&T em coluna capilar, CG-EM) os compostos orgânicos voláteis são transferidos com eficiência da fase líquida para gasosa, borbulhado em um gás inerte como o hélio, em um recipiente onde a amostra está em contato com água à temperatura ambiente. O vapor absorve o analito de interesse e depois de aquecido, com o mesmo gás inerte, é transferido para uma coluna de CG. A temperatura é programada com o objetivo de separar os componentes e o detector de massa é utilizado junto a CG (APHA, 2012).

4.8.3.3 Standard Methods 6232B

É um método de cromatografia em fase gasosa simples por ELL, que é altamente sensível e muito preciso para estes compostos e outros solventes clorados, como para a determinação de quatro TAM: TCM, BDCM, DBCM e TBM. A amostra é extraída com pentano e o extrato é injetado num CG-DCE para a separação e a análise. A extração e análise podem variar de 10 a 30 min por amostra, dependendo das condições analíticas. Evidência confirmatória, se necessária, é obtida por meio de colunas diferentes e outros detectores seletivos, como o EM, e as concentrações dos componentes devem ser suficientemente altas ($>50 \mu\text{g.L}^{-1}$) para confirmação das análises.

4.8.4 Metodologias para quantificação de AHAs

Por causa da sua força ácida e caráter hidrofílico, os AHAs não podem ser determinados diretamente por CG. Assim, a maioria dos métodos requer uma etapa de derivatização, esterificação de seus grupos carboxílicos que são mais voláteis e menos polares (SILVA, 2010). No decorrer dos anos a extração ELL foi a técnica com maior aplicação para a preparação de amostras dos AHAs utilizada pela USEPA (VIDEIRA, 2012). Para análise dos AHAs os métodos aprovados pela USEPA são os 552.1, 552.2 e 552.3 e o *Standard Methods* recomenda o método 6251B.

Em todos eles, os AHAs são extraídos da amostra de água usando MTBE ou resina de troca aniônica, e são convertidos em ésteres metílicos, usando diazometano ou metanol acidificado. Os métodos da USEPA recomendam a CG com DCE devido à baixa concentração com que os AHAs são encontrados em água potável (SILVA, 2010), embora autores como Nikolaou *et al.* (2002) e Culea *et al.* (2006) tenham utilizado adaptações dos métodos citados para o uso com a EM.

4.8.4.1 Método USEPA 552.1

Um volume de 100 mL da amostra é ajustado para pH 5,0 e extraído em coluna pré-condicionada de permuta aniônica. Os analitos são eluídos com pequenas alíquotas de metanol ácido e esterificado diretamente neste meio, após a adição de um pequeno volume de MTBE. Os ésteres metílicos são divididos em fase de MTBE e identificados e quantificados por CG-DCE (USEPA, 1992).

4.8.4.2 Método USEPA 552.2

Por ELL, um volume de 40 mL é ajustado a pH < 0,5 e extraído com 4 mL de MTBE. Os AHAs que foram particionados para a fase orgânica, em seguida, são convertidos nos seus ésteres metílicos, pela adição de metanol ácido seguido por um ligeiro aquecimento. O extrato ácido é neutralizado com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e os analitos alvo são identificados e avaliados empregando o CG-DCE e podem ser quantificados utilizando a calibragem padrão processual (USEPA, 1995b).

4.8.4.3 Método USEPA 552.3

Por ELL, um volume de 40 mL da amostra é ajustado para um pH ≤ 0,5 e extraído com 4 mL de MTBE contendo padrão interno. Os AHAs que forem particionados para a fase orgânica são convertidos nos seus ésteres metílicos, pela adição de metanol ácido seguido por aquecimento durante 2 h. A fase solvente contendo os AHAs metilados é separada através da

adição de 7 mL de uma solução aquosa concentrada de sulfato de sódio (Na_2SO_4). A fase aquosa é descartada e o extrato é em seguida neutralizado com uma solução saturada de NaHCO_3 e a camada de solvente é removida para análise. Os analitos alvo são identificados e quantificados por CG em coluna capilar usando um DCE, utilizando a calibragem padrão processual (USEPA, 2003a).

4.8.4.4 Standard Methods 6251B

Esta técnica foi desenvolvida para analisar simultaneamente MCAA, MBAA, DCAA, TCAA, BCAA, DBCAA. Outros AHAs podem estar presentes durante a utilização desse método e serem analisados, porém seus padrões não são estáveis e não são de fácil disponibilidade no mercado. Neste método (microextração líquido-líquido por CG) a amostra de água é extraída utilizando MTBE em um pH ácido e para aumentar a eficiência da extração é adicionado um agente secante (Na_2SO_4). As amostras são misturadas com metanol e uma solução de diazometano para produzir ésteres metílicos ou outros ésteres derivados que serão separados por CG. A análise é realizada à temperatura programada e se utiliza de uma coluna capilar de sílica fundida e um DCE. Este método é ideal para a análise de AHAs na faixa de 5 a 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (1,0 a 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para MCAA) (APHA, 2012).

4.8.5 Validação analítica de métodos cromatográficos

Segundo Ribani *et al.* (2004), técnicas de separação, tais como cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e eletroforese capilar (CE), vêm se destacando na química analítica pela capacidade de realizarem análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos. Neste contexto, aspectos e diretrizes de validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos foram estabelecidos pelas diferentes agências reguladoras internacionais e do Brasil. Artigos e revisões têm sido publicados a respeito de validação de métodos analíticos, os quais descrevem definições, procedimentos, parâmetros e estratégias de validação.

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) são no Brasil agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaios, disponibilizando guias para o procedimento de validação de métodos. A seguir são mencionados os principais parâmetros de validação de métodos analíticos por Ribani *et al.* (2004), Zanchetta *et al.* (2015), INMETRO (2016) e ANVISA (2016).

4.8.5.1 Curva analítica

Corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma faixa de aplicação. A correlação entre o sinal medido (área ou altura do pico, também denominado de intensidade na leitura cromatográfica) e a massa ou concentração da espécie a ser quantificada muito raramente é conhecida de imediato. Em situações rotineiras a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse deve ser determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas do composto estudado. Essa relação matemática, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta como, por exemplo, uma curva analítica. A ANVISA (2016) recomenda o coeficiente de correlação de no mínimo 0,99 e o INMETRO (2016) um valor acima de 0,90, obtido pela relação linear simples, descrita pela Equação $Y = aX + b$. Os órgãos sugerem entre cinco pontos e seis pontos o número mínimo aceito nos gráficos de calibração (que não incluam o ponto zero na curva, devido aos possíveis erros associados). Devem ser apresentados juntamente com tratamento estatístico, o qual deve envolver, no mínimo, a equação da função (linear), a análise da regressão dos dados de correlação (r) e determinação (r^2) (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.2 Linearidade e faixa de aplicação

Na técnica instrumental, a mencionada relação linear simples só é reconhecida em um determinado intervalo de massa ou concentração da espécie medida. Este intervalo de massas ou concentrações, no qual se pode construir uma curva analítica linear, é a faixa linear dinâmica. Ainda que as causas para a perda de linearidade sejam características de cada técnica, este é um fenômeno que pode ocorrer com qualquer conjunto de dados. Para isso, recomenda-se adicionar a curva analítica outros pontos, de preferência em concentrações mais altas, o qual deve envolver a nova equação da função (linear) com a análise da regressão dos dados de correlação (r) e determinação (r^2) (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.3 Precisão

A precisão é obtida através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV), conforme Equação 4.13:

$$RSD(\%) \text{ ou } CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (4.13)$$

onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta e \bar{x} a média.

Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSDs de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis conhecidos como repetitividade; precisão intermediária; reprodutibilidade. Órgãos de creditação sugerem que a repetitividade seja verificada a partir de um mínimo de nove determinações cobrindo o limite especificado do procedimento (ex.: três níveis, três repetições cada um), ou a partir de um mínimo de seis determinações a uma concentração similar ao valor esperado. O efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores é verificada através da precisão intermediária (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.4 Limite de detecção (LD)

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental, dado pela Equação 4.14:

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (4.14)$$

onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da Equação e S é a inclinação (*slope*) ou coeficiente angular da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.5 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental. Assim como o LD, recomenda-se o uso do método baseado em parâmetros da curva analítica, sendo que a precisão e exatidão das determinações também devem ser registradas. O LQ é expresso como uma concentração assim como o LD, devendo também ser registrada a precisão e exatidão das determinações. Apesar de ser uma metodologia adequada, ressalta-se que a determinação do LQ representa um compromisso entre a concentração, a precisão e a exatidão exigidas. Portanto, quando decresce o nível de concentração do LQ, a medição torna-se menos precisa. Caso haja a necessidade de maior precisão, uma concentração maior deve ser registrada para o LQ, sendo o método analítico e seu respectivo uso, os responsáveis por ditar esse compromisso. Pode ser obtido pela Equação 4.15, sendo os coeficientes estatísticos os mesmos do LD (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016):

$$Q = 10 \times \frac{s}{s} \quad (4.15)$$

4.8.5.6 Seletividade

Para análise da seletividade, os valores das médias e RSDs de cinco brancos em três repetições (p=5 e n=3) são comparados com os valores encontrados de LQ. Para INMETRO (2016), a média obtida e RSDs deve ser menor ou igual, respectivamente, 33% e 15%, em relação ao valor obtido de LQ do método. A seletividade também pode ser definida como habilidade em medir um analito na presença de interferências (outros compostos) as quais estejam presentes na matriz da amostra. Pode ser obtida, por exemplo, ao inserir outras substâncias na matriz da substância (padrão), nenhuma deverá eluir no tempo de retenção da substância de interesse. Deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.7 Exatidão

Representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e, um valor de referência aceito como verdadeiro. Em outras palavras, representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados e um valor aceito como referência, expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. É importante observar que um valor exato ou verdadeiro é o valor obtido por uma medição perfeita e este valor é indeterminado por natureza. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, um dado nível de confiança (aparece sempre associada a valores de precisão). Estes limites podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

É quantificada por ensaios de recuperação (ou fator de recuperação), R, definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada. Outro método para verificação da exatidão é o uso de materiais de referência certificados (CRM), acompanhados de um certificado que possui o valor de concentração de uma dada substância, ou outra grandeza para cada parâmetro e uma incerteza associada. Os materiais de referência certificados são fornecidos por organismos reconhecidos e confiáveis. Os valores obtidos pelo laboratório (a média e a estimativa do desvio padrão de uma série de replicatas) da mesma amostra padrão devem ser comparados com os valores certificados do material de referência, para verificar a exatidão do método (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

4.8.5.8 Robustez

Um método é considerado robusto quando não afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros. É avaliado, por exemplo, pela variação de parâmetros como a concentração do solvente orgânico, pH e força iônica da fase móvel, programação da temperatura, natureza do gás de arraste em CG, bem como o tempo de extração, agitação, etc. As mudanças introduzidas refletem as alterações que podem ocorrer quando um método é transferido para outros laboratórios, analistas ou equipamentos (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Manutenção, cultivo e contagens de células

O cultivo das cianobactérias, assim como as análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório Multiusuário e o de Contaminantes do Instituto de Ciência e Tecnologia (ICET), pertencente à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), campus Mucuri, em Teófilo Otoni/MG. As espécies *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, nas concentrações $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ (recorrentes após clarificação, conforme revisão da literatura) e $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ (usuais em mananciais de abastecimento eutrofizados), foram utilizadas.

Conforme orientação de Jacinavicius *et al.* (2013), cada cultura uniespecífica de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, obtida pelo Laboratório de Ficologia, ICB-UFMG, foi mantida sob seguintes condições: temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$, irradiância 40-50 μmol fótons m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo 14-10 h claro-escuro, conduzidas em Erlenmeyers replicados de 500 mL e 1,0 L, com cuidados para evitar qualquer tipo de contaminação externa. O meio para o cultivo foi o ASM-1. Houve necessidade de se ajustar o pH da solução a 7,4; adicionando HCl (ácido clorídrico) 1M para acidificar o meio e NaOH (hidróxido de sódio) 1M para elevar o pH. O meio de cultura concentrado foi armazenado no freezer (-4°C) até ser diluído para uso. A Figura 5.1 retrata as culturas na fase exponencial de crescimento.

Para repiques das culturas de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, operou-se dentro de uma câmara de fluxo laminar para evitar possíveis contaminações de outros micro-organismos, deixando-a por aproximadamente 15 min sob radiação UV. Após esse tempo, a superfície da câmara era limpa com álcool 70%. Retirou-se, com o auxílio da pipeta, 10 μL da amostra homogeneizada a ser analisada e as células foram deixadas por aproximadamente 2 min para sedimentação antes de iniciar a contagem por meio da câmara de Neubauer (*Microcystis aeruginosa*) e Fuchs-Rosenthal (*Cylindrospermopsis raciborskii*). Sempre quando atingida a concentração de aproximadamente $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹, repiques foram efetuados obedecendo a diluição de 1:10 para a renovação das culturas e para a obtenção de $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹, 1:100. A Figura 5.2 retrata a condição de cultivo das amostras e repiques procedidos durante a parte experimental.

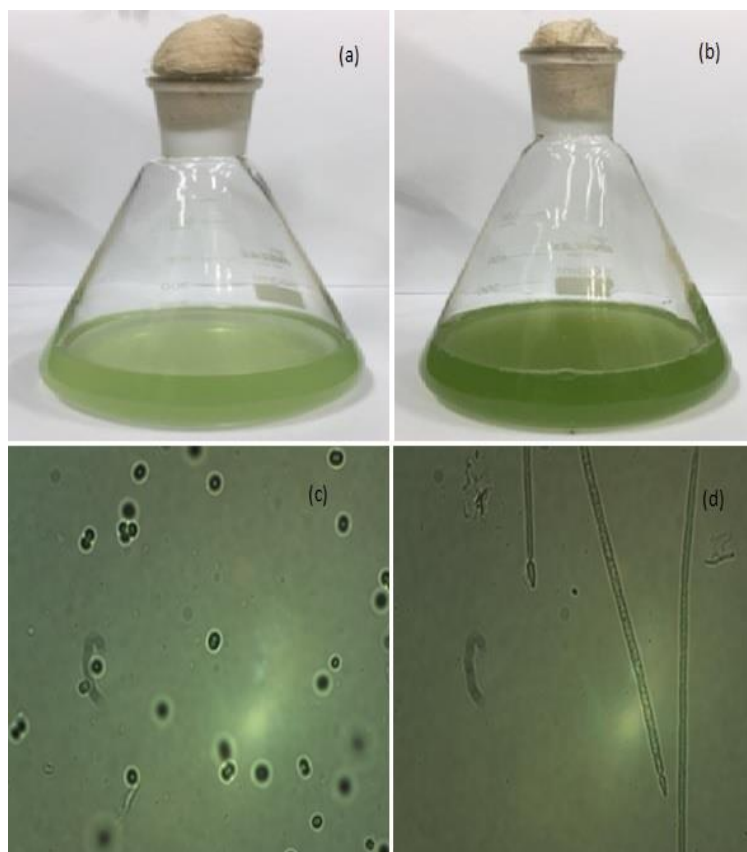


Figura 5.1 - Representação cultivo *Microcystis aeruginosa* (a) e *Cyndrospermopsis raciborskii* (b); Imagens obtidas pelo software ISCapture V3.6 do microscópio Nikon Eclipse E200: *Microcystis aeruginosa* (c) e *Cyndrospermopsis raciborskii* (d)



Figura 5.2 – Condição de cultivo das espécies de *Cyndrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa*

Para obtenção de volume considerável de biomassa para os ensaios, Erlenmeyers de 6L também foram utilizados, conforme Figura 5.3.



Figura 5.3 - Processo de repicagem em Erlenmeyer de 6L. À esquerda, *Cyndrospermopsis raciborskii* e à direita, *Microcystis aeruginosa*

5.2 Cloração da água contendo células de cianobactérias

5.2.1 Determinação da demanda de cloro para a escolha das doses utilizadas nos ensaios

O hipoclorito de cálcio e o cloro gasoso foram escolhidos como oxidantes, obtidos na unidade da COPASA, região do Alto Mucuri, em Teófilo Otoni – MG. A concentração real da solução de cloro gasoso foi determinada por iodometria (titulação com tiosulfato de sódio, amido e iodeto de potássio) e a solução de hipoclorito de cálcio foi preparada a partir de uma solução 2% (após diluição de hipoclorito de cálcio com teor de 65% de cloro livre). As mesmas foram utilizadas imediatamente após o preparo para não haver perdas no processo. Após a determinação da concentração real (C_1) de cloro em ambos os oxidantes, procederam-se os cálculos para a concentração de cada dose (C_2), obedecendo a Equação 5.1:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \quad (5.1)$$

Os valores das doses de cada oxidante (D_1 e D_2), para se verificar os efeitos na determinação de TAMs e AHAs, foram definidos por meio da realização de diferentes concentrações de hipoclorito de cálcio e cloro gasoso, em amostras que continham as espécies. Para a etapa, volumes de 50 mL ($n=7$) foram utilizados nas seguintes concentrações de cloro: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,75; 5,0; 7,5 e 10,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. O teor do CRL após o término do tempo de contato de 30 min e 24 h foi imediatamente quantificado. As leituras de concentração do branco e cloro residual livre foram efetuadas por método colorimétrico com adição de N-dietil-para-fenilendiamina (DPD), através de um comparador colorimétrico (HACH). A Figura 5.4

representa o fluxograma descritivo do ensaio para a cloração da água de estudo contendo a espécie *Microcystis aeruginosa* para determinação de D1 e D2.

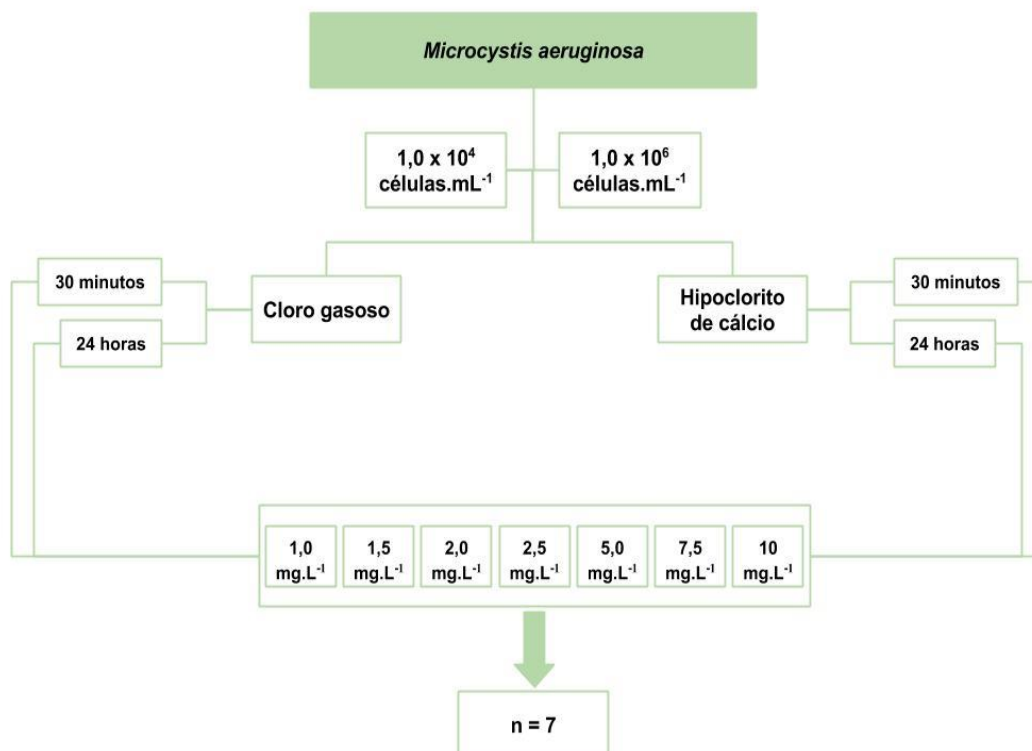


Figura 5.4 - Determinação de D1 e D2 utilizadas nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs - *Microcystis aeruginosa*

A Figura 5.5 representa o fluxograma descritivo do ensaio para a cloração da água de estudo contendo a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* para determinação de D1 e D2.

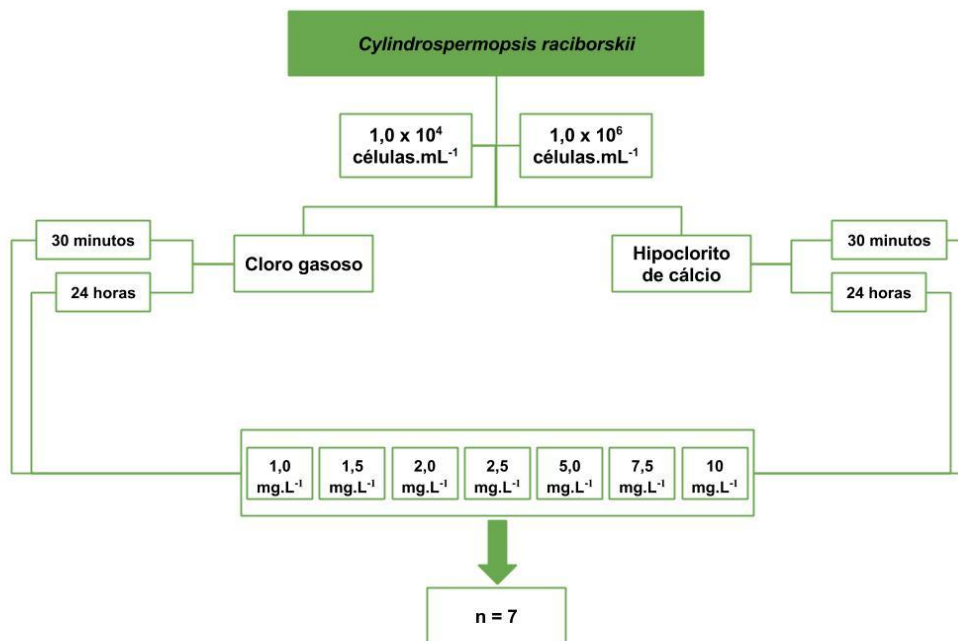


Figura 5.5 - Determinação de D1 e D2 nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs - *Cyndrospermopsis raciborskii*

5.2.2 Avaliação dos potenciais fatores que influenciam a formação de TAMs e AHAs após a cloração

Estabelecido o número de células conforme descrito nos itens 5.1 e 5.2.1 para a definição de D1 e D2, um dos objetivos específicos desta pesquisa foi avaliar a influência das doses dos referidos oxidantes com os parâmetros pH, temperatura e tempo de contato após a cloração das espécies, em diferentes condições, abordados como fatores que influenciam a formação de TAMs e AHAs, todas em triplicata, conforme descrição abaixo:

- pH: 6,5 (considerado valor típico na etapa de coagulação) e básico, 8,5 (valor recorrente em mananciais com florações de cianobactérias);
- Temperatura: 25°C e 30°C (temperaturas recorrentes no Brasil);
- Tempo de contato: 30 min e 24 h (avaliação nos primeiros minutos de formação e ao longo do sistema de distribuição).

Transferiu-se 50 mL de cultura, na concentração mencionada de culturas repicadas de 2 Erlenmeyers de 6L, cada um com o pH ajustado (utilizou-se HCl 0,5M e NaOH 0,5M para o procedimento), para Erlenmeyers de 50 mL (vedados). Em seguida, eram divididos em estufas para os ajustes na temperatura e para os tempos de contato em questão. As doses foram aplicadas mediante resultados dos ensaios de demanda de cloro e procedeu-se com o processo de quantificação dos subprodutos, após validação dos métodos analíticos. Desclorantes foram usados após cada termino de contato.

O fluxograma da Figura 5.6 retrata os parâmetros e condições descritas para atendimento do objetivo proposto para a *Microcystis aeruginosa* e Figura 5.7 os parâmetros e condições descritas para atendimento do objetivo proposto para a *Cylindrospermopsis raciborskii*.

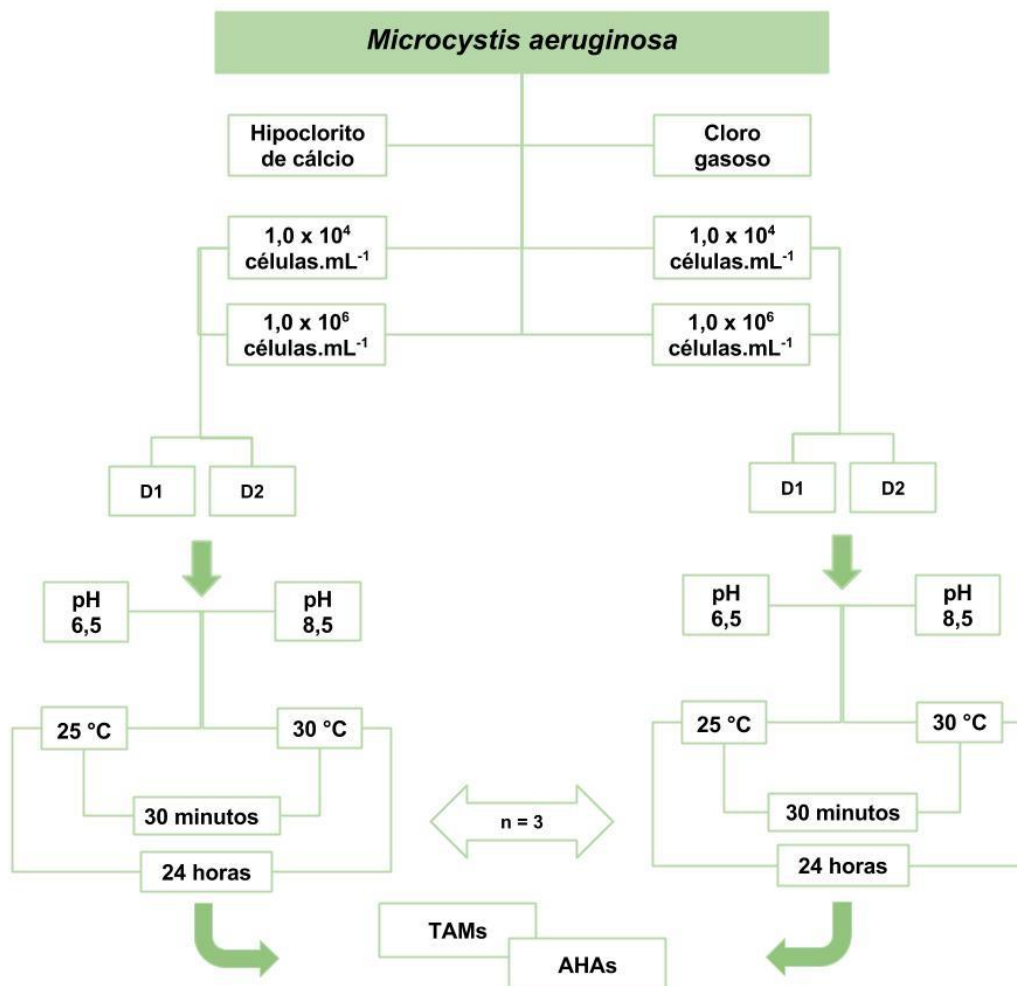


Figura 5.6 - Fluxograma representativo das doses a serem escolhidas nos ensaios de determinação de TAMs e AHAs para a *Microcystis aeruginosa*. D1: dose 1, D2: dose 2

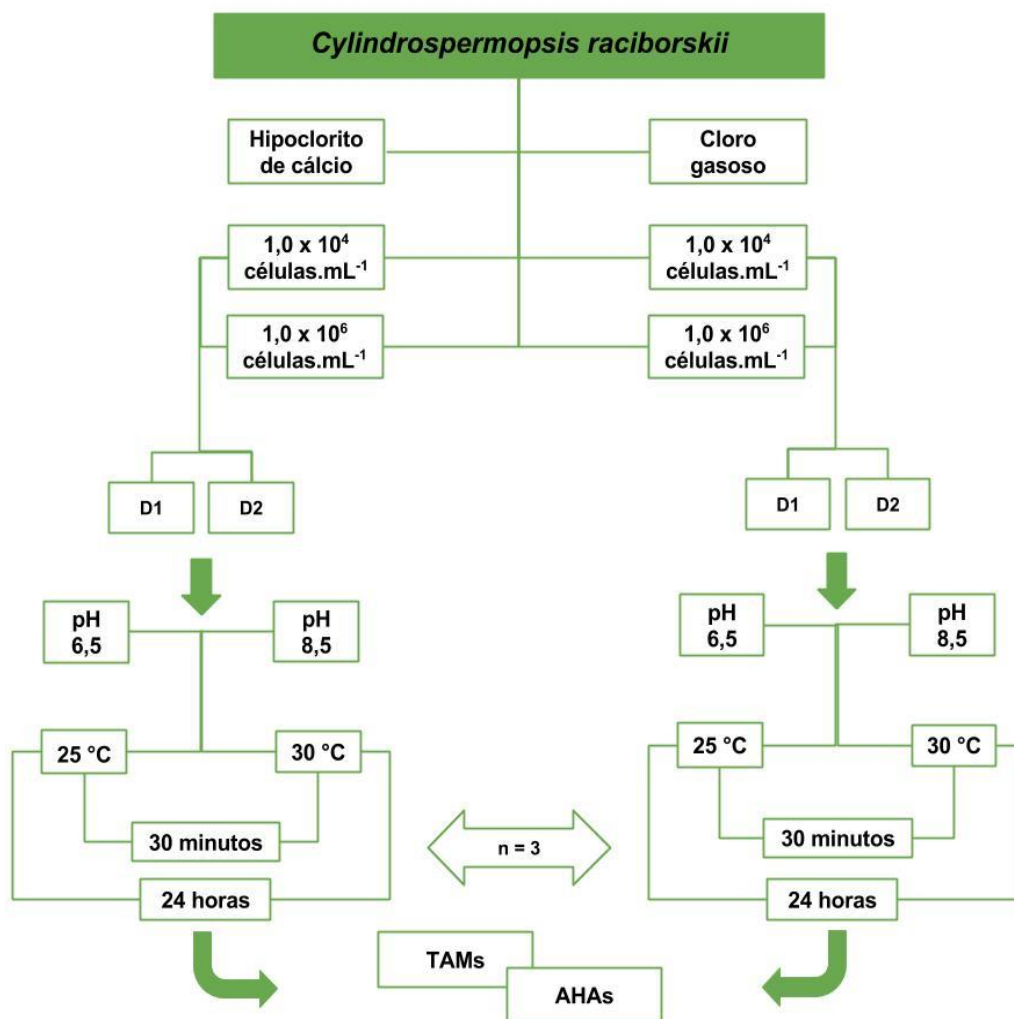


Figura 5.7 - Fluxograma representativo das doses a serem escolhidas para os ensaios de determinação de TAMs e AHAs para a *Cyindrospermopsis raciborskii* D1: dose 1, D2: dose 2

5.3 Validação das metodologias empregadas nas análises de TAMs e AHAs

Para a mensuração dos compostos TAMs e AHAs em amostras cloradas contendo as espécies *Microcystis aeruginosa* e *Cyindrospermopsis raciborskii*, a utilização de procedimentos de extração são requisitos preliminares para as análises de compostos orgânicos em cromatografia gasosa. Para atender a proposta de realização deste trabalho, foi necessária a utilização de duas metodologias distintas, uma para a determinação de TAMs e outra para AHAs, ambas por ELL e análise por CG-EM (Figura 5.10), utilizando-se de padrões de referência, procedendo-se posteriormente à validação dos métodos analíticos.



Figura 5.8 - Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrometria de Massas (CG-EM)

Para a validação dos métodos analíticos para ambos os compostos, foi necessário observar condições essenciais, como: proporcionalidade entre a resposta da área de cada composto e a concentração (curva de calibração e linearidade), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão, seletividade e robustez (Ribani *et al.* (2004), Zanchetta *et al.* (2015), INMETRO (2016) e ANVISA (2016). Para verificação da robustez, foi avaliado o procedimento experimental por dois operadores (condição 1 e condição 2).

Os subprodutos investigados, de acordo com os compostos exigidos pela Portaria 2.914 (BRASIL, 2011), estão apresentados nos tópicos a seguir, assim como a descrição dos métodos analíticos utilizados para o desenvolvimento e validação. O processo de validação, assim como extrações e análises cromatográficas, foi realizado no Laboratório Multiusuário do Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia (ICET), da UFVJM.

5.4 Subprodutos investigados e desenvolvimento de métodos de analíticos para detecção de TAMs e AHAs

5.4.1 Métodos analíticos para detecção de TAMs e AHAs

Reagentes de alto grau analítico foram utilizados (CRM, TraceCERT® - ANEXO A), assim como água ultrapura obtida através do sistema de purificação da Thermo Fisher.

5.4.2 Reagentes e materiais – TAMs

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

5.4.3 Preparo e extração para a curva de calibração - TAMs

As condições de extração para a determinação cromatográfica foram baseadas nas recomendações da USEPA 551.1 (USEPA, 1995a). Como a concentração original dos padrões é elevada, foi efetuada uma diluição em metanol do padrão combinado dos TAMs ($2000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e do padrão interno fluorbenzeno ($2000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Para início do processo, foi necessária a detecção de todos os compostos advindos do padrão concentrado na corrida cromatográfica (cromatograma) obtida pelo CG-EM, para a elaboração da curva de calibração por meio de regressão linear.

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

Assim, em dez pontos ($p=10$, para a curva de calibração) nas concentrações 1, 2, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 150 e $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, além de 400, 600, 800 e $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (linearidade, $p=14$), todas em triplicata ($n=3$), juntamente com o branco ($n=10$, sem adição de concentrações de TAMs), foram preparados em 50 mL de água ultrapura. Para o procedimento de extração ELL, as alíquotas com as concentrações citadas anteriormente foram rapidamente coletadas e inseridas em balões volumétricos (alongados), aos quais foi adicionado padrão interno fluorbenzeno na concentração correspondente ao volume contido nos balões ($50 \mu\text{L}$, através da diluição do padrão para $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 4 mL de MTBE (mantido em freezer) e aproximadamente 1 g de Na_2SO_4 . O frasco foi agitado vigorosamente por 5 min e imediatamente acondicionado em freezer por 3 min.

Duas fases bem definidas (Figura 5.11) formaram-se: a fase orgânica superior, denominada extrato, a inferior, aquosa. A fase orgânica foi retirada e transferida para um frasco tipo *vial* de 2 mL, acondicionada em freezer e conservada (validade analítica de sete dias) para análise no CG-EM. As informações (APÊNDICE B) foram utilizadas para elaboração de curvas de calibração e, posteriormente, levantamento dos parâmetros para validação do método.

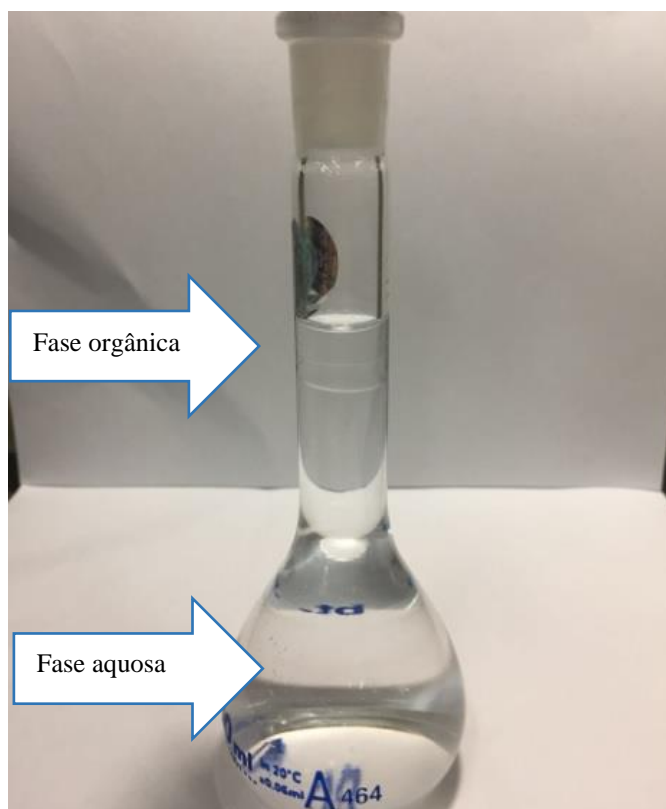


Figura 5.9 - Representação da fase orgânica e aquosa: extração dos TAMs

5.4.4 Preparo e extração nas espécies cloradas – TAMs

O procedimento da extração dos TAMs nas amostras deu-se posteriormente ao término do tempo de reação com o oxidante, ocorrendo da mesma maneira em relação à preparação da curva de calibração conforme item 5.4.3 e baseada no procedimento laboratorial proposto pelas figuras 5.6 e 5.7, em alíquotas de 50 mL todas em triplicata ($n=3$), com o uso de desclorante (ácido ascórbico) após o tempo de contato.

5.4.5 Instrumentação e condições cromatográficas – TAMs

Foi utilizado um sistema de CG-EM, CLARUS 680 SQ 8PerkinElmer (USA), para as análises. Definiu-se a rampa modo TIC e os tempos de retenção SIR para cada TAM (TCM, BDCM, DBCM e TBM). As melhores condições otimizadas para o CG foram: 2 μL de amostra injetada no modo *splitless* e separados por coluna capilar ZEBRON ZB - 5MS 30 m x 0,25 mm d x 0,25 μm Fase G27 – 5% Fenil Arileno e 95% Dimetilpolisiloxano. A temperatura do injetor foi 200°C, gás de arraste o hélio de grau de pureza 99,9995% e fluxo do gás de arraste a 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (fluxo constante). O forno foi programado isotermicamente a 35°C por 1 min e, em seguida aumentada para 40°C a uma velocidade de 1°C. min^{-1} durante 1 min, seguido de aquecimento de 30°C. min^{-1} até 200°C. O EM foi usado no modo de impacto de elétrons (EI+). O tempo de corte do solvente foi a 3 min e a velocidade de aquisição foi de 0,35 *s/ scan*, intervalo de leitura *m/z* de 45 a 260 u.m.a. e modo de ionização de impacto

eletrônico 70 eV. A temperatura da linha de transferência foi de 200°C e a temperatura do *trap* de 180°C.

5.4.6 Reagentes e materiais – AHAs

A Portaria 2914 determina que na água destinada ao abastecimento público, o valor correspondente ao somatório dos MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, BCAA, DBAA, BDCAA e DALAPON não deve ultrapassar 80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Devido à impossibilidade de aquisição de um padrão que envolvesse somente os compostos da atual Portaria vigente, procedeu-se a aquisição de um padrão com nove espécies de AHAs em que os compostos de monitoramento obrigatório pudessem estar inseridos. Foram adquiridos padrões certificados de pureza cromatográfica de AHAs (MCAA, MBAA, DCAA, DBAA, TCAA, TBAA, BCAA, DBCAA e BDCAA) (4-7787, TraceCERT[®]) e do padrão interno 1,2,3 - tricloropropano (47669-U, TraceCERT[®]), ambos diluídos em MTBE da marca Sigma. Para a extração ELL, metanol (646377), MTBE (34875), também da Sigma, ácido sulfúrico destilado (obtido através do destilador sub-ferroso de quartzo Kurner - Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha, para aumento de pureza), Na₂SO₄ e CuSO₄ (agentes secantes da fase orgânica) e NaHCO₃ foram utilizados.

5.4.7 Preparo e extração/derivatização para a curva de calibração -AHAs

O método utilizado para a determinação cromatográfica foi baseado nas recomendações da USEPA 552.2 (USEPA, 1995b) e 552.3 (USEPA, 2003a). A derivatização foi necessária para transformar os ácidos carboxílicos em ésteres, procedimento efetuado por uma metilação ácida. Da mesma maneira que o procedimento dos TAMs, as concentrações originais dos padrões são elevadas e diluições foram necessárias. Foram efetuadas diluições em MTBE do padrão combinado de AHAs (200 - 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) (4-7787, TraceCERT[®]) com as seguintes concentrações: 200 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), TCAA e o DBAA; 400 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), MBAA, o BCAA e o BDCAA; 600 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), MCAA e o DCAA; 1000 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), DBCAA e 2000 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), TBAA, assim como do padrão interno 1,2,3 - tricloropropano (1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Em balões volumétricos alongados, foram adicionadas alíquotas de 25 e 50 mL de água isenta de compostos orgânicos voláteis em concentrações distintas, que variaram de 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (correspondente às menores concentrações, TCAA e DBAA) a 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (para a maior, TBAA) e posteriormente, procedida a extração ELL e derivatização, para a escolha da melhor sensibilidade e, também, a identificação preliminar dos tempos de retenção livre de interferências dos compostos em relação ao volume da alíquota. Gerou-se o cromatograma modo TIC (*total ion current*, respostas correspondentes a todas substâncias eluídas), com as

respostas da sensibilidade (intensidade) das nove espécies alvo de AHAs e do 1,2,3 - tricloropropano, além da cada separadamente modo SIR (*surface-induced reaction*, construído a partir do TIC, mas apenas usando fragmentos dos compostos de interesse). Para minimizar interferências nas respostas em algumas espécies observadas nestas primeiras corridas cromatográficas, também relatados por Xie (2001), procedeu-se à destilação o H_2SO_4 .

Por meio dos ensaios de sensibilidade, assim como os TAMs, o volume de 50 mL foi escolhido para o processo de extração e derivatização, e posteriormente, elaboração da curva de calibração e procedimento de validação pelos melhores resultados apresentados. Assim, foram definidos seis ($p=6$, para a curva de calibração) e oito ($p=8$, linearidade) pontos em concentrações variadas para cada espécie de AHA em triplicata ($n=3$):

- MCAA: 6, 12, 18, 24, 30, 45 $\mu g.L^{-1}$, e 240 e 300 $\mu g.L^{-1}$;
- MBAA: 4, 8, 12, 16, 20, 30 $\mu g.L^{-1}$, e 160 e 200 $\mu g.L^{-1}$;
- DCAA: 6, 12, 18, 24, 30, 45 $\mu g.L^{-1}$, e 240 e 300 $\mu g.L^{-1}$;
- TCAA: 2, 4, 6, 8, 10, 15 $\mu g.L^{-1}$, e 80 e 100 $\mu g.L^{-1}$;
- BCAA: 4, 8, 12, 16, 20, 30 $\mu g.L^{-1}$, e 160 e 200 $\mu g.L^{-1}$;
- DBAA: 2, 6, 8, 15, 40, 60 $\mu g.L^{-1}$, e 80 e 100 $\mu g.L^{-1}$;
- BDCAA: 4, 12, 16, 20, 80, 120, $\mu g.L^{-1}$, e 160 e 200 $\mu g.L^{-1}$;
- DBCAA: 10, 30, 40, 50, 200, 300 $\mu g.L^{-1}$, e 400 e 500 $\mu g.L^{-1}$;
- TBAA: 20, 40, 60, 80, 100 e 600, e 800 $\mu g.L^{-1}$ e 1000 $\mu g.L^{-1}$.

Desse modo, para a extração em cada concentração e do branco ($n=10$, sem adição de concentrações de AHAs), as alíquotas foram transferidas para balões volumétricos alongados de 50 mL e imediatamente foi adicionado o volume de 500 μL do padrão interno 1,2,3 - tricloropropano (através da diluição do padrão para 20 $\mu g.mL^{-1}$). Em seguida, a amostra foi acidificada com 1 mL de H_2SO_4 destilado e acrescentou-se 2 g de $CuSO_4$, 16 g de Na_2SO_4 e 3,5 mL de MTBE (resfriado) para posterior agitação por 3 min para ser resfriado em geladeira (5 min, repouso para a separação das fases). Este procedimento ocasiona uma reação exotérmica, então o resfriamento é muito importante, assim como para os TAMs, para que não haja perdas dos compostos na amostra (Figura 5.10a).

Para etapa posterior, derivatização, transferiu-se 2 mL da fase orgânica para um frasco âmbar com tampa rosqueável, no qual foi adicionado 1 mL de solução ácida de metanol 10% (utilizando-se H₂SO₄ destilado). Após fechamento, o mesmo foi mantido sob aquecimento imerso em banho de água a 50°C por 2 h. Posteriormente foi resfriado e adicionou-se 4mL de solução saturada de NaHCO₃ em incrementos de 1mL e depois agitado por 3 min, seguido pelo mesmo tempo de repouso em freezer. O extrato obtido (Figura 5.10b) foi transferido para um frasco *vial* de 2mL e armazenado em freezer (validade analítica de 14 dias); um volume de 3,5 µL foi injetado no CG-EM. As informações (APÊNDICE C) foram utilizadas para o levantamento dos parâmetros para validação do método.



Figura 5.10 - (a) Extração dos AHAs e (b) extrato obtido após a etapa de derivatização

5.4.8 Preparo e extração nas espécies cloradas – AHAs

O procedimento de quantificação dos AHAs nas amostras ocorreu posteriormente ao término do tempo de reação com o oxidante, decorrente do item 5.4.7 e baseado no procedimento laboratorial proposto pelas figuras 5.6 e 5.7, em alíquotas de 50 mL, todas em triplicata com o uso de desclorante (cloreto de amônio) após o tempo de contato.

5.4.9 Instrumentação e condições cromatográficas – AHAs

Volume de extrato injetado: 3,5 µL; modo de injeção: *splitless*; temperatura do injetor: 280°C; coluna capilar ZEBRON ZB - 5MS 30 m x 0,25 mm d x 0,25 µm Fase G27 – 5% Fenil Arileno e 95% Dimetilpolisiloxano; programação do forno: 30°C por 8 min, com taxa de aquecimento de 2°C.min⁻¹ até 35°C, seguido de aquecimento de 5°C.min⁻¹ até 90°C;

acompanhado de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 200°C gás de arraste: Hélio de grau de pureza 99,9995% (Air Products); fluxo do gás de arraste: $1,2\text{mL.min}^{-1}$ (constante). O EM foi usado no modo de impacto de elétrons (EI+). O EM foi usado nas seguintes condições: tempo de corte do solvente: 2,7 min; velocidade de aquisição: 0,5 s/scan; modo de ionização: Impacto eletrônico 70 eV; intervalo de leitura m/z: 50 a 260 u.m.a.; temperatura do *trap*: 210°C ; Temperatura do *Manifold*: 70°C ; Temperatura da linha de transferência: 280°C .

5.5 Avaliação de técnicas de remoção após formação de TAMs e AHAs

5.5.1 Ensaios de remoção dos subprodutos TAMs e AHAs por adsorção por carvão ativado granular domiciliar e agitação

Do padrão combinado dos TAMs e AHAs, assim como dos padrões internos fluorbenzeno e 1,2,3 - tricloropropano, foram preparadas as amostras em concentrações que avaliasse o somatório dos subprodutos nos níveis máximos exigidos (para os TAMs no limite da Portaria 2914) ou próximos (para os AHAs próximo, devido a concentrações distintas das espécies no padrão concentrado) e em níveis acima do permitido pela mesma Portaria. Para avaliar a capacidade de retenção de AHAs e TAMs foram realizados os procedimentos detalhados a seguir.

5.5.2 Determinação da concentração de subprodutos antes dos ensaios

Amostras de 200 mL contendo concentrações TAMs (A; $100\ \mu\text{g.L}^{-1}$ e B; $150\ \mu\text{g.L}^{-1}$) e AHA (C; $58\ \mu\text{g.L}^{-1}$ e D; $116\ \mu\text{g.L}^{-1}$) foram preparadas (n=7, cada concentração), a partir dos padrões certificados descritos nos itens 5.4.2 e 5.4.6, conforme tabelas 5.1 e 5.2.

Tabela 5.1 - Concentrações das amostras nos ensaios de remoção de TAMs por carvão ativado granular domiciliar e agitação

TAMs	Concentrações de estudo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	A	B
TCM	25	37,5
BDCM	25	37,5
DBCM	25	37,5
TBM	25	37,5
TAM _T	100	150

Tabela 5.2 - Concentrações das amostras nos ensaios de remoção de AHAs por carvão ativado granular domiciliar e agitação

AHAs	Concentrações de estudo ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	
	C	D
MCAA	6	12
MBAA	4	8
DCAA	6	12
TCAA	2	4
BCAA	4	8
DBAA	2	4
BDCAA	4	8
DBCAA	10	20
TBAA	20	40
AHAs ₉	58	116

5.5.3 Preparação do procedimento experimental

5.5.3.1 Adsorção por carvão ativado granular

As amostras foram submetidas ao filtro contendo uma vela de carvão ativado granular adquirido comercialmente (suspenso por uma garra de condensador, presa a um suporte) e coletadas em recipiente âmbar para análise, conforme mostrado na Figura 5.11. Foi conectada uma mangueira, junto à parte superior de um kitassato, para conexão de uma bomba a vácuo e, desta maneira, criar a pressão diferencial necessária para remover o filtrado. A seguir, os dados fornecidos pelo fabricante da vela utilizada:

- Marca: Líder;
- Vida útil: 6 meses ou 3000 L a partir do primeiro dia de uso;
- Conservação: Local limpo e seco e sem exposição a luz solar;
- Outras informações: sistema de filtragem por pressão com objetivo melhorar a qualidade da água para o uso doméstico.

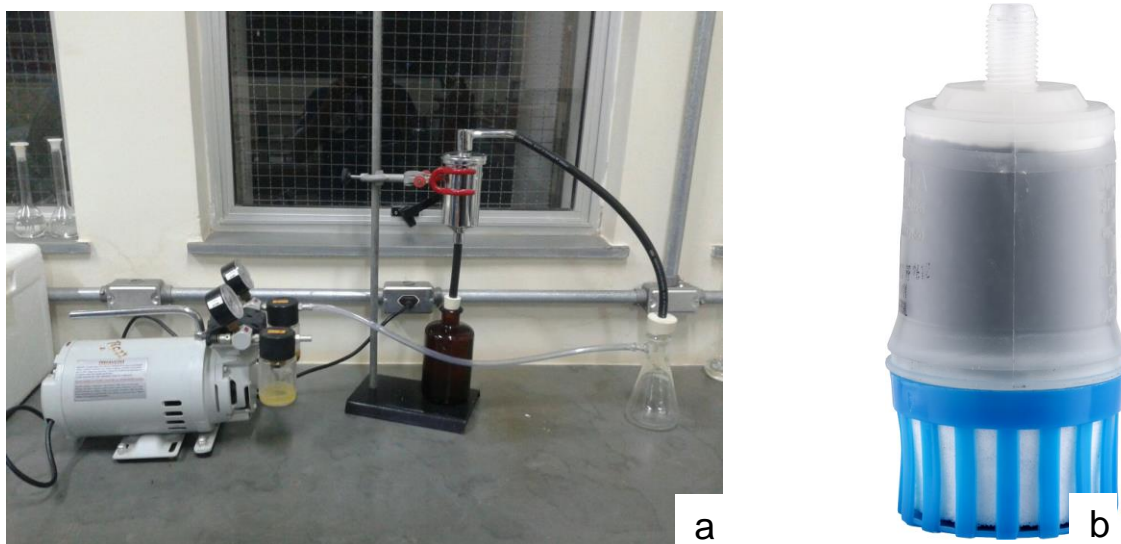


Figura 5.11 – (a) Aparato para os ensaios de adsorção por filtro de carvão ativado granular e (b) Vela de carvão ativado

5.5.3.2 Agitação

As amostras foram transferidas para Erlenmeyers e submetidas ao processo de agitação em *shaker*, programado por 30 min, 300 rpm e temperatura ambiente (25°C), sem vedação.



Figura 5.12 – Shaker utilizado no processo de agitação

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Ensaios da demanda de cloro

6.1.1 *Microcystis aeruginosa* (30 min e 24 h)

Os apêndices D e E apresentam os resultados de CRL com amostras em densidades $1,0 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹. A taxa de consumo de cloro foi significativa nos 30 min de contato para ambos os oxidantes, havendo até o tempo final de contato (24h) diferenças mínimas ou nulas nas demandas, principalmente nos menores valores das doses aplicadas. As amostras apresentaram resíduos provavelmente de lise celular e células aparentemente com danos estruturais. Segundo afirmam Plummer e Edzwald (2002), o grau de ruptura da célula está diretamente relacionado à morfologia celular e à taxa de célula/cloro e tempo de contato.

O estudo de Ma *et al.* (2012a) menciona que a maioria das células de *Microcystis aeruginosa* cloradas a 4 mg.L⁻¹ estavam intactas e não apresentaram alterações morfológicas relevantes como também confirmado neste estudo. No entanto, foram observados danos à parede celular das células e uma maior liberação de K⁺ com o aumento da dose de cloro, indicador de integridade da célula, ou seja, quanto maior o volume de K⁺ liberado maior indicação de lise celular, o que pode explicar a alta demanda neste trabalho.

Zamyadi *et al.* (2013), em estudos com a espécie em condições semelhantes desta pesquisa (em água ultrapura; pH 8; tempo de contato de 0 a 120 min; doses de 2,0, 3,0 e 4,5 mg.L⁻¹ de cloro gasoso; densidades de $6,0 \times 10^4$, $2,5 \times 10^5$ e $5,0 \times 10^5$ células.mL⁻¹) observaram que a demanda de cloro em água ultrapura está diretamente relacionada ao número de células. A cloração em água ultrapura com o maior número de células causou 76% da lise celular após 60 min de contato. Alto número de células foi associado a um aumento na liberação de COD que levou a um rápido consumo de cloro em situação similar aos resultados apresentados nos apêndices D e E.

Os mesmos autores, em um segundo experimento (células obtidas em água de rio Mille-Île (Canadá); pH 7 e 8,5; tempo de contato de 0 a 120 min; doses de 2,5 e 10 mg.L⁻¹ de cloro gasoso; densidade de $5,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹) observaram que a demanda de cloro na ausência de células foi menor que na presença destas, para ambos valores de pH. As constantes de taxa aparente de consumo são semelhantes a pH 7 e 8,5 para cada dose de cloro, mas aumentam com a adição de células e maiores doses de cloro.

O alto consumo de cloro e o baixo valor de CRL também podem estar relacionados ao fato de que, segundo Fang *et al.* (2010a), a lise celular pode levar a uma liberação de toxinas ligadas à célula e ao COD. Segundo Ma *et al.* (2012a), após o cloro penetrar nas células, ele reage com diferentes materiais, tais como membranas celulares e substâncias intracelulares no meio (MOE) e após a lise, com a liberação das cianotoxinas microcistina (MOI). Tal fato explica demanda significativa de cloro, conseqüentemente, ampliando as chances de formação de SOHs principalmente nos experimentos com densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹. Diante dos resultados obtidos nos ensaios de cloração, as doses D1 e D2 escolhidas para os ensaios de formação de subprodutos estão apresentadas no fluxograma da Figura 6.1.

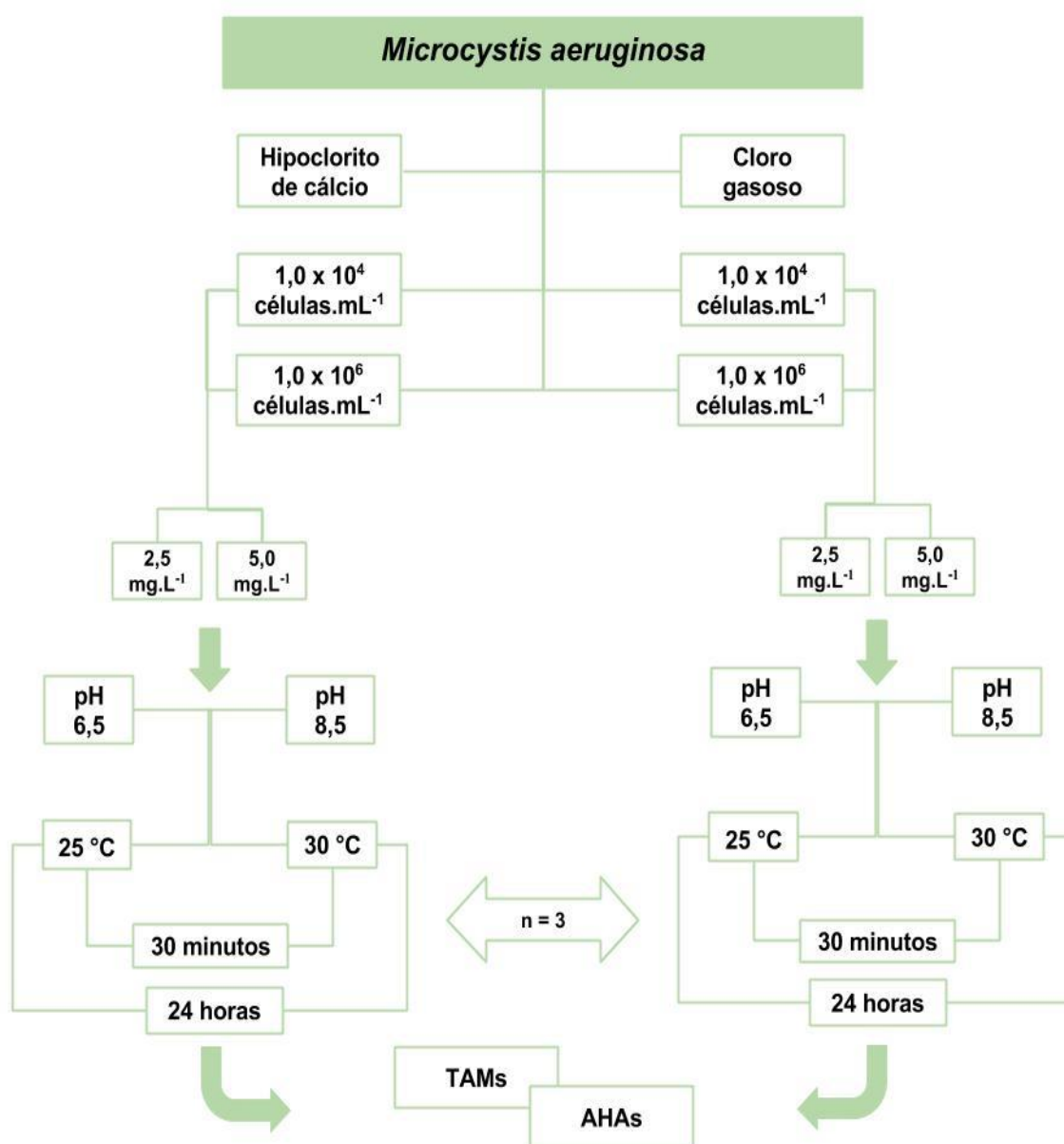


Figura 6.1 - Fluxograma das doses escolhidas (D1 e D2) para *Microcystis aeruginosa*

6.1.2 *Cylindrospermopsis raciborskii* (30 min e 24 h)

Os apêndices F e G apresentam os resultados de CRL com amostras em densidades $1,0 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹. Assim como a *Microcystis aeruginosa*, a taxa de consumo foi destaque, para 30 min de contato com ambos os oxidantes, com pequenos valores de CRL, mantendo-se os valores próximos até a determinação em 24 h, com poucas diferenças nas doses aplicadas. De acordo com os resultados obtidos por Zamyadi *et al.* (2012) com a cianobactéria, baixas doses podem resultar em rápida liberação de toxinas e subsequente oxidação das mesmas, promovendo o consumo de cloro. Os mesmos autores observaram ainda, por meio de modelagens matemáticas, que a oxidação destas toxinas, total (k total) ou dissolvida (k dissolvido) ocorre mais rapidamente que a lise celular (k lise), sugerindo que as toxinas liberadas ligadas às células reajam mais rapidamente com o cloro que o restante de células danificadas e outras substâncias orgânicas dissolvidas, como MOI (cianotoxinas, tanto liberadas na fase de crescimento ou após a lise) ou MOE (substâncias liberadas na fase exponencial de cultivo).

Ainda, demonstrou-se que, além da liberação de toxina, a oxidação do cloro promoveu a perda da integridade das células, o que pode explicar a presença de filamentos imóveis e menores que o tamanho real nas amostras cloradas neste estudo. Conforme afirma Oliveira (2007), por ser uma espécie tóxica e produtora de cianotoxinas (hepatotoxinas e neurotoxinas), a consequente existência e/ou predominância da formação de florações da espécie constitui um sério problema. Para AZEVEDO *et al.* (2003), estes fatores podem ocasionar alto o custo de tratamento da água para consumo humano e, além disso, não existem atualmente métodos eficientes para remoção das cianotoxinas da água com densas florações tóxicas, em corpos de água pelo mundo (BRIAND *et al.*, 2004).

A literatura reporta poucos estudos referentes à demanda com a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, se comparados a *Microcystis aeruginosa*, reforçando a lacuna e a necessidade de mais pesquisas com a referida cianobactéria. Diante dos resultados obtidos nos ensaios de cloração, as doses D1 e D2 escolhidas para os ensaios de formação de subprodutos estão apresentadas no fluxograma da Figura 6.2.

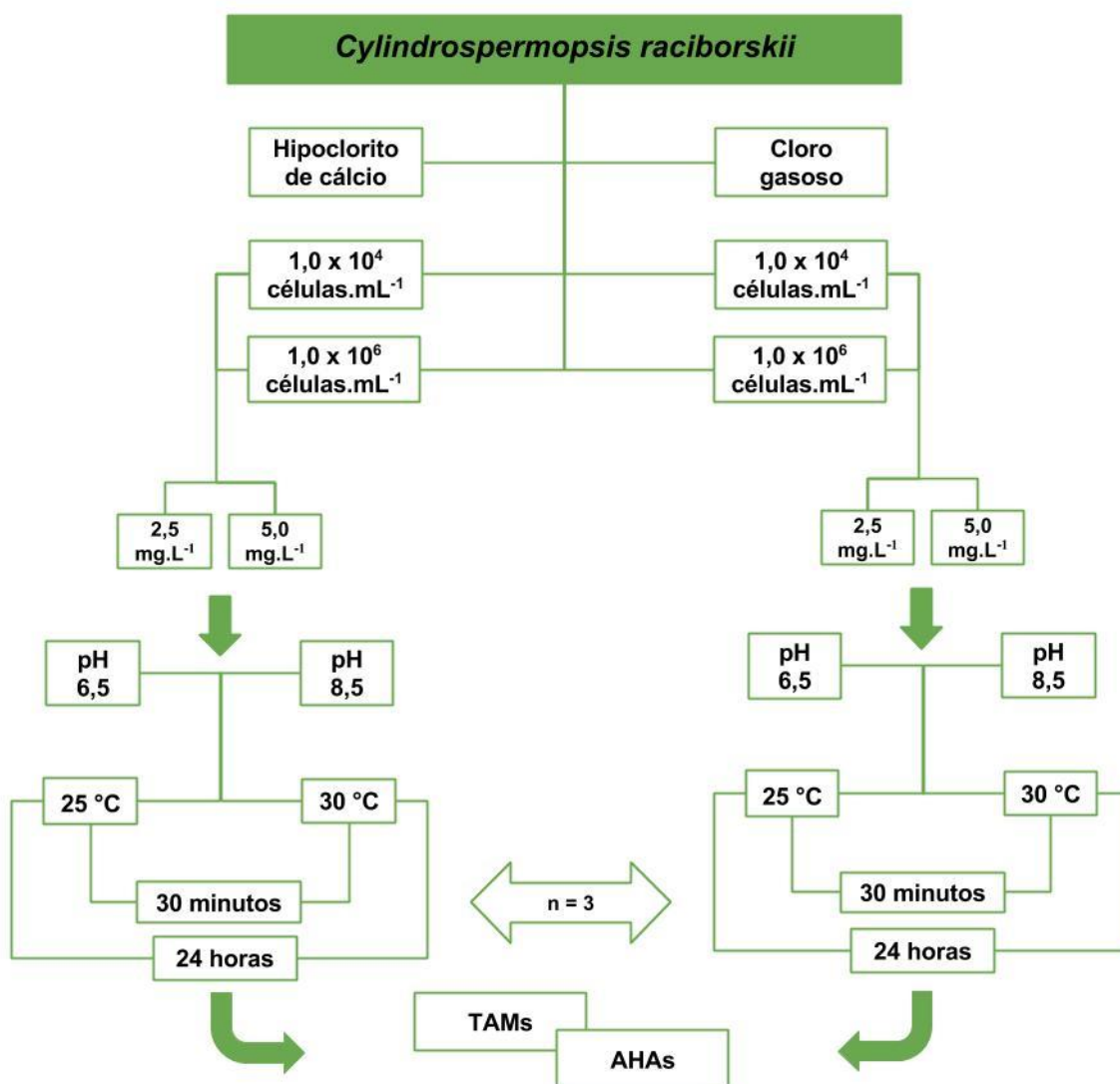


Figura 6.2 - Fluxograma das doses escolhidas (D1 e D2) para *Cylindrospermopsis raciborskii*

6.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE TAMs

6.2.1 Otimização das condições de extração

Foram realizados ensaios de extração para determinação do volume de amostra para verificação da recuperação analítica e padronização do procedimento, por meio da intensidade do sinal. Pavon *et al.* (2008) mencionam trabalhos com volumes de amostra entre 5 e 100 mL em diversas adaptações da literatura. Conforme procedimento experimento no item 5.4.3 observou-se que o volume ideal para a preparação, extração e análise dos TAMs foi 50 mL, em função da melhor resposta detectada pelo CG-EM. A partir de 60 mL, observou-se um decréscimo na resposta e, após este volume não houve a formação de fase orgânica.

6.2.2 Otimização das condições cromatográficas

Inicialmente, foram realizadas seis extrações para a obtenção da rampa da corrida cromatográfica do método, tomando por referência parâmetros de USEPA 551.1 (1995a), Nikolaou *et al.* (2002), Culea *et al.* (2006) e Cardador *et al.* (2015), para a identificação da presença dos TAMs. Após a identificação da relação m/z, procedeu-se com a otimização da rampa (modo TIC e SIR) para a separação do TCM, BDCM, DBCM, TBM e padrão interno fluorbenzeno, com melhor condição obtida descrita no item instrumentação e condições cromatográficas. A Figura 6.3 apresenta o cromatograma no modo TIC e a Figura 6.4 no modo SIR, inclusive do fluorbenzeno, obtida por injeção a partir de uma extração na concentração 200 µg.L⁻¹

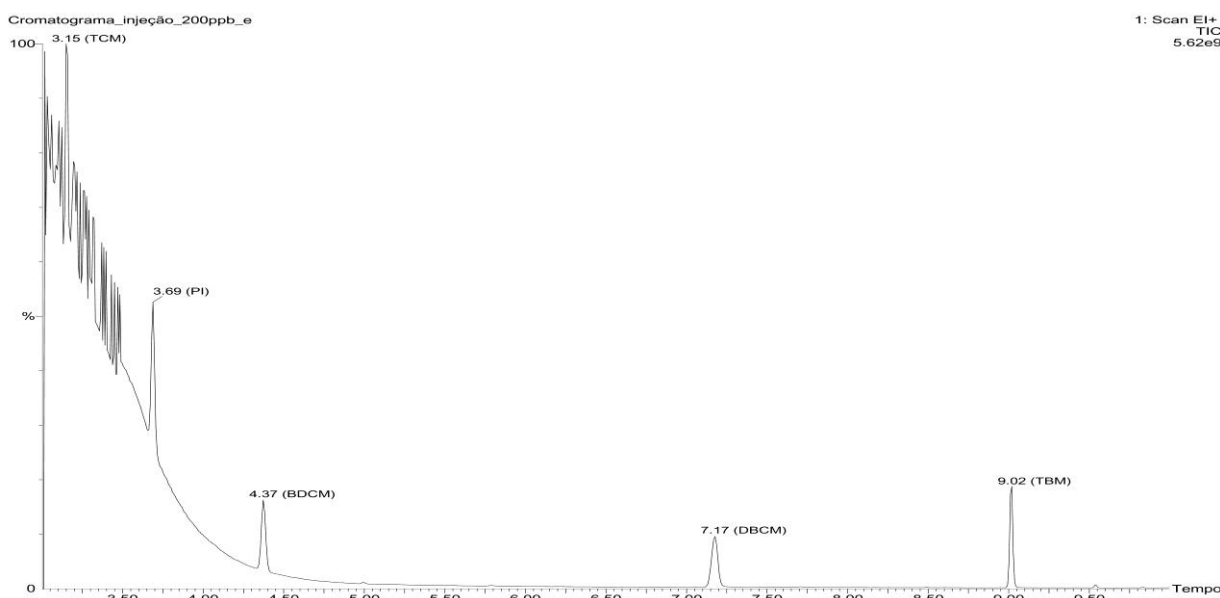


Figura 6.3 - Cromatograma modo TIC da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, obtido por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 200 µg.L⁻¹

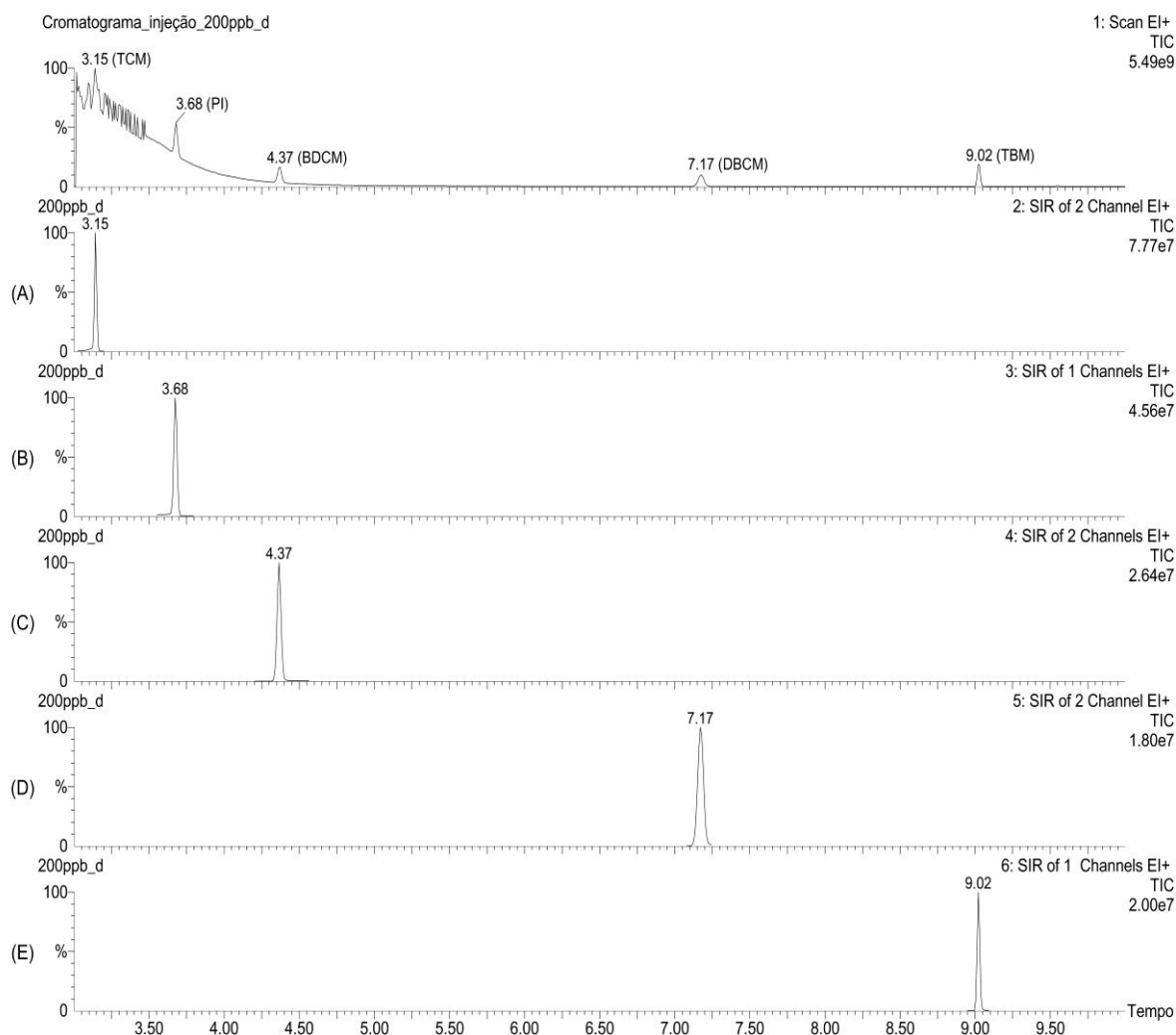


Figura 6.4 - Cromatogramas modo TIC e SIR obtidos da otimização da rampa dos TAMs, inclusive o padrão interno Fluorbenzeno por injeção a partir da extração de um padrão na concentração $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (A - SIR 2, TCM; B - SIR 3, fluorbenzeno; C - SIR 4, BDCM; D - SIR 5, DBCM; E - SIR 6, TBM)

A sequência TCM, BDCM, DBCM e TBM é explicada pelo fato dos compostos apresentarem características químicas distintas. O TCM, por apresentar menor massa molar, é detectado primeiro, ao ponto que o TBM é o último dos compostos por apresentar massa molar maior que os outros TAMs, como descrito na Tabela 6.1.

6.2.3 Parâmetros de validação analítica

Os valores dos parâmetros de validação, linearidade, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, obtidos para cada operador (1 e 2) para a curva analítica, estão apresentados nas tabelas 6.1 a 6.4:

Tabela 6.1 - Tempo de retenção e íons monitorados (m/z) dos TAMs

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

Tabela 6.2 – Regressões lineares dos TAMs obtidas pelas curvas de calibração

Regressão linear	TCM	BDCM	DBCm	TBM
Curva de calibração (1-200 µg.L⁻¹)	Equação	Equação	Equação	Equação
Operador 1	$Y = 1,114 + 0,607 * X$	$Y = -1,989 + 0,702 * X$	$Y = -3,417 + 0,716 * X$	$Y = -1,997 + 0,374 * X$
Operador 2	$Y = 0,944 + 0,607 * X$	$Y = -1,693 + 0,693 * X$	$Y = -3,427 + 0,718 * X$	$Y = -2,048 + 0,378 * X$
Curva de calibração (1-1000 µg.L⁻¹)				
Operador 1	$Y = -0,439 + 0,600 * X$	$Y = -6,161 + 0,707 * X$	$Y = -9,910 + 0,755 * X$	$Y = -3,278 + 0,366 * X$
Operador 2	$Y = -1,848 + 0,612 * X$	$Y = -6,365 + 0,709 * X$	$Y = -9,809 + 0,755 * X$	$Y = -3,076 + 0,366 * X$

Tabela 6.3 – Parâmetros de validação dos TAMs – coeficiente de correlação e determinação, precisão, limite de detecção e quantificação

Parâmetro	TCM				BDCM			DBC			TBM	
R Curva de Calibração (1-200 µg.L⁻¹)												
Operador 1	0,9992				0,9967			0,9950			0,9950	
Operador 2	0,9989				0,9970			0,9951			0,9949	
R Linearidade (1-1000 µg.L⁻¹)												
Operador 1	0,9979				0,9954			0,9945			0,9957	
Operador 2	0,9968				0,9957			0,9946			0,9959	
Precisão Intermediária RSD (%)												
Operador 1	5,08 ⁽¹⁾	2,25 ⁽²⁾	6,19 ⁽³⁾	1,59 ⁽¹⁾	1,26 ⁽²⁾	3,70 ⁽³⁾	0,45 ⁽¹⁾	0,36 ⁽²⁾	2,24 ⁽³⁾	1,36 ⁽¹⁾	0,26 ⁽²⁾	1,99 ⁽³⁾
Operador 2	12,63 ⁽¹⁾	1,81 ⁽²⁾	6,18 ⁽³⁾	15,70 ⁽¹⁾	1,34 ⁽²⁾	3,70 ⁽³⁾	12,63 ⁽¹⁾	0,72 ⁽²⁾	2,23 ⁽³⁾	1,40 ⁽¹⁾	0,97 ⁽²⁾	1,98 ⁽³⁾
Precisão repetitividade RSD (%)												
Operador 1	1,72 ⁽¹⁾	0,47 ⁽²⁾	1,87 ⁽³⁾	0,84 ⁽¹⁾	0,82 ⁽²⁾	0,17 ⁽³⁾	0,33 ⁽¹⁾	0,59 ⁽²⁾	1,32 ⁽³⁾	0,77 ⁽¹⁾	0,63 ⁽²⁾	1,39 ⁽³⁾
Operador 2	1,09 ⁽¹⁾	1,93 ⁽²⁾	0,70 ⁽³⁾	6,95 ⁽¹⁾	0,58 ⁽²⁾	0,55 ⁽³⁾	0,18 ⁽¹⁾	0,62 ⁽²⁾	0,78 ⁽³⁾	0,33 ⁽¹⁾	0,59 ⁽²⁾	1,03 ⁽³⁾
Limite de Detecção (LD) (µg.L⁻¹)												
Operator 1	0,13				0,02			0,02			0,01	
Operator 2	0,14				0,02			0,02			0,01	
Limite de Quantificação (LQ) (µg.L⁻¹)												
Operador 1	0,40				0,07			0,07			0,05	
Operador 2	0,42				0,07			0,07			0,06	

Pontos de precisão (intermediária e repetitividade): TCM (10⁽¹⁾, 40⁽²⁾, 200⁽³⁾); BDCM (10⁽¹⁾, 40⁽²⁾, 200⁽³⁾); DBCM (10⁽¹⁾, 40⁽²⁾, 200⁽³⁾); TBM (10⁽¹⁾, 40⁽²⁾, 200⁽³⁾)

Tabela 6.4 – Parâmetros de validação dos TAMs - Exatidão e ensaios de recuperação

Parâmetro	TCM			BDCM			DBCm			TBM		
Adicionado ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	10	40	200	10	40	200	10	40	200	10	40	200
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 1	11,28	42,62	202,78	10,53	37,56	210,05	12,02	36,08	211,97	12,36	35,50	211,98
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 2	8,72	39,40	203,86	11,09	37,71	208,92	11,87	35,90	212,12	12,26	35,16	211,78
RSD (%) Operador 1	1,32	0,43	1,83	0,83	0,81	0,17	0,32	0,59	1,27	0,76	0,62	1,36
RSD (%) Operador 2	1,09	1,93	0,68	6,95	0,58	0,54	0,18	0,62	0,75	0,15	1,10	1,01
Recuperação (%) Operador 1	112,81	106,55	103,89	105,33	94,41	105,02	119,21	88,75	104,95	119,68	88,75	110,08
Recuperação (%) Operador 2	87,21	98,51	103,44	110,94	94,29	105,25	118,72	89,77	105,09	119,65	87,91	110,77

6.2.3.1 Curva analítica e linearidade

Após a definição da otimização da rampa (TIC e SIR), procedeu-se com a construção da curva de calibração analítica, utilizando concentrações de 1 até 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ apontadas na metodologia ($p=10$ e $n=3$), para os quatro TAMs. Por meio dos resultados, obtiveram-se as regressões lineares ($Y = aX + b$), nas quais Y é a área do pico obtida (descrito como sensibilidade ou intensidade) e X é a concentração de cada TAM no CG-EM, conforme Tabela 6.2.

Observou-se a similaridade dos resultados para as faixas de concentrações determinadas, com respostas lineares e correlações superiores (Tabela 6.3) preconizadas pela ANVISA (2016) e pelo INMETRO (2016) e encontradas por Nikolaou *et al.* (2002) e Culea *et al.* (2006). Foi verificado que houve excelente linearidade quando foram utilizadas concentrações de 1 até 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ($p=14$ e $n=3$), com correlações superiores às sugeridas pelas agências e autores citados anteriormente. O método forneceu resultados diretamente proporcionais à concentração dos TAMs, dentro da faixa de aplicação, conforme Tabela 6.4.

6.2.3.2 Precisão

A precisão foi obtida através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) em níveis como repetitividade e precisão intermediária em três concentrações ($p=3$) diferentes (10, 40 e 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos valores de até 20%, dependendo da complexidade da amostra. A repetitividade foi avaliada por injeções em um mesmo dia ($n=3$) para cada concentração. Conforme constatado na Tabela 6.3, foi possível observar a similaridade dos resultados e concluir que todos os RSDs foram inferiores a 2%. Para a precisão intermediária, avaliada por injeções em dias distintos ($n=5$) nas mesmas concentrações, foram inferiores a 7%, também dentro do limite aceitável (20%) (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

6.2.3.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

As concentrações foram obtidas por meio do método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016), recomendado por ser estatisticamente mais confiável. O LD ($n=10$) foi calculado com base na relação de 3,3 vezes do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica e o LQ ($n=10$) foi a relação de 10 vezes também do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica (1-200 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Conforme observado na Tabela 6.3, o

método é capaz de detectar e quantificar baixas concentrações, permitindo maior confiabilidade nos resultados.

6.2.3.4 Seletividade

Para análise da seletividade, os valores das médias e RSDs de cinco brancos em três repetições ($p=5$ e $n=3$) foram comparados com os encontrados de LQ. Para o INMETRO (2016), as médias obtidas e o RSDs devem ser menores ou iguais para cada espécie, respectivamente 33% e 15%, em relação ao valor obtido de LQ do método. A maior média obtida foi para o TCM (16,75%) e os RSDs estiveram abaixo de 11%. A seletividade também foi definida comparando a matriz da substância (padrão) com a adição do composto DALAPON, para se verificar possíveis interferências nos tempos de retenção. Não foram observadas interferências (Figura 6.4), mantendo assim, a característica de estar bem separada durante o cromatograma (Figura 6.5), além de manter a sensibilidade de todas as espécies.

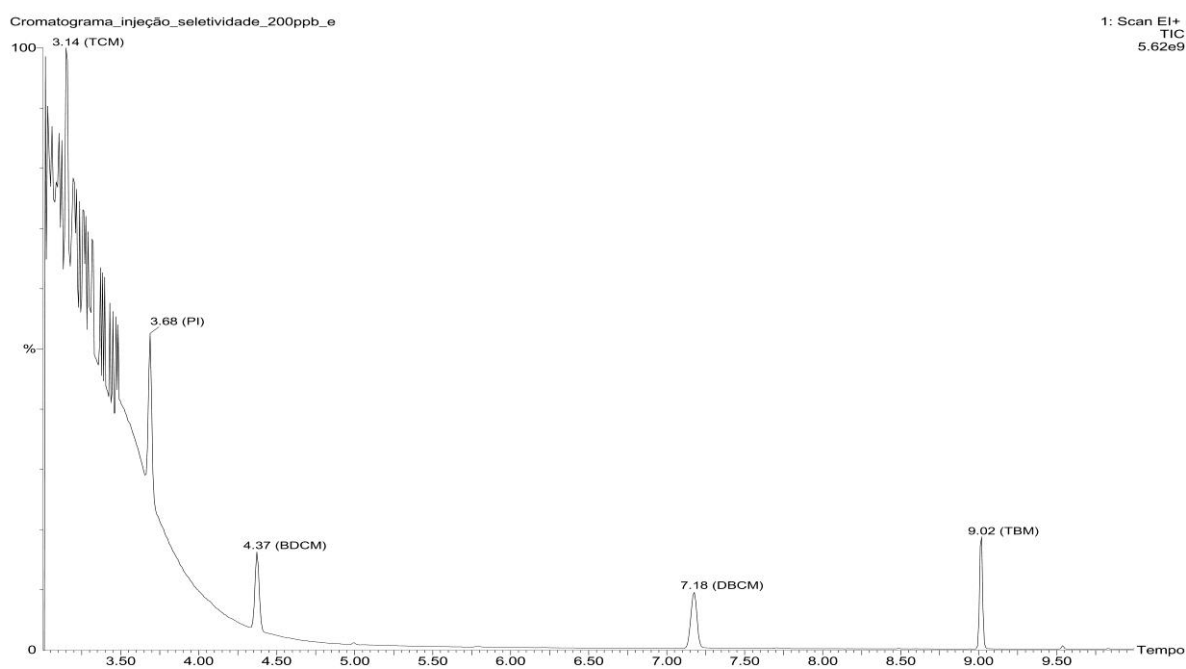


Figura 6.5 - Cromatograma modo TIC obtido do teste de seletividade do método analítico proposto de TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, advindo de injeção da extração de um padrão na concentração $200 \mu\text{g.L}^{-1}$

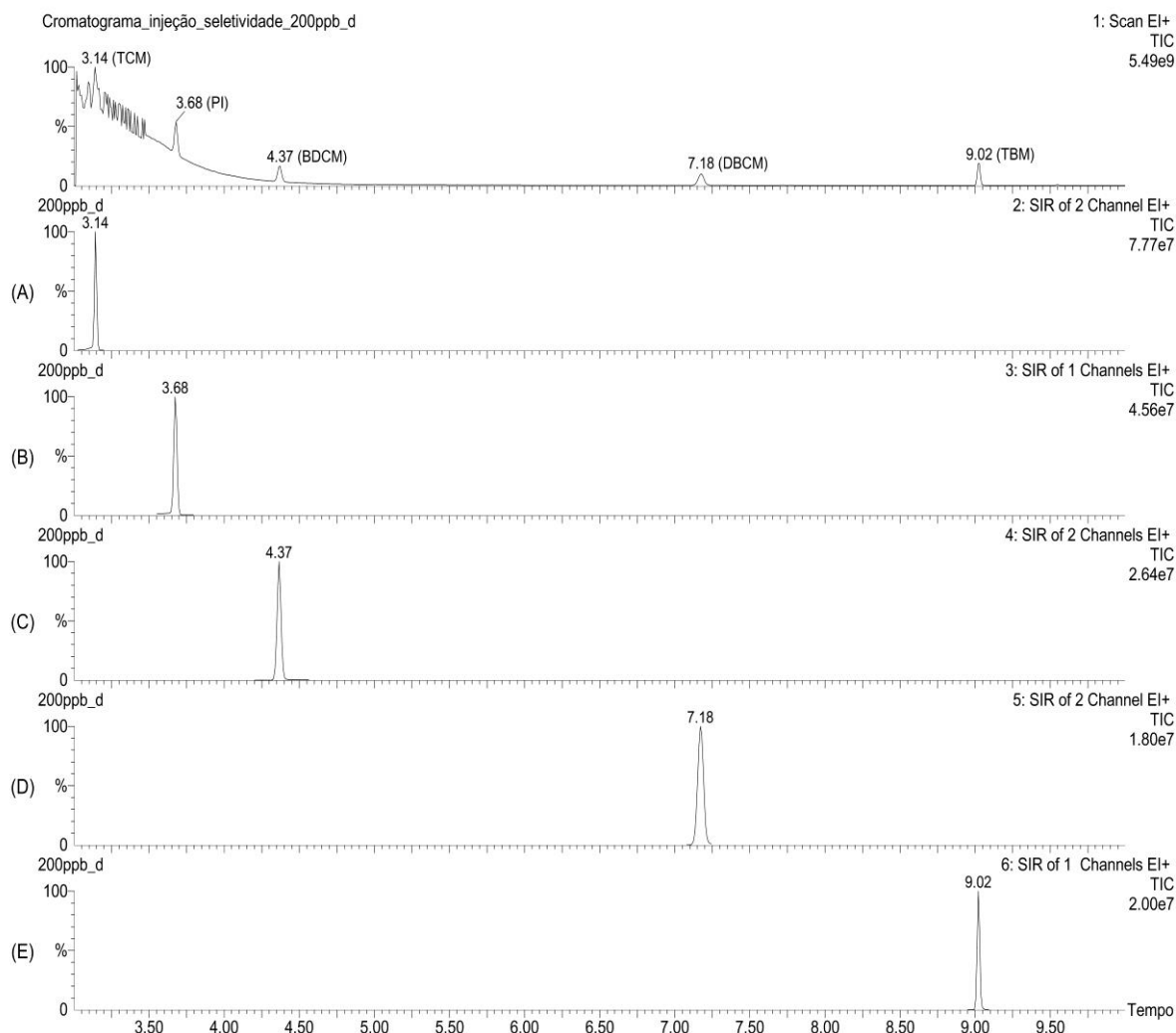


Figura 6.6 – Cromatogramas modo TIC e SIR obtido do teste de seletividade do método analítico proposto para os TAMs, inclusive o padrão interno fluorbenzeno, advindo de injeção a partir da extração de um padrão na concentração $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (A - SIR 2, TCM; B - SIR 3, fluorbenzeno; C - SIR 4, BDCM; D - SIR 5, DBCM; E - SIR 6, TBM)

6.2.3.5 Exatidão

Foram obtidos os valores de recuperação (Tabela 6.4) em três concentrações ($p=3$ e $n=3$) (10, 40 e $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), com resultados variando de 87,21 a 119,68%. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Com a curva de 1 a $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, foi possível estimar os valores esperados em função da resposta das injeções nas concentrações sugeridas, com valores próximos aos de interesse. Os RSDs calculados foram satisfatórios (menores que 2%). Ressalta-se que foram utilizados materiais de referência certificados para garantia da qualidade no processo de validação analítica (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

6.2.3.6 Robustez

Um método é considerado robusto quando não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros. Diante dos resultados, o procedimento de extração e injeção por operadores distintos não afetou a sensibilidade e, conseqüentemente, os parâmetros de validação, atestando a robustez do método, conforme tabelas 6.1 a 6.4.

6.2.4 Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura

Já foi descrito um número significativo de metodologias analíticas para a quantificação de TAMs (Tabelas 6.5 e 6.6).

Tabela 6.5 - Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura (faixa linear, R, LD e LQ)

Referência	Configuração instrumental e modo de extração	Faixa linear ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	R				Limite de detecção ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				Limite de quantificação ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
			TCM	BDCM	DBCM	TBM	TCM	BDCM	DBCM	TBM	TCM	BDCM	DBCM	TBM	
Culea <i>et al.</i> (2006)	ELL-CG-EM ⁽ⁱ⁾	20; 40; 60; 80	0,9910	0,9700	0,9600	0,9600					<0,1				-(c)
Culea <i>et al.</i> (2006)	ELL-CG-EM ⁽ⁱ⁾	20; 40; 60; 80; 100; 200; 300; 400	0,9600	0,9700	0,960	0,9600					-(c)				-(c)
Culea <i>et al.</i> (2006)	PT-CG-EM ⁽ⁱ⁾	20; 40; 60; 80	0,9300	0,8800	0,890	0,8400					1 ^(f)				-(c)
Culea <i>et al.</i> (2006)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	20; 40; 60; 80	0,9800	0,9900	0,970	0,9800					< 0.1				-(c)
Culea <i>et al.</i> (2006)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	20; 40; 60; 80; 100; 200; 300	0,9970	0,9800	0,980	0,9700					-(c)				-(c)
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	ELL-CG-DCE ⁽ⁱ⁾	0,25 a 100			-(c)		0,010	0,005	0,007	0,010					-(c)
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	ELL-CG-EM ⁽ⁱ⁾	0,25 a 100			-(c)		0,01	0,02	0,02	0,03					-(c)
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	PT-CG-EM ⁽ⁱ⁾	0,1; 0,25; 0,50; 1, 2; 5; 10			-(c)		0,01	0,05	0,01	0,01					-(c)
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	0,5; 1; 2; 5; 10			-(c)		0,20	0,05	0,05	0,10					-(c)

Legenda: (c) - não especificado; (i) Não especifica a marca do aparelho; (f) Foi obtido um limite de detecção de 1 ($\mu\text{g.L}^{-1}$) para os TAMs, dependendo do fluxo de hélio, tempo e procedimento de dessorção.

Tabela 6.6 - Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura (precisão, ensaios de recuperação e seletividade)

Referência	Configuração instrumental e modo de extração	Precisão Desvio Padrão Relativo (%)				Recuperação (%)				Seletividade			
		TCM	BDCM	DBCm	TBM	TCM	BDCM	DBCm	TBM	TCM	BDCM	DBCm	TBM
Culea <i>et al.</i> (2006)	ELL-CG-EM ⁽ⁱ⁾	13,1 a 26,4 ^(a) ; 5,8 a 10,6% ^(b)				-				-			
Culea <i>et al.</i> (2006)	P&T-CG-EM ⁽ⁱ⁾	2,63 a 30,35 ^(e)				-				-			
Culea <i>et al.</i> (2006)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	14,97 a 31,95 ^(g) ; 17,93 a 25,49 ^(h)				-				-			
Culea <i>et al.</i> (2006)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	-				-				-			
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	ELL-CG-DCE ⁽ⁱ⁾	0,86 a 2,4 ^(j) ; 0,4 a 1,2 ^(l)				90 a 94,7 ^(m) ; 99,7 a 103,5 ⁽ⁿ⁾				-			
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	ELL-CG-EM ⁽ⁱ⁾	5,1 a 6,6 ^(q) ; 3,4 a 4,3 ^(t)				119,5 a 130,7 ^(o) ; 95,3 a 103,5 ^(p)				-			
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	P&T-CG-EM ⁽ⁱ⁾	0,8 a 1,0 ^(r) ; 0,1 a 0,7 ^(s)				92,7 a 108,7 ^(u) ; 93,8 a 109,1 ^(v)				-			
Nikolaou <i>et al.</i> (2002)	HS-CG-EM ⁽ⁱ⁾	10,5 a 20,7 ^(x) ; 9,7 a 14,2 ^(y)				96 a 104 ^(k) ; 112 a 123 ^(w)				-			

Legenda: (a) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (b) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 80 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (c) -: não especificado; (d) O limite de quantificação foi 1 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (e) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (g) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 10 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (h) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 60 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (i) Não especifica a marca do aparelho; (j) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 10 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (k) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (l) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (m) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 10 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (n) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (q) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 25 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (t) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 50 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (o) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 25 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (p) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 25 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (r) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (s) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (u) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (v) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (w) Recuperação obtida para amostras alíquotas de 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (x) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$); (y) Precisão obtidas para as amostras alíquotas de 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

Diferentes tempos de retenção podem ser explicados devido ao uso de diferentes colunas. Nikolaou *et al.*, (2002) utilizaram a coluna tipo HP-VOC (60 m × 0,32 mm d × 1,8 µm *film*) e Culea *et al.*, (2006) utilizaram a mesma coluna neste trabalho, porém de outro fabricante (RTX-5MS *capillary column*; 30 m x 0,25 mm d x 0,25 µm *film*). Pode-se concluir que cada fabricante fornecerá em uma mesma especificação de colunas rampas com tempos de retenção diferentes devido as fases com que são construídas. Por exemplo, a coluna utilizada neste trabalho é semelhante à RTX-5 ou à JW-5 (outros fabricantes), todas compatíveis com cromatógrafos em fase gasosa.

Outra justificativa da variação de eficiência da separação e do desempenho obtidos neste trabalho pode estar relacionada com o gás utilizado (hélio) como fase móvel. Orienta-se que o gás seja inerte para evitar interação com a amostra ou fase estacionária, de baixo custo, disponível e compatível com o detector usado. Ainda, deve apresentar alta pureza (> 99,999%), pois impurezas como ar, umidade, e traços de vapores de hidrocarbonetos podem danificar a coluna cromatográfica e reagir com a amostra, e também afetar a estabilidade e resposta das análises. Outros gases de arraste utilizados em CG são o nitrogênio (N₂) e hidrogênio (H₂) (USEPA, 1995a; LEITE, 2009).

Outro detalhe importante é o uso do padrão interno que apresentou diferentes comportamentos quando comparado com resultados de outros trabalhos pesquisados (CULEA *et al.* 2006). O padrão fluorbenzeno apresenta custo menor que o halotano, utilizado por Culea *et al.*, (2006) em ELL-CG-EM e para o diclorometano, por Paschoalato (2005) e Butião (2011) em ELL-CG-DCE. Assim sendo, estudos com padrões internos com comprovada eficiência aliados a valores mais acessíveis, proporcionam vantagens em países que têm obrigatoriedade de monitoramento.

Nikolaou *et al.*, (2002) realizaram estudos em que esta técnica de pré-concentração por ELL foi utilizada para a determinação de TAMs e outros SOHs em água em cinco níveis de concentração (1 a 50 µgL⁻¹). Na maioria dos estudos, os autores também utilizaram uma modificação do método 551.1 (USEPA, 1995a), compararam a ELL-CG-DCE com outras técnicas (ELL-CG-EM, P&T-CG-EM e HS-CG-EM). A configuração ELL-CG-DCE foi a mais sensível para determinação de todos os compostos estudados, seguido por ELL-CG-EM, apesar dos autores não observarem diferença significativa entre as recuperações destes dois métodos. A técnica ELL-CG-DCE é geralmente mais sensível que o ELL-CG-EM, no

entanto, a principal vantagem do detector EM é de que através da similaridade dos espectros, o sistema indica a provável massa molar do composto de interesse com um alto nível de precisão (CARERI e MANGIA, 2011). P&T-CG-EM apresentou bons resultados e o método HS-CG-EM obteve aceitáveis recuperações, mas respectivamente maiores tempo de corrida e LD.

Culea *et al.*, (2006) determinaram nas concentrações 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300 e 400 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dos quatro TAMs por ELL-CG-EM usando o padrão interno halotano. Os autores compararam os resultados das técnicas (P&T-CG-EM e HS-CG-EM) e apesar do mesmo indicar a última como a mais sensível, a extração ELL-CG-EM se mostrou eficiente. Em comparação com este estudo, obtiveram melhores coeficientes de regressão e limite de detecção (abaixo de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), sendo que alguns estudos por ELL (BRAGA *et al.*, 2000; CULEA *et al.*, 2006) começam a detectar a partir de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com a recomendação de uso de outras técnicas de extração (P&T e HS) para maior confiabilidade.

Apesar do HS e P&T constarem entre as escolhas preferenciais de extração devido à sua automação, outras técnicas, tais como a abordada neste estudo (ELL), podem oferecer um desempenho eficaz com um investimento menor. Comparando outros trabalhos na literatura, a configuração ELL-CG-EM propicia agilidade na extração, além de requerer menos automatização que HS-CG-EM e P&T-CG-EM. Culea *et al.* (2006) demandaram tempo de extração e corrida aproximadamente 45 e 25 min, respectivamente, nas configurações do parágrafo anterior e que, quando comparado ao presente estudo, a configuração ELL-CG-EM proporcionou agilidade no tempo de preparo e corrida (18 min aproximadamente). Obteveram-se limites de LD próximos comparados aos estudos dos autores nas configurações HS-CG-EM e P&T-CG-EM (abaixo de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), com limites menores para o BDCM, DBCM e TBM.

Ressalta-se a questão do volume da amostra no estudo (50 mL), em que o valor estabelecido proporcionou maior sensibilidade em comparação com outros valores abordados na metodologia, sendo compatível com a recomendação de USEPA (1995a). Ao analisar os resultados obtidos por Nikolaou *et al.*, (2002) e Culea *et al.*, (2006), concluiu-se que os volumes utilizados (10 e 7 mL respectivamente) podem causar algum tipo de interferência na sensibilidade durante as análises.

6.3 Validação do método para quantificação de AHAs

6.3.1 Otimização das condições de extração

Recorreu-se às metodologias de USEPA 552.2 (1995b) e USEPA 552.3 (2003a), Xie (2001) e Xie *et al.* (2002), Shuck (2004) e da Silva (2010). Na literatura, interferências foram observadas nas etapas de extração e derivatização principalmente para o MCAA e espécies bromadas, justificadas conforme Xie (2001), devido a reações químicas com outras substâncias (impurezas) na etapa de extração e derivatização por metilação ácida. Como proposta de evitá-las, procedeu-se com o processo de destilação do H₂SO₄ para o aumento de sua pureza durante o processo de validação.

Após esta etapa, foram realizados ensaios para determinação do volume de amostra para verificação da recuperação analítica e padronização do procedimento, através da intensidade do sinal. Observou-se que o volume ideal para a preparação, extração e análise dos AHAs foi 50 mL, em função da melhor resposta detectada pelo CG-EM em relação ao de 25 mL.

6.3.2 Otimização das condições cromatográficas

Inicialmente, foram realizadas seis extrações para a obtenção dos parâmetros iniciais da rampa da corrida cromatográfica do método, tomando por referência valores monitorados por Xie (2001), para a identificação da presença dos AHAs. Após a identificação das massas (*m/z*), procedeu-se com a otimização da rampa (modo TIC e SIR) para a separação do MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA, TBAA, DCAA, DBCAA, BDCAA e DBCAA, além do padrão interno 1,2,3 - tricloropropano. A Figura 6.7 apresenta o cromatograma no modo TIC e a Figura 6.8 no modo SIR, inclusive do 1,2,3 - tricloropropano, obtida por injeção a partir de uma extração na concentração variada de AHAs (80-800 µg.L⁻¹).

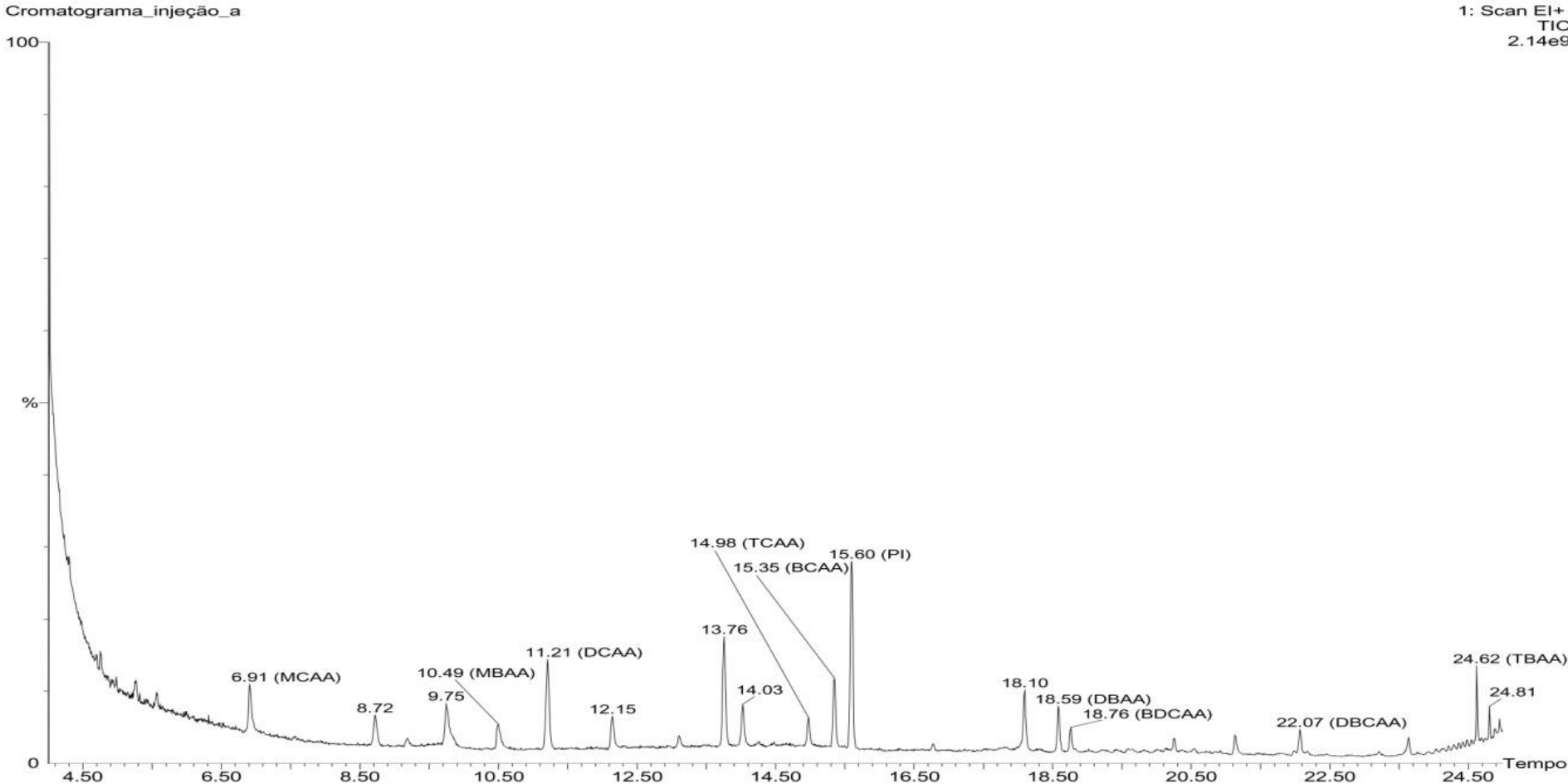


Figura 6.7 - Cromatograma modo TIC da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, obtido por injeção a partir da extração de um padrão na concentração 80-800 µg.L⁻¹

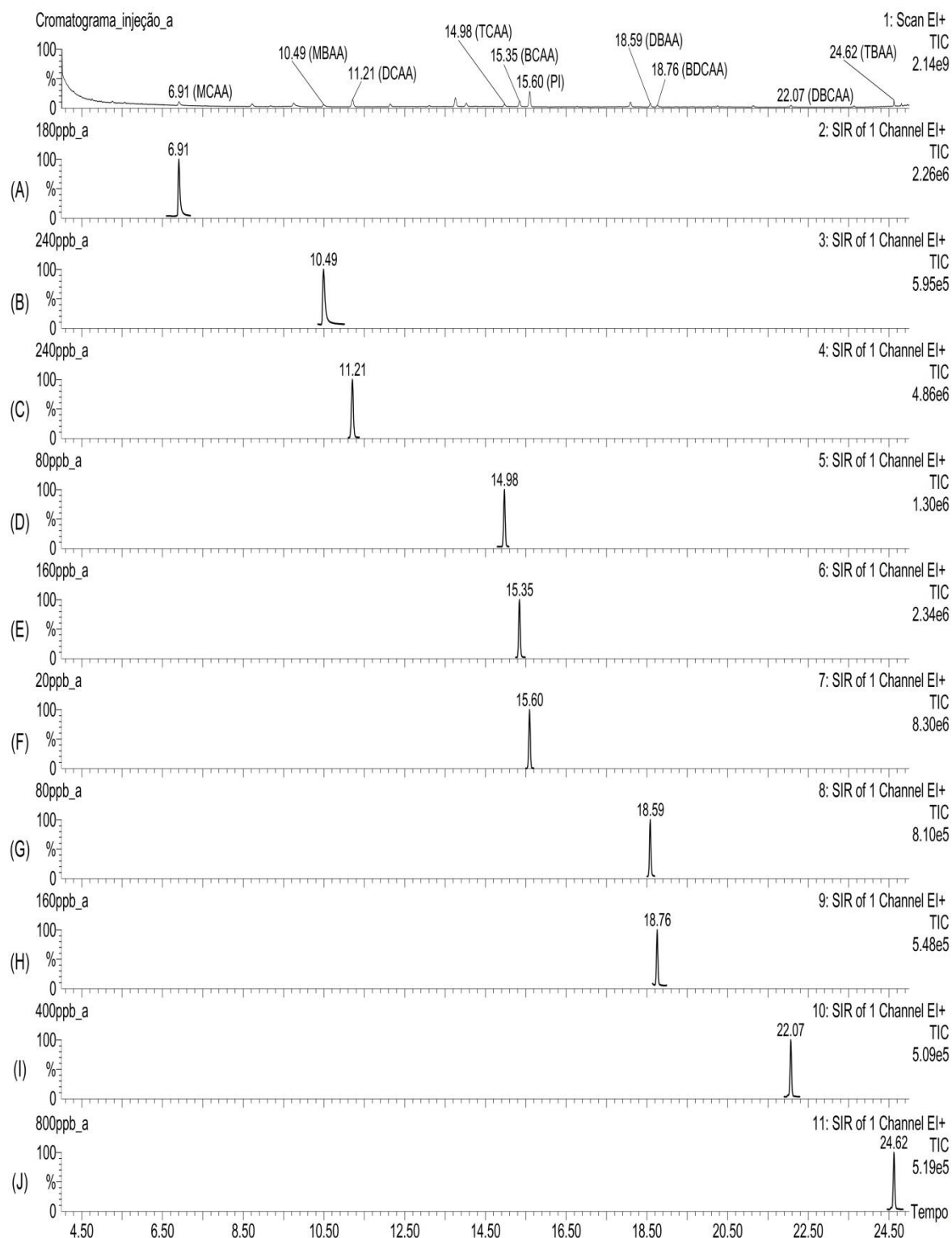


Figura 6.8 - Cromatogramas modo TIC e SIR da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, obtido por injeção a partir de uma extração na concentração 80-800 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (A - SIR 2, MCAA; B - SIR 3, MBAA; C - SIR 4, DCAA; D - SIR 5, TCAA; E - SIR 6, BCAA; F - SIR 7, 1,2,3 - tricloropropano, G - SIR 8, DBAA; H - SIR 9, BDCAA; I - SIR 10, DBCAA; J - SIR 2, TBAA)

A sequência dos AHAs na corrida cromatográfica (Tabela 6.7), assim como os TAMs, é explicada pelo fato dos compostos apresentarem características químicas distintas. O MCAA, por apresentar menor massa molar, é detectado primeiro, ao ponto que o TBAA é o último dos compostos por apresentar massa molar maior que os outros AHAs. Outras respostas observadas na corrida modo TIC são advindos de interações físicas com a composição da coluna, não tendo influência na sensibilidade do método.

Tabela 6.7 - Tempo de retenção e íons monitorados (m/z) dos AHAs

Ácido Haloacético	m/z	Tempo de retenção (min)
MCAA	59	6,91
DCAA	59	10,49
MBAA	59	11,21
TCAA	59	14,98
BCAA	59	15,35
1,2,3 - Tricloropropano	75	15,60
DBAA	59	18,59
BDCAA	59	18,76
DBCAA	59	22,07
TBAA	59	24,62

6.3.3 Parâmetros de validação analítica

Da mesma forma do verificado para os TAMs, os valores dos parâmetros de validação, linearidade, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, obtidos para cada operador (1 e 2) para a curva analítica, estão apresentados nas tabelas 6.8 a 6.15.

Tabela 6.8 – Regressões lineares dos AHAs obtidas pelas curvas de calibração (MCAA, MBAA, DCAA e TCAA)

Regressão linear	MCAA	MBAA	DCAA	TCAA
Curva de calibração	Equação	Equação	Equação	Equação
Operador 1	$Y = -0,147 + 0,024 * X$	$Y = -0,026 + 0,010 * X$	$Y = -0,087 + 0,059 * X$	$Y = -0,005 + 0,033 * X$
Operador 2	$Y = -0,152 + 0,024 * X$	$Y = -0,019 + 0,011 * X$	$Y = -0,093 + 0,060 * X$	$Y = -0,006 + 0,033 * X$
Curva de calibração Linearity				
Operador 1	$Y = -0,142 + 0,024 * X$	$Y = -0,026 + 0,010 * X$	$Y = -0,087 + 0,059 * X$	$Y = -0,005 + 0,033 * X$
Operador 2	$Y = -0,152 + 0,024 * X$	$Y = -0,019 + 0,010 * X$	$Y = -0,093 + 0,060 * X$	$Y = -0,006 + 0,033 * X$

Tabela 6.9 – Regressões lineares dos AHAs obtidas pelas curvas de calibração (BCAA, DBAA, BDCAA, DBCAA e TCAA)

Regressão linear	BCAA	DBAA	BDCAA	DBCAA	TCAA
Curva de calibração	Equação	Equação	Equação	Equação	Equação
Operador 1	$Y = -0,075 + 0,032 * X$	$Y = -0,077 + 0,027 * X$	$Y = -0,085 + 0,008 * X$	$Y = -0,077 + 0,003 * X$	$Y = -0,061 + 0,001 * X$
Operador 2	$Y = -0,070 + 0,031 * X$	$Y = -0,078 + 0,027 * X$	$Y = -0,083 + 0,008 * X$	$Y = -0,076 + 0,004 * X$	$Y = -0,005 + 0,002 * X$
Curva de calibração Linearity					
Operador 1	$Y = -0,132 + 0,036 * X$	$Y = -0,077 + 0,027 * X$	$Y = -0,085 + 0,009 * X$	$Y = -0,077 + 0,003 * X$	$Y = -0,061 + 0,001 * X$
Operador 2	$Y = -0,123 + 0,036 * X$	$Y = -0,010 + 0,023 * X$	$Y = -0,053 + 0,007 * X$	$Y = -0,063 + 0,003 * X$	$Y = -0,035 + 0,001 * X$

Tabela 6.10 – Parâmetros de validação dos AHAs (MCAA, MBAA, DCAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação

Parâmetro	MCAA			MBAA			DCAA		
R Curva de Calibração									
Operador 1	0,9960			0,9904			0,9947		
Operador 2	0,9954			0,9976			0,9945		
R Linearidade									
Operador 1	0,9986			0,9947			0,9997		
Operador 2	0,9996			0,9976			0,9999		
Precisão (Intermediária) RSD (%)									
Operador 1	4,84 ⁽¹⁾	3,00 ⁽²⁾	4,82 ⁽³⁾	8,00 ⁽⁴⁾	15,94 ⁽⁵⁾	11,46 ⁽⁶⁾	10,23 ⁽⁷⁾	18,39 ⁽⁸⁾	19,07 ⁽¹⁰⁾
Operador 2	2,57 ⁽¹⁾	7,38 ⁽²⁾	2,39 ⁽³⁾	7,39 ⁽⁴⁾	5,63 ⁽⁵⁾	10,30 ⁽⁶⁾	18,45 ⁽⁷⁾	17,82 ⁽⁸⁾	17,57 ⁽¹⁰⁾
Precisão (Repetitividade) RSD (%)									
Operador 1	0,83 ⁽¹⁾	1,02 ⁽²⁾	3,49 ⁽³⁾	7,07 ⁽⁴⁾	1,34 ⁽⁵⁾	1,84 ⁽⁶⁾	1,49 ⁽⁷⁾	0,10 ⁽⁸⁾	1,07 ⁽¹⁰⁾
Operador 2	1,36 ⁽¹⁾	1,94 ⁽²⁾	3,23 ⁽³⁾	1,92 ⁽⁴⁾	0,02 ⁽⁵⁾	2,78 ⁽⁶⁾	1,03 ⁽⁷⁾	0,16 ⁽⁸⁾	0,90 ⁽¹⁰⁾
Limite de detecção (LD) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)									
Operador 1	0,52			0,08			0,02		
Operador 2	0,52			0,08			0,02		
Limite de quantificação (LQ) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)									
Operador 1	1,58			0,24			0,06		
Operador 2	1,57			0,25			0,06		

Pontos da precisão intermediária e repetitiva em ($\mu\text{g.L}^{-1}$): MCAA (12⁽¹⁾, 18⁽²⁾, 24⁽³⁾); MBAA (8⁽⁴⁾, 12⁽⁵⁾, 16⁽⁶⁾); DCAA (12⁽⁷⁾, 18⁽⁸⁾, 24⁽¹⁰⁾)

Tabela 6.11 – Parâmetros de validação dos AHAs (TCAA, BCAA, DBAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação

Parâmetro	TCAA			BCAA			DBAA		
R Curva de Calibração									
Operador 1	0,9944			0,9976			0,9944		
Operador 2	0,9944			0,9977			0,9980		
R Linearidade									
Operador 1	0,9994			0,9998			0,9923		
Operador 2	0,9995			0,9995			0,9930		
Precisão (Intermediária) RSD (%)									
Operator 1	19,06 ⁽¹⁾	9,66 ⁽²⁾	10,71 ⁽³⁾	2,44 ⁽⁴⁾	2,39 ⁽⁵⁾	5,41 ⁽⁶⁾	10,46 ⁽⁷⁾	10,44 ⁽⁸⁾	10,32 ⁽¹⁰⁾
Operator 2	13,69 ⁽¹⁾	9,54 ⁽²⁾	12,45 ⁽³⁾	4,59 ⁽⁴⁾	3,09 ⁽⁵⁾	8,20 ⁽⁶⁾	14,32 ⁽⁷⁾	9,70 ⁽⁸⁾	16,38 ⁽¹⁰⁾
Precisão (Repetitividade) RSD (%)									
Operador 1	0,01 ⁽¹⁾	0,87 ⁽²⁾	1,00 ⁽³⁾	2,27 ⁽⁴⁾	0,70 ⁽⁵⁾	1,81 ⁽⁶⁾	3,05 ⁽⁷⁾	2,34 ⁽⁸⁾	2,68 ⁽¹⁰⁾
Operador 2	1,32 ⁽¹⁾	0,27 ⁽²⁾	0,90 ⁽³⁾	0,89 ⁽⁴⁾	0,33 ⁽⁵⁾	0,20 ⁽⁶⁾	1,26 ⁽⁷⁾	0,49 ⁽⁸⁾	2,39 ⁽¹⁰⁾
Limite de detecção (LD) (μgL^{-1})									
Operador 1	0,04			0,01			0,13		
Operador 2	0,04			0,01			0,13		
Limite de quantificação (LQ) (μgL^{-1})									
Operador 1	0,14			0,01			0,43		
Operador 2	0,14			0,01			0,43		

Pontos de precisão intermediária e repetitiva em ($\mu\text{g.L}^{-1}$): TCAA (4⁽¹⁾, 6⁽²⁾, 10⁽³⁾); BCAA (8⁽⁴⁾, 12⁽⁵⁾, 20⁽⁶⁾); DBAA (6⁽⁷⁾, 8⁽⁹⁾, 40⁽¹⁰⁾)

Tabela 6.12 – Parâmetros de validação dos AHAs (BDCAA, DBCAA, TBAA) – coeficiente de correlação, precisão, limite de detecção e quantificação

Parâmetro	BDCAA			DBCAA			TBAA		
R Curva de Calibração									
Operador 1	0,9942			0,9901			0,9908		
Operador 2	0,9941			0,9918			0,9945		
R Linearidade									
Operador 1	0,9928			0,9946			0,9908		
Operador 2	0,9941			0,9962			0,9929		
Precisão (Intermediária) RSD (%)									
Operador 1	6,87 ⁽¹⁾	2,46 ⁽²⁾	6,55 ⁽³⁾	7,38 ⁽⁴⁾	7,02 ⁽⁵⁾	4,55 ⁽⁶⁾	9,01 ⁽⁷⁾	11,46 ⁽⁸⁾	3,02 ⁽¹⁰⁾
Operador 2	8,17 ⁽¹⁾	1,68 ⁽²⁾	6,57 ⁽³⁾	4,57 ⁽⁴⁾	14,61 ⁽⁵⁾	12,54 ⁽⁶⁾	14,55 ⁽⁷⁾	2,86 ⁽⁸⁾	18,20 ⁽¹⁰⁾
Precisão (Repetitividade) RSD (%)									
RSD (%) Operador 1	1,73 ⁽¹⁾	2,92 ⁽²⁾	2,93 ⁽³⁾	1,81 ⁽⁴⁾	3,19 ⁽⁵⁾	7,31 ⁽⁶⁾	1,85 ⁽⁷⁾	3,80 ⁽⁸⁾	0,56 ⁽¹⁰⁾
RSD (%) Operador 2	1,18 ⁽¹⁾	1,80 ⁽²⁾	1,43 ⁽³⁾	5,08 ⁽⁴⁾	2,20 ⁽⁵⁾	6,75 ⁽⁶⁾	3,79 ⁽⁷⁾	3,56 ⁽⁸⁾	0,57 ⁽¹⁰⁾
Limite de Detecção (LD) (μgL^{-1})									
Operador 1	0,11			0,57			2,36		
Operador 2	0,11			0,86			2,64		
Limite de Quantificação (LQ) (μgL^{-1})									
Operador 1	0,32			1,93			2,94		
Operador 2	0,33			1,98			3,90		

Pontos de precisão intermediária e repetitiva ($\mu\text{g.L}^{-1}$): BDCAA (12⁽¹⁾, 16⁽²⁾, 20⁽³⁾); DBCAA (30⁽⁴⁾, 50⁽⁵⁾, 200⁽⁶⁾); TBAA (60⁽⁷⁾, 80⁽⁸⁾, 600⁽¹⁰⁾)

Tabela 6.13 – Parâmetros de validação dos AHAs (MCAA, MBAA, DCAA) - Exatidão e ensaios de recuperação

Parâmetro	MCAA			MBAA			DCAA		
Adicionado ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	12	18	24	8	12	16	12	18	24
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 1	11,34	16,82	24,34	7,31	11,11	14,36	12,11	18,20	22,46
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 2	11,32	16,61	24,08	7,56	11,59	15,94	12,13	18,42	22,34
RSD (%) Operador 1	0,83	3,00	1,02	7,07	1,34	1,84	1,49	0,10	1,07
RSD (%) Operador 2	1,36	1,94	2,39	1,92	0,02	2,78	1,03	0,16	0,90
Recuperação (%) Operador 1	94,47	90,57	101,40	91,37	92,56	88,85	100,93	101,12	93,60
Recuperação (%) Operador 2	94,35	92,33	100,34	94,55	96,66	99,63	101,11	102,34	93,15

Tabela 6.14 – Parâmetros de validação dos AHAs (TCAA, BCAA, DBAA) - Exatidão e ensaios de recuperação

Parâmetro	TCAA			BCAA			DBAA		
Adicionado ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	2	8	15	4	12	20	6	8	40
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 1	1,67	6,27	14,69	4,16	12,13	20,83	6,79	7,39	39,22
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 2	1,63	7,56	14,64	4,09	12,19	20,65	6,61	7,39	39,4
RSD (%) Operador 1	0,96	0,87	0,12	3,69	0,70	1,81	3,05	2,34	2,68
RSD (%) Operador 2	2,20	1,53	0,14	5,51	0,33	0,2	1,25	0,48	2,38
Recuperação (%) Operador 1	83,70	104,55	97,92	103,99	101,06	104,14	113,22	92,33	98,05
Recuperação (%) Operador 2	81,70	94,52	97,63	102,39	101,64	103,29	110,24	92,43	98,5

Tabela 6.15 – Parâmetros de validação dos AHAs (BDCAA, DBCAA, TBAA) - Exatidão e ensaios de recuperação

Parâmetro	BDCAA			DBCAA			TBAA		
Adicionado ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	12	16	20	30	50	200	60	80	600
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 1	12,40	13,76	16,28	29,57	40,51	181,33	58,24	63,77	574,62
Média Aferida ($\mu\text{g.L}^{-1}$) Operador 2	12,69	13,7	16,58	30,78	40,07	182,62	64,34	63,82	622,24
RSD (%) Operador 1	1,73	2,92	2,93	1,81	3,19	7,31	1,85	3,80	5,24
RSD (%) Operador 2	1,17	1,79	1,42	5,08	2,20	6,74	3,78	3,56	3,97
Recuperação (%) Operador 1	103,30	86,00	81,39	99,48	81,02	90,67	97,06	79,71	95,77
Recuperação (%) Operador 2	105,82	85,76	82,92	102,61	80,15	91,31	107,23	79,77	103,7

6.3.3.1 Curva analítica e linearidade

Após a definição da otimização da rampa (TIC e SIR), procedeu-se com a construção da curva de calibração analítica, utilizando concentrações conforme item 5.4.3 ($p=6$ e $n=3$), para os quatro TAMs. Por meio dos resultados, obtiveram-se as regressões lineares ($Y = aX + b$), onde Y é a área do pico obtida (descrito como sensibilidade ou intensidade) e X é a concentração de cada AHAs no CG-EM, conforme tabelas 6.8 e 6.9.

Observou-se a similaridade dos resultados para as faixas de concentrações determinadas, com respostas lineares e correlações superiores (Tabelas 6.10 a 6.12) preconizadas pelo INMETRO (2016), e ANVISA (2016). Foi verificado que houve excelente linearidade em todas as espécies ($p=8$ e $n=3$), com correlações superiores às sugeridas pelas agências e pelo autor citado anteriormente. O método forneceu resultados diretamente proporcionais à concentração dos AHAs, dentro da faixa de aplicação (Tabelas 6.13 a 6.15).

6.3.3.2 Precisão

A precisão foi obtida pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD) em níveis como repetitividade e intermediária em três concentrações ($p=3$) (12, 18, 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o MCAA; 8, 12, 16 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o MBAA; 12, 18, 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DCAA; 4, 6, 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o TCAA; 8, 12, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o BCAA; 6, 8, 40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DBAA; 12, 16, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o BDCAA; 30, 50, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DBCAA; 60, 80, 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o TBAA). A repetitividade foi avaliada por injeções em um mesmo dia ($n=3$) e para a precisão intermediária, por injeções em dias distintos ($n=5$). Conforme constatado nas tabelas 6.10 a 6.12, por meio da curva de calibração ($p=6$ e $n=3$) de cada espécie de AHAs, foi possível observar que todos os RSDs foram inferiores a 20%. Assim como para os TAMs, também dentro do limite aceitável (20%) (RIBANI, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

6.3.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pelo método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016). O LD ($n=10$) foi calculado com base na relação de 3,3 vezes do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica. O LQ ($n=10$) foi a relação de dez vezes também do desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração, para cada espécie de AHAs. Conforme observado nas tabelas 6.10 a 6.12, o método é capaz de detectar e quantificar baixas concentrações em todas as espécies.

6.3.5 Seletividade

Da mesma maneira que com os TAMs, os valores das médias e RSDs de cinco brancos em três repetições cada ($p=5$ e $n=3$) foram comparados com os valores encontrados de LQ. A maior média obtida foi para o TCAA (24,5%) e os RSDs abaixo de 13%, valores menores, respectivamente, 33% e 15%, em relação ao valor obtido de LQ do método. Também se avaliou a possível interferência nos tempos de retenção comparando a matriz da substância (padrão) com a adição do composto 17 β -Estradiol-D5. Não foram observadas interferências no tempo de retenção dos AHAs, (Figura 6.9) mantendo também, a característica de estar bem separada durante o cromatograma (Figura 6.10) (RIBANI, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

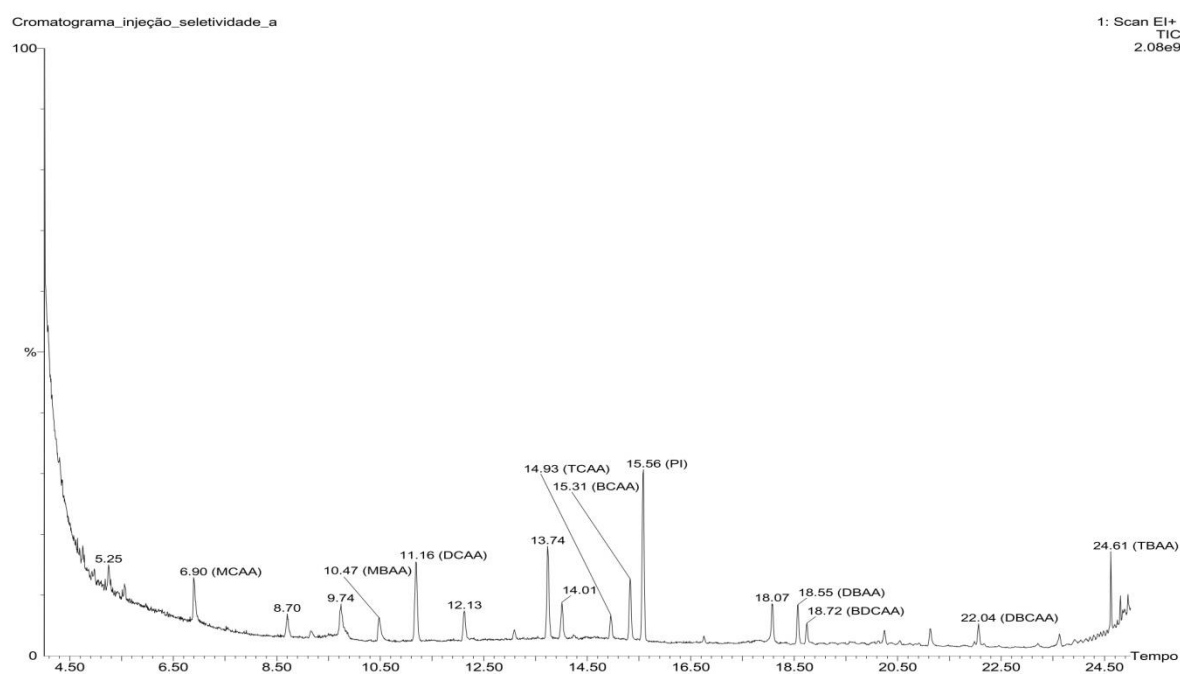


Figura 6.9 - Cromatograma modo TIC obtido do teste de seletividade do método analítico proposto de AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano, advindo de injeção da extração de um padrão na concentração 80-800 $\mu\text{g.L}^{-1}$

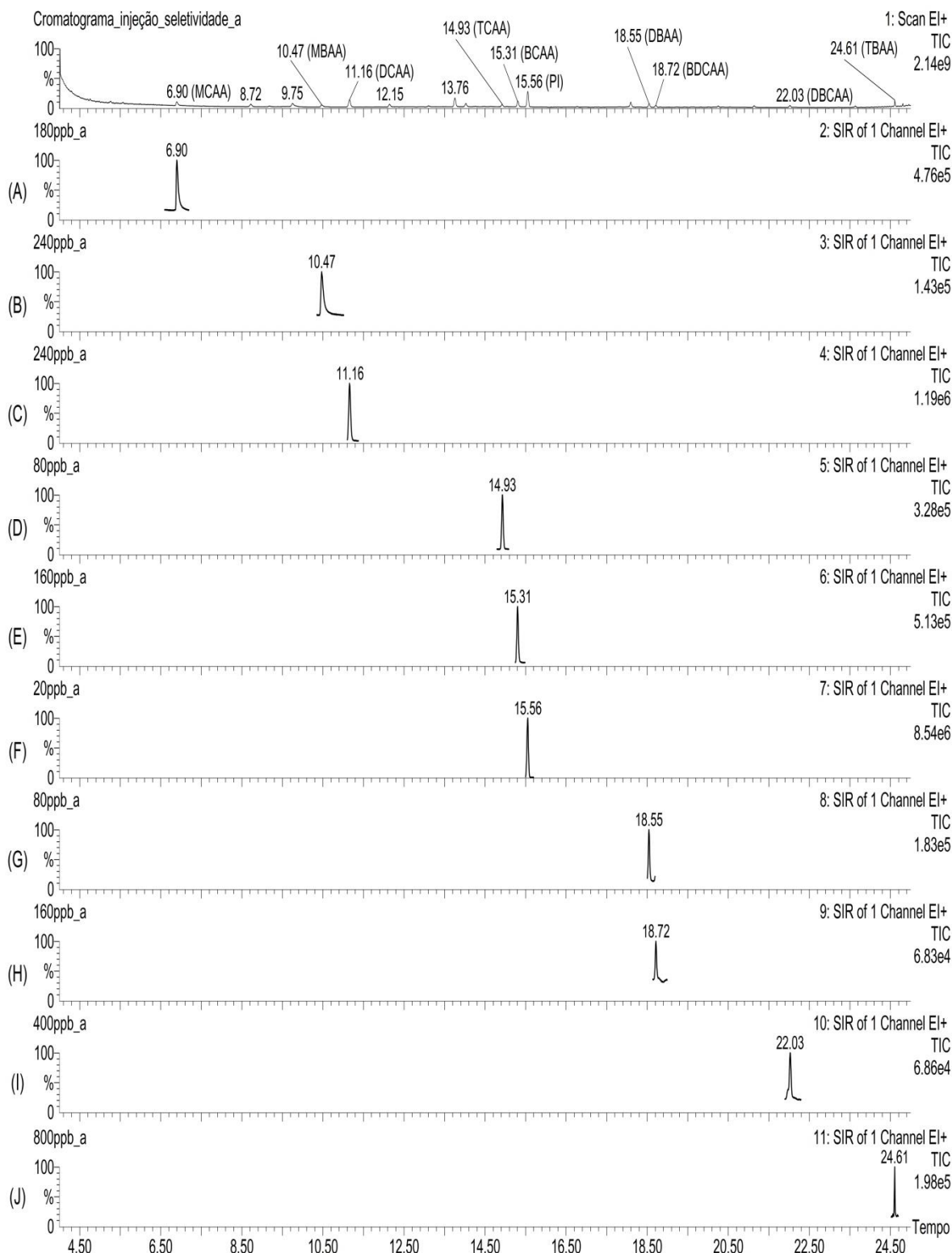


Figura 6.10 – Cromatogramas modo TIC e SIR da otimização da rampa dos AHAs, inclusive o padrão interno 1,2,3 - tricloropropano obtido por injeção a partir de uma extração na concentração 80-800 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (A - SIR 2, MCAA; B - SIR 3, MBAA; C - SIR 4, DCAA; D - SIR 5, TCAA; E - SIR 6, BCAA; F - SIR 6, 1,2,3 - tricloropropano, G - SIR 8, DBAA; H - SIR 9, BDCAA; I - SIR 10, DBCAA; J - SIR 2, TCAA)

6.3.6 Exatidão

Foram obtidos os valores de recuperação (Tabelas 6.13 a 6.15) em três concentrações ($p=3$ e $n=3$) (12, 18, 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o MCAA; 8, 12, 16 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o MBAA; 12, 18, 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DCAA; 2, 8, 15 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o TCAA; 4, 12, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o BCAA; 6, 8, 40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DBAA; 12, 16, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o BDCAA; 30, 50, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o DBCAA; 60, 80, 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para o TBAA) com resultados variando de 79,71 a 113,22%. Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Por meio da curva de calibração ($p=6$ e $n=3$) de cada espécie de AHAs, foi possível estimar os valores esperados em função da resposta das injeções nas concentrações sugeridas, com valores próximos aos de interesse. Os RSDs calculados foram satisfatórios (menores que 8%). Ressalta-se que, assim como os TAMs, foram utilizados materiais de referência certificados para garantia da qualidade no processo de validação analítica (RIBANI, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

6.3.7 Robustez

Diante dos resultados, o procedimento de extração e injeção por operadores distintos não afetou a sensibilidade e, conseqüentemente, os parâmetros de validação, atestando a robustez do método, conforme tabelas 6.8 a 6.15 (RIBANI, 2004; INMETRO, 2016; ANVISA, 2016).

6.3.8 Comparação dos resultados analíticos com trabalhos da literatura

Metodologias analíticas para a quantificação de AHAs são abordadas, conforme Tabela 6.16.

Tabela 6.16 - Comparação dos resultados analíticos de AHAs com trabalhos da literatura (faixa linear, R, LD e LQ, precisão, ensaios de recuperação e seletividade)

Ácido haloacético	Referência	Configuração/ Tempo de corrida	Faixa linear	R	Limite de deteccção (LD) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Limite de deteccção (LQ) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Precisão (RSD) (%)	Recuperação (%)	Seletividade
MCAA	Xie (2001)	ELL-CG-EM 48,9 min	_(a)	_(b)	0,21	-	-	87 ^(a)	-
DCAA			_(a)	_(b)	0,07	-	-	92 ^(a)	-
TCAA			_(a)	_(b)	0,15	-	-	137 ^(a)	-
MBAA			_(a)	_(b)	0,71	-	-	73 ^(a)	-
DBAA			_(a)	_(b)	0,04	-	-	93 ^(a)	-
BCAA			_(a)	_(b)	0,27	-	-	81 ^(a)	-
DBCAA			_(a)	_(b)	0,29	-	-	93 ^(a)	-
BDCAA			_(a)	_(b)	0,12	-	-	165 ^(a)	-
TBAA			_(a)	_(b)	0,83	-	-	117 ^(a)	-
MCAA	Shuck (2004)	ELL-CG-EM 22,65 min	3;7,5;15;30;75;150;300;600	0,9910	1,5	-	-	98,7 ^(b)	-
DCAA			3;7,5;15;30;75;150;300;600	0,9979	1,5	-	-	97 ^(b)	-
TCAA			1;2,5;5;10;25;50;100;200	0,9950	2,5	-	-	78,1 ^(b)	-
MBAA			2;5;10;20;50;100;200;400	0,9989	5	-	-	73,8 ^(b)	-
DBAA			1;2,5;5;10;25;50;100;200	0,9992	2,5	-	-	90,5 ^(b)	-
BCAA			2;5;10;20;50;100;200;400	0,9996	2	-	-	92,4 ^(b)	-
DBCAA			-	-	-	-	-	-	-
BDCAA			2;5;10;20;50;100;200;400	0,9950	5	-	-	90,7 ^(b)	-
TBAA			-	-	-	-	-	-	-

(a) Ensaios de recuperação obtidos na concentração de 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$

(b) Faixa de recuperação obtidas em concentrações entre 1,5 a 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$

Ácido haloacético	Referência	Configuração/ Tempo de corrida	Faixa linear	R	Limite de deteccção (LD) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Limite de deteccção (LQ) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Precisão (RSD) (%)	Recuperação (%)	Seletividade
MCAA	da Silva (2010)	ELL-CG-DCE 27,8 min	0,5;1, 2;5;10;20;50	0,9960	1,30	3,90	-	104 ^(c)	-
DCAA				0,9980	0,90	2,80	-	69 ^(c)	-
TCAA				0,9990	0,40	1,20	-	179 ^(c)	-
MBAA				0,9960	0,50	1,70	-	121 ^(c)	-
DBAA				0,9980	1,90	1,90	-	114 ^(c)	-
BCAA				0,9980	0,50	1,70	-	157 ^(c)	-
DBCAA				0,9950	0,08	0,20	-	103 ^(c)	-
BDCAA				0,9970	6,80	21,60	-	67 ^(c)	-
TBAA				0,9830	2,10	6,60	-	157 ^(c)	-
MCAA	Paschoalato (2005)	ELL-CG-DCE 24 min	6;9;12;15;24;30	0,9771	-	-	1,10 a 12,90% ^(d)	-	-
DCAA				0,9932	-	-		-	-
TCAA				0,9768	-	-		-	-
MBAA				0,9895	-	-		-	-
DBAA				0,9936	-	-		-	-
BCAA				0,9921	-	-		-	-
DBCAA				0,9863	-	-		-	-
BDCAA				0,9867	-	-		-	-
TBAA				0,9984	-	-		-	-

(c) Ensaios de recuperação nas concentrações de 2,0 - 20,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$

(d) RSD por meio dos ensaios de precisão nos pontos MCAA, 9 $\mu\text{g.L}^{-1}$; MBAA, 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$; DCAA, 9 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TCAA, 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$; BCAA, 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$, BDCAA, 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$; DBAA, 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$; DBCAA, 15 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA, 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$

Ácido haloacético	Referência	Configuração/ Tempo de corrida	Faixa linear	R	Limite de detecção (LD) $\mu\text{g.L}^{-1}$	Limite de detecção (LQ) $\mu\text{g.L}^{-1}$	Precisão (RSD) (%)	Recuperação (%)	Seletividade
MCAA	Lima (2014)	ELL-CG-DCE 25 min	0,6;1,2;2,4;4,8;7,2;9,6;12;18	0,9997	-	-	-	-	-
DCAA			0,6;1,2;2,4;4,8;7,2;9,6;12;18	0,9965	-	-	-	-	-
TCAA			0,2;0,4;0,8;1,6;2,4;3,2;4;6	0,9964	-	-	-	-	-
MBAA			0,4;0,8;1,6;3,2;4,8;6,4;8;12	0,9977	-	-	-	-	-
DBAA			0,2;0,4;0,8;1,6;2,4;3,2;4;6	0,9974	-	-	-	-	-
BCAA			0,4;0,8;1,6;3,2;4,8;6,4;8;12	0,9966	-	-	-	-	-
DBCAA			1;2;4;8;12;16;20;30	0,9995	-	-	-	-	-
BDCAA			0,4;0,8;1,6;3,2;4,8;6,4;8;12	0,9990	-	-	-	-	-
TBAA			2;4;8;16;24;32;40;60	0,9995	-	-	-	-	-

A ELL, a derivatização por metilação ácida e a análise por CG-DCE para os nove AHAs foram publicadas no método USEPA 552.2 (USEPA, 1995b) e, desde então, foi amplamente adotadas por muitos laboratórios. Xie *et al.* (1998), utilizando-se de adaptações da USEPA 552.2. (USEPA, 1995b), desenvolveram métodos analíticos para AHAs para água potável empregando-se a extração ELL e derivatização por metilação ácida, seguidas de detecção por CG-DCE. Foram incluídos no método apenas o MCAA, MBAA, DCAA, DBAA e TCAA. Obtiveram LD entre 0.07-0.4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os compostos, exceto para MCAA, devido à ausência de um pico atribuível. Por meio de análises de amostras nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ das espécies, as recuperações médias foram entre 109-118%. Comparando-se o LD e as recuperações com aqueles relatados no método 6251B (APHA, 2012), os autores mostraram que ambos os métodos eram comparáveis, exceto para MCAA.

Em comparação com o uso do diazometano, outra opção para derivatização, a metilação ácida fornece uma melhor eficiência de metilação para os ácidos mono-haloacéticos e di-haloacéticos, mas fraca para os ácidos tri-haloacéticos. A metilação incompleta de algumas espécies com metanol ácido também foi relatada em um estudo realizado por Xie (2001), onde associam as baixas respostas obtidas do TBAA à sua parcial descarboxilação. Segundo o autor, os cromatogramas obtidos por CG-DCE fornecem baixas respostas ao MCAA devido ao seu menor teor de halogênio e à menor sensibilidade do detector para a espécie, além de ser suscetível à interferência cromatográfica durante a metilação ácida. O comportamento similar para as espécies tri-haloacéticos bromados (DBCAA, BDCAA e TBAA) são justificadas devido à sua fraca eficiência e instabilidade durante o processo de derivatização por metilação ácida.

Xie (2001), utilizando a configuração CG-EM e adequações da USEPA 552.2 (USEPA, 1995b), também menciona a metilação ácida como um passo crítico para a detecção de AHAs. O autor detectou a baixa eficiência para ácidos tri-haloacéticos bromados assim como no detector DCE e, em contrapartida, não foram observadas interferências na resposta do MCAA. O autor ressalta a possibilidade de ocorrer a decomposição dos referidos ácidos em TAMs à temperatura ambiente ou durante a etapa de metilação ácida, fato não observado durante a validação do método. Xie *et al.* (2002) realizaram uma série de modificações no método USEPA 552.2 (USEPA, 1995b), como variação do tempo e temperatura de metilação, volume e fórmula do metanol ácido, sendo que a instabilidade do TBAA pode ser atribuível à formação de peróxidos em MTBE envelhecido.

Em comparação ao presente estudo, não foram observados interferência na resposta do MCAA tão pouco baixa eficiência nos ácidos tri-haloacéticos bromados durante a metilação ácida. Os resultados podem ser atribuídos ao uso de H₂SO₄ destilado, que provavelmente aumentou a eficiência de metilação e/ou redução da descarboxilação, minimizando a interferência na matriz. Nos cromatogramas obtidos utilizando o H₂SO₄ não destilado e com base em informações levantadas neste estudo (Figura 6.11), observaram-se menores interferências de outros íons (m/z) nos espectros no MCAA (Figura 6.12) e tri-haloacéticos bromados (Figura 6.13).

Destaca-se a importância do método desenvolvido nesta pesquisa nos diversos parâmetros abordados quando comparado com trabalhos na literatura nacional. Esta também aborda a mensuração de AHAs em ambos detectores (DCE e EM), de modo que foi validado um método para as nove espécies mais recorrentes durante a cloração de águas para abastecimento com o tempo de corrida cromatográfica (25,5 min) similar aos detectores DCE. Dentre os estudos internacionais relacionado à EM, menores tempos referentes à corrida cromatográfica, se comparados ao estudo de Xie (2001), aproximadamente 50 min. Ainda, ao aplicar os mesmos parâmetros do autor, obtiveram-se cromatogramas com muitas interferências prejudicando a sensibilidade do método.

Como contribuição, pode-se relatar principalmente a significativa melhora na sensibilidade do mono-halogenado MCAA e das espécies tri-haloacéticas bromado-cloradas, observada tanto em estudos mais antigos, quanto nos recentes, independente do detector utilizado. A discussão sobre a característica de colunas e acessibilidade ao padrão interno remete também para os resultados da validação do método do TAMs aqui apresentados.

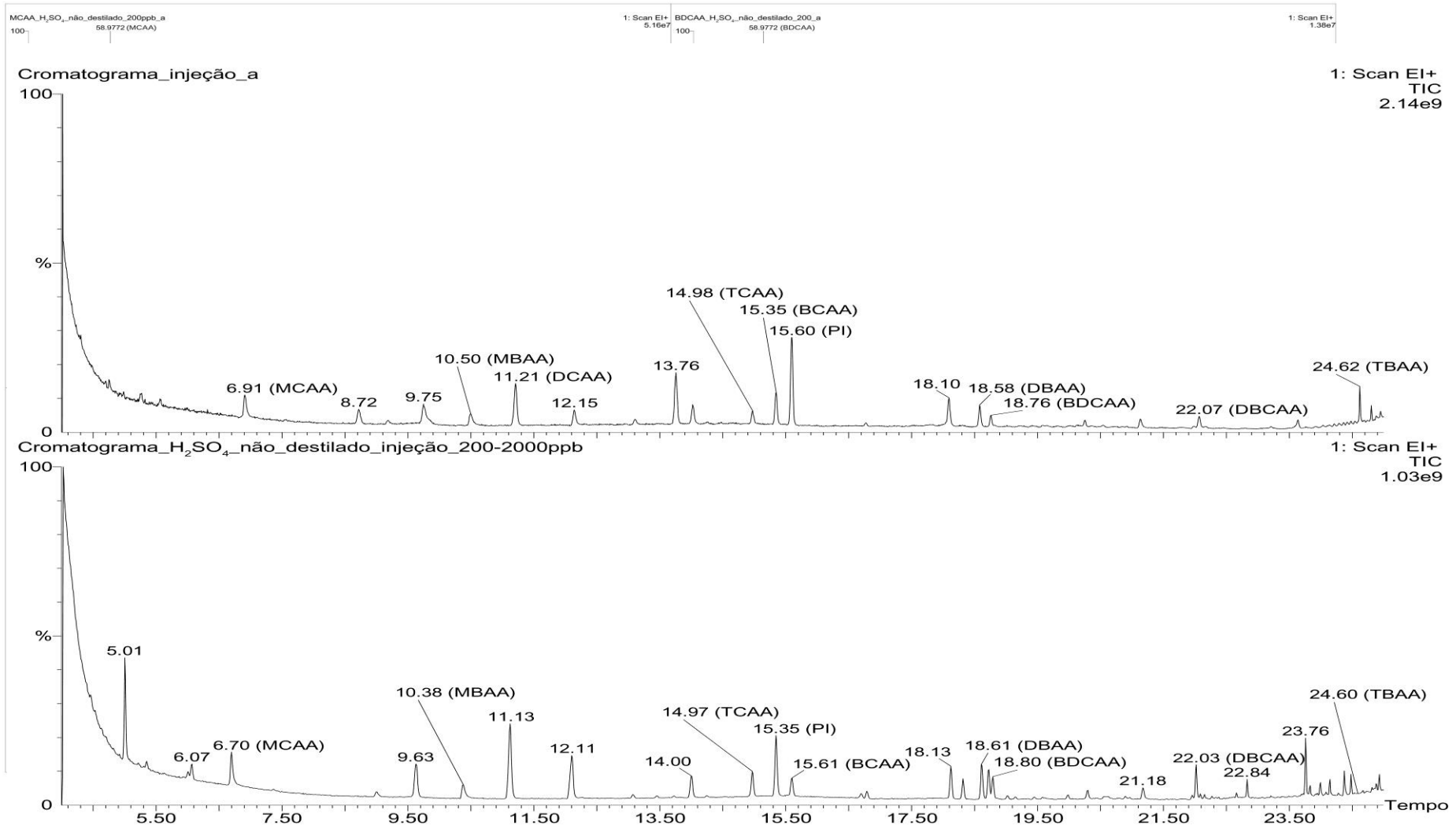


Figura 6.11 - Comparação da interferência nos cromatogramas (m/z) nos AHAs. Na parte superior uso de H₂SO₄ destilado e, inferior não destilado

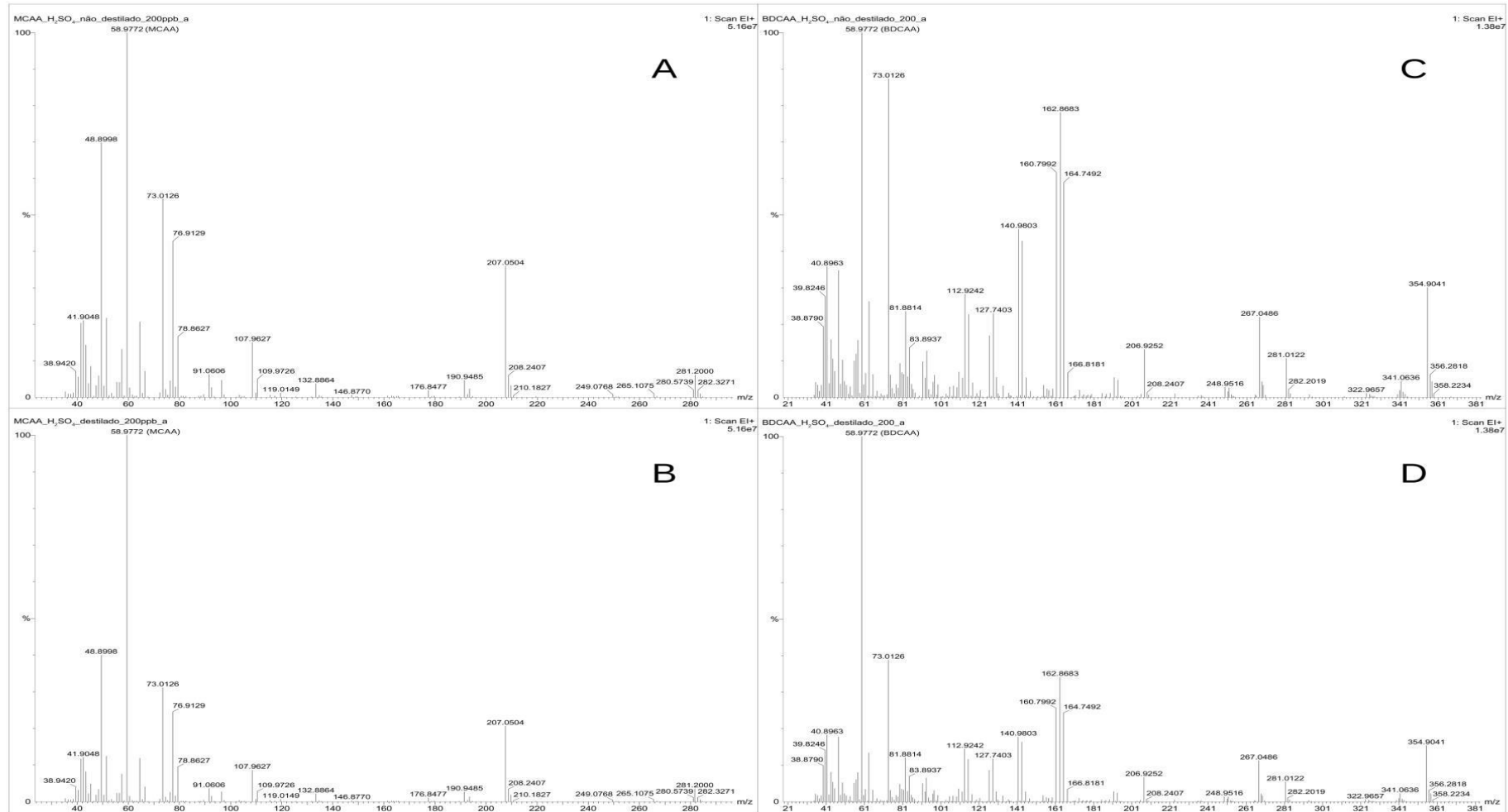


Figura 6.12 - Espectro obtido do MCAA advindo por extração/metilação ácida com H₂SO₄ não destilado H₂SO₄ (a) e destilado (b). Espectro obtido do BDCAA por extração/metilação ácida com H₂SO₄ não destilado H₂SO₄ (c) e destilado (d)

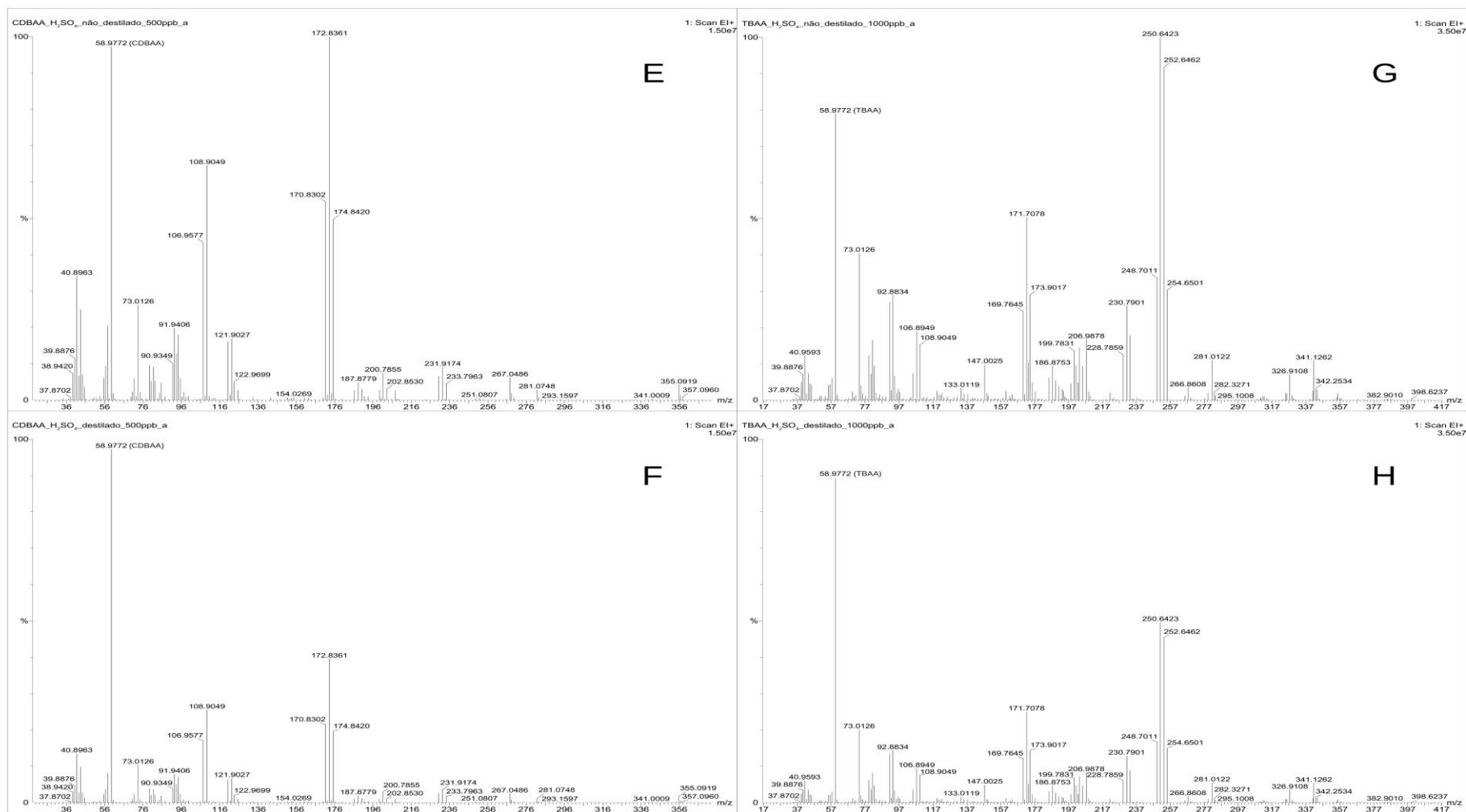


Figura 6.13 - Espectro obtido do DBCAA advindo por extração/metilação ácida com H₂SO₄ não destilado H₂SO₄ (e) e destilado (f). Espectro obtido do TBAA advindo por extração/metilação ácida com H₂SO₄ não destilado H₂SO₄ (g) e destilado (h)

6.4 Formação de TAMs e AHAs após cloração de água contendo cianobactérias

6.4.1 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ de *Microcystis aeruginosa*

Não foram observadas formações de TAMs e AHAs nas distintas situações submetidas às células, mostrando que, quando se dispõe de eficiente sistema de clarificação, a probabilidade de não formação nestas densidades é alta, independentemente do oxidante (cloro gasoso e hipoclorito), pH, tempo de contato, temperatura e dose. Apesar da demanda de cloro observada nas doses 2,5 e 5,0 mg.L⁻¹, os precursores (células e provável liberação de substâncias intra e extracelulares) não foram suficientes para formar os subprodutos. Ressalta-se a importância de mecanismos físicos (apresentados na revisão da literatura) anteriores à etapa de desinfecção (obrigatória pela Portaria 2914), que visam a remoção de células sem a lise celular para que se evite a liberação de precursores.

6.4.2 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ de *Cylindrospermopsis raciborskii*

Da mesma forma que os ensaios de *Microcystis aeruginosa*, não foram observadas formações de TAMs e AHAs nas distintas situações de cloração submetidas às células de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Conclui-se que, para eficiente sistema de clarificação, é provável que em baixas densidades haverá indisponibilidade de precursores, evitando as reações de formação nas mesmas situações que foram apresentadas no item 6.4.1.

6.4.3 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Microcystis aeruginosa*

6.4.3.1 Formação de TAMs por meio da cloração de águas contendo *M. aeruginosa*

Os resultados de formação de TAMs nas águas de estudo estão expostos na Tabela 6.21. Cabe destacar que os subprodutos BDCM, DBCM e TBM não foram formados, por isso, não apresentados na referida tabela.

Tabela 6.17 - Formação de TAMs após cloração de água contendo *Microcystis aeruginosa* ($1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)

Dose (mg.L ⁻¹)	Temperatura	pH	Tempo de Contato	Cloro gasoso		Hipoclorito de cálcio	
				TCM (µg.L ⁻¹)	TAM _T (µg.L ⁻¹)	TCM (µg.L ⁻¹)	TAM _T (µg.L ⁻¹)
2,5	25°C	6,5	30 min	2,16	2,16	2,16	2,16
	25°C	8,5		2,27	2,27	3,17	3,17
	30°C	6,5		2,98	2,98	3,32	3,32
	30°C	8,5		4,23	4,23	4,29	4,29
	25°C	6,5	24 h	2,91	2,91	4,96	4,96
	25°C	8,5		4,19	4,19	7,13	7,13
	30°C	6,5		17,93	17,93	20,18	20,18
	30°C	8,5		19,78	19,78	29,72	29,72
5,0	25°C	6,5	30 min	2,66	2,66	2,18	2,18
	25°C	8,5		3,64	3,64	3,43	3,43
	30°C	6,5		3,45	3,45	3,58	3,58
	30°C	8,5		5,39	5,39	5,74	5,74
	25°C	6,5	24 h	5,56	5,56	6,33	6,33
	25°C	8,5		6,14	6,14	9,03	9,03
	30°C	6,5		18,71	18,71	20,58	20,58
	30°C	8,5		31,22	31,22	45,88	45,88

Em relação aos resultados apresentados, contrapondo aos obtidos para densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹, o TCM manifestou-se em todas as amostras, corroborando com a maioria dos estudos na literatura para densidades próximas às utilizadas. Com hipoclorito de cálcio, o TCM apresentou maior concentração ($45,88 \mu\text{g.L}^{-1}$), comparada às mesmas condições com o cloro gasoso ($31,22 \mu\text{g.L}^{-1}$), nos maiores valores de pH, tempo de contato, temperatura e dose. As concentrações associaram-se exclusivamente à cloração de águas contendo cianobactérias e seus metabólitos. Cabe enfatizar que as cianobactérias foram cultivadas em água ultrapura, apenas com o meio ASM-1 e sem contaminantes externos.

Observou-se que em todas as amostras com pH 8,5, para ambos os oxidantes e ambas as doses, a concentração de TCM foi maior que para pH 6,5, comparando as amostras de mesma temperatura. Estes resultados estão de acordo com estudos da literatura (LATIF,1991;

MEYER, 1994; SINGER, 1999; HUA e RECKOW, 2008) que, avaliando a formação de TAMs em situações distintas de pH, constataram aumento na concentração destes compostos em maiores valores do parâmetro para as reações entre o cloro livre e a maioria dos precursores, apesar de algumas exceções.

WHO (2011) afirma que diferentes valores de pH durante a cloração afetam a distribuição de SOHs. Estudos, desde Hespanhol *et al.* (1982), têm mostrado forte dependência do pH na formação de subprodutos. Em algumas situações, obteve-se aumento de até três vezes na concentração de TAMs formados por unidade de pH. Esta elevação na taxa de produção dos TAMs é esperada pois os altos valores de pH interferem na ação catalítica sobre o halofórmio. Outra explicação para o efeito do pH pode estar relacionada à característica da macromolécula do precursor húmico, que simplesmente se abrevia pela mútua repulsão das cargas negativas em valores mais altos de pH, incrementando assim a disponibilidade de posições ativas adicionais na molécula do precursor. No caso de cianobactérias, altas densidades decorrentes de eventos de florações estão relacionadas a valores de pH acima de 8 (WOJCIECHOWSKI, 2013), corroborando com os maiores valores observados a pH 8,5 que 6,5. Uma forma para amenizar a formação dá-se durante a coagulação, na qual produtos químicos adicionados concorrem para reduzir o pH para valores em torno de 6,5, como observados nesta pesquisa.

Os resultados obtidos para as temperaturas estudadas, para ambos oxidantes, coadunam com a maioria dos estudos observados (TITO e BORGES, 2003; SUN *et al.*, 2009a; FUNASA, 2007; LEE *et al.*, 2013), visto que a maior parte das amostras apresentou valores maiores de TCM quando incubadas a 30°C do que a 25°C. Pesquisas internacionais direcionaram-se para temperaturas inferiores a 25°C, comuns em países temperados. Por exemplo, Huang *et al.* (2009) avaliaram os efeitos da formação de subprodutos em águas contendo *Microcystis sp.* e *Anabaena*, em pH 7,0, temperatura de 21°C, no escuro e doses variadas para atingir residual de 0,5 mg.L⁻¹ de cloro gasoso com tempo de contato de um e sete dias.

Para o parâmetro tempo de contato, foi observado na literatura alta correlação com a formação de TCM com os maiores valores do parâmetro, conforme também destacado nos resultados aqui apresentados. Em escala real, infere-se a importância do monitoramento da qualidade da água na saída da estação de tratamento (o que justifica o tempo de 30 min adotado na pesquisa), como também nas pontas das redes de distribuição (idem o tempo de 24 h). Observa-se a formação de SOH resultantes está diretamente relacionada à demanda de cloro

em fase líquida. Esta formação pode ser influenciada também pelo tipo de oxidante, dose e demanda de cloro para determinada de água bruta.

A ausência de espécies bromadas pode ser explicada pela provável ausência de íons brometo na amostra. Íons brometo (Br^-) participam na etapa de halogenação da sequência de reação dos compostos TAMs de modo mais eficaz do que o cloro. O aumento do total de TAMs formado pode ser até duas vezes mais elevado que na ausência de íons brometo (LATIF,1991). Yang *et al.* (2011) observaram maiores concentrações de TAMs na cloração de amostras contendo o gênero *Microcystis* e a presença de bromo propiciou a formação de espécies bromadas.

Sobre estudos utilizando a espécie de cianobactérias e substâncias celulares liberadas após doses de oxidantes, Huang *et al.* (2009) avaliaram a formação de TAMs considerando como precursor suspensões de *Microcystis sp.*. Durante a cloração (pH 7, aproximadamente $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ CRL, 1 a 7 dias de contato), o COD medido da suspensão de $5,0 \times 10^5 \text{ células.mL}^{-1}$ chegou a $1,3 \text{ mg.L}^{-1}$. O maior rendimento de TCM encontrado em estudos para cloração de *Microcystis sp.* foi $61 \text{ } \mu\text{g TCM/mg.C}$ sendo, deste modo, $39,7 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ a máxima formação potencial de TAMs. Avaliaram-se também os valores de TAMs com tempo de contato de 30 min e 24 h em função do número de células, MOE e MOI da suspensão. Os autores obtiveram $12,87 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ para TAM_{SPF} em 24 h. Ainda, COD, MOE e MOI foram descritas como responsáveis pela maior formação de TCM sendo a produção de TAMs pelas células (COD) foi 2 a 3 vezes maior do que pela MOE. Portanto, a fase de crescimento (exponencial), provavelmente com menor teor de MOE, pode ter favorecido os resultados deste trabalho.

Já Yang *et al.* (2011) concluíram que células e MOE de *Microcystis* e *Chlorella* exibiram um elevado potencial para a formação de SOHs e relacionaram a formação com o tempo de cultivo dos micro-organismos. Células favoreceram maior produção de TCM durante a cloração do que a MOE, representando 70% e 77% do TCM para *Chlorella* e *Microcystis*, respectivamente. No entanto, com a adição de bromo, a incorporação do mesmo aos TAMs durante a cloração de MOE foi maior que a das células. Na fase de crescimento exponencial (13 dias) células contribuíram mais para formação de TAM que MOE (fase utilizada para repiques, diluições e cloração neste trabalho), enquanto que na fase estacionária, a formação foi igual para ambas.

No entanto, o uso de oxidantes pode também causar danos às células de cianobactérias e promover a liberação da MOI, incluindo metabolitos intracelulares, tais como MIB (2-metil-isoborneol, geosmina ou cianotoxinas). A *Microcystis aeruginosa* é produtora da hepatotoxina microcistina (liberada por lise comprometida ou morte celular) e está relacionado com aumento da concentração de COD, que pode impactar negativamente o processo de coagulação e contribuir para a formação de SOHs (HONG *et al.*, 2008; HUANG *et al.*, 2009; ZAMYADI *et al.*, 2013).

Zamyadi *et al.* (2012) determinaram e modelaram a extensão da lise de células de *Microcystis aeruginosa*, a liberação de toxinas (MOI) e a oxidação celular, e, ainda, quantificaram a possível formação de SOHs. Exposições ao cloro (CT, dose multiplicado pelo tempo de contato) com valores de 100 e 296 mg.min.L⁻¹ foram necessárias para se obter 76% de lise celular e oxidação de toxinas ligadas às células liberadas em níveis inferiores ao valor provisório orientado pela WHO (1 mg.L⁻¹ de microcistina -LR. Um modelo foi desenvolvido usando a cinética da reação de cloro com cianobactérias e toxinas ligadas às células. A cloração de densas suspensões (5,0 x 10⁵ células.mL⁻¹, 5,5 mg.L⁻¹ cloro gasoso e pH 8), em água ultrapura com CT até 3051 mg.min.L⁻¹ resultou em concentrações modestas de TAMs (13 µg.L⁻¹).

Outros autores, como Liu *et al.* (2011), estudaram a contribuição de células de *Microcystis aeruginosa* na formação de TAMs e demonstraram contribuição maior nas células que compostos liberados pela MOI e MOE, advindas da produtividade proteica e envelhecimento das células. A MOE forma menores concentrações de TCM se comparada ao número de células e MOI.

Ao se comparar estudos na literatura, Hureiki *et al.* (1994) destaca que aminoácidos, polipeptídios e proteínas provenientes de algas após a cloração (pH 8; 20°C; doses variadas de cloro gasoso; tempo de contato de 72 h) em água natural também contribuem de forma significativa para formação de TAMs, que pode ter influenciado nos resultados deste trabalho, visto que os compostos (MOE) das cianobactérias não foram caracterizados.

Algas verdes constituíram-se as mais produtivas na formação de TAMs em comparação com diatomáceas e cianobactérias em um estudo de Nguyen *et al.*, 2005 (pH 7; 20°C; tempo de contato de 7 dias; dose de 5:1 (mg Cl₂:mg C) de hipoclorito de sódio). Concluíram que COD liberado é um importante precursor de TAMs. Os autores mencionam que a formação pode

ser influenciada pela característica da espécie e fase de crescimento da cianobactéria, bem como as condições de cloração (pH, temperatura, tempo de contato e dose).

Zamyadi *et al.* (2015) avaliaram a extensão dos efeitos da pré-ozonização sobre as propriedades das células de cianobactérias e formação de SOHs associados a essas células. Para o estudo, suspensões de *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flosaquae* foram preparadas em concentrações de $2,5 \times 10^5$ células.mL⁻¹ e $1,5 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e sujeitas a doses de ozônio de 0,5; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹ a pH 6 e 8. A perda rápida e completa da viabilidade foi alcançada para ambas as espécies de cianobactérias após a exposição (CT) ao ozônio de < 0,2 mg.min.L⁻¹, embora nenhuma redução significativa no número total de células tenha sido observada. Ainda, os autores mediram os valores de COD (0,96 mg.L⁻¹ e 1,63 mg.L⁻¹) após a ozonização das células de *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flosaquae*, respectivamente. A ozonização das células aumentou a formação de TAMs principalmente para suspensões de *Anabaena flosaquae* em pH 8 (174%).

6.4.3.2 Formação de AHAs por meio da cloração de águas contendo *M. aeruginosa*

Os resultados de formação de AHAs estão apresentados na Tabela 6.18. De forma similar aos TAMs, cabe novamente ressaltar que os subprodutos MCAA, MBAA, BCAA, DBAA, BDCAA, DBCAA e TCAA não foram formados e, também, não mencionados na referida tabela.

Tabela 6.18 - Formação de AHAs após cloração de água contendo *Microcystis aeruginosa* ($1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)

Dose (mg.L ⁻¹)	Temperatura	pH	Tempo de Contato	Cloro gasoso			Hipoclorito de cálcio		
				DCAA (µg.L ⁻¹)	TCAA (µg.L ⁻¹)	AHAs ₉ (µg.L ⁻¹)	DCAA (µg.L ⁻¹)	TCAA (µg.L ⁻¹)	AHAs ₉ (µg.L ⁻¹)
2,5	25°C	6,5	30 min	1,48	2,49	3,97	<LD	<LD	<LD
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	2,53	1,47	4,00
	30°C	6,5		1,48	2,58	4,06	2,49	1,46	3,95
	30°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	25°C	6,5	24 h	2,15	2,65	4,80	<LD	<LD	<LD
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		<LD	<LD	<LD	<LD	1,64	1,64
	30°C	8,5		<LD	<LD	<LD	2,70	1,47	4,17
5,0	25°C	6,5	30 min	1,55	2,52	4,07	2,52	1,48	4,00
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	2,52	1,55	4,07
	30°C	6,5		1,61	2,53	4,14	2,48	1,76	4,24
	30°C	8,5		1,56	2,52	4,08	<LD	<LD	<LD
	25°C	6,5	24 h	<LD	<LD	<LD	2,66	1,75	4,41
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		<LD	<LD	<LD	<LD	1,76	1,76
	30°C	8,5		<LD	<LD	<LD	2,60	1,79	4,39

Legenda: **LD** – Limite de detecção.

Para os AHAs, a cloração com cloro gasoso, dose $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e 24 h, acarretou a maior concentração de AHAs dentre as análises ($4,8 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), sendo divergentes em outras condições em relação aos parâmetros analisados. Em algumas situações, sob as mesmas condições ($2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ dose cloro gasoso, 25°C , pH 6,5), os AHAs₉ ($3,97 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, soma do DCAA e TCAA) superaram os TAM_T (representado pelo TCM, $2,16 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), contradizendo alguns autores que afirmam que a cinética de reação favorece a formação de TAMs se comparada à dos AHAs. A ausência de espécies bromadas, assim como os TAMs, pode ser explicada pela provável ausência de íons brometo nas amostras.

Segundo WHO (2011), enquanto a redução do pH pode ser uma alternativa para a menor formação de TAM, aumento da formação de AHAs pôde ser observado. Por outro lado, aumentar o pH pode reduzir a formação de AHAs e aumentar a de TAMs. Stevens *et al.* (1976), em ensaios com amostras com ácidos húmicos em três valores de pH (5,0, 7,0 e 9,4), demonstraram que o parâmetro é irrelevante na formação de DCAA e TCAA, mas relevante para valores mais baixos para a formação de MCAA e DBCAA. No entanto, para os AHAs₉, nota-se correção positiva para valores mais altos de pH.

A variação temporal na formação de AHAs manifesta-se conforme espécie, sendo que o DCAA pode se degradar mais rapidamente que o TCAA em algumas situações (YANG *et al.*, 2011). O baixo potencial de formação em outros estudos é relacionado à indisponibilidade de precursores e também à degradação biológica por organismos presentes no meio, como as bactérias heterotróficas, que crescem em baixos valores de CRL na rede de distribuição (Rodriguez *et al.* 2004).

Assim como os TAMs, Huang *et al.* (2009) avaliaram a formação de AHAs considerando como precursor suspensões de *Microcystis sp.*. Durante as mesmas condições de cloração os AHAs alcançaram valores abaixo do limite de detecção. Zamyadi *et al.* (2012) também determinaram e modelaram a extensão da lise de células de *Microcystis aeruginosa* para AHAs da mesma forma que os TAMs, resultando em AHAs abaixo do limite de detecção. Liu *et al.* (2011), estudaram a contribuição de células de *Microcystis aeruginosa* também na formação de AHAs, mencionando que os resultados ainda são insuficientes para relacionar a real contribuição de células, MOI e MOE com a formação de AHAs.

Algas verdes constituíram-se as mais produtivas na formação de TAMs em comparação com diatomáceas e cianobactérias em um estudo de Nguyen *et al.*, 2005 (pH 7; 20°C ; tempo de

contato de 7 dias; dose de 5:1 (mg Cl₂:mg C) de hipoclorito de sódio). Os autores concluíram que COD liberado é um importante precursor de TAMs e AHAs, com maior tendência de produzir DCAA que TCAA. Os autores mencionam ainda que a formação de TAMs pode ser influenciada pela característica de espécie e fase de crescimento da cianobactéria, bem como as condições de cloração (pH, temperatura, tempo de contato e dose). Sobre o papel na formação de AHAs, os resultados são contraditórios e requerem novas pesquisas.

Nguyen *et al.* (2005) concluíram que COD liberado por algas também pode ser um importante precursor de AHAs, com maior tendência de produzir DCAA que TCAA. Mencionam que, como os TAMs, a formação pode ser influenciada pela característica de espécie e fase da MOA, na qual podem estar associadas também micro-organismos como cianobactéria, sob distintas condições de cloração (pH, temperatura, tempo de contato e dose). Sobre o papel na formação de AHAs, os resultados são contraditórios e requerem novas pesquisas.

Zamyadi *et al.* (2015) também avaliaram a extensão dos efeitos da pré-ozonização sobre as propriedades das células de cianobactérias para formação de AHAs associados a células *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flosaquae*. A técnica também propiciou o aumento da formação de AHAs principalmente para suspensões de *Anabaena flosaquae* em pH 8 (65%, respectivamente). O pré-tratamento de células de cianobactérias utilizando oxidantes, tais como ozônio, cloro, permanganato de potássio e ferrato de potássio, pode melhorar a remoção, mas a conseqüente liberação de material celular pode aumentar a formação de SOHs, que depende da concentração inicial de células antes da pré-ozonização, das espécies presentes e da concentração de matéria orgânica na água. Considerando o uso do ozônio para a oxidação de células deve-se pesar o benefício do controle de cianobactérias com o aumento da formação potencial de SOHs.

6.4.4 Águas contendo densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Cylindrospermopsis raciborskii*

6.4.4.1 Formação de TAMs por meio da cloração de águas contendo *C. raciborskii*

Os resultados de formação de TAMs nas águas de estudo estão expostos na Tabela 6.19. Novamente cabe ressaltar que os subprodutos BDCM, DBCM e TBM não foram formados, por isso, não foram apresentados na tabela.

Tabela 6.19 - Formação de TAMs após cloração de água contendo *Cylindrospermopsis raciborskii* ($1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio; 30 min; 24 h)

Dose (mg.L ⁻¹)	Temperatura	pH	Tempo de contato	Cloro gasoso		Hipoclorito de cálcio	
				TCM (µg.L ⁻¹)	TAM _T (µg.L ⁻¹)	TCM (µg.L ⁻¹)	TAM _T (µg.L ⁻¹)
2,5	25°C	6,5	30 min	2,10	2,10	2,16	2,16
	25°C	8,5		2,37	2,37	2,69	2,69
	30°C	6,5		2,32	2,32	2,36	2,36
	30°C	8,5		3,73	3,73	4,29	4,29
	25°C	6,5	24 h	3,44	3,44	5,36	5,36
	25°C	8,5		4,41	4,41	5,43	5,43
	30°C	6,5		20,67	20,67	27,95	27,95
	30°C	8,5		27,33	27,33	34,04	34,04
5,0	25°C	6,5	30 min	2,18	2,18	2,51	2,51
	25°C	8,5		3,74	3,74	3,23	3,23
	30°C	6,5		2,58	2,58	6,13	6,13
	30°C	8,5		8,15	8,15	14,33	14,33
	25°C	6,5	24 h	3,91	3,91	5,74	5,74
	25°C	8,5		5,96	5,96	6,14	6,14
	30°C	6,5		24,70	24,70	30,92	30,92
	30°C	8,5		27,89	27,89	38,29	38,29

A cloração de águas contendo *Cylindrospermopsis raciborskii* nas condições verificadas no Brasil, com distintos oxidantes (cloro gasoso e hipoclorito), valores de pH, tempos de contato, temperaturas e doses, induziram, assim como a *Microcystis aeruginosa*, à formação de significativas concentrações TAMs na densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹. Associando os parâmetros anteriores a elevadas doses de oxidante e maior tempo de contato, a espécie de cianobactéria apresentou com o hipoclorito de cálcio o maior valor de TCM (38,29 µg.L⁻¹) se

comparado às mesmas condições com o cloro gasoso ($27,89 \mu\text{g.L}^{-1}$). Mais uma vez, ressalta-se que não foram observadas espécies bromadas, possivelmente pela falta de íons brometos no meio de cultivo.

A literatura reporta registros de densidades da cianobactéria em diversos ambientes de água doce, tipicamente tropicais e com pH entre 8 e 8,7 (valores de pH deste estudo). Foi mostrado que, em pH maior (8,5), a formação de TAMs apresentou correlação positiva, o que estimula a pesquisa sobre a ecologia da *Cylindrospermopsis raciborskii*. Além de ser considerada potencialmente tóxica, se apresenta como uma competidora nestas condições neste valor de pH. Para WOJCIECHOWSKI (2013), a temperatura parece ser o fator que mais influencia no comportamento das populações. Tal afirmação justifica os valores utilizados neste estudo, evidenciando sua capacidade adaptativa em temperaturas acima de 25°C , frequentemente recorrentes no Brasil.

Para o tempo de contato, também foi observado correlação positiva com a formação de TCM. A necessidade do monitoramento da qualidade da água na saída da estação de tratamento e nas pontas das redes de distribuição - tempos de 30 min e 24 h, respectivamente, adotados na pesquisa - também se torna evidente em situações semelhantes às apresentadas neste estudo.

Poucos estudos envolvendo a formação de TAMs com a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* são reportados na literatura, muito provavelmente devido à dificuldade de visualização de células dentro dos filamentos. Desde modo, é então preterida em relação de aquelas com maior facilidade de contagem e padronização, como a *Microcystis aeruginosa*. Desde modo, este estudo tenta preencher esta lacuna na literatura, embora faça-se necessária melhor compreensão da influência da estrutura celular, pois esta espécie apresenta suas células em filamentos, e dos precursores liberados ao meio. Tais ações poderão contribuir para o melhor esclarecimento da influência desses parâmetros na formação não só de TAMs, mas também de outros SOH reportados na literatura.

6.4.4.2 Formação de AHAs por meio da cloração de águas contendo alta densidade *C. raciborskii*

Os resultados de formação de AHAs nas águas de estudo estão expostos na Tabela 6.20. O MCAA, MBAA, BCAA, DBAA, BDCAA, DBCAA e TCAA não foram formados durante as rotas de cloração e, também, não mencionados na referida tabela.

Tabela 6.20 – Formação de AHAs após cloração de água contendo *Cylindrospermopsis raciborskii* ($1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹; cloro gasoso e hipoclorito de cálcio)

Dose (mg.L ⁻¹)	Temperatura	pH	Tempo de contato	Cloro gasoso			Hipoclorito de cálcio		
				DCAA (µg.L ⁻¹)	TCAA (µg.L ⁻¹)	AHAs ₉ (µg.L ⁻¹)	DCAA (µg.L ⁻¹)	TCAA (µg.L ⁻¹)	AHAs ₉ (µg.L ⁻¹)
2,5	25°C	6,5	30 min	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	25°C	8,5		2,53	1,47	4,00	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		2,49	1,50	3,99	2,58	1,48	4,06
	30°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	25°C	6,5	24 h	<LD	<LD	<LD	2,65	2,16	4,81
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		<LD	1,64	1,64	<LD	<LD	<LD
	30°C	8,5		2,70	1,47	4,17	<LD	<LD	<LD
5,0	25°C	6,5	30 min	2,60	1,48	4,08	<LD	<LD	<LD
	25°C	8,5		2,52	1,55	4,07	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		2,48	1,76	4,24	2,55	1,61	4,16
	30°C	8,5		<LD	<LD	<LD	2,52	1,56	4,08
	25°C	6,5	24 h	2,66	1,75	4,41	<LD	<LD	<LD
	25°C	8,5		<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	30°C	6,5		<LD	1,76	1,76	<LD	<LD	<LD
	30°C	8,5		2,60	1,79	4,39	<LD	<LD	<LD

Legenda: **LD** – Limite de detecção.

Para os AHAs, a cloração com hipoclorito de cálcio, dose 2,5 mg.L⁻¹ e 24 h acarretou a maior concentração de AHAs dentre as análises (4,81 µg.L⁻¹). Foram divergentes os resultados dos ensaios com a *Microcystis aeruginosa* sob mesmas condições. Contudo, com o cloro gasoso, obteve-se 4,80 µg.L⁻¹ como a maior concentração, novamente sem tendência definida nos diversos parâmetros estudados.

Destaca-se a diferença significativa de espécies formadas de TAMs e AHAs, o que sugere, em algumas condições aqui apresentadas, que os precursores favorecem a formação de TAMs ante os AHAs, e vice-versa, contradizendo algumas pesquisas. Autores como Lee *et al.* (2010) afirmaram, após pesquisas sobre formação de subprodutos em águas de piscinas, que a formação de AHAs foi maior, precedido de TAMs e dos demais subprodutos. Comportamento também observado por Hang *et al.* (2015), em concentrações de diferentes tipos de SOHs em amostras de piscinas e para as condições de cloração com a outra cianobactéria deste estudo, *Microcystis aeruginosa*. Contudo, ressalta-se a significativa diferença em relação à matéria orgânica natural destes estudos com as que foram apresentadas.

Não foram observadas espécies bromadas de AHAs. Ates *et al.* (2007) verificaram o impacto da combinação de brometo e a MON em água clorada e concluíram que a adição de brometo influencia positivamente na concentração de AHAs, sendo o DCAA o principal composto formado no estudo. Da mesma maneira que a espécie *Microcystis aeruginosa*, os valores obtidos estão associados exclusivamente à cloração de águas contendo as cianobactérias e seus metabólitos, já que foram cultivadas em água ultrapura, apenas com o meio ASM-1, justificando a não formação das espécies bromadas.

Conforme OLIVEIRA (2007), por ser uma espécie tóxica produtora de hepatotoxinas (fase de crescimento, cilindrospermopsina) e neurotoxinas (lise, saxitoxinas), a consequente existência e/ou predominância de florações de cianobactérias dessa espécie pode ter relação com os resultados de formação deste subproduto, somada à dificuldade da real estimativa de células dentro dos filamentos. Torna-se, portanto, necessário uma caracterização mais aprofundada em pesquisas futuras para melhor compreensão da influência da cianobactéria nas diversas situações aqui levantadas. Dentre elas, destaca-se o papel das substâncias celulares dissolvidas, essenciais à formação de AHAs, nos diversos parâmetros (temperatura, tempo de contato, pH e diferentes tipos de oxidantes), por observar carência de estudos relacionados a tal formação.

6.5 Ensaios de adsorção por carvão ativado granular e agitação

A Tabela 6.21 apresenta os resultados dos ensaios:

Tabela 6.21 – Ensaios de adsorção por carvão ativado granular e agitação

Sistema	Característica	Amostras/Valor remanescente							Média	Remoção média (%)
		1	2	3	4	5	6	7		
Carvão Ativado	Concentração AHAs - 58 $\mu\text{g.L}^{-1}$	9,51	9,28	9,5	9,56	9,47	7,41	7,57	8,9	84,66
Carvão Ativado	Concentração AHAs - 116 $\mu\text{g.L}^{-1}$	26,19	26,54	29,22	28,06	27,18	26,87	27,88	27,42	76,36
Agitação	Concentração AHAs - 58 $\mu\text{g.L}^{-1}$	51,95	51,6	53,96	53,94	54,04	53,95	53,93	53,34	8,04
Agitação	Concentração AHAs - 116 $\mu\text{g.L}^{-1}$	104,57	102,07	108,32	108,79	108,8	98,5	99,08	104,3	10,08
Carvão Ativado	Concentração TAMs - 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$	6,7	6,61	5,05	6,7	6,61	7,12	5,05	6,26	93,74
Carvão Ativado	Concentração TAMs - 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$	26,04	22,87	28,18	29,78	31,36	32,03	31,42	28,81	80,79
Agitação	Concentração TAMs - 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$	16,77	17,47	17,1	17,34	16,29	16,7	16,97	16,95	83,05
Agitação	Concentração TAMs - 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$	62,74	73,01	56,74	54,79	51,41	52,16	55,99	58,12	61,25

O filtro de carvão ativado foi capaz de remover por adsorção TAMs e AHAs em condições satisfatórias e, como alternativa de pós-tratamento, mostrou ser eficiente para assegurar a qualidade (VMP) dos efluentes finais nos ensaios realizados. De acordo com Cunha (2010), alguns tipos de carvão ativado são escolhidos especificamente para tal aplicação, por possuírem elevada área superficial, atingindo maiores eficiências na remoção. Ressalta-se a importância da escolha adequada do tipo de carvão, pelo fato de que alguns podem apresentar baixa eficiência quando aplicados para este fim, sendo necessário estudos complementares para verificar, a longo prazo, sua real viabilidade no ponto de consumo.

O sistema também de bancada para ensaios de remoção de AHAs₅ (MCAA, MBAA, DCAA, DBAA e TCAA) por carvão ativado granular, abordados por Kim e Kang (2008), promoveu alta redução das espécies (maior que 99% nos três primeiros meses de operação do sistema).

Meyer (1994) aborda que o uso do carvão granular ativado é uma forma eficaz para a remoção da concentração de TAMs, porém a necessidade de regenerar o meio filtrante com frequência para garantir a eficiência é uma desvantagem. As informações fornecidas pelos fabricantes são de que o filtro deve ser substituído considerando o tempo de uso (6 meses), ou volume máximo que pode filtrado (3000 L), a partir do primeiro dia de uso, sugestão dada para o monitoramento dentro de domicílios.

Ressalta-se a necessidade do aperfeiçoamento dos ensaios em coluna de escala reduzida, (*rapid smallscale column tests* - RSSCT), para que se produzam a mesma curva de ruptura e os parâmetros dela advindos, obedecendo a relação entre os tempos de contato em leito vazio (*empty-bed contact time*, EBCT). Também considerado para parâmetros como taxa de aplicação superficial e caracterização do carvão ativado granular (Cunha, 2010).

Em relação aos ensaios de agitação, somente os TAMs apresentaram dados satisfatórios, já que os AHAs não apresentam características voláteis. Por apresentarem grupos funcionais reativos mais polares, força iônica e caráter hidrofóbico, estão mais que 99% dissociados em íons acetato sob condições de água potável, que reduz o caráter volátil das espécies. Pádua *et al.* (2003), utilizando um sistema de agitação (*Jar-test*) em um tempo de 15 mins de aeração, obtiveram resultados de remoção do BDCM e do DBCM de 100% e o TCM de 23%. O teste mostrou foi possível remover cerca de 63,5% dos TAMs, reafirmado a características voláteis dos TAMs.

7 CONCLUSÕES

A partir da revisão da literatura e dos resultados experimentais foi possível concluir que:

- A grande variação entre VMP, nos padrões de potabilidade em diferentes países, pode ser explicada pelo desconhecimento real dos efeitos adversos dos compostos na saúde humana. Também, por diferentes maneiras de calculá-los, baseando em parâmetros como peso corpóreo, consumo de água, diferentes estudos toxicológicos, grau de conservadorismo, etc;
- A validação dos TAMs por ELL–CG–EM foi possível, com excelentes resultados advindos de adaptações da USEPA e APHA. A extração ELL mostrou-se eficaz e, junto ao CG-EM, pôde-se dispensar etapas de extração mais onerosas, como o HS e P&T para análises de TAMs;
- Em relação aos AHAs, a configuração também se mostrou satisfatória, com menor interferência de outras respostas no MCAA e nas espécies bromadas BDCAA, DBCAA e TBAA, devido ao uso do H₂SO₄ destilado, que influenciou positivamente a etapa de metilação ácida;
- O detector EM pode ser uma alternativa aos tradicionais DCE recomendados pela USEPA para a quantificação de TAMs e AHAs, devido à alta resolução, à sensibilidade e à precisão nas medidas de massas;
- Ótimas respostas nos principais parâmetros de validação (curva de calibração, precisão, exatidão, recuperação, seletividade e robustez), viabilizaram a quantificação de TAMs e AHAs pela instrumentação apresentada nesse trabalho;
- Os ensaios de demanda de cloro para ambos oxidantes, hipoclorito de cálcio e cloro gasoso, para águas contendo *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* demonstraram altos valores de consumo e baixos índices de CRL, justificado pela reação de células e, possivelmente, MOI e MOE;
- A cloração de água contendo as espécies na densidade $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ propiciou a formação somente de TCM para os TAMs, mesmo cloradas em situações distintas de pH, temperatura e tempo de contato. Levando - se em consideração que os valores e parâmetros escolhidos se basearam em condições do Brasil, destaca-se altas concentrações de TCM para os maiores valores dos parâmetros associados a maior

dose para ambos os oxidantes. Para os AHAs, baixas concentrações de DCAA e TCAA foram observadas na densidade em relação ao TCM, sem tendência definida;

- Em contrapartida, na densidade $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ para ambas espécies de cianobactérias, apenas o TCM, DCAA e TCAA foram detectados, porém não quantificados. Tal pode ser justificado pelas baixas concentrações dos precursores (células e prováveis substâncias dissolvidas liberadas);
- Ressalta-se que, a ausência de íons brometo no meio aquoso contribuiu para a não formação espécies bromadas de TAMs e AHAs;
- Do ponto de saúde pública, a importância da proteção de fontes de água para abastecimento público é notória, pela relação de altas densidades relacionadas com florações de espécies de cianobactérias e, conseqüentemente, concentrações de subprodutos. Assim, mecanismos físicos em ETAs que visam justamente a remoção de células intactas, como apresentados na revisão da literatura, podem ser alternativas, de modo de evitar a formação de consideráveis concentrações de espécies de TAMs e AHAs, como nos ensaios com maior densidade de células;
- Apesar de ensaios incipientes, a adsorção por filtro de carvão ativado domiciliar mostrou-se ser uma alternativa na remoção de altas concentrações de TAMs e AHAs em situações hipotéticas no ponto de consumo. Em contrapartida, a agitação não se mostrou eficiente para AHAs, devido à baixa volatilidade dos mesmos.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Aprimoramento das validações mencionadas no trabalho, como o estudo de todos os parâmetros analíticos abordados com volumes menores de amostra, diferentes colunas cromatográficas e, também, instrumentação cromatográfica;
- Estudos em escala de bancada, sobre a caracterização da MOI e MOE, para a melhor compreensão da contribuição de formação destas em relação às células das espécies abordadas neste trabalho durante a cloração, poderão resolver a lacuna sobre a discussão aqui levantada;
- A continuidade em avaliar estratégias eficazes e de baixo custo como as que foram sinteticamente abordadas neste trabalho para controle dos TAMs e AHAs é de grande relevância no controle dos subprodutos para atendimento da atual Portaria 2914.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, S. A. L.; FURLAN, C.H.; BONGIOVANI, M.C.; NISHI L.; BERGAMASCO, R. Avaliação do processo de microfiltração quanto à remoção de matéria orgânica natural (mon) com a finalidade de minimizar a formação dos Trihalometanos. In: *X Congresso Brasileiro de Engenharia Química Iniciação Científica*. Universidade Severino Sombra. Vassouras/RS, 2014

ACERO, J. L.; RODRIGUEZ, E.; MERILUOTO, J. *Kinetics of reactions between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins*. *Water Research*, v. 39, p. 1628-1638, 2005.

ADIV, S.; AHRONOV-NADBORNY, R.; CARMELI, S.; New Aeruginazoles, a Group of Thiazole-Containing Cyclic Peptides From *Microcystis aeruginosa* Blooms. *Tetrahedron*, v. 68, n.5, p. 1376-1383, 2012.

AGRIZZI, A. D. *Avaliação da formação de trihalometanos considerando o uso de cloro e permanganato de potássio como pré-oxidantes em águas de abastecimento*. 2011. 139f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2011.

ALLARD S, CHARROIS JW, JOLL CA, HEITZ A. Simultaneous analysis of 10 trihalomethanes at nanogram per liter levels in water using solid-phase microextraction and gas chromatography mass-spectrometry. *Journal of Chromatography A*. v(18);1238, p. 15-21, 2012.

ALMEIDA, L. B. *Variação espacial longitudinal da comunidade fitoplânctônica, estado trófico e variáveis ambientais de duas lagoas costeiras do município da Serra/ES: lagoa Juara e lagoa Jacuném*. 2015. 146f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. 2015.

ALMEIDA, C. R. *Composição do fitoplâncton e cianotoxinas em um reservatório utilizado para o abastecimento público: o efeito do tratamento de água convencional*. 2014. 107f. Dissertação (Mestrado em biologia de ambientes aquáticos continentais), Universidade Federal do Rio Grande; RGS, 2014.

ALVARENGA, J. A. *Avaliação da formação de subprodutos da cloração em água para consumo humano*. 2010. 120f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recurso Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2010.

AMARAL, P. A. P. do. *Utilização da flotação por ar dissolvido associada a microfiltração para remoção de cianobactérias em águas de abastecimento*. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/94729/294659.pdf?sequence=1>> Acesso em 14 setembro de 2015.

ANÁGUA T. A. S. *Trihalometanos como Subprodutos da Cloração*. 2011. 65f. Dissertação (Mestrado em Química Industrial), Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal. 2011.

ANDRADE, C. M.; GOMES, C. T. da S.; ARAGÃO, N. K. C. V.; SILVA, E. M.; da SILVA, G. A.; de LIRA, T. *Estrutura da comunidade fitoplanctônica com ênfase em Cyanobacteria no reservatório de Tapacurá-PE*. Revista Instituto Adolfo Lutz, v. 68(1), p. 109-17, 2008.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RE No. 899: *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Brasil, 2016. Disponível em <http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf> Acesso em 14 setembro de 2017.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd edition, p. 1496, 2012.

ARAGÃO, N. K. C. V.; GOMES, C. T. S.; LIRA, G. A. S. T. Estudo da comunidade fitoplanctônica no reservatório do Carpina PE, com ênfase em Cyanobacteria; *Revista do Instituto Adolfo Lutz* v.66(3), p.240-248. ISSN 0073-9855, 2007.

ARAGÃO, N. K. C. V. *Taxonomia, distribuição e quantificação de populações de cianobactérias em reservatórios do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil)*. 2011. 159f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, 2011.

ARRUDA, R. D., SANTOS, M. A., VIPPER, H. P. Avaliação da qualidade do reservatório de Taiaçubeba, Mogi das Cruzes, sob o aspecto da saúde entre 2009 e 2013. *Revista UnG - Geociências*, v. 13, p. 38-40, 2014.

ATES, N.; YETIS; KITIS, M. Effects of Bromide Ion and Natural Organic Matter Fractions on the Formation and Speciation of Chlorination By-Products. *Journal of Environmental Engineering, Turquia*, v. 133, n. 10, p. 947-954, 2007.

AZEVEDO, A. M. F. O.; CARMICHAEL, W.W.; JOCHIMSEN, E.M.; RINEHART, K.L.; LAU, S.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*, v(27); 181-182:441-6. 2002.

BARBOSA, C. N. *Dinâmica temporal das cianobactérias em um reservatório urbano hipereutrófico: uma abordagem morfológica e molecular*. 2015. 100f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre), Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2015.

BARROS, M. U. G. *Prospecção de *Cylindrospermopsis raciborskii* em reservatórios no Ceará e efeitos da depleção de nutrientes na sua concentração celular*. 2013. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil; Concentração: Saneamento Ambiental), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

BASU, M.; GUPTA, S. K.; SINGH, G.; MUKHOPADHYAY, U. *Multi-route risk assessment from trihalomethanes in drinking water supplies*. *Environ Monit Assess.* v. 178, p. 121-134, 2011.

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. 288-296, 2008.

BELL-AJY, K.; ABBASZADEGAN, M.; IBRAHIM, E.; VERGES, D.; LECHEVALLIER, M. *Conventional and optimized coagulation for MON removal*. *Journal American Water Works Association*, v. 92(10), p. 44-58, 1992.

BERTHOLINI, T. M; BELLO, A. X. S. *Desinfecção de água para consumo humano através do método SODIS: estudo de caso em localidades rural do município de Cuiabá*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 2, 2011, Londrina: IBEAS, 2011

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; MOLICA, R. *Cianobactéria invasora: aspectos moleculares e toxicológicos de *Cylindrospermopsis raciborskii* no Brasil*. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 30, p. 82-90. 2003.

BODZEK, M., WANIEK, A., KONIECZNY, K. *Pressure driven membrane techniques in the treatment of water containing THMs*. *Desalination*, v. 147, p. 101-107. 2002.

BOND, T., HENRIET, O., GOSLAN, E.H., PARSONS, S.A., JEFFERSON, B., *Disinfection byproduct formation and fractionation behavior of natural organic matter surrogates*. *Environmental Science and Technology*, v.43(15), p. 5982-5989, 2009.

BOUHADDADA, R.; NÉLIEU, S.; NASRI, H.; DELARUE, G.; BOUAÏCHA, N.; *High Diversity of Microcystins in a *Microcystis* Bloom From an Algerian Lake*. *Environmental Pollution*, v. 216(91), p. 836-844, 2016.

BUCH, B. *Ecofisiologia de morfotipos reto e espiralado de *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) em condições controladas*. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2009.

BLÁHOVÁ, L.; ADAMOVSKÝ, O.; KUBALA, L.; SINDLEROVÁ, L. S.; ZOUNKOVÁ, R.; BLÁHA, L.; The Isolation and Characterization of Lipopolysaccharides From *Microcystis aeruginosa*, a Proeminent Toxic Water Bloom Forming Cyanobacteria. *Toxicon*, v. 76(33), p. 187-196, 2013.

BRAGA, F.M.G; ARAÚJO, J.C.; SALES, M.V.; NASCIMENTO, R.F.; PÁDUA, V.L. Diagnóstico de ocorrência de trihalometanos na rede de abastecimento de água de Fortaleza-CE, Brasil, 2000.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 16(4), p. 295-302, 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357 de 03/2005. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

BRASIL. Portaria Ministério da Saúde no 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União.

BRIAND, J. F., LÉBOULANGER, C., HUMBERT, J. F., BERNARD, C. DUFOUR, P. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance or global warming, *Journal of Phycology* v.40(2), p. 231–238. 2004.

BUKAVECKAS, P.A.; MCGAHAS D.; SHOSTELL, J.M.; SCHULTZ, R.; JACK, J.D. Internal and external sources of THM precursors in a Midwestern reservoir. *Journal American Water Works Association*, v.99(5), p.127-136, 2007.

BUTIÃO, D. F. *Formação de subprodutos orgânicos halogenados da desinfecção em águas de piscinas*. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental). Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, 2011.

BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita. São Paulo. *Revista Ambiente & Água*, p. 186-205. 2013.

CANADÁ HEALTH. *Guidelines for canadian drinking water quality summary table. 1 ed.* OTTAWA: *Water and Air Quality Bureau*, 20p. 2014. Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/index-eng.php> Acesso em 26 de dezembro de 2016.

CALADO, S. L. M. Monitoramento da qualidade da água do reservatório Alagados, Sul do Brasil, com ênfase em cianotoxinas. 2015. 85f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

CARDADOR, M. J. SALGUERO, J. F. GALLEGO, M. Simultaneous quantification of trihalomethanes and haloacetic acids in cheese by on-line static headspace gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v.1408, p. 22-29, 2015.

CARERI, M.; MANGIA, A. Trends in analytical atomic and molecular mass spectrometry in biology and the life sciences. *Anal Bioanal Chem*, v.3(99), p. 2585–2595, 2011.

CESCO, D. D. *Avaliação em escala real da formação de THMs em águas de abastecimento*. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2007.

CETESB. Manual de Cianobactérias Platônicas: Legislação, Orientações para o Monitoramento e Aspectos Ambientais. São Paulo: CETESB, 2013.

CETESB. Atlas de cianobactérias da bacia do Alto Tietê [recurso eletrônico. LAMPARELLI, M. C.; TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L. PIRES, D. A.; LERCHE, L. H. M.; CARVALHO, M. do C. ROSAL, C. São Paulo: CETESB, 2014.

CODD, G. A.; AZEVEDO, S. M. F. O.; BAGCHI, S. N.; BURCH, M. D.; CARMICHAEL, W. W.; HARDING, K. K; UTKLEN, H.C. Cyanobacterial Bloom and Toxin Risk Management: Initial Situation Assessment and Recommendations. INTERNATIONAL HYDROLOGICAL PROGRAMME / IHP - VI. *Technical Documents in Hydrology*. n. 76. UNESCO. Paris, 2005.

CORAL, L. A.; ZAMYADI, A.; BARBEAU, B.; BASSETI, F. J.; LAPOLLI, F. R.; PREVÓST, M. Oxidation of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae* by ozone: Impacts on cell integrity and chlorination by-product formation. *Water Research*, v. 47, p. 2983-2994, 2013.

CORAL, L.A. *Remoção de cianobactérias e cianotoxinas em águas de abastecimento pela associação de flotação por ar dissolvido e nanofiltração*. 2009. 198f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

COSTA, N. B. da. *Dinâmica temporal das cianobactérias em um reservatório urbano hipereutrófico: uma abordagem morfológica e molecular*. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

COSTET, N.; VILLANUEVA, C. M.; JAKKOLA, J. J. K.; KOGEVENAS, M.; CANTOR, K. P.; KING, W. D.; LYNCH, C. F.; NIEUWENHUIJSEN, M. J.; CORDIER, S. Water disinfection by-products and bladder cancer: is there a European specificity? A pooled and meta-analysis of European case-control studies. *Occup Environ Med*, v. 68, p. 379-385, 2011.

CULEA, M., COZAR, O., RISTOIU, D. Methods validation for the determination of trihalomethanes in drinking water. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 41(12), p. 1594-1597, 2006.

CUNHA, G. C. *Avaliação da potencialidade da humina na adsorção/dessorção dos Trihalometanos*. 2010. 120f. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Sergipe, 2010.

CHOW, C.W.K.; DRIKAS, M.; HOUSE, J.; BURCH, M.D.E.; VELZEBOER, R.M.A.; The Impact of Conventional Water Treatment Process on Cells of the Cyanobacterium *Microcystis Aeruginosa* (em inglês). *Water Research*, v. 33(15), p. 3253-3262, 1999.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresour. technol.*, v. 97, p. 1061-1085, 2006.

CRUZ, F. S., OLIVEIRA, A. C., GÔMARA, G. A. Monitoramento da comunidade de cianobactérias no Complexo Lagunar de Jacarepaguá no período de 2011 a 2012. *Revista Eletrônica Novo Enfoque*, v. 16(16), p. 81-94. 2013.

CYBIS, L. F. *et al. Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em mananciais de abastecimento público: caso da represa Lomba do Sabão e Lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul*. Rio de Janeiro: ABES, p. 16-24, 2006.

DANTAS, A. B.; PASCHOALATO, C. F. P. R. MONTANHA, W. A. A; TRIMAILOVAS, M. R. Influência da pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro de água e na formação de subprodutos. *Revista DAE*, v. 178. 2008

DESONIE, D.; *Hydrosphere: Freshwater Systems and Pollution*. Infobase Publishing, Our Fragile Planet. 2007. 209 p.

DEBERDT, G. L. B. *Estudo de cianobactérias em reservatório com elevado grau de trofia (Reservatório de Salto Grande - Americana - SP)*. 2002. 207f. Doutorado (Ciências da Engenharia Ambiental). Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, SP, 2002.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.D. *Métodos e técnicas de tratamento de água*. 2.ed. São Carlos: RiMa, v.2, 2005, 729 p.

DI BERNARDO, L.; PAZ, I. P. S. *Seleção de Tecnologias de Tratamento de Água*. v.2. 2008. 682 p.

DIRETIVA 98/83/CE del consejo de 3 de noviembre de 1998 relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, Diario Oficial de las Comunidades Europeas.

DCE. Department of Environment and Conservation. Disponível em <<http://www.env.gov.nl.ca/env/waterres/quality/drinkingwater/haa.html>> Acesso em 26 de dezembro de 2016.

D'ORS, A.; BARTOLOMÉ, M. C.; SÁNCHEZ-FORTÚN, S.; Toxic Risk Associated with Sporadic Occurrences of *Microcystis aeruginosa* Blooms From Tidal Rivers in Marine and Estuarine Ecosystems and its Impact on *Artemia franciscana* Nauplii Populations. *Chemosphere*, v. 90(7), p. 2187-2192, 2013.

EL-ATY, A. M. A.; IBRAHIM, M. B. M.; EL-DIB, A. A.; RADWANadwan, E. K. Influence of chlorine on algae as precursors for trihalomethane and haloacetic acid production. *World Applied Sciences Journal*. Cairo, Egypt, p. 1215-1220, 2009.

FANG, J; YANG, X; MA, J; SHANG, C; ZHAO, Q. Characterization of algal organic matter and formation of DBPs from chlor (am) ination. *Water Research*, v. 44, p. 5897-5906, 2010a.

FANG, J; MA, J; YANG, X; SHANG, C. Formation of carbonaceous and nitrogenous disinfection by-products from the chlorination of *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, v. 44, p. 1934-1940, 2010b.

FARREN, E. A. *Reducing trihalomethane concentrations by using chloramines as a disinfectant*. 2003. 79 f. Dissertação de Mestrado. Worcester Polytechnic Institute, 2003. Disponível em <<https://web.wpi.edu/Pubs/ETD/Available/etd-0429103-095058/unrestricted/Farren.pdf>> Acesso em 14 abril de 2016

FASTNER, J., HEINZE, R., HUMPAGE, A. R., MISCHKE, U., EAGLESHAM, G. K.; CHORUS, I. Cylindrospermopsin occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon*, v. 42, p. 313–321. 2003.

FERRÃO FILHO A.S.; SOARES M. C.; ROCHA, M. I. A.; MAGALHÃES, V. F. & AZEVEDO, S. M. F. O. Florações de cianobactérias tóxicas no Reservatório do Funil:

dinâmica sazonal e consequências para o zooplâncton. *Oecologia Brasiliensis*, v. 13, p. 346-365, 2009.

FERRAZ, H. D. A. *Associação da ocorrência de cianobactérias às variações de parâmetros de qualidade da água em quatro bacias hidrográficas de Minas Gerais*. 81f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente, Saneamento e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2012.

FERREIRA FILHO, S.S., MENDES, R.L., CIPRIANI, J.H., FERNANDEZ, A.N. *Avaliação da aplicabilidade do permanganato de potássio como agente pré-oxidante na estação de tratamento de água do Alto do Boa Vista*. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Anais: Campo Grande, 2005

FERREIRA FILHO, S. S. F.; SAKAGUTI, M. Comportamento cinético do cloro livre em meio aquoso e formação de subprodutos da desinfecção. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, São Paulo, v. 13(2), p. 198-206, 2008.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano*. – Brasília: Ministério da Saúde: Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 56 p., 2003.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Potenciais fatores de risco à saúde decorrentes da presença de subprodutos de cloração na água utilizada para consumo humano*. Brasília: Ministério da Saúde. 126 p., 2007.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Manual de Cloração de Água em Pequenas Comunidades Utilizando o Clorador Simplificado Desenvolvido pela Funasa*. Brasília: Ministério da Saúde. 45 p., 2014.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Cianobactérias/cianotoxinas: procedimentos de coleta, preservação e análise / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador*. – Brasília: Ministério da Saúde, 106 p., 2015.

FLORENTIN, A.; HAUTEMANIÈRE, A.; HARTEMANN, P. Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 214, p. 461-469, 2011.

FRAIETTA, F. D.; JARDIM, F. A.; MOREIRA, A. A. *Ocorrência de floração de *Cylindrospermopsis raciborskii* na captação de água da cidade de Guaranésia*. In: 23º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Anais: Campo Grande, 2005.

FREITAS, T. C. Análise Qualitativa e Toxicológica de uma Floração de Cianobactérias na Lagoa do Gambá em Ouro Preto, MG, em uma síntese da Ocorrência de Floração de Cianobactérias no Brasil. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 17(3), jul/set 2012.

GAN, W.; GUO, W.; MO, J.; HE, J.; LIU, Y.; LIANG, Y.; YANG, X. The occurrence of disinfection by-products in municipal drinking water in China's Pearl River Delta and a multipathway cancer risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 447, p. 108-115, 2013.

GOMES, A. M. A.; SAMPAIO, P. L.; FERRÃO FILHO, A. S.; MAGALHÃES, V. F.; MARINHO, M. M.; OLIVEIRA, A. C. P. de; SANTOS, V. B. dos; DOMINGOS, P.; OLIVEIRA E AZEVEDO, S. M. F. de. Florações de cianobactérias tóxicas em uma Lagoa Costeira hipereutrófica do Rio de Janeiro/RJ (Brasil) e suas consequências para a saúde humana. *Oecologia Australis*. v. 13(2), p. 329-345, 2009.

GRAHAM, J. L., DUBROVSKY N. M., EBERTS, S. M. *Cyanobacterial harmful algal blooms and U.S. Geological Survey science capabilities*: U.S. Geological Survey Open-File Report 1174, 12 p. 2016.

GRELLIER, J. RUSHTON, L. BRIGGS, D.J. NIEUWENHUIJSEN, M.J. Assessing the human health impacts of exposure to disinfection by-products – a critical review of concepts and methods. *Environment International*. v. 78, p. 61–81, 2015.

HEALTH CANADA. *Guidelines for canadian drinking water quality summary table*. 1 ed. OTTAWA: Water and Air Quality Bureau, 2014. 20 p. Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/index-eng.php> Acesso em 26 de dezembro de 2016.

HESPANHOL, I. Remoção de compostos orgânicos em águas de consumo humano. *Revista DAE*, São Paulo, v. 40, p. 34-44, 1980.

HESPANHOL, I.; AZEVEDO NETO, J. M.; BOTELHO, M.H.C. Usos do cloro na engenharia sanitária e ambiental; novas tecnologias de aplicação e quantificação dos impactos associados. *Revista DAE*, v. 42, p. 61-71, 1982.

HONG, H. C.; MAZUMDER, A.; WONG, M. H.; LIANG, Y. Yield of trihalomethanes and haloacetic acids upon chlorinating algal cells, and its prediction via algal cellular biochemical composition. *Water Research*, v. 42, p. 4941-4948, 2008.

HONG, Y.; SONG, H.; KARANFIL, T. Formation of haloacetic acids from dissolved organic matter fractions during chloramination. *Water Research*. Estados Unidos, v. 47, p.1147-1155, 2013.

HO, J. C.; MICHALAK, A. M. Challenges in tracking harmful algal blooms: A synthesis of evidence from Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research*, v. 41, p. 317-325, 2015.

HUA, G.; RECKHOW, D.A. DBP formation during chlorination and chloramination: Effect of reaction time, pH, dosage, and temperature. *Journal American Water Works Association*, v.100. n.8, p.82, 2008.

HUA, G.; GRAHAM, N, TEMPLETON, M.R.; ZHANG, Y.; COLLINS, C.; NIEUWENHUIJSEN, M. A comparison of the role of two blue-green algae in THM and HAA formation. *Water Research*. p. 3009-3018. 2009.

HUANG, J., GRAHAM, N., TEMPLETON, M.R., ZHANG, Y., COLLINS, C., NIEUWENHUIJSEN, M. A comparison of the role of two blue-green algae in THM and HAA formation. *Water Research* 43(12), p. 3009-3018, 2009.

HUREIKI, L., CROUE, J. P., LEGUBE B. Chlorination studies of free and combined aminoacids. *Water Research* 28(12), 1994.

HUSSEIN, M. A; EL- SEHEIMY, A. E; EL HALOTY, M. M; MAKSOUD, S. A; KAMEL, W. M; MOHAMED, Y. H; IBRAHIM, A. M; IBRAHIM, N. E. Development of New Method to Minimize Trihalomethanes after Investigation Relation of the Individual By-products to the Total Organic Halogen. *Journal of Pharma Research & Reviews*. v. 2(3), p. 58-66. 2012.

HSU, C. H.; JENG, W. L.; CHANG, R. M.; CHIEN, L. C.; HAN, B. C. Estimation of Potential Lifetime Cancer Risks for Trihalomethanes from Consuming Chlorinated Drinking Water in Taiwan1. *Environmental Research Section*, v. 85, p. 77-82, 2001.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. 1999a.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC. Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances. 1999b.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC. Some chemicals presente in industrial and consumer products, food and drinking-water. 2013.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC. Trichloroethylene, tetrachloroethylene, and some other chlorinated agents. 2014.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC. Overall evaluations of carcinogenicity to humans –List of all agents, mixtures and exposures evaluated to date. WHO: 2009. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr>>. Acesso em 20 de novembro de 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO) - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre validação de métodos analíticos: DOQ-CGCRE-008. Brasil, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos: Documento de caráter orientativo (DOQ-CGCRE-008). Revisão nº 5. Agosto de 2016. 31p.

ISAACS, J. D.; STRANGMAN, W. K.; BARBERA, A. E.; MALLIN, M. A.; MCLVER, M. R.; WRIGHT, J. L. C.; Microcystins and Two New Micropeptin Cyanopeptides Produced by Unprecedented *Microcystis aeruginosa* Blooms in North Carolina's Cape Fear River. *Harmful Algae*, v. 31(10), p. 82-86, 2014.

ISVÁNOVICS, V.; SHAFIK, H. M.; PRÉSING, M.; JUHOS, S. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshwater Biology*, v.43(2), p. 257 - 275. 2000.

JACINAVIUS, F. R.; JÚNIOR. W, A, G.; AZEVEDO, M, T, P.; SANT'ANNA, C, L. Manual para Cultivo de Cianobactérias. 2014. Acesso em 9 de setembro de 2015.

JARDIM, F. A.; MACHADO, J. N. A.; SCHEMBRI, M. C. A. C.; AZEVEDO, S. M. F. O.; VON SPERLING, E. *A experiência da COPASA no monitoramento, detecção e adoção de medidas mitigadoras para as cianobactérias tóxicas em estações de tratamento de água – Minas Gerais – Brasil*. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, RS: 2000.

JARDIM, F. A. ; GALLINARI, P. C. ; Emídio, P. A. ; Ladeia, M. M. ; TAIER, M. T. A. . *A importância do monitoramento da qualidade dos efluentes - estudo de caso: Alterações hidráulicas como forma de reduzir a ocorrência de cianobactérias tóxicas no efluente final da ETE Porteirinha - MG.*. In: 27º. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Goiânia. ABES, 2013. v. unico, p. 1-168, 2013.

JAPAN WATER WORKS ASSOCIATION. Japan Water Supply. JWWA, 2009. Disponível em <http://www.jwwa.or.jp/english/en_04_01.html > Acesso em 14 de setembro de 2015

JUDD, S. J.; BLACK, S. H. Disinfection by-product formation in swimming pool waters: a simple mass balance. *Water Research*, v. 34, n. 5, p. 1611-1619, 2000.

KAWAHIGASHI, F. *Aplicabilidade do pós-tratamento de lixiviado de aterro sanitário por adsorção em carvão ativado granular e avaliação ecotoxicológico*. 2012. 155f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

KIM, H.C.; YU, M. J. Characterization of natural organic matter in conventional water treatment processes for selection of treatment processes focused on DBPs control. *Water Research*, v.39, n. 19, p. 4779-4789, 2005.

KINOSHITA, K.; *Efeito da Pré-Cloração Sobre a Integridade Celular e Remoção de Toxinas de Microcystis Aeruginosa*. 2015. 110f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

KITIS, M.; KILDUFF, J.E.; KARANFIL, T. Isolation of dissolved organic matter (DOM) from surface waters using reverse osmosis and its impact on the reactivity of DOM to formation and speciation of disinfection by-products. *Water Research*, v. 35(9), p. 2225-2234, 2001.

KOMÁREK, J.; HAUER, T. CyanoDB.cz - On-line database of cyanobacterial genera.2004. Disponível em: <<http://www.cyanodb.cz>> Acesso em 5 de julho de 2014.

KOMULAINEN, H. Experimental cancer studies of chlorinated by-products. *Toxicology*, v.198(1-3), p. 39-248, 2004.

KURODA, E. K. *Remoção de células e subprodutos de Microcystis spp. Por dupla filtração, oxidação e adsorção*. 2006. 233f. Tese. (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São. Carlos, SP. 2006

KRASNER, S. W. The formation and control of emerging disinfection by-products of health concern. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, v.367(1904), p. 4077-4095, 2009.

KRASNER, S. W., WRIGHT, J. M. The effect of boiling water on disinfection by-product exposure. *Water Research*, vol. 39(n. 5), p. 855–864, 2005.

LARA, D. D. *Utilização da radiação ultravioleta como fonte alternativa para desinfecção de piscinas de hidroterapia em ambiente fechado (in door)*. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental), Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP, Ribeirão Preto, 2007.

LATIF, N., 1991. *Trihalomethane compounds in the drinking water of Kuwait: a survey from source to consumer*. Tese. (Doutorado em Philosophy), Brunel University. Disponível em <<http://bura.brunel.ac.uk/handle/2438/4973>> Acesso em 12 de janeiro de 2017.

LEÃO, V. G. *Água tratada: formação de trihalometanos pelo uso do cloro e os riscos potenciais à saúde pública em cidades da mesorregião do leste rondoniense*. 2008. 126f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008

LEE, J.; JUN, M. J.; LEE, M.H.; LEE, M.H.; EOM, S.W.; ZOH, K. D. Production of various disinfection byproducts in indoor swimming pool water treated with different disinfection methods. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2010.

LEE, J.; KIM, E.; ROH, B.; EOM, S.; ZOH, K. Occurrence of disinfection by-products in tap water distribution systems and their associated health risk. *Environ Monit Assess*, v. 185, p. 7675-7691, 2013.

LEGAY, C.; RODRIGUEZ, M. J.; SERÓDES, J. B.; LEVALLOIS, P. Estimation of chlorination by-products presence in drinking water in epidemiological studies on adverse reproductive outcomes: A review. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 456-472, 2010.

LEITE, R. W. *Validação de um método de extração gás-líquido "headspace" acoplado a um CG-EM para determinação de THM em água potável da região de Maringá*. 2009. 96f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

LEHMAN, P. W.; KUROBE, T.; LESMEISTER, S.; BAXA, D.; TUNG, A.; TEH, S. J.; Impacts of the 2014 Severe Drought on the *Microcystis* Bloom in San Francisco Estuary (em inglês). *Harmful Algae*, v. 63(12), p. 94-108, 2017.

LI, B.; LIU, R.; LIU, H.; GU J.; QU J. The formation and distribution of haloacetic acids 9 in copper pipe during chlorination. *Journal of Hazardous Materials*, Beijing, v. 152, p. 250-258, 2008.

LIBÂNIO, M. *Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água*. v. 1. 3ª Edição. Campinas: Editora Átomo, v. 3, 2010, 444 p.

LIMA, G. M. *Desenvolvimento de correlação da formação de ácidos haloacéticos em água contendo substância húmica oxidada com cloro*. 2014. 109f. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnologias da Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2014.

LIMA, P. F. *Índices de estado trófico, eutrofização e dominância de cianobactérias em açude do semiárido cearense durante forte déficit hídrico*. 2016. 211 f. Dissertação (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza(b).

LIRA, G. *Distribuição vertical e sazonal da comunidade fitoplanctônica em dois reservatórios eutróficos do Estado de Pernambuco*. 2009. 126f. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009.

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).

LIU, G.; FAN, C.; ZHONG, J.; ZHANG, L.; DING, S.; YAN, S.; HAN, S.; *Using Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) Modified Clays to Clean the Microcystis Aeruginosa Blooms in Lake Taihu, China*. *Harmful Algae*, v. 9(4), p. 413-418, 2010.

MA, M.; LIU, R.; LIU, H.; QU, J. *Chlorination of Microcystis aeruginosa suspension: Cell lysis, toxin release and degradation*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 217(218), p. 279 – 285, 2012(a).

MA, M.; LIU, R.; LIU, H.; QU, J.; JEFFERSON, W. *Effects and mechanisms of pre-chlorination on Microcystis aeruginosa removal by alum coagulation: Significance of the released intracellular organic matter*. *Separation and Purification Technology*, v. 86, p. 19-25, 2012(b).

MACÊDO, A. *Contagem de células de cianobactérias: Um Levantamento dos Procedimentos Utilizados pelas em Empresas de Saneamento do Brasil*. 2006. 57f. Trabalho final de especialização (Especialista em Tecnologias Ambientais) Faculdade de Tecnologia de São Paulo, São Paulo, 2006.

MACÊDO, J.A.B.; ANDRADE, N.J.; CHAVES, J.B.P.; ARAÚJO, J.M.A.; SILVA, M.T.C.; JORDÃO, C.P. *Formação de trihalometanos em soluções sanificantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias de alimentação*. *SANARE – Revista Técnica da Sanepar*, v. 17(17), p. 31-48, 2002.

MACHADO, B. C; MAURICIO, L. S. *Remoção de cianobactérias utilizando dupla filtração ascendente*. *Revista Dae*, nº: 190, 2012.

MARHABA, T.F.; VAN, D. The variation of mass and disinfection by -product formation potential of dissolved organic matter fractions along a conventional surface water treatment plant. *Journal of Hazardous Materials*, p.133-147, 2000.

MARHABA, T.F.; KANOKKANTAPONG, V.; PAVASANT, P.; PANYAPINYOPHOL, B. Characterization of haloacetic acid precursors in source water. *Journal of Environmental Management* v.80(3): p.214-221. 2006.

MATTHIENSEN, A. YUNES, J. S. CODD, G. A. Ocorrência, Distribuição e Toxicidade de cianobactérias no estuário da Lagoa dos Patos, RS. *Revista Brasileira de Biologia.*, v. 59(3), p. 361-376, 1999.

MELCHER, P. S. *Estudos morfológicos e de cianobactérias potencialmente tóxicas dos gêneros *Cylindrospermopsis*, *aphanizomenon* e *raphidiopsis* (Nostocales)*. 204f. Tese (Biodiversidade Vegetal E Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, 2007.

MEYER, S.T. O Uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. *Caderno de Saúde Pública*, v. 10(1), p. 99-110, 1994.

MOHAMED, A.E.; ALI, R.K. THMs formation during chlorination of raw Nile river water. *Water Research*, v. 29(1), p. 375-378, 1995.

MOLNAR, J.; AGBABA, J.; DALMACIJA, B.; RONČEVIĆ, S.; PRICA, M.; TUBIĆ, A. Influence of pH and ozone dose on the content and structure of haloacetic acid precursors in groundwater. In: *INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMISTRY AND THE ENVIRONMENT IN ZURICH, 2011*, Zurique. Environmental Science and Pollution Research. Estados Unidos: Springer-verlag, 2012.

MORDADO, R. I.; SENS, M. L.; FILHO, L. C. M. Pré-tratamento com cloro e ozônio para remoção de cianobactérias. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 11, n. 4, p. 337-342, 2006.

MULLER, C. C., CYBIS, L. F.; CYBIS, L. F. Monitoramento do Fitoplâncton para a Qualidade da Água de Abastecimento Público — Estudo de Caso de Mananciais do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 17(2), p. 203-211, 2012.

MUR, L. R., O. M.; SKULBERG, H. U. Cyanobacterial in the environment. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - *Toxic Cyanobacteria in Water: a guideline to public health significance, monitoring and management*. *World Health Organization, London and New York*, p. 15-40, 1999.

NGUYEN, M.L., Westerhoff, P., Baker, L., Hu, Q., Esparza-Soto, M., Sommerfeld, M. Characteristics and reactivity of alga e produced dissolved organic carbon. *Journal of Environmental Engineering* v.131(11), p. 1574-1582. 2005.

NIKOLAOU, A. D. LEKKAS, T. D. GOLFINOPOULOS, S. K. KOSTOPOULOU M. N. Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water. *Talanta*, v. 56, p. 717-726, 2002.

NOGUEIRA, I.S.; GAMA Jr., W.A. & D'ALESSANDRO, E.B. Cianobactérias planctônicas de um lago artificial urbano na cidade de Goiânia, GO. *Revista Brasileira de Botânica*. v. 34, p. 575-592. 2011.

OEHRLE, S.; RODRIGUEZ-MATOS, M.; CARTAMIL, M.; ZAVALA, C.; REIN, K. S.; Toxin Composition of the 2016 *Microcystis aeruginosa* Bloom in the St. Lucie Estuary, Florida. *Toxicon*, v. 138, p. 169-172, 2017.

OKUMURA, D.T.; ROCHA, O. *Cultivo de Cianobactérias e avaliação da Toxicidade dos Produtos de degradação destas algas aos cladocêros plantônicos Daphina Silimis Daphinalaervis e Ceriodaphinasilvestrii*. 2014.

OLIVEIRA, O. G. de. Desenvolvimento de um equipamento óptico para o estudo do Movimento vertical de cianobactérias – *Cylindrospermopsis raciborskii*. 2007. 103p. Dissertação de Mestrado em Ecologia Aplicada à Conservação e Manejo de Recursos Naturais. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2007.

OLIVEIRA, A. C; FERREIRA FILHO, S. S. Minimização da formação de Trihalometanos em Águas de Abastecimento. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Joinville – Santa Catarina, 2003.

OLIVEIRA, E. K. S. *Remoção de células de Microcystis aeruginosa em água de abastecimento por coagulação, floculação e sedimentação utilizando cloreto férrico e sulfato de alumínio e filtração por filtro de areia*. 2014. 89p. Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2014.

OLIVEIRA M. C. B.; MOLICA R. Cianobactéria invasora: aspectos moleculares e toxicológicos de *Cylindrospermopsis raciborskii* no Brasil. *Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. v. 30, p. 82 -90. 2003.

OLIVEIRA, M. C. N. *Níveis de eutrofização do açude Argemiro de Figueiredo (ACUÃ/PB) e condições de tratamento de sua água para remoção de cianobactérias por coagulação, floculação e sedimentação*. 2013. 96p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual da

Paraíba; Centro de ciências biológicas e da saúde. Departamento de biologia. Campina Grande, 2013.

OLIVEIRA, S. Z. de. Adaptação de equipamento de geração de gases oxidantes para aplicação na desinfecção de água. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, 2009.

ORAM, B. Disinfection By-Products Trihalomethanes. Water Research Center, <<http://www.water-research.net/index.php/trihalomethanes-disinfection>>, B.F. Environmental Consultants Inc. Acesso em 27 de jan 2017

OTSUKA, S.; SUDA, S.; LI, WATANABE, M.; OYAIZU, H.; MATSUMOTO, S. Characterization of morphospecies and strains of the genus *Microcystis* (Cyanobacteria) for a reconsideration species classification. *Phycological Research*. v. 47, p. 189-197, 1999.

PADISÁK, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archives für Hydrobiologie*, v. 4, p. 563-593.1997.

PADISÁK, J.; REYNOLDS, C. S. Selection of phytoplankton associations in lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to the cyanoprokariotes. *Hydrobiologia, The Hague*, v. 384, n. 1-3, p. 41-53, 1998.

PÁDUA, V. L.de et al. *Avaliação da potencialidade de remoção de trihalometanos por aeração*. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 003, Joinville, SC, 2003.

PAN, G.; ZHANG, M.; CHEN, H.; CHEN, H.; YAN, H. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of *Microcystis aeruginosa* using commercially available clays and minerals. *Environmental Pollution*, v. 141, p. 195-200, 2006.

PANTELIĆ, D.; SVERČEV, Z.; SIMEUNOVIĆ, J.; VIDOVIĆ, M.; TRAJKOVIĆ, I. Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. *Chemosphere*, v. 91, p. 421-441, 2013.

PARDO, S.D.A. *Avaliação do potencial de formação de trihalometanos em sistemas de abastecimento de água*. 1996. 119F. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Civil. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1996.

PASCHOALATO, C. F. P. R. *Efeito da pré-oxidação, coagulação, filtração e pós-cloração na formação de subprodutos orgânicos halogenados em águas contendo substâncias húmicas*. 2005. 291f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil área de concentração em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

PASCHOALATO, C. F. P. R.; TRIMAILOVAS, M. R.; DI BERNARDO, L. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peroxônio e pós-cloração em água contendo substância húmica. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.13(3), p.313-322, 2008.

PAVANI, A; OLIVEIRA, M; BIANCHI, R.A.; Ceresino. A avaliação do sistema de flotação por ar dissolvido e filtração direta descendente para potabilização de águas de represas - estudo de caso ETA duas bocas – Cariacica/ES. *Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia*, n. 3, p. 1-6, 2007.

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

PENTAMWA, P.; BENCHAMAPORN, S.; WONGKLOM, T.; PENTAMWA, S. Cancer Risk Assessment from Trihalomethanes in Community Water Supply at Northeastern Thailand. *International Journal of Environmental Science and Development*, v. 4(5), p. 538-544, 2013.

PEREIRA, D. D. C. F. *Detecção de subprodutos da desinfecção com cloro em água dessalinizada*. 2007. 118f. Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2007.

PEREIRA, G.G. *Remoção de células de Microcystis sp por pré-cloração, coagulação, filtração direta e pós-cloração em escala de bancada*. 2005. 95f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

PHAC. PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA. Chlorination disinfection by-products (DBPs) in drinking water and public health in Canada. A Primer for Public Health Practitioners Reviewing Evidence form over 30 years of Research. Alberta, Canadá, 2008.

PINA, R. W. Avaliação experimental do crescimento da comunidade fitoplanctônica do Reservatório João Leite em diferentes condições de luz e nutrientes. (2013). 122 p., Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente). Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 2013.

PLUMMER, J.D., EDZWALD, J. K. Effect of ozone on algae asprecursors for trihalomethane and haloacetic acid production. *Environmental Science & Technology* v. 35(18), p. 3661-3668. 2001.

PLUMMER, J.D.; EDZWALD, J.K. Effects of chlorine and ozone on algal cell properties and removal of algae by coagulation, *Journal of Water Supply: Research and Technology. AQUA* v. 51(6), p.:307-318. 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.

REBELO, A. R. S. *Formação de Triclorometano em Águas Residuais Cloradas: risco de contaminação dos recursos hídricos*. 2014. 292f. Tese (Doutorado em Química) – Ciências, Universidade da Beira Interior, Corvilhã, Portugal, 2014.

REBOUÇAS, P. M. *Desempenho de alevinos masculinizados de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) produzidos em duas estações do ano em tanques de diferentes cores*. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2014.

REYNOLDS, C. S.; JAWORSKI, G. H. M.; CMIECH, H.A.; LEEDALE, G. F. On the Annual Cycle of the Blue-green Alga *Microcystis aeruginosa* (Emend.Elenkin) *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science.*, v. 293, i. 1068, 1980.

RIBANI, M. BOTTOLI, C.B.G. COLLINS, C.H. JARDIN, I.C.S.F. MELO. L.F.C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova*, v. 27, p. 771–780, 2004.

RODRIGUES, L.L. *Biodiversidade de cianobactérias e algas das represas Billings (Braço Taquacetuba), e Guarapiranga, SP, Brasil*. (2008). 205 p. Dissertação. (Mestrado em Biociências, Ecologia). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2008.

RODRIGUES, F. M. *Análise do risco da presença de trihalometanos em água para consumo humano, no distrito de Braga*. 2014. 135f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2014.

RODRIGUEZ, M. J.; SERODES, J. B.; LEVALLOIS P. Behavior of trihalomethanes and haloaceticacids in a drinking water distribution system. *Water Research*, v. 38(20), p. 4367-4382, 2004.

RODRIGUEZ, E. M., ONSTAD, G.D., KULL, T.P.J., METCALF, J.S., ACERO, J.L., VON GUNTEN, U., Oxidative elimination of cyanotoxins: comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate. *Water Research* v. 41(15), p. 3381-3393. 2007.

RODRIGUEZ, E.M.; ACERO, J.L.; SPOOF, L.; MERILUOTO, J., Oxidation of MC-LR and RR with chlorine and potassium permanganate: toxicity of the reaction products. *Water Research*, v. 42 (6e7), p. 1744-1752, 2008.

ROMEIRO, Francisco. Relatório técnico: Ocorrência de cianobactérias na bacia hidrográfica do rio Doce / Francisco Romeiro ... [et al.]. - Brasília: ANA, 2012.

ROSA, V. C.; GARCIA, M. Ocorrência de *Ulva* spp, *Polysiphonia* sp., e *Microcystis aeruginosa* nas praias do Saco do Laranjal, Pelotas, RS. *Revista Thema*, p. 122-137. 2013.

ROSARIO-ORTIZ, F.; SNYDER, S.; SUFFET, I.H. Characterization of dissolved organic matter in drinking water sources impacted by multiple tributaries. *Water Research*, v. 41, n. 18, p. 4115-4128, 2007.

RZYMSKI, P.; PONIEDZIALEK, B.; In Search of Environmental Role of *Cylindrospermopsis*: A Review on Global Distribution and Ecology of its Producers (em inglês). *Water Research*, v. 66(5), p. 320-337, 2014.

RZYMSKI, P.; PONIEDZIALEK, B.; KOKOCINSKI, M.; JURCZAK, T.; LIPSKI, D.; WIKTOROWICZ, K.; Interspecific Allelopathy in Cyanobacteria: *Cylindrospermopsis raciborskii* Effect on the Growth and Metabolism of *Microcystis aeruginosa* (em inglês). *Harmful Algae*, v. 35(1), p.1-8, 2014.

SÁ, J.C., OLIVEIRA, A.C.P., AZEVEDO, S.M.F.O. BRANDÃO, C.C.S.. *Remoção de Microcystis aeruginosa pelo processo de filtração lenta*. In: Anais do XXVIII CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL, 2002, Cancún, México, 2002.

SÁ, L. L. C. Ocorrência de uma floração de cianobactérias tóxicas na margem direita do Rio Tapajós, no Município de Santarém (Pará, Brasil). *Rev Pan-Amaz Saude* [online]. vol. 1(1), p. 159-166. 2010.

SANCHES, S.M.; CAMPOS, S.X.; RIOS, E.; VIEIRA, E.M.; DI BERNARDO, L. *Estudo da formação de subprodutos clorados na etapa de pré-oxidação com dióxido de cloro*. In: Forjando el ambiente que compartimos. AIDIS: San Juan, 2004.

SANCHEZ, B. A; CAPOTE, F. P; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasonic enhancement of

leaching and in situ derivatization of haloacetic acids in vegetable foods prior to gas chromatography–electron capture detection. *Journal of Chromatography A*, v. 1201 p. 21–26, 2008.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; WERNER, W.R.; DOGO, C. R.; RIOS, F. R.; CARVALHO, L. R. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. *Algological Studies* v. 126, p. 249-263. 2008.

SANT'ANNA, Célia Leite *et al.*. Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras. 2012. São Paulo, Instituto de Botânica. Disponível em <http://botanica.sp.gov.br/files/2013/09/virtuais_3atlas.pdf> Acesso em 14 setembro de 2015.

SANTOS, C. L. Cloraminas: vantagens e desvantagens de seu uso para redução de THM em substituição ao cloro. [Editorial]. *DAE: Teoria e Pesquisa*, n. 159, p. 22-25, 1990.

SANTOS, L. A. *Avaliação de fatores intervenientes na formação de trihalometanos em sistemas de abastecimento de água: estudo de caso na região metropolitana de Belo Horizonte-MG*. 2013. 90 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, 2013.

SANTOS, MAIZA FERREIRA. *Estudo preliminar da avaliação técnica de metodologias de tratamento terciário do efluente tratado gerado na ETE da Cetrel para reuso em atividades industriais*. 2006. 154f. Dissertação (Mestrado em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais no Processo Produtivo) – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

SANTOS, T. R. T.; BONGIOVANI, M. C.; ARAKAMA, F. S.; SHIMABUKU, Q. L.; BERGAMASCO, R.; VIEIRA, M. F. *Avaliação da minimização de formação de trihalometanos (thm) por meio da remoção de matéria orgânica natural (mon) por processos de coagulação/floculação seguido de adsorção*. VIII ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, Maringá, Paraná, 2013.

SANTOS, T. R. T.; VALVERDE, K. C.; NISHI, L.; BERGAMASCO, R.; VIEIRA, M. F. *Estudo da formação de trihalometanos no processo de coagulação/floculação/adsorção em carvão ativado vegetal com o coagulante natural Moringa oleifera Lam para tratamento de água de abastecimento*. 8º ENCONTRO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DOS CAMPOS GERAIS, 2013.

SILVA, A. B. *Avaliação do emprego da ultrafiltração em membrana na remoção de células de cianobactérias e microcistina para águas de abastecimento*. 2008. 104f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) Escola de Engenharia, Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SILVA, C. P. da. *Determinação de ácidos haloacéticos em Água utilizando técnicas cromatográficas*. 2010, 78f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

SILVA, E. M.; GOMES; C. T.; RAMOS; C. P.; BRICIO, S. M. Ocorrência de Cianobactérias no Reservatório de Mundaú, no Estado de Pernambuco, no período de janeiro de 2010 a novembro de 2011. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 1(3), p. 35-42, 2013.

SILVA-STENICO, M. E.; KANENO, R.; ZAMBUZI, F. A.; VAZ, M. G.; ALVARENGA, D. O.; FIORE, M. F. Natural products from cyanobacteria with antimicrobial and antitumor activity. *Curr Pharm Biotechnol*, v.14(9), p. 820–828. 2013.

SILVESTRE, A. N.; CARVALHO, P.V.V.D.B.C.; MOURA, E.B.A.; OLIVEIRA, M.S. *Florações Tóxicas de cianobacterias de gênero *Cylindrospermopsis* em mananciais de abastecimento publico no estado de Pernambuco*. In: 20º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. v. 35. p. 3794 – 3802. 1999.

SINGER, P.C. Control of disinfection by-products in drinking water. *Journal of Environmental Engineering*. v. 120(4), p. 727-744, 1994.

SINGER et al. DBPs in chlorinated North Carolina drinking waters. *American Water Works Association*, 1995.

SINGER, P. C. Humic substances as precursors for potentially harmful disinfection by-products. *Water Science and Technology*, v. 40(9), p. 25-30, 1999.

SINGER, P.C.; WEINBERG, H.S.; BROPHY, K.; LIANG, L.; ROBERTS, M.; GRISSTEDE, I. Relative dominance of haloacetic acids and trihalometanes in treated drinking water. AWWA Research Foundation. 2002.

SINGER, P. C.; SCHLESINGER, S.; NICHOLS, C.; BARIBEAU, H. and BOULOS, L. Formation and decay of Trihalomethanes and Haloacetic Acids in Full-Scale Drinking. *Water Distribution Systems: A Case Study. Impacts of Global Climate Change*. Alaska, EUA, 2005.

SIVONEN, K.; G. JONES, Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I. & J BARTRAM (ed.) - Toxic Cyanobacteria in Water: a guide line to public health significance, monitoring and management. *World Health Organization*, London and New York, p. 41-111, 1999.

SOUZA, F. H.. *Tratamento de água para abastecimento por meio de filtros lentos de fluxo ascendente com limpeza por retrolavagem e descarga de fundo*. 2015. 120f. Dissertação

(Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Florianópolis, 2015.

SCHUCK, C. A. *Ocorrência de Trihalometanos e Ácidos Haloáceticos na desinfecção de efluentes tratados biologicamente*. 2004. 98 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

STEFFEN, M.M.; BELISLE, B.S.; WATSON, S.B., BOYER, G.L.; WILHELM, S.W. Status, causes and controls of cyanobacterial blooms in Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research*, v. 40(2), p. 466-467, 2014.

STEVENS, A. A.; SYMONS, J.M. Measurement of trihalomethane and precursor concentration changes. *Journal American Water Works Association*, p. 546-554, 1977.

SUN, Y, WU, Q.; HU, H.; TIAN, J. Effects of operating conditions on THMs and HAAs formation during wastewater chlorination. *Journal of Hazardous Materials*, v. 168, p. 1290-1295, jan. 2009(a).

SUN, Y, WU, Q.; HU, H.; TIAN, J. Effect of bromide on the formation of disinfection by-products during wastewater chlorination. *Science Direct*, v. 43, p. 2391-2398, 2009(b).

TITO BORGES, J. *A utilização da técnica MIMS na determinação de trihalometanos em águas de abastecimento e a influência do íon brometo, da amônia e de algas na formação desses compostos*. 2003. 171f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) Área de concentração Saneamento e Ambiente - Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

TOKMAK, B.; CAPAR, G.; DILEK, F. B.; YETIS, U. Trihalomethanes and associated potential cancer risks in the water supply in Ankara, Turkey. *Science Direct*, v. 96, p. 345-352, 2003.

TOLEDANO M.B.; NIEUWENHUIJSEN M.J.; BEST N.; WHITAKER H.; HAMBLY P.; DE HOOGH C.; FAWELL J.; JARUP L.; ELLIOTT P. Relation of tri-halomethane concentrations in public water supplies to stillbirth and birth weight in three water regions in England. *Env. Health Persp.* v. 113, p. 225-232, 2005.

TRC. TORONTO RESEARCH CHEMICAL, 2016. Disponível em <<https://www.trc-canada.com/contact-us/>> Acesso em 01 de setembro de 2016.

TUCCI, A., SANT'ANNA, C. L. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico. *Brazilian Journal of Botany*, v.21(1), p. 97-112. São Paulo, 2003.

TUPINAMBÁ, B. JARDIM, F., *Avaliação da toxicidade de cianobactérias provenientes do efluente da estação de tratamento de esgoto de Matozinhos, MG*. XV Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Method 552.1 - Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by ion-exchange liquid-solid extraction and gas chromatography with an electron capture detector. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1992.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Method 551.1. Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture detection. U.S. Environmental Protection Agency, Ohio, USA, 1995(a).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Method 552.2. Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, Ohio, USA, 1995(b).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Drinking Water Regulations and Health Advisories. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Guidelines for Ecological Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Washington. 1998.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Enhanced Coagulation and Enhanced Precipitative Softening Guidance Manual. U.S. Environmental Protection Agency, New York, USA, 1999(a).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual. U.S. Environmental Protection Agency, Washington. 1999(b).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Method 552.3 - Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid microextraction, derivatization, and gas chromatography with electron capture detection. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2003(a).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA) – Drinking water Contaminants. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2003(b).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Occurrence assessment for the final stage 2 disinfectants and disinfection by-products rule. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2005.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Disinfection byproduct health effects. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Exposure Factors Handbook. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2011.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2012.

UmweltBundessamt Die deutsche Trinkwasserverordnung. (Agência Federal de Meio Ambiente - Portaria Alemã de Água potável. Disponível em <<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen>> Acesso em 31 de out. 2017.

UYAK, V., KOYUNCU, I., OKTEM, I., CAKMAKCI, M., TOROZ, I. Removal of trihalomethanes from drinking water by nanofiltration membranes. *J. Hazard. Mater.* v(152), p. 789-794. 2008.

VALLEF, C.; JARDIM, F.; ARAÚJO, G.; ARAÚJO, H.; GOMES, L. *Avaliação hidrobiológica da Represa de Furnas no município de Alfenas –MG: Uma ferramenta de utilidade pública*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2012.

VIDAL, L.; KRUK, C. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 3, p. 142-151. 2008.

VIEIRA, P. C. S. *Comunidade fitoplanctônica como discriminador ambiental em açude eutrófico tropical, semiárido (Barragem Armando Ribeiro Gonçalves, RN) e divulgação científica para reflexão social*. 2013. 148 p. Dissertação. (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2013.

VILLACORTE, L. O.; EKOWATI, Y.; NEU, T. R.; KLEIJIN, J. M.; WINTERS, H.; AMY, G.; SCHIPPERS, J. C.; KENNEDY, M. D. Characterisation of algal organic matter produced by bloom-forming marine and freshwater algae. *Water Research*, v. 73, p. 216-230, 2015.

VILLANUEVA, C. M.; CANTOR, K. P.; GRIMALT, J. O.; CASTOÑO-VINYALS, G.; MALATS, N.; SILVERMAN, D.; TARDON, A.; GARCIA-CLOSAS, R.; SERRA, C.; CARRATO, A.; ROTHMAN, N.; REAL, F. X.; DOSEMEDI, M.; KOGEVENAS, M. Assessment of lifetime exposure to trihalomethanes through different routes. *Occup Environ Med*, v. 63, p. 273-277, 2006.

XIE Y., Reckhow D. A. and Springborg D. C. Analyzing HAAs and ketoacids without diazomethane. *Journal American Water Works Association*. v. 90(4), 131–138, 1998.

XIE. Y. Analyzing Haloacetic Acids Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Water Research*., v.35, p.1599–1602, 2001.

XIE. Y., RASHID, I., ZHOU, H. J., GAMMIE, L. Acidic methanol methylation for HAA analysis: Limitations and possible solutions. *Journal American Water Works Association*., v. 94, p. 115–122, 2002.

WANG, G.; DENG, Y.; LIN, T. Cancer risk assessment from trihalomethanes in drinking water. *Science of the Total Environment*, v. 387, p. 86-95, 2007.

WARDLAW, V.E.; PERRY, R.; GRAHAM, N.J.D. The role of algae as trihalomethane precursors e a review. *Journal of Water Supply Research and Technology-aqua*, v. 40(6), p.335-345, 1991.

WILLIAMS, D. T.; LEBEL, G.L.; BENOIT, F.M. Disinfection by-products in Canadian drinking water. *Chemosphere*, v.34, n.2, p.299-316, 1997.

WILLIS, A.; CHUANG, A. W.; WOODHOUE, J. N.; NEILAN, B. A.; BURFORD, M. A.; Intraspecific Variation in Growth, Morphology and Toxin Quotas for the Cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Toxicon*, v. 119(45), p. 307-310, 2016.

WOJCIECHOWSKI, J. Efeitos da Temperatura, Fósforo e Luz no crescimento da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju do reservatório de Alagados, Paraná. 2013 113 f. Dissertação. (Mestrado em Botânica) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013.

WOOD, S. A.; POCHON, X.; LUTTRINGER-PLU, L.; VANT, B. N.; HAMILTON, D. P.; Recent Invader or Indicator of Environmental Change? A Phylogenetic and Ecological Study of *Cylindrospermopsis raciborskii* in New Zealand. *Harmful Algae*, v. 39, p. 64-74, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Disinfectants and disinfectant by-products. Geneva, p. 529, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Trihalomethanes in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/W SH/05.08/64, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Guidelines for drinking-water quality – 4th p. 564, 2011.

YANG, X.; GUO, W.; SHEN, Q. Formation of disinfection byproducts from chlor (am) ination of algal organic matter. *Journal of Hazardous Materials*, v. 197, p. 378-388, 2011.

YOSHIDA, T.; KAMIJI, R.; NAKAMURA, G.; KANEKO, T.; SAKO, Y.; Membrane-Like Protein Involved in Phage Adsorption Associated With Phage-Sensitivity in the Bloom-Forming Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Harmful Algae*, v. 34, p. 69-75, 2014

ZAMYADI, A.; CORAL, L. A.; BARBEAU, B.; DORNER, S.; LAPOLLI, F. R.; PREVÓST, M. Fate of toxic cyanobacterial genera from natural bloom events during ozonation. *Water Research*, v. 73, p. 204-215, 2012.

ZAMYADI, A.; FAN, Y.; DALY, R. I.; PREVÓST, M. Chlorination of *Microcystis aeruginosa*: Toxin release and oxidation, cellular chlorine demand and disinfection by-products formation. *Water Research*, v.47, p. 1080-1090, 2013.

ZAMYADI, A.; CORAL, L. A.; BARBEAU, B.; DORNER, S.; LAPOLLI, F. R.; PRÉVOST, M. Fate of toxic cyanobacterial genera from natural bloom events during ozonation. *Water Research*, v. 73, p. 204-215, 2015.

ZANCHETTA, P. G., PENA, A.; GONÇALVES, R. F. Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana. *Revista Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 20, p. 307-314, 2015.

ZHANG, S. H; MIAO, D. Y.; LIU, A. L. Assessment of the cytotoxicity and genotoxicity of haloacetic acids using microplate-based cytotoxicity test and CHO/ HGPRT gene mutation assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 703(2), p. 174-179, 2010.

ZHANG, P.; ZHAI, C.; CHEN, R.; LIU, C.; XUE, Y.; JIANG, J.; The Dynamics of the Water Bloom-Forming *Microcystis aeruginosa* and its Relationship with Biotic and Abiotic. *Ecological Engineering*, v. 47, p. 274-277. 2014.

ZHOU, S.; SHAO, Y.; GAO, N.; LI, L.; DENG, J.; ZHU, M.; ZHU, S. Effect of chlorine dioxide on cyanobacterial cell integrity, toxin degradation and disinfection by-product formation. *Science of the Total Environment*, v. 482(483), p. 208-213, 2014.

ZHU, M.; GAO, N.; CHU, W.; ZHOU, S.; ZHANG, Z.; XU, Y.; DAI, Q. Impact of pre-ozonation on disinfection by-product formation and speciation from chlor (am) ination of algal organic matter of *Microcystis aeruginosa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 120, p. 256-262, 2015.

APÊNDICE A - Estudos relacionados à formação dos subprodutos após cloração de matéria orgânica natural e algal

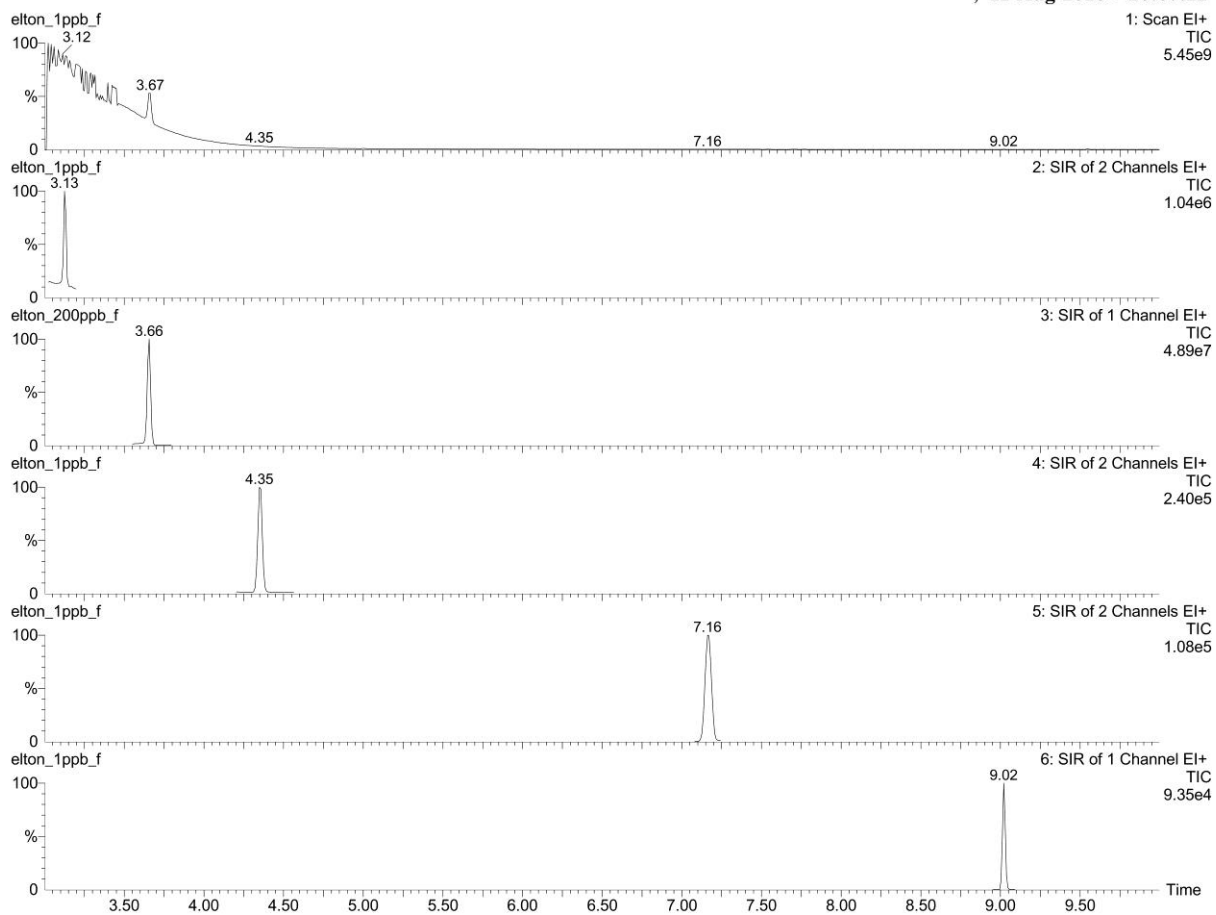
Referência	MON/MOA	Condição da Cloração	Parâmetro(s) estudado(s)/conclusão(es)
Hureiki <i>et al.</i> (1994)	Aminoácidos, polipeptídios e proteínas	pH 8; 20 °C; doses variadas de cloro gasoso; tempo de contato de 72 h	Aminoácidos, polipeptídios e proteínas presentes em água natural proveniente de algas contribuem de forma significativa para formação de TAMs, que pode ter influenciado nos resultados deste trabalho, visto que os compostos (MOE) não foram caracterizados
Nguyen <i>et al.</i> (2005)	Algas	pH 7; 20 °C; tempo de contato de 7 dias; dose de 5:1 (mg Cl ₂ :mg C) de hipoclorito de sódio (NaOCl)	Carbono orgânico dissolvido (COD) é um importante precursor de TAMs e AHAs, com maior tendência de produzir DCAA que TCAA. Ressalta-se que dentre os AHAs, foram as espécies mais recorrentes neste estudo
Hong <i>et al.</i> (2008)	<i>Nitzschia sp.</i> , <i>Chlamydomonas sp.</i> , <i>Oscillatoria sp.</i>	pH 7; 25 °C no escuro; 10 mg.Cl ₂ para cada 1 mg.C ; tempo de contato de 4 dias	Concentração de TCM depende da composição química da MOA, porém isso não é tão importante para os AHAs. Embora não abordado neste trabalho, Zamyadi <i>et al.</i> (2013) reforçam as conclusões dos autores
El-Aty <i>et al.</i> (2009)	<i>Scenedesmus obliquus</i> e <i>Anabaena flos-aquae</i>	pH 8; 20°C; tempo de contato TAMs: 5, 10, 20, 30, 60 e 120 min; tempo de contato AHAs: 30, 60, 120 e 240 mins; doses de 5,0 e 10,0 mg.L ⁻¹ de cloro	Níveis elevados de subprodutos, principalmente TCM, foram encontrados. Embora em micro-organismos diferentes e tempos de contatos distintos, TCM foi a espécie abundante
Huang <i>et al.</i> (2009)	<i>Microcystis sp.</i> e <i>Anabaena</i>	pH 7,0; 21°C no escuro; dose de variada para atingir um residual de 0,5 mg.L ⁻¹ de cloro gasoso; tempo de contato 1 e 7 dias	COD, MOE e MOI descritas como responsáveis pela maior formação de TCM. A produção de TAMs e AHAs pelas células foi 2 a 3 vezes maior do que pela MOE. A fase de crescimento (exponencial) pode ter favorecido os resultados deste trabalho

Referência	MON/MOA	Condição da Cloração	Parâmetro(s) estudado(s)/conclusão(es)
Yang <i>et al.</i> (2011)	<i>Microcystis e Chlorella</i>	pH 7,2; 22°C(escuro); tempo de contato de 3 dias. Oxidantes foram cloro gasoso e monocloramina	Células tiveram maior produção de TCM durante a cloração do que a MOE. As células representaram 70% e 77% do TCM durante a cloração de <i>Chlorella</i> e <i>Microcystis</i> , respectivamente. No entanto, com a adição de bromo, a incorporação do mesmo aos TAMs durante a cloração de MOE foi maior que a das células. Na fase de crescimento logarítmico (13 dias) células contribuíram mais para formação de TAMs que MOE (fase utilizada para repiques, diluições e cloração neste trabalho), enquanto que na fase estacionária, a formação foi igual para ambas
Liu <i>et al.</i> (2012)	<i>Microcystis aeruginosa</i>	20 °C; teor de cloro residual de 2 mg.L ⁻¹	Células de <i>Microcystis aeruginosa</i> apresentam maior relevância na formação TAMs do que compostos liberados ao meio (MOI e MOE)
Zamyadi <i>et al.</i> (2015)	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Microcystisa e Pseudanabaena</i>	pH 6 e 8; doses de ozônio de 2,0 a 5,0 mg.L ⁻¹ ; tempo de contato máximo de 10 min; densidade varia entre 9,7 x 10 ⁴ e 1,2 x 10 ⁶ células.mL ⁻¹	Perda rápida e completa da viabilidade, porém sem nenhuma redução significativa no número total de células, comportamento similar ao uso de compostos clorados neste estudo. Porém, o cloro é capaz de deixar residuais na rede em atendimento a atual Portaria de Potabilidade. Formação de TAMs e AHAs está relacionada às células e ao COD com o oxidante cloro. Nos estudos de Rodriguez <i>et al.</i> (2004) a utilização de ozônio permitiu uma redução média de TAMs e AHAs de 44% e 37%, respectivamente

APÊNDICE B – Cromatogramas trialometanos

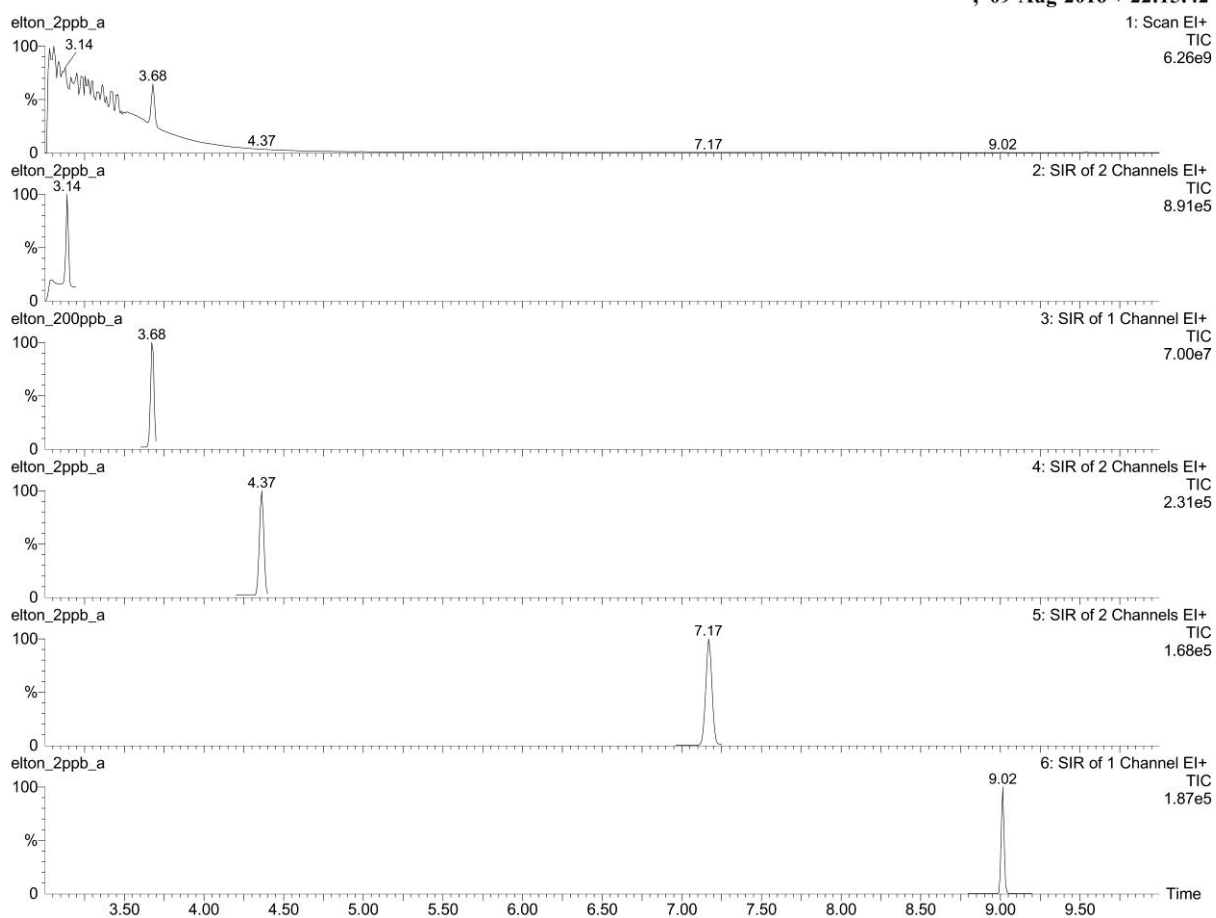
1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 11-Aug-2016 + 20:07:22



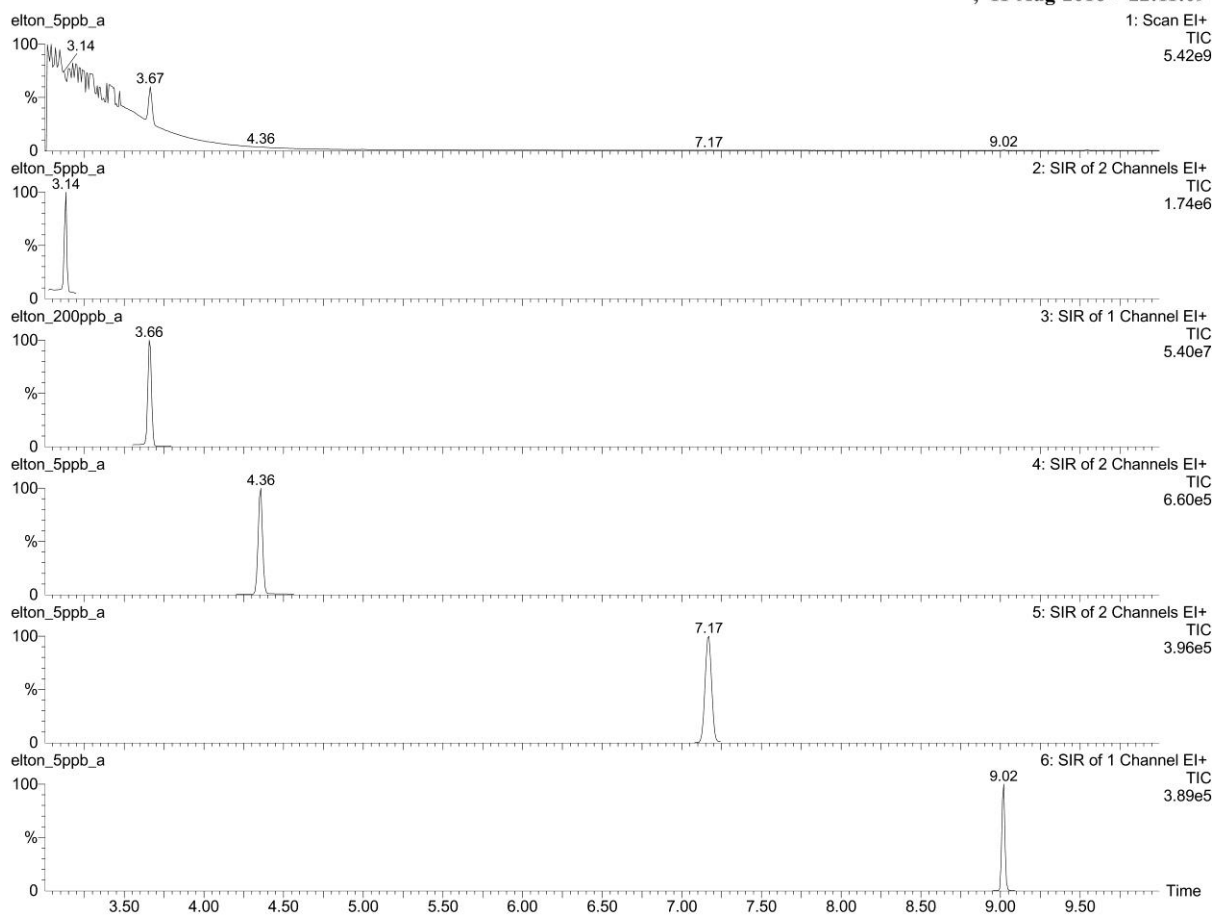
2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 09-Aug-2016 + 22:15:42



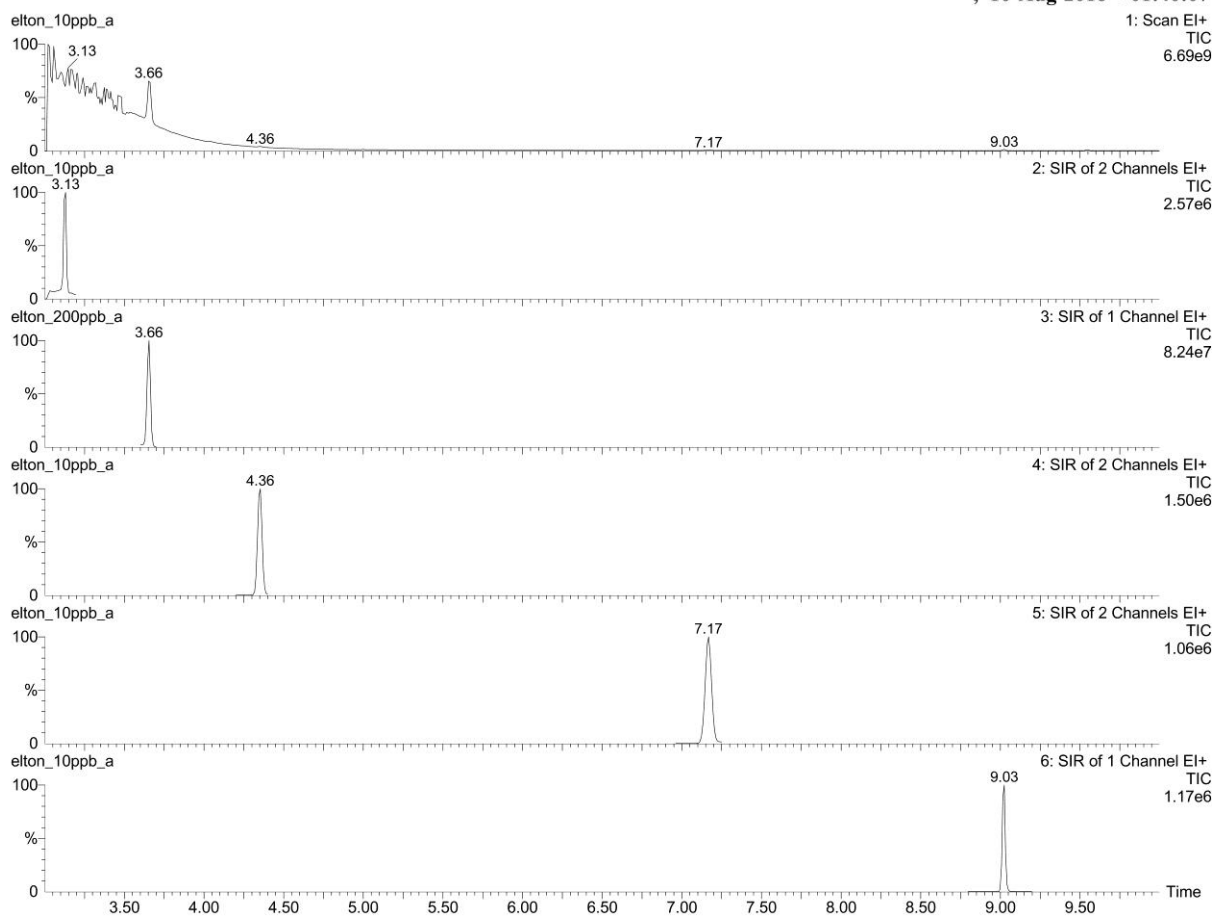
5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 11-Aug-2016 + 22:11:09



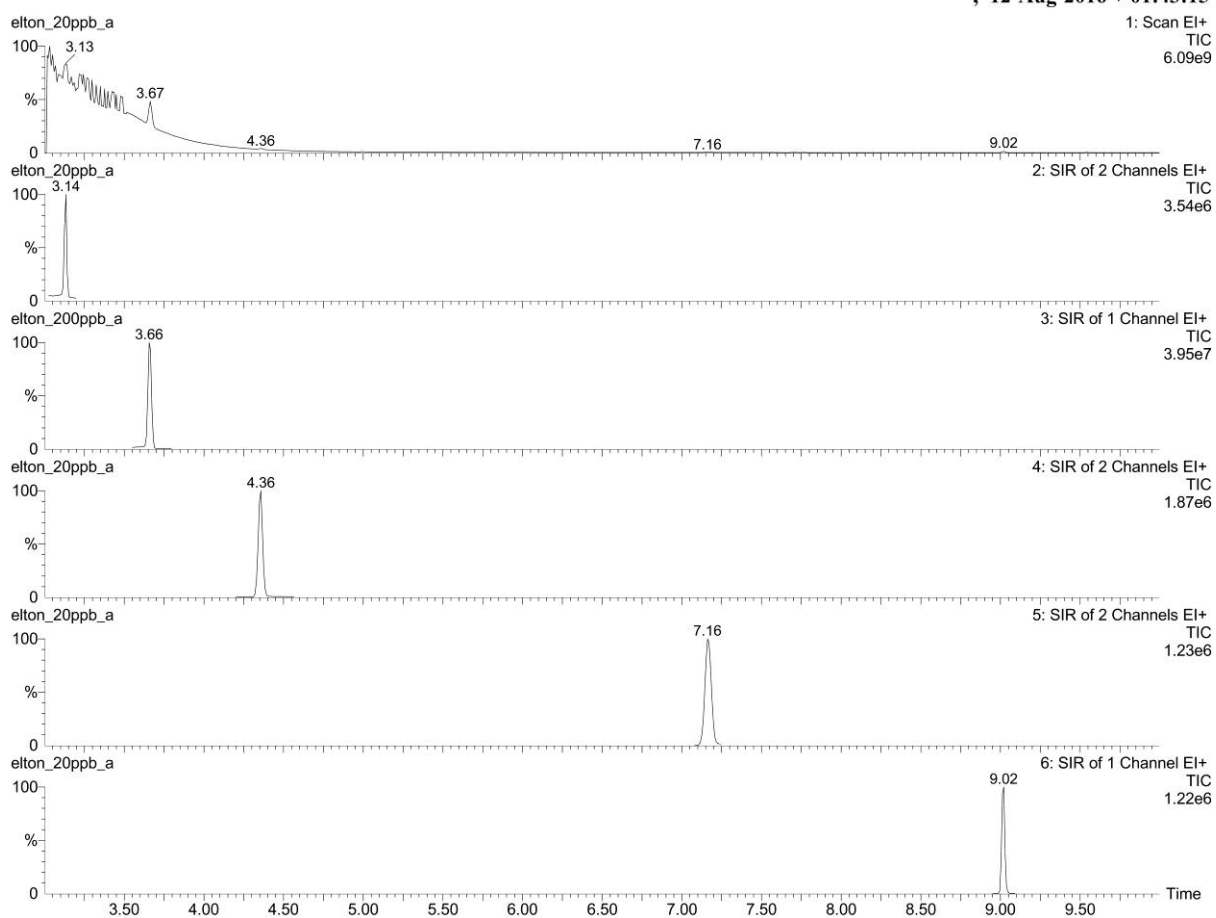
10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 10-Aug-2016 + 01:40:07



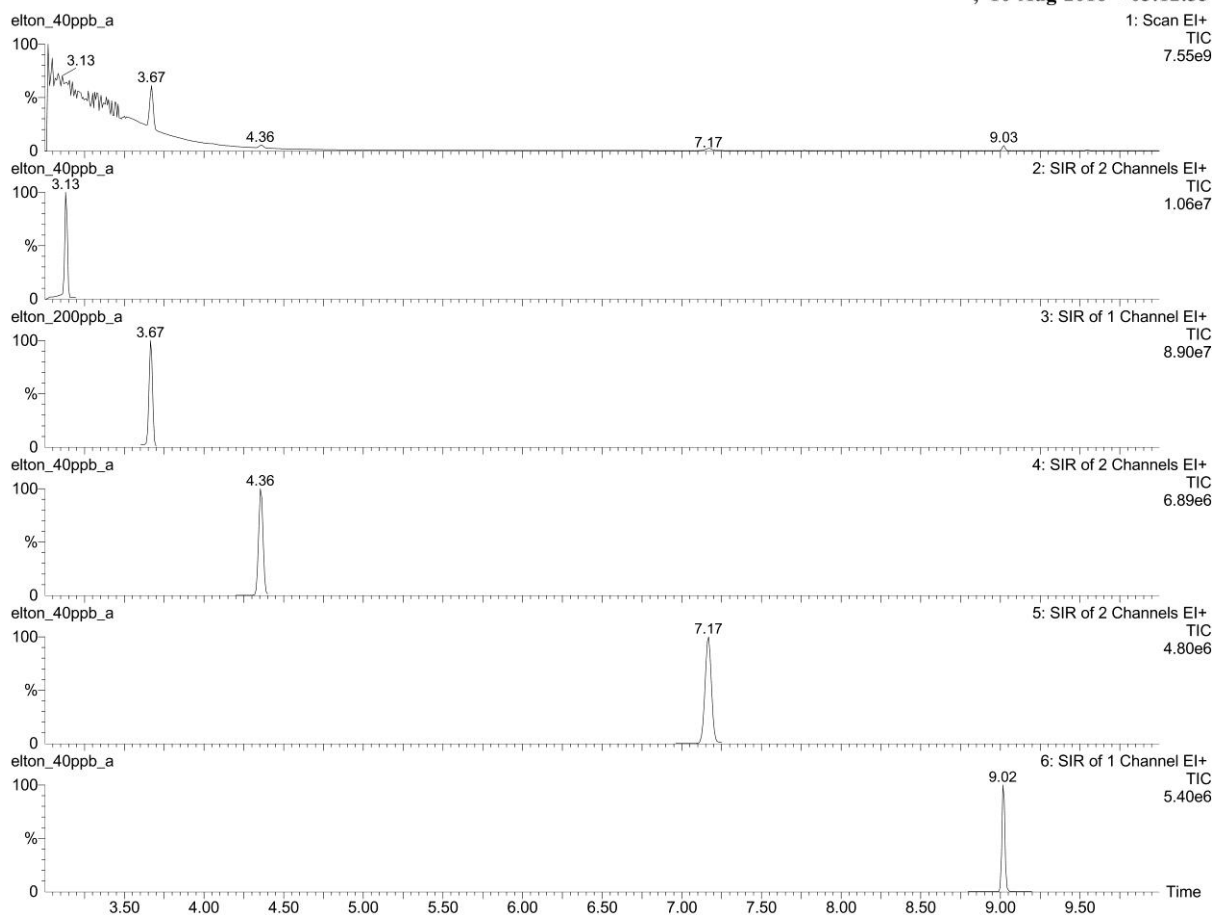
20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 12-Aug-2016 + 01:43:15



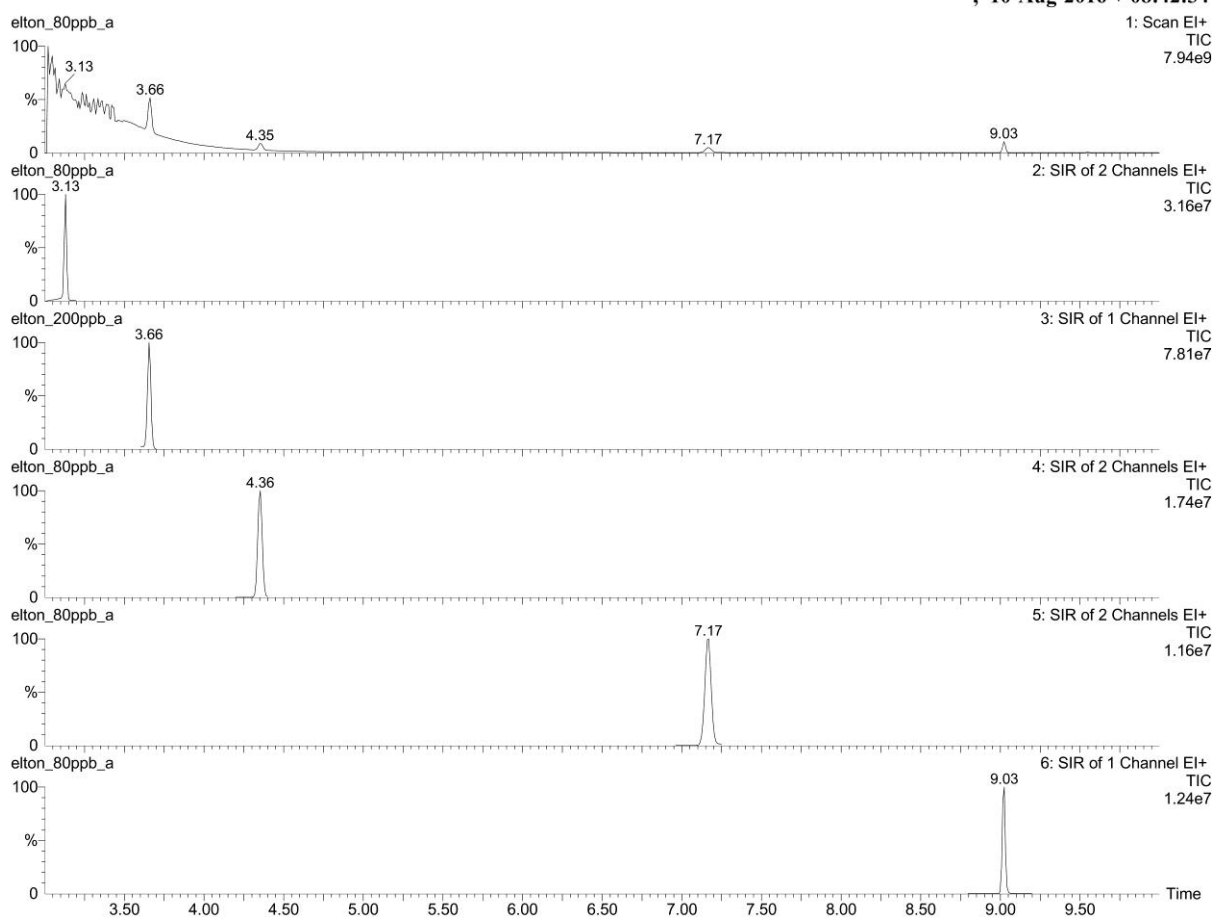
40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

, 10-Aug-2016 + 05:12:35

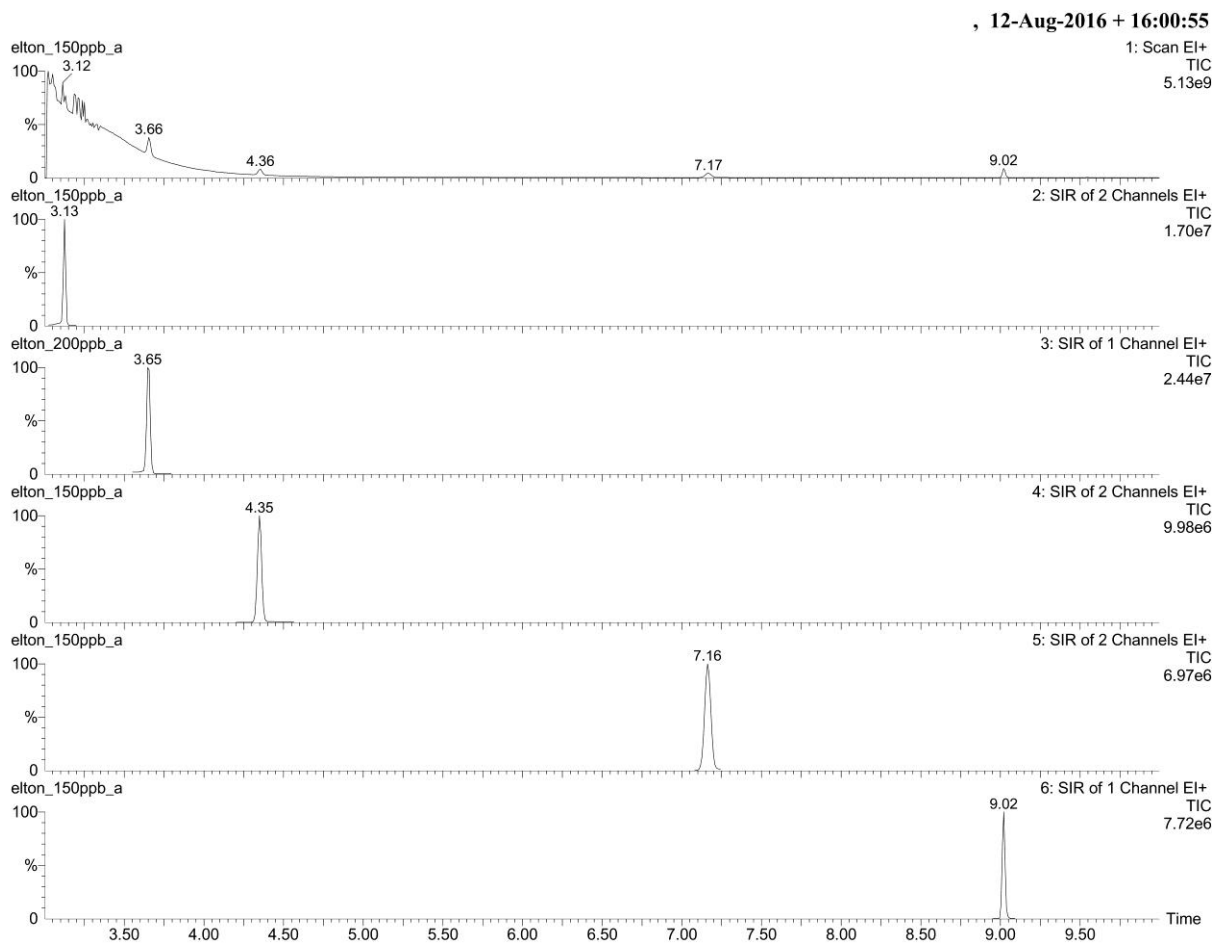


80 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

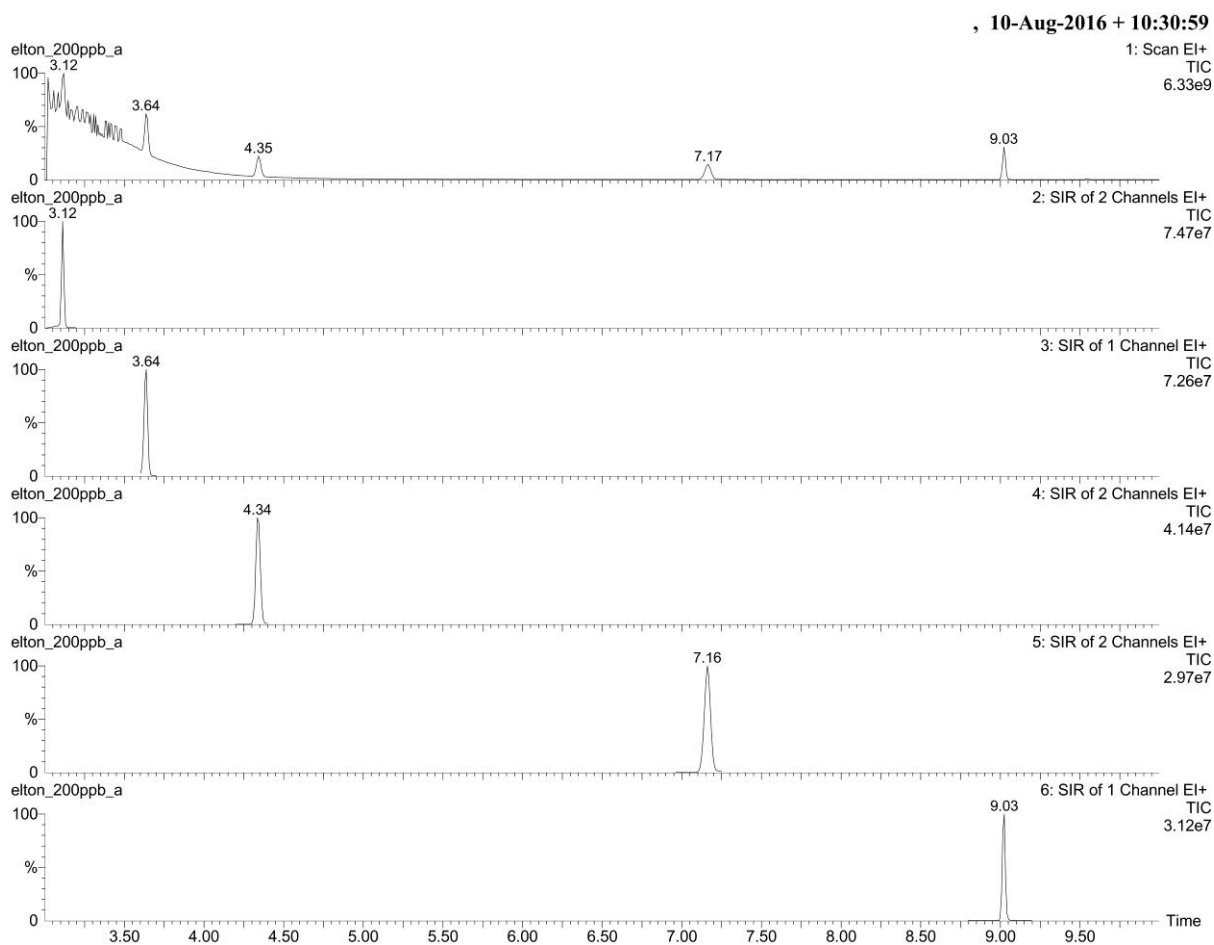
, 10-Aug-2016 + 08:42:34



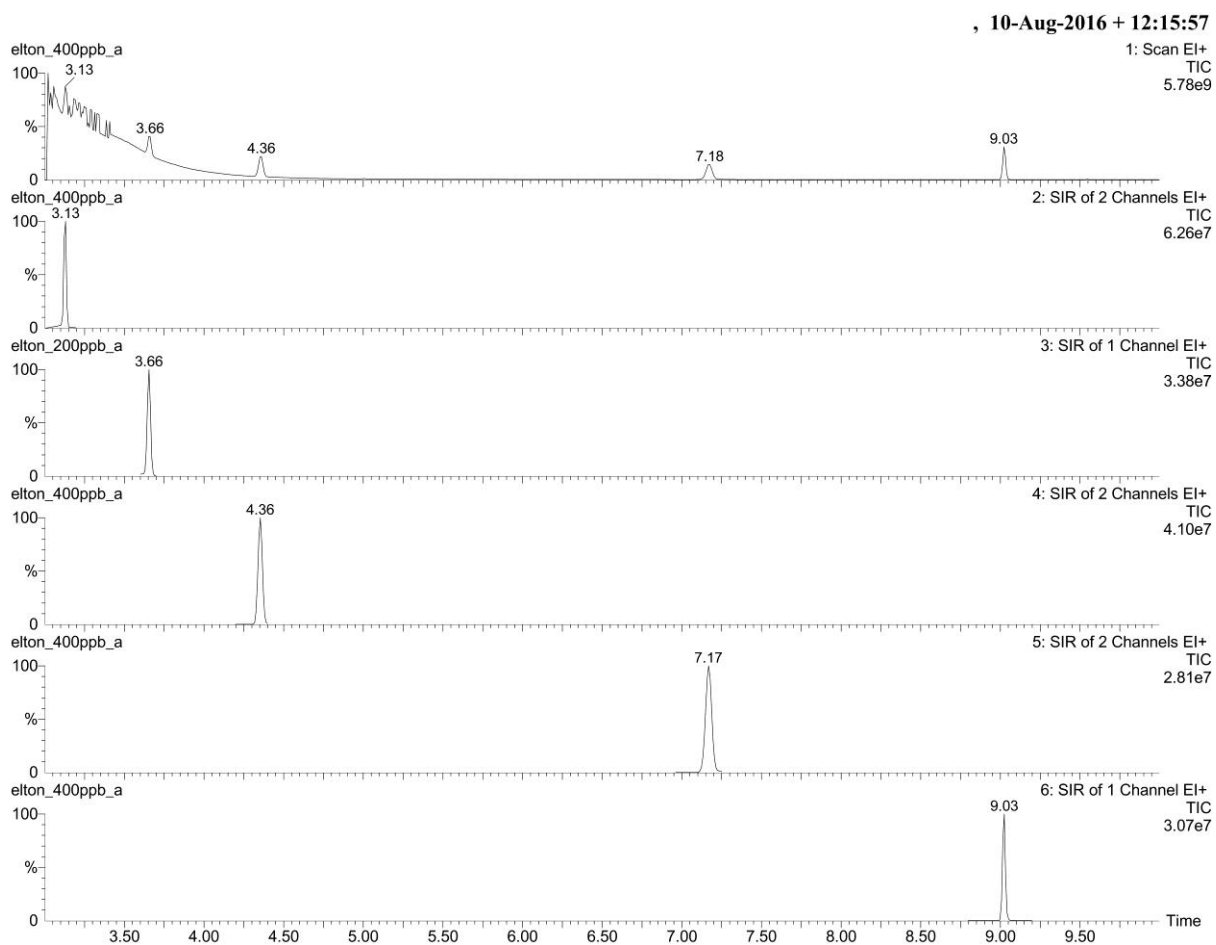
150 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno



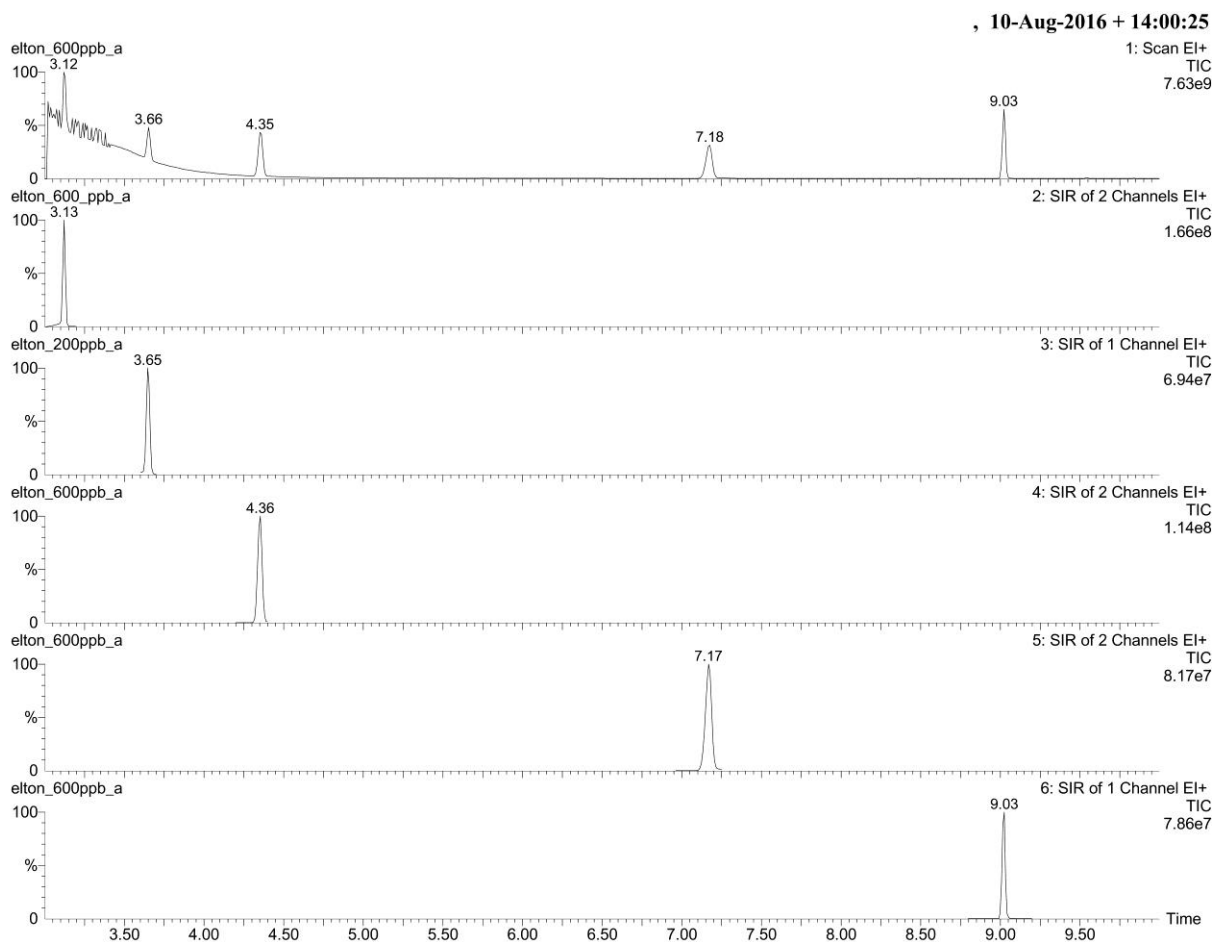
200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ fluorbenzeno



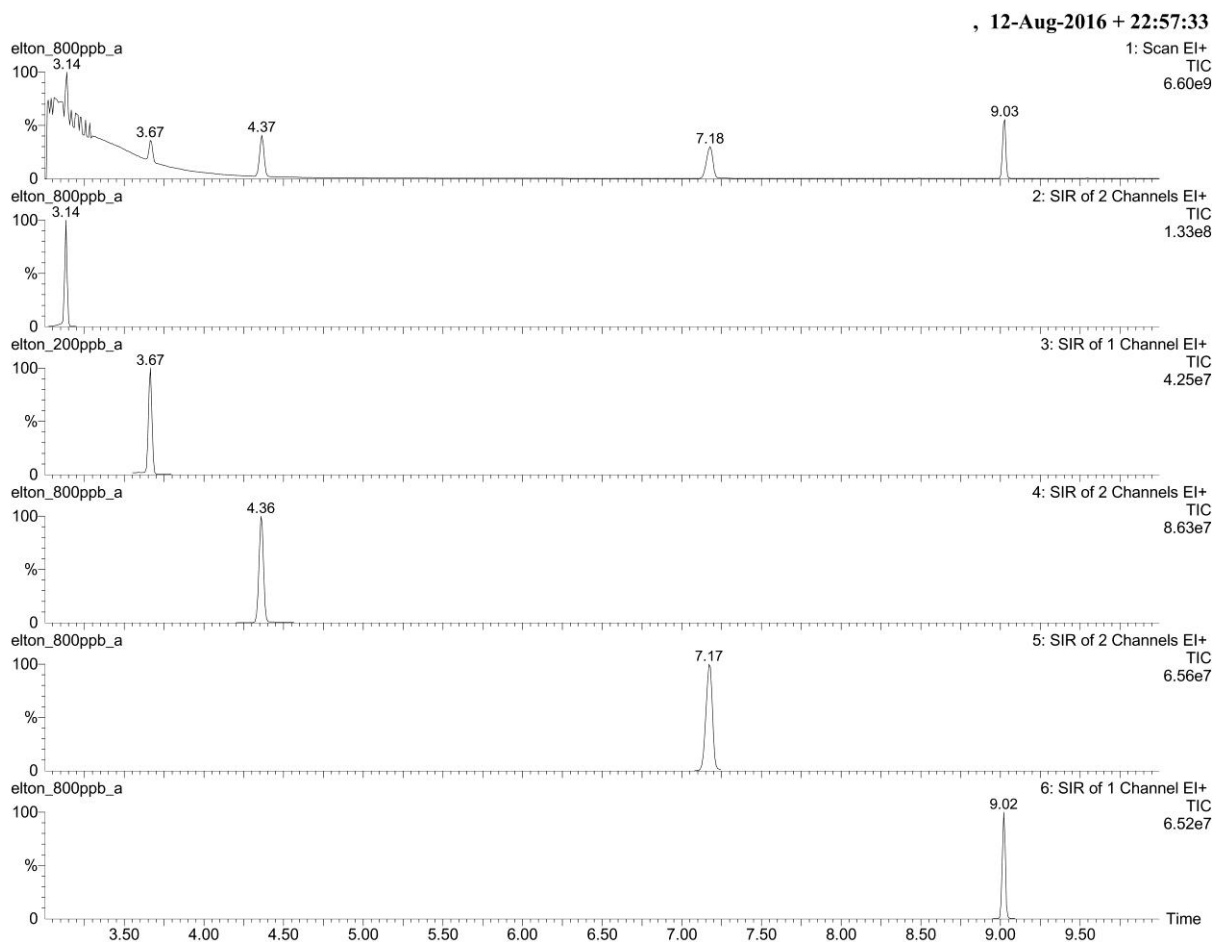
400 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno



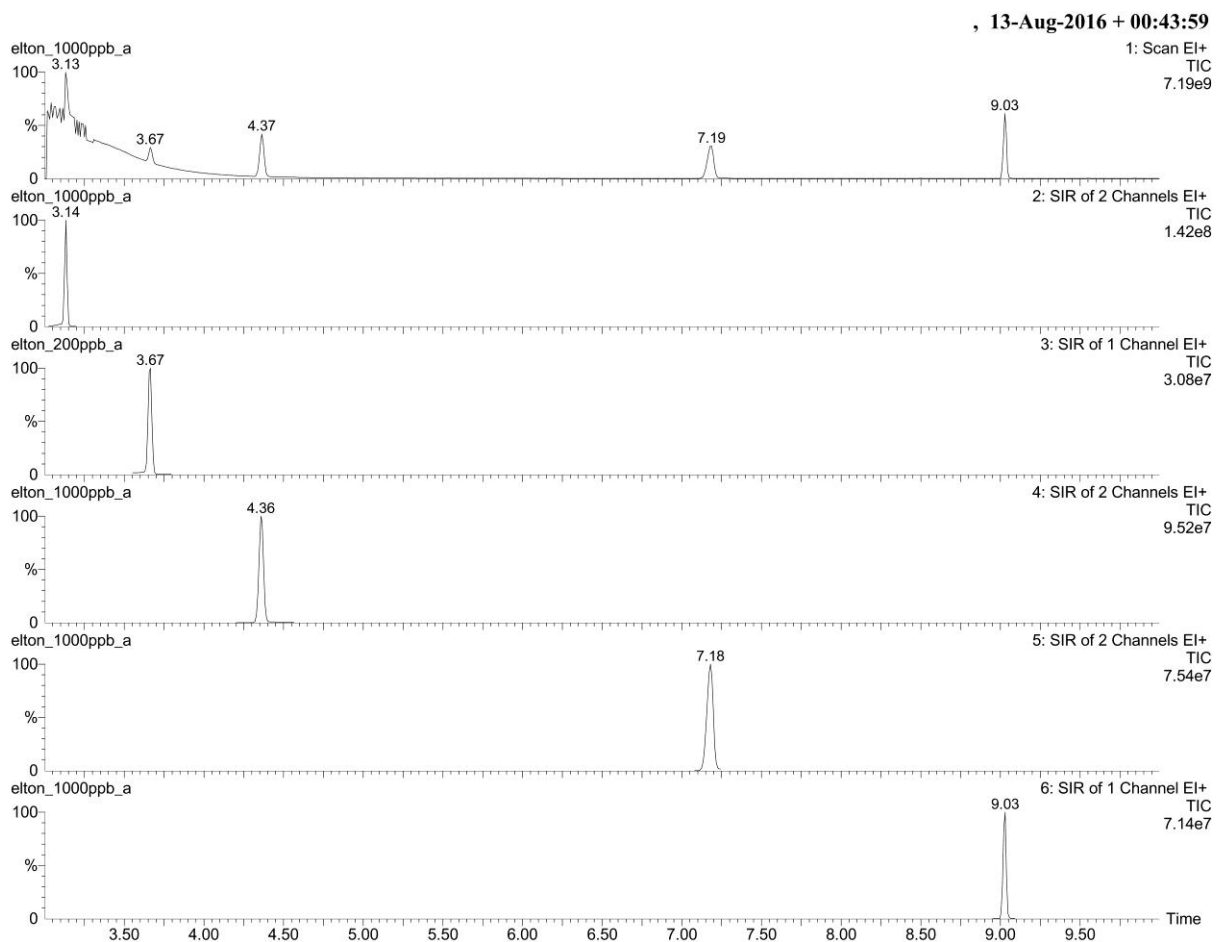
600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno



800 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

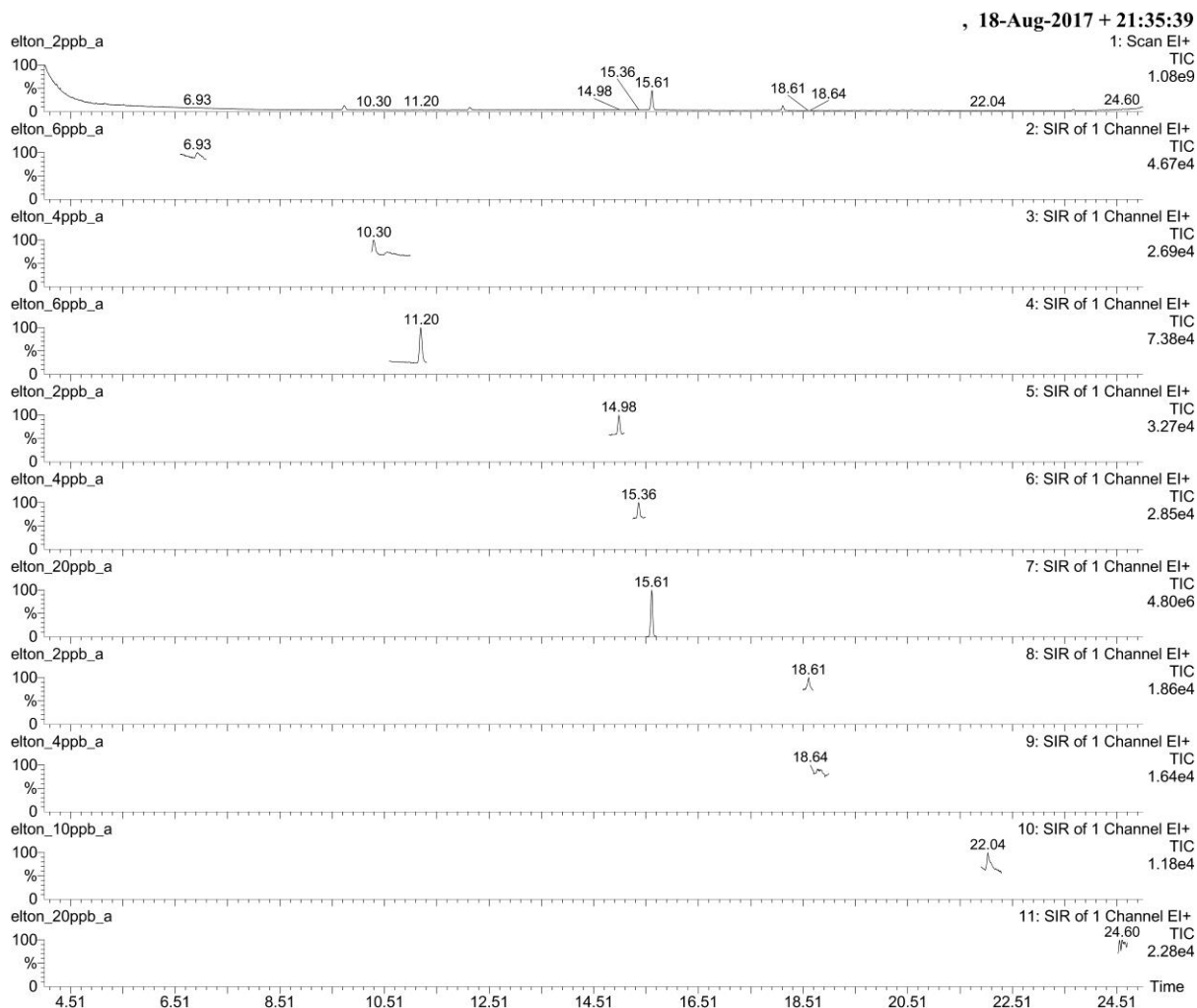


1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ SIR 2, TCM; SIR 4, BDCM; SIR 5, DBCM; SIR 6, TBM. SIR 3, 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ fluorbenzeno

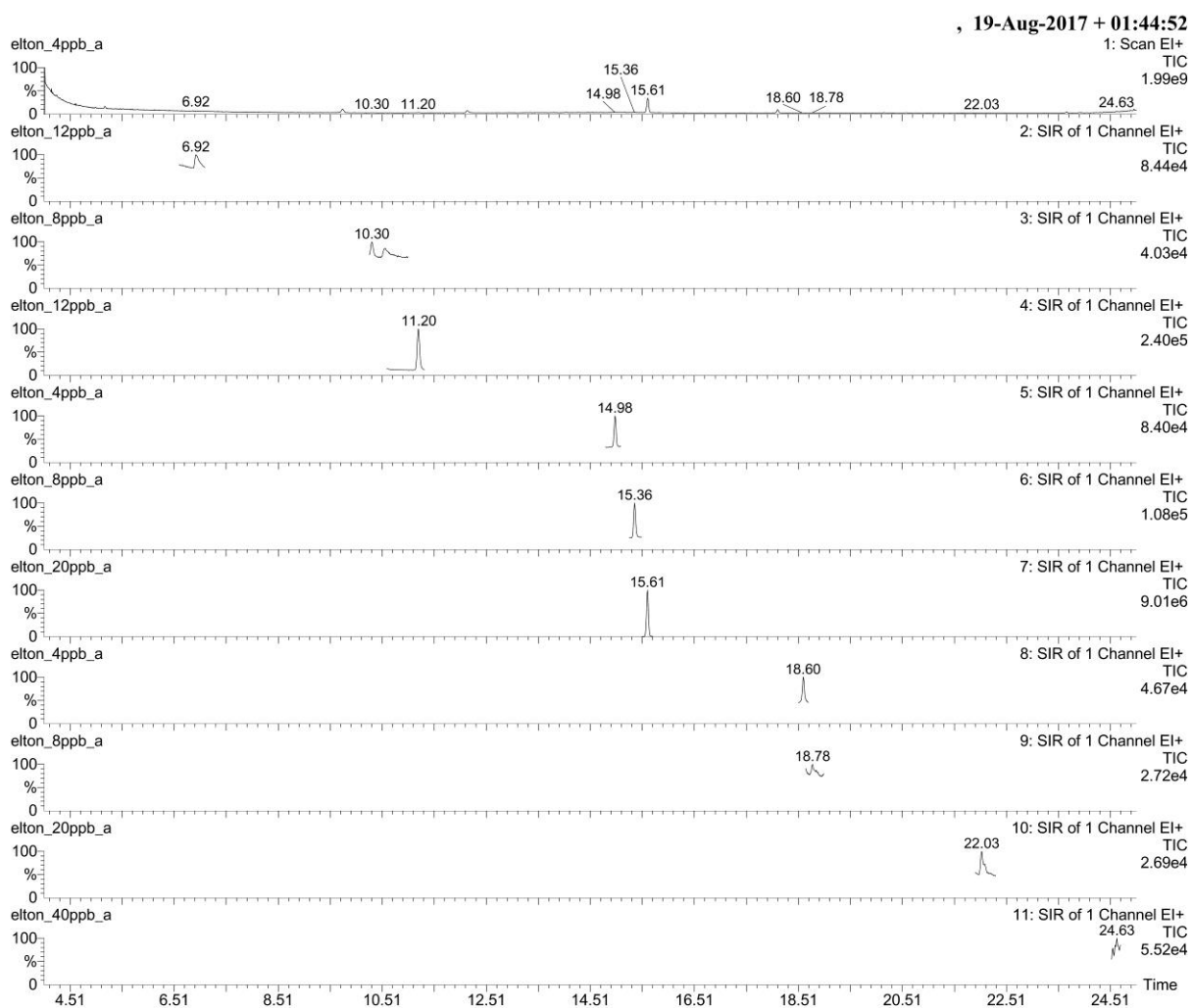


APÊNDICE C – Cromatogramas ácidos haloacéticos

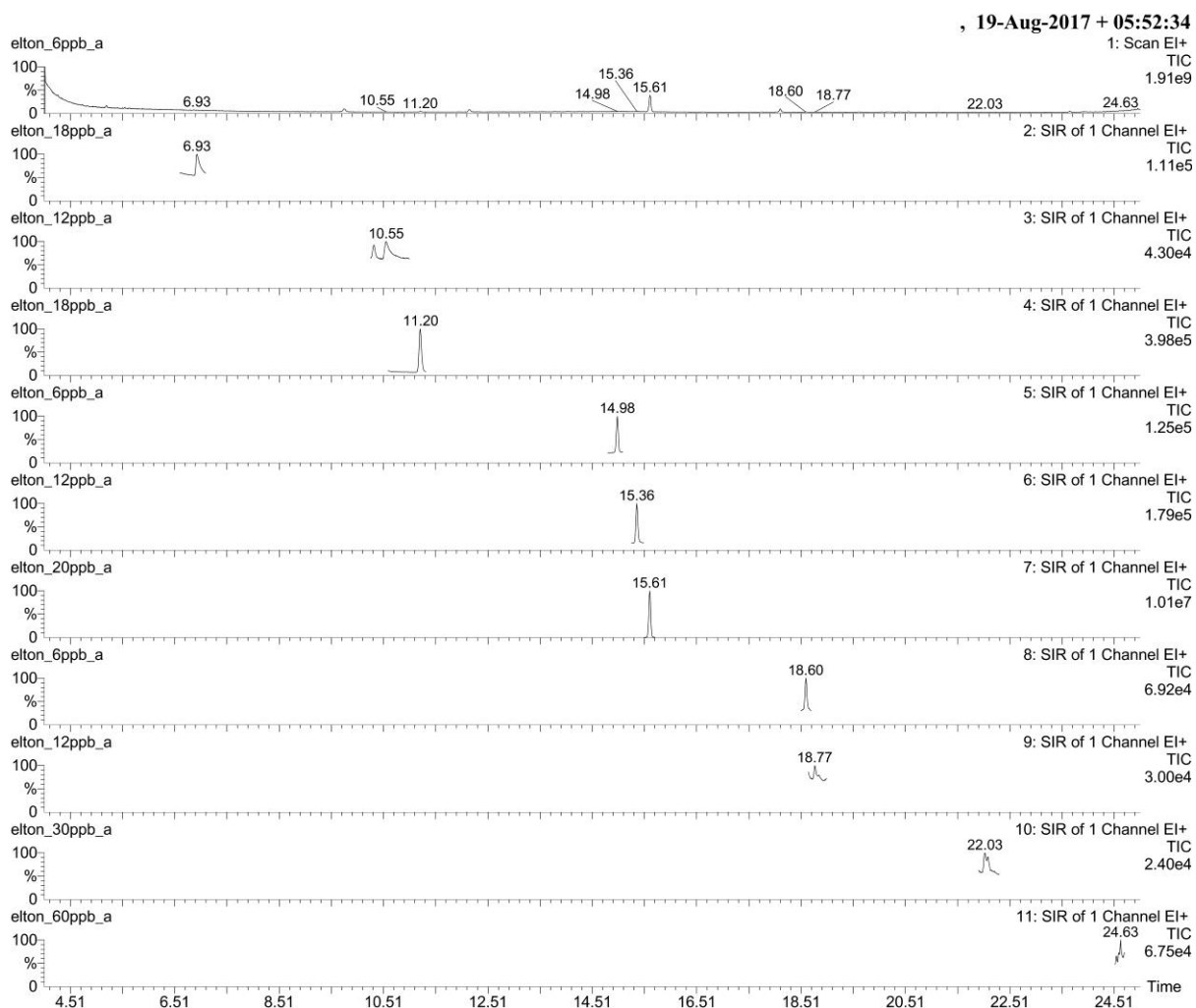
2 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 10 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



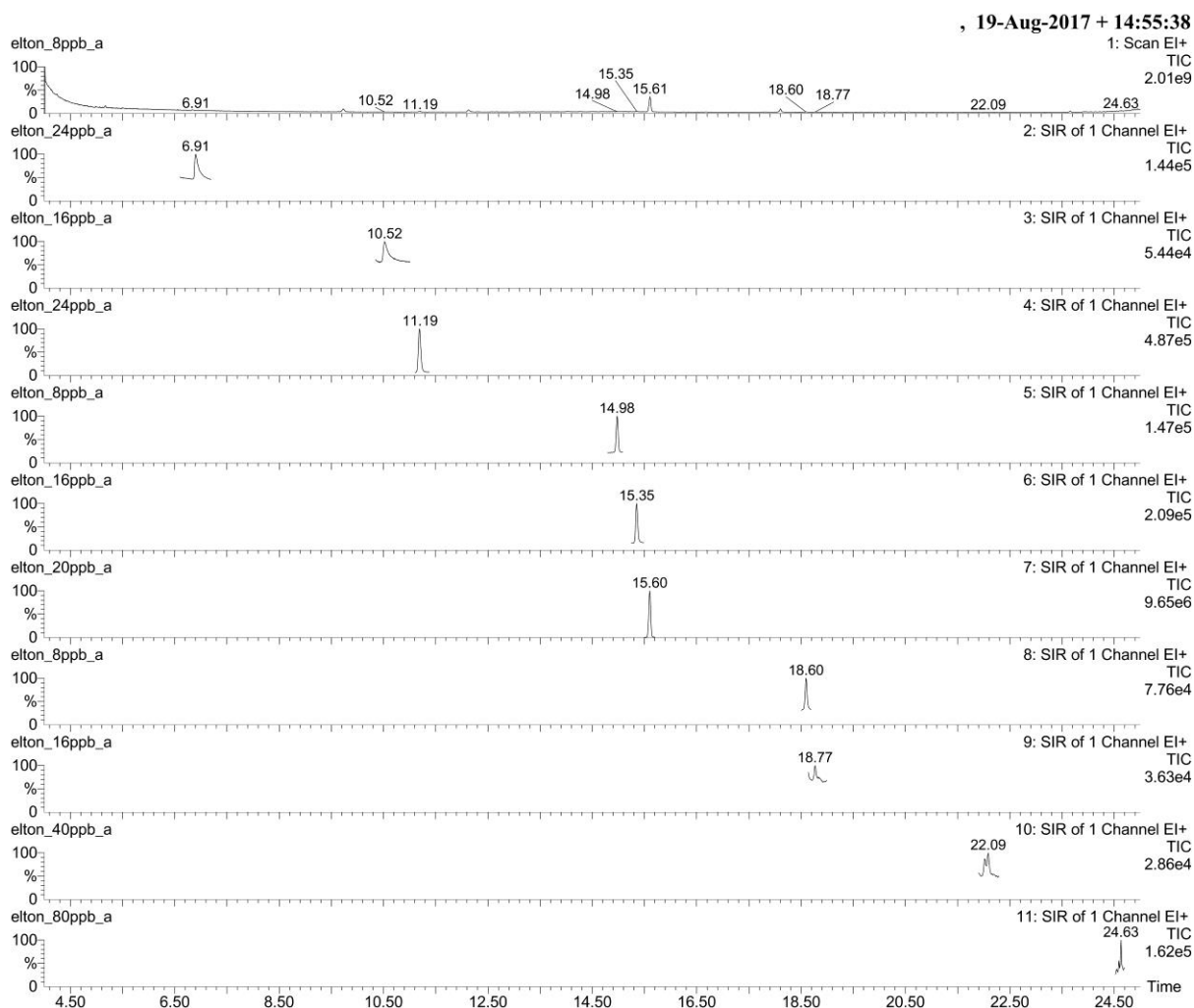
4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 20 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 40 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



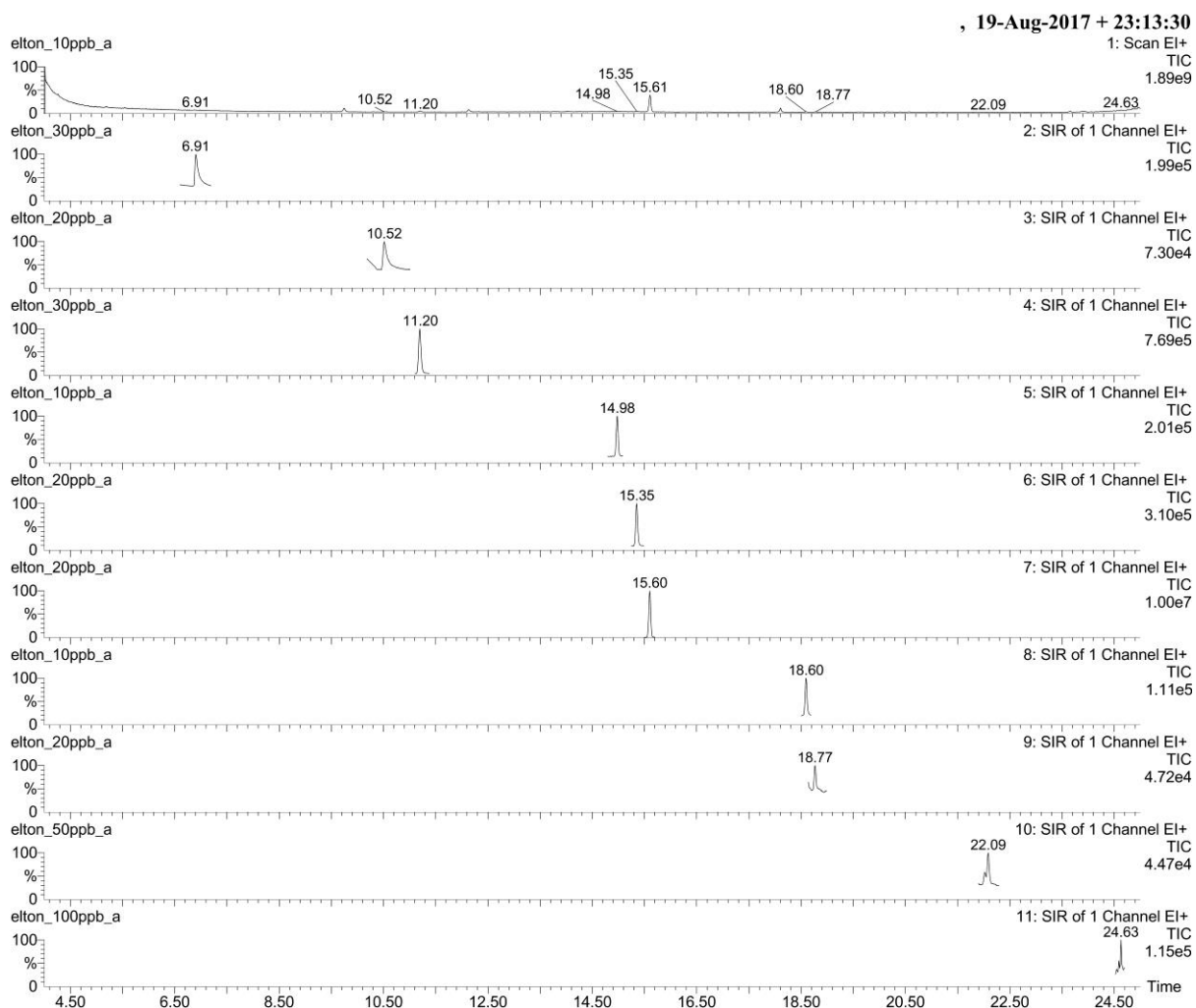
6 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 18 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 30 ($\mu\text{g. L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 60 $\mu\text{g. L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricoloropropano (SIR 7)



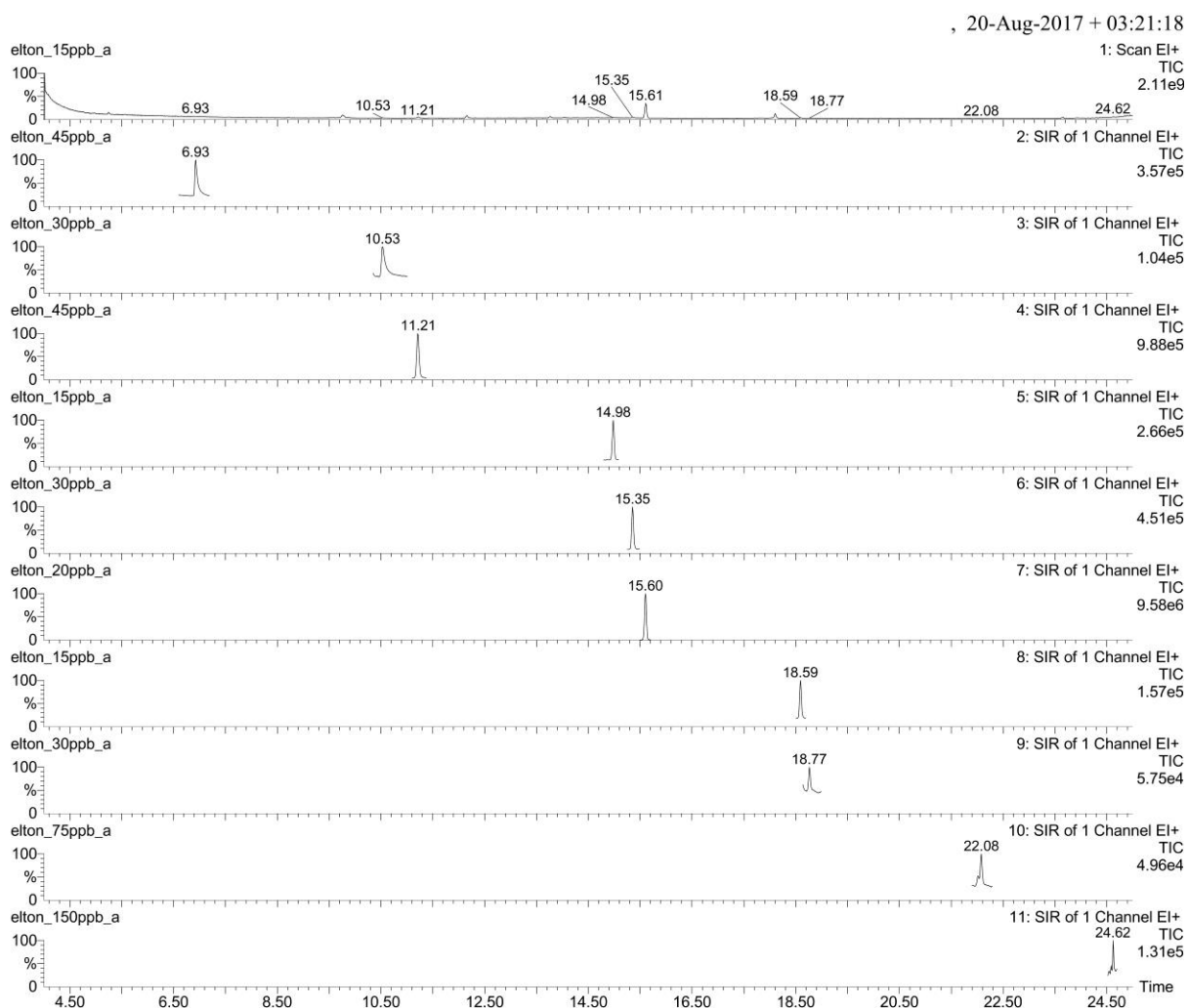
8 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 16 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 24 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 40 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 80 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



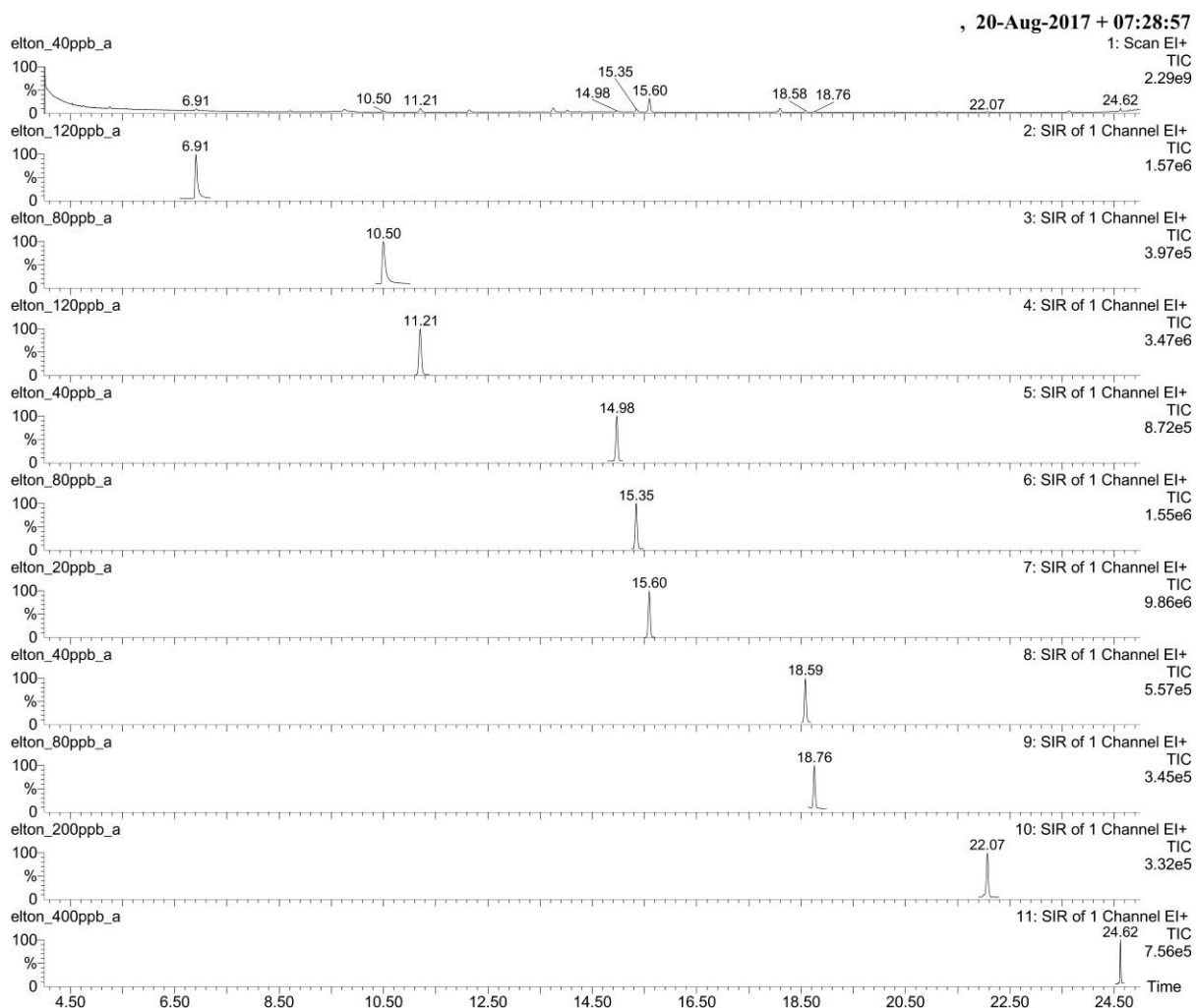
10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 50 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



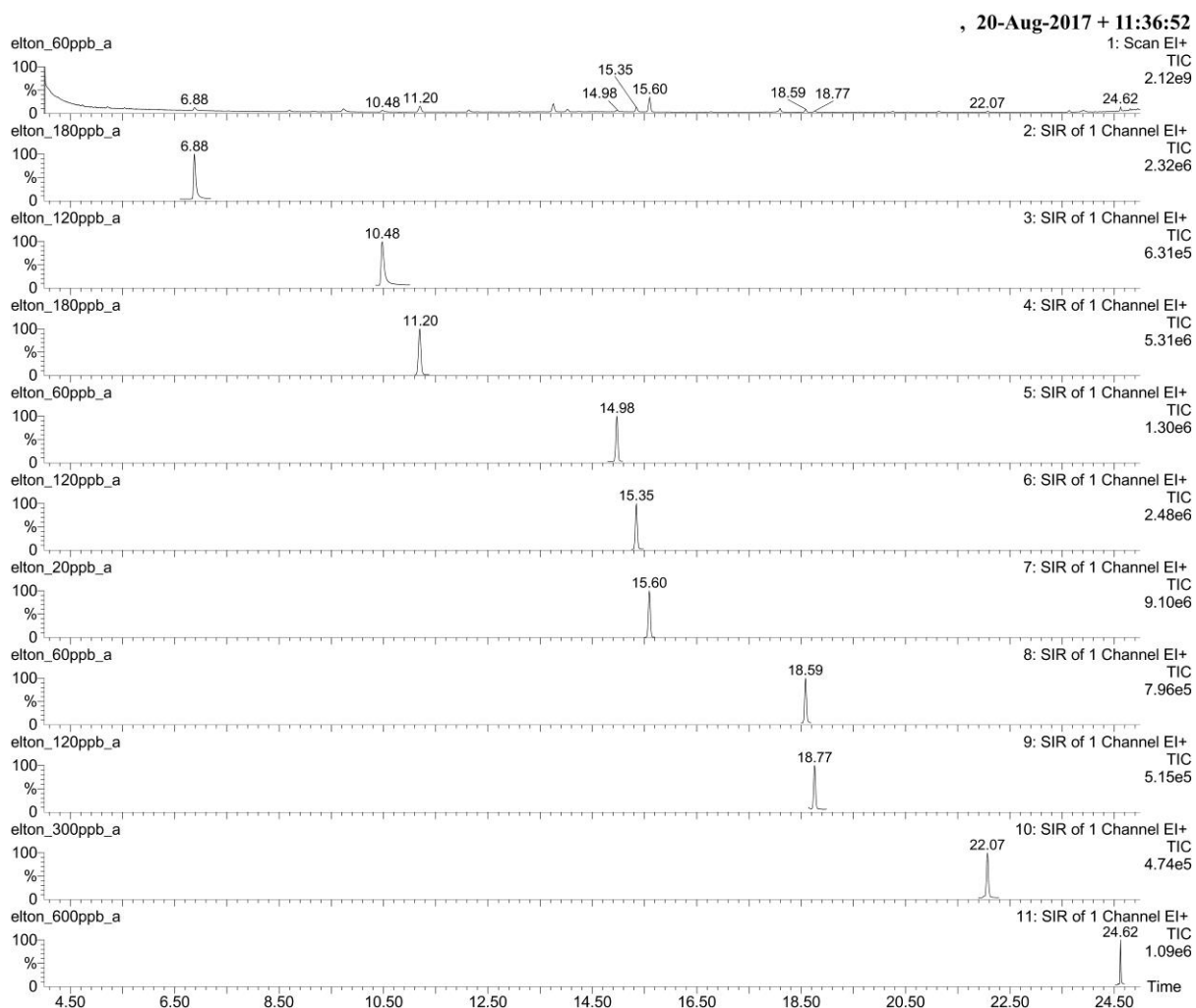
15 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 45 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 75 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



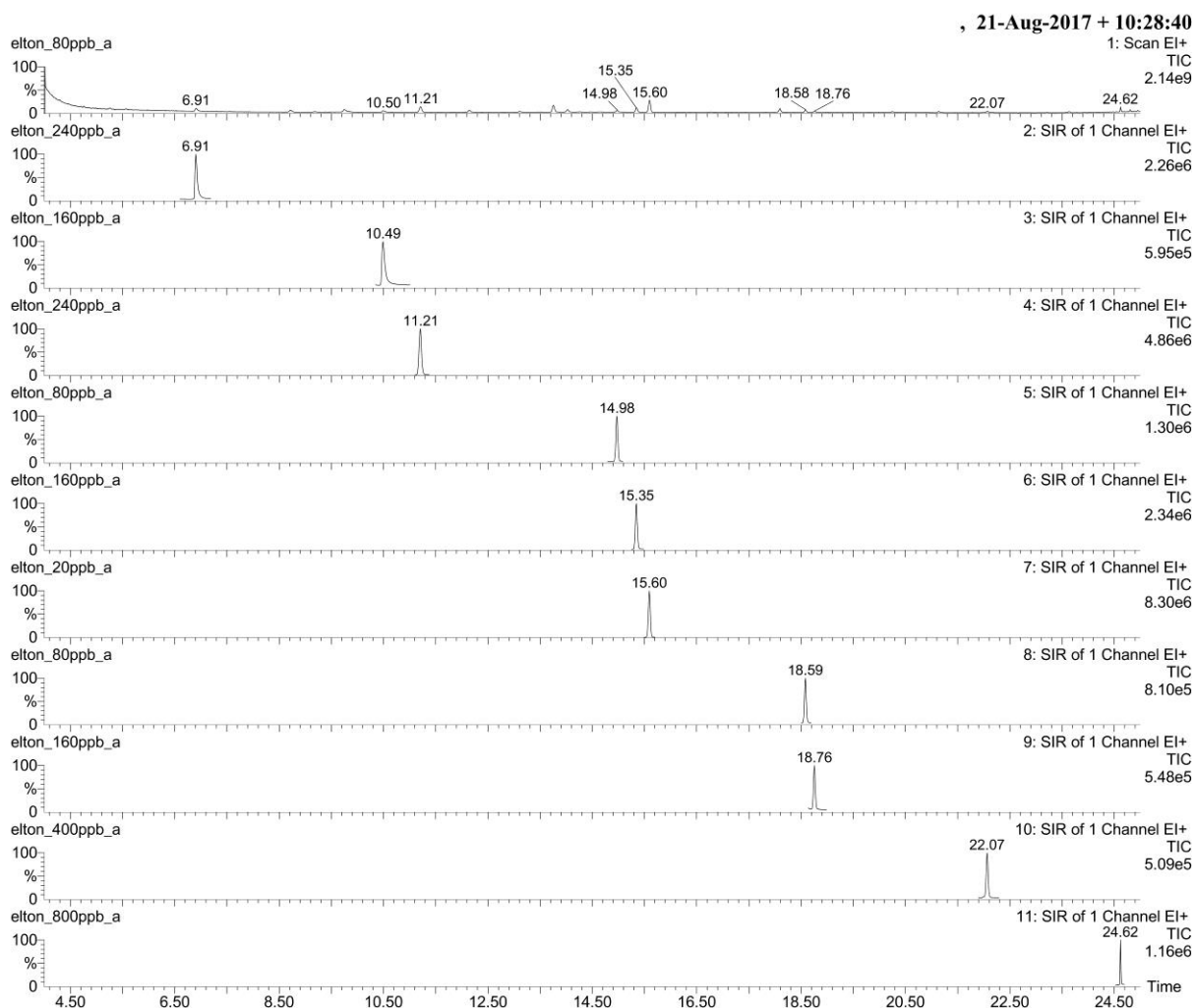
40 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 80 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 200 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 400 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



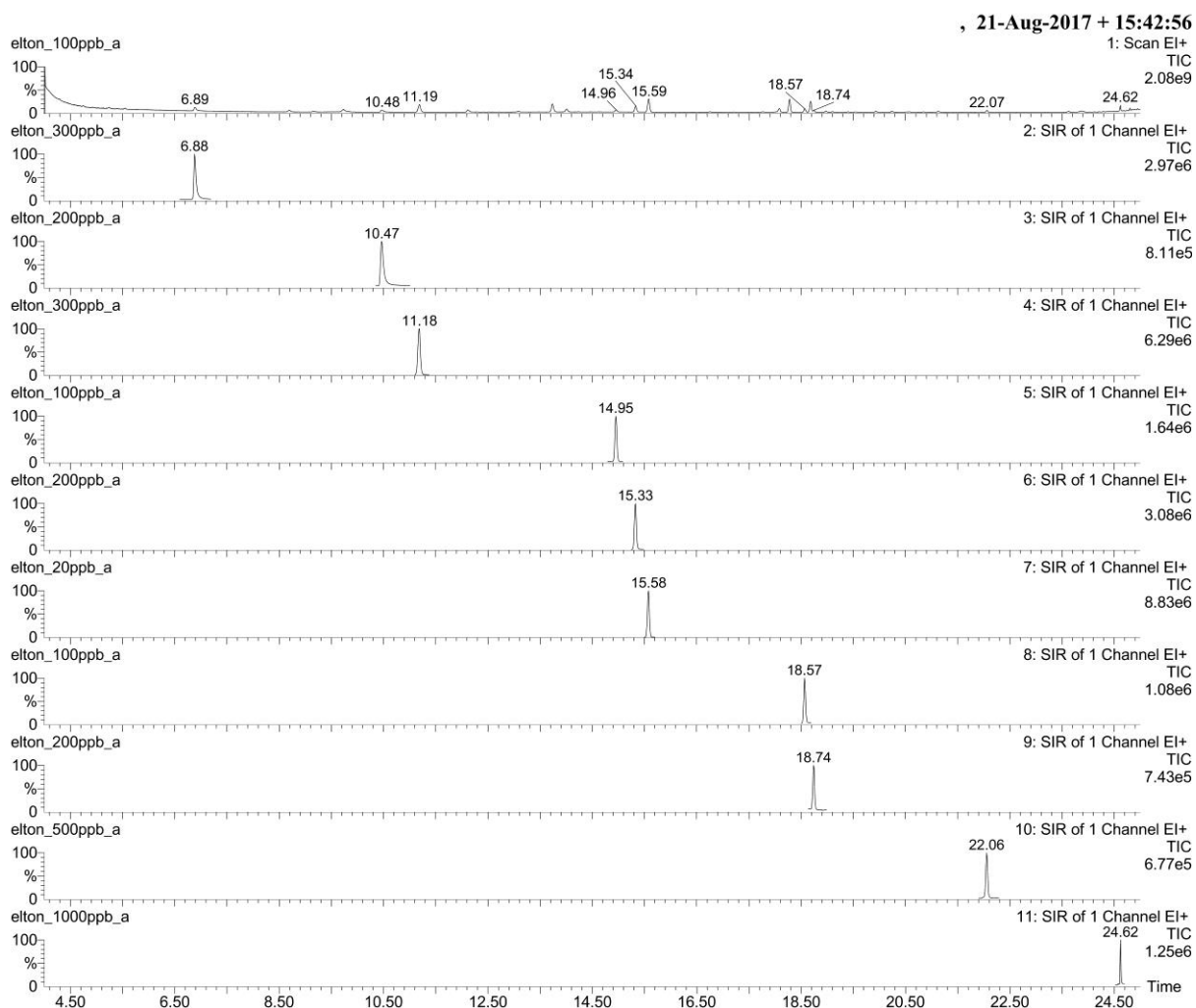
60 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 180 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 300 ($\mu\text{g. L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 600 $\mu\text{g. L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



80 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 160 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 240 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 400 ($\mu\text{g.L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 800 $\mu\text{g.L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



100 $\mu\text{g.L}^{-1}$, TCAA (SIR 5) e o DBAA (SIR 8); 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MBAA (SIR 3), o BCAA (SIR 6) e o BDCAA (SIR 9); 300 $\mu\text{g.L}^{-1}$, MCAA (SIR 2) e o DCAA (SIR 4); 500 ($\mu\text{g. L}^{-1}$), DBCAA (SIR 10) e 1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$; TBAA (SIR 11); 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$; 1,2,3 - tricloropropano (SIR 7)



APÊNDICE D – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ de *Microcystis aeruginosa* com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso

Hipoclorito de cálcio – 1×10^4 células.mL ⁻¹										Cloro gasoso – 1×10^4 células.mL ⁻¹									
Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão
	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min				30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min		
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,11	0,03	1,00	0,20	0,20	0,20	0,10	0,20	0,20	0,10	0,17	0,05
1,50	0,30	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,14	0,07	1,50	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,20	0,10	0,16	0,05
2,00	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,30	0,14	0,07	2,00	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,20	0,10	0,16	0,05
2,50	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,16	0,05	2,50	0,10	0,20	0,20	0,10	0,20	0,20	0,20	0,17	0,05
3,75	0,50	0,40	0,40	0,40	0,50	0,40	0,30	0,41	0,06	3,75	0,80	0,40	0,40	0,40	0,40	0,20	0,40	0,43	0,17
5,00	0,80	0,80	0,80	0,60	0,50	0,60	0,40	0,64	0,15	5,00	0,40	0,40	1,80	0,60	0,60	0,40	0,60	0,69	0,46
7,50	1,20	1,80	1,20	0,80	0,80	0,70	1,80	1,19	0,43	7,50	1,60	1,80	1,90	1,60	0,60	1,40	0,60	1,36	0,50
10,00	3,20	3,00	3,20	3,20	3,20	3,30	3,10	3,14	0,07	10,00	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	0,00

Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão
	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,50	0,10	0,10	0,17	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,02
2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
3,75	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	3,75	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,11	0,03
5,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	5,00	0,10	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,13	0,05
7,50	0,40	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,23	0,07	7,50	0,60	0,40	0,50	0,10	0,20	0,10	0,10	0,29	0,20
10,00	0,80	0,80	0,80	1,00	0,80	0,20	0,30	0,76	0,20	10,00	1,00	0,80	0,60	0,80	1,00	1,20	1,20	0,94	0,21

APÊNDICE E – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Microcystis aeruginosa* com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso

Hipoclorito de cálcio – 1×10^6 células.mL ⁻¹										Cloro gasoso – 1×10^6 células.mL ⁻¹									
Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão
	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min				30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min		
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,20	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,13	0,05	1,50	0,10	0,20	0,10	0,20	0,20	0,10	0,10	0,14	0,05
2,00	0,20	0,20	0,10	0,10	0,20	0,20	0,10	0,14	0,05	2,00	0,20	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10	0,15	0,15	0,05
2,50	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,14	0,05	2,50	0,10	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,14	0,05
3,75	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,40	0,40	0,23	0,12	3,75	0,20	0,20	0,01	0,15	0,15	0,15	0,20	0,16	0,03
5,00	0,20	0,20	0,40	0,30	0,40	0,30	0,40	0,30	0,08	5,00	0,40	0,40	0,06	0,40	0,80	0,40	0,20	0,46	0,18
7,50	0,40	0,40	0,60	0,20	0,40	0,40	0,40	0,40	0,11	7,50	0,60	0,40	0,60	0,60	0,40	0,40	0,40	0,49	0,10
10,00	1,00	1,00	1,20	1,00	1,00	1,20	1,80	1,20	0,26	10,00	1,30	1,5	1,30	1,20	1,80	1,80	1,80	1,23	0,25

Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão
	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h			
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
3,75	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,13	0,05	3,75	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
5,00	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,13	0,05	5,00	0,01	0,01	0,10	0,20	0,20	0,20	0,10	0,14	0,05
7,50	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,16	0,05	7,50	0,20	0,02	0,40	0,20	0,20	0,20	0,20	0,23	0,07
10,00	0,40	0,60	0,20	0,60	0,20	0,20	0,40	0,37	0,17	10,00	0,80	0,60	0,40	0,20	0,60	0,20	0,20	0,43	0,22

APÊNDICE F – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^4$ células.mL⁻¹ de *Cylindrospermopsis raciborskii* com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso

Hipoclorito de cálcio – 1×10^4 células.mL ⁻¹										Cloro gasoso – 1×10^4 células.mL ⁻¹									
Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão
	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min				30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min		
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,11	0,03	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,30	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,14	0,07	1,50	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,14	0,05
2,00	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,50	0,19	0,14	2,00	0,40	0,40	0,20	0,20	0,10	0,40	0,40	0,30	0,12
2,50	0,40	0,30	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,21	0,10	2,50	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,00
3,75	0,60	0,40	0,40	0,40	0,70	0,40	0,30	0,46	0,13	3,75	1,00	1,20	1,20	0,70	0,70	1,00	0,80	0,94	0,20
5,00	0,90	0,80	0,80	0,60	0,60	0,60	0,40	0,67	0,16	5,00	1,60	1,70	1,80	1,40	1,50	1,50	1,20	1,53	0,18
7,50	1,20	1,80	1,60	0,80	1,00	0,80	1,80	1,29	0,41	7,50	2,40	3,40	2,60	2,10	2,30	2,30	3,40	2,64	0,50
10,00	3,40	3,00	3,20	3,20	3,20	3,20	3,20	3,20	0,11	10,00	3,40	3,40	3,40	3,20	3,30	3,40	3,40	3,36	0,07

Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão
	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
3,75	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,11	0,03	3,75	0,10	0,40	0,30	0,10	0,10	0,10	0,10	0,17	0,12
5,00	0,10	0,20	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10	0,14	0,05	5,00	0,10	0,10	0,20	0,40	0,10	0,40	0,10	0,20	0,13
7,50	0,20	0,40	0,20	0,40	0,40	0,40	0,60	0,37	0,11	7,50	0,20	1,80	0,20	0,20	0,30	0,10	0,50	0,47	0,55
10,00	1,00	1,00	1,00	0,60	0,60	1,00	1,00	0,89	0,18	10,00	1,00	1,00	0,40	1,60	1,00	1,40	1,10	1,07	0,35

APÊNDICE G – Residual de cloro livre após 30 min e 24 h de tempo de contato da cloração de água com densidade de $1,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹ de *Cylindrospermopsi raciborskii* com os oxidantes hipoclorito de cálcio e cloro gasoso

Hipoclorito de cálcio – 1×10^6 células.mL ⁻¹										Cloro gasoso – 1×10^6 células.mL ⁻¹									
Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	Média	Desvio Padrão
	30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min				30min	30min	30min	30min	30min	30min	30min		
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,50	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,20	0,10	0,16	0,05	2,50	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,40	0,10	0,21	0,08
3,75	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,40	0,20	0,23	0,07	3,75	0,30	0,20	0,20	0,60	0,60	0,20	0,20	0,30	0,18
5,00	0,50	0,60	0,40	0,50	0,50	0,20	0,20	0,41	0,15	5,00	0,30	0,30	0,30	1,00	1,20	0,40	0,40	0,56	0,35
7,50	1,30	1,50	1,50	0,80	1,20	0,40	1,00	1,10	0,37	7,50	1,50	1,50	1,50	1,80	2,00	1,40	1,60	1,61	0,20
10,00	2,60	2,40	0,80	2,00	0,80	0,50	1,40	1,50	0,78	10,00	2,40	2,50	2,50	3,40	3,40	2,80	2,80	2,83	0,49

Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão	Dose (mg.L ⁻¹)	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	Média	Desvio Padrão
	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				24 h	24 h	24 h	24 h	24 h				
1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	1,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	2,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00
2,50	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,03	2,50	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,11	0,03
3,75	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,20	0,10	0,13	0,05	3,75	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10	0,11	0,03
5,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10	0,10	0,17	0,05	5,00	0,10	0,10	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10	0,13	0,05
7,50	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10	0,20	0,19	0,03	7,50	0,20	0,20	0,20	0,40	0,40	0,40	0,40	0,31	0,10
10,00	0,40	0,40	0,40	0,60	0,80	0,20	0,60	0,49	0,18	10,00	0,40	0,50	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,70	0,23

Anexo A – CERTIFICADO DE REFERÊNCIA DE MATERIAIS

[Brazil Início](#) > [Product Directory](#) > [Analytical/Chromatography](#) > [Analytical Standards](#) > [Additional Standards](#) > [Certified Reference Materials \(CRMs\)](#)

[Analytical / Chromatography Home](#)

[Analytical / Chromatography Products](#)

[Air Monitoring](#)

[Analytical Reagents & Solvents](#)

[Analytical Standards](#)

[Analytix Reporter – Analytical Journal](#)

[Applications Search](#)

[Bioanalysis](#)

[Chiral Chromatography](#)

[Custom Products](#)

[Food and Beverage Analysis](#)

[Gas Chromatography](#)

[HPLC & UHPLC](#)

[Labware, Vials and Syringes](#)

[LC-MS](#)

[Microbiology](#)

[Proficiency Testing](#)

[Purification](#)

[Sample Preparation & Handling](#)

[Specialty Carbon Adsorbents](#)

[Titration/Karl Fischer](#)

[Thin Layer Chromatography](#)

[Literature & Resources](#)

Certified Reference Materials (CRMs)

We offer a wide selection of CRMs to help the laboratory analyst achieve superior analytical results.

Certified Reference Materials and Accreditation:

Analytical measurements depend on many variables to provide the credible data needed to make informed decisions. The quality of this data is only as good as the reference material used to calibrate the measurement device. High quality reference materials are available only from organizations with a robust quality system. Accreditation to ISO/IEC 17025 and ISO Guide 34, also called Double Accreditation, represents the pinnacle of quality system achievement and allows the credible production and testing of Certified Reference Materials (CRMs).

Note - Beginning June 15, 2015, customers will see a change in the accreditation symbols found on the Certificate of Analysis (COA) for Certified Reference Materials (CRMs) and Proficiency Testing samples (PTs) sold under Sigma-Aldrich US based CRM producers. The ACLASS accreditation symbol is being replaced with the new ANAB brand symbol. This change reflects the decision by the ANSI-ASQ National Board of Accreditation, of which ACLASS is a part, to unify all of their internal brandings under a single brand. This change has no impact on the accreditation status for ISO/IEC 17025, ISO Guide 34 and ISO 17043 as it relates to US facilities. Since there is a phase in period, customers may see COAs with either symbol over the next two to three years.

[Organic CRMs TraceCERT - \(836\)](#)

[Inorganic CRMs TraceCERT \(AAS and ICP\) - \(228\)](#)

[Certified Reference Materials from Paragon Scientific - \(686\)](#)

[Certified Reference Materials from Cerilliant - \(555\)](#)

[Environmental Matrix CRMs \(RTC\) - \(777\)](#)

[Application CRMs - \(578\)](#)

[Matrix CRMs - \(912\)](#)

Brazil

Hello, Sign In

0 Items

[Brazil Info](#) > [Product Directory](#) > [Analytical/Chromatography](#) > [Analytical Standards](#) > [Additional Standards](#) > [Certified Reference Materials \(CRMs\)](#)

Analytical / Chromatography Home
Analytical / Chromatography Products
Air Monitoring
Analytical Reagents & Solvents
Analytical Standards
Analysis Reporter - Analytical Journal
Applications Search
Bioanalysis
Chiral Chromatography
Custom Products
Food and Beverage Analysis
Gas Chromatography
HPLC & UHPLC
Labware, Vials and Syringes
LC-MS
Microbiology
Proficiency Testing
Purification
Sample Preparation & Handling
Specialty Carbon Adsorbents
Titration/Karl Fischer
Thin Layer Chromatography
Literature & Resources

Certified Reference Materials (CRMs)

We offer a wide selection of CRMs to help the laboratory analyst achieve superior analytical results.

Certified Reference Materials and Accreditations

Analytical measurements depend on many variables to provide the credible data needed to make informed decisions. The quality of this data is only as good as the reference material used to calibrate the measurement device. High quality reference materials are available only from organizations with a robust quality system. Accreditation to ISO/IEC 17025 and ISO Guide 34, also called Double Accreditation, represents the pinnacle of quality system achievement and allows the credible production and testing of Certified Reference Materials (CRMs).

Note - Beginning June 15, 2015, customers will see a change in the accreditation symbols found on the Certificate of Analysis (COA) for Certified Reference Materials (CRM) and Proficiency Testing samples (PTs) sold under Sigma-Aldrich US based CRM products. The ACLASS accreditation symbol is being replaced with the new ANAB brand symbol. This change reflects the decision by the ANSI-ASQ National Board of Accreditation, of which ACLASS is a part, to unify all of their internal brandings under a single brand. This change has no impact on the accreditation status for ISO/IEC 17025, ISO Guide 34 and ISO 17043 as it relates to US facilities. Since there is a phase in period, customers may see COAs with either symbol over the next few to three years.

- [Organic CRMs TraceCERT - \(836\)](#)
- [Inorganic CRMs TraceCERT \(AAS and ICP\) - \(226\)](#)
- [Certified Reference Materials from Paragon Scientific - \(680\)](#)
- [Certified Reference Materials from Cerilliant - \(595\)](#)
- [Environmental Matrix CRMs \(RTC\) - \(777\)](#)
- [Application CRMs - \(578\)](#)
- [Matrix CRMs - \(912\)](#)

Web Toolbox
Calculators | Selectors | Exports

General Help
✉ Email Customer Support

SERVICE & SUPPORT

CUSTOMER SUPPORT
TECHNICAL SERVICE
WEB HELP DESK
SDS
C O F A

CORPORATE

BUSINESS DEVELOPMENT
WORLDWIDE OFFICES
ABOUT US
SITE MAP
CAREERS
EVENTS
PROGRAMS
REACH REGULATIONS
CONTACT US
EMAIL SUBSCRIPTION CENTER
TOOL BOX

Structure Search
JHE Editor
(Available for Free, PDF)

Ask a scientist
✉ Email Technical Service

ORDERING

CUSTOM PRODUCTS
E-COMMERCE SOLUTIONS
ORDER CENTER
PRODUCTS
TERMS & CONDITIONS OF SALE

© 2016 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Reproduction of any materials from this site is strictly forbidden without permission. Sigma-Aldrich Products are sold exclusively through Sigma-Aldrich, Inc. Site Use Terms | Privacy

[Brazil Inicio](#) CRM48140 - EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

SIGMA-ALDRICH

CRM48140 SUPELCO

EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

certified reference material, TraceCERT[†], 2000 µg/mL in methanol, ampule of 1 mL

[SDS](#) [SIMILAR PRODUCTS](#)

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical/Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Mais...
grade	certified reference material
	TraceCERT [†]
packaging	ampule of 1 mL
concentration	2000 µg/mL in methanol
application(s)	HPLC: suitable gas chromatography (GC): suitable
Agency/Method	EPA 501.3
	Show More (11)

Descrição

Other Notes

This certified reference material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho da Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
CRM48140	Previsão de entrega em 11.04.18	166.00	<input type="text" value="0"/>

[BULK ORDERS?](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

CRM48746
EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix
certified reference material, TraceCERT[†], 200 µg/mL each component in methanol, ampule of 1 mL

4S8746
EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix
200 µg/mL each component in methanol, certified reference material

[View Specs](#) CRM48140 - EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

SIGMA-ALDRICH

CRM48140 SIGFL.CO

EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

certified reference material, TraceCERT[®], 2000 µg/mL in methanol, ampule of 1 mL

[SDS](#) [SIMILAR PRODUCTS](#)

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical/Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Misc.
grade	certified reference material
	TraceCERT [®]
packaging	ampule of 1 mL
concentration	2000 µg/mL in methanol
applicator(s)	HPLC: suitable
	gas chromatography (GC): suitable
Agency/Method	EPA 501.3
	Show More (11)

Descrição

Other Notes

This certified reference material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT[®] is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho de Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
CRM48140	Provisão de entrega em 11.04.18	166,00	3

[BULK ORDER](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

CRM48746

EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

certified reference material, TraceCERT[®], 200 µg/mL each component in methanol, ampule of 1 mL

488746

EPA 501/601 Trihalomethanes Calibration Mix

200 µg/mL each component in methanol, certified reference material

[Brazil Inicio](#) CRM48943 - Fluorobenzene solution

SIGMA-ALDRICH

CRM48943 SUPELCO

Fluorobenzene solution

certified reference material, TraceCERT[®], 2000 µg/mL in methanol

[SDS](#) [SIMILAR PRODUCTS](#)

CAS Number [462-06-6](#)

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical/Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Mais...
grade	certified reference material
feature	TraceCERT [®]
packaging	standard type calibration
concentration	ampule of 1 mL
application(s)	2000 µg/mL in methanol
	HPLC: suitable
	gas chromatography (GC): suitable
	Show More (10)

Descrição

Other Notes

This certified reference material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT[®] is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho da Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
CRM48943	Existe apenas 5 em estoque (em breve haverá mais disponível) - DE	118.00	<input type="text" value="0"/>

[BULK ORDERS?](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

47895
Fluorobenzene solution
certified reference material,
1000 µg/mL in methanol



51411
Fluorobenzene
analytical standard

[View Item](#) CRM48943 - Fluorobenzene solution

SIGMA-ALDRICH

CRM48943 SUPPL CD

Fluorobenzene solution

certified reference material, TraceCERT[®], 2000 µg/mL in methanol

SDS SIMILAR PRODUCTS

CAS Number [462-06-6](#)

Propriedades

Related Categories	ISO Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Misc.
grade	certified reference material
	TraceCERT [®]
feature	standard type calibration
packaging	ampule of 1 mL
concentration	2000 µg/mL in methanol
application(s)	HPLC: suitable
	gas chromatography (GC): suitable
	Show More (12)

Descrição

Other Notes

This certified reference material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT[®] is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho da Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
CRM48943	Existe apenas 5 em estoque (em breve haverá mais disponível) - DE	118,00	<input type="text" value="0"/>

[BULK ORDER](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

47895

Fluorobenzene solution
certified reference material,
1000 µg/mL in methanol



51411

Fluorobenzene
analytical standard

Brazil Inicio 47669-U - 1,2,3-Trichloropropane solution

SIGMA-ALDRICH

47669-U SUPELCO

1,2,3-Trichloropropane solution

certified reference material, 1000 µg/mL in methyl *tert*-butyl ether

SDS SIMILAR PRODUCTS

CAS Number 96-18-4

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical/Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Mais...
grade	certified reference material TraceCERT [®]
feature	standard type internal
packaging	ampule of 1 mL
concentration	1000 µg/mL in methyl <i>tert</i> -butyl ether
application(s)	HPLC: suitable gas chromatography (GC): suitable

Descrição

Other Notes

This Certified Reference Material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

Produto **47669-U** foi **descontinuado**, porém, ainda há estoque.
Selecione as embalagem(s) disponível(eis) abaixo.

SKU - Tamanho da Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
47669-U	Previsão de entrega em 04.06.18	195.00	<input type="text" value="0"/>

BULK ORDERS?

ADICIONAR AO CARRINHO

Personalized Product Recommendations

47789
2,3-Dibromopropionic acid solution

47645
2-Bromopropionic acid solution

[View Item](#) 47669-U - 1,2,3-Trichloropropane solution

SIGMA-ALDRICH

47669-U SUPPL.CD

1,2,3-Trichloropropane solution

certified reference material, 1000 µg/mL in methyl tert-butyl ether

SDS SIMILAR PRODUCTS

CAS Number 96-18-4

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical Chromatography, Certified Reference Materials (CRM), Met...
grade	certified reference material
	TraceCERT [®]
feature	standard type internal
packaging	ampule of 1 mL
concentration	1000 µg/mL in methyl tert-butyl ether
application(s)	HPLC: suitable
	gas chromatography (GC): suitable
	Show More (11)

Descrição

Other Notes

This Certified Reference Material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

Produto **47669-U** foi descontinuado, porém, ainda há estoque.
Selecione as embalagem(s) disponível(ais) abaixo.

SKU - Tamanho de Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
47669-U	Provisão de entrega em 04.06.18	195,00	8

[BULK ORDER](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

47789
2,5-Dimethylpropanoic acid solution

47645
2-Chloropropanoic acid solution

Brazil Início 47787 - EPA 552.2 Acids Calibration Mix

SIGMA-ALDRICH

47787 SUPELCO

EPA 552.2 Acids Calibration Mixcertified reference material, in methyl *tert*-butyl ether (varied)

SDS

Propriedades

Related Categories	500 Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical/Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Mais...
grade	certified reference material TraceCERT [®]
feature	standard type calibration
packaging	ampule of 1 mL
concentration	in methyl <i>tert</i> -butyl ether (varied)
application(s)	HPLC: suitable gas chromatography (GC): suitable
	Show More (11)

Descrição**Other Notes**

This Certified Reference Material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho da Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
00000000000047787	Previsão de entrega em 31.05.18	579.00	<input type="text" value="0"/>

[BULK ORDERS?](#)[ADICIONAR AO CARRINHO](#)**Personalized Product Recommendations**

48047
EPA 552 Halogenated Acetic Acids Mix
certified reference material, 2000 µg/mL each component in methyl *tert*-butyl ether

861213
EPA Acid Calibration Mix 1
certified reference material, 2000 µg/mL each component in methylene chloride

[Back to top](#) 47747 - EPA 552.2 Acids Calibration Mix

SIGMA-ALDRICH

47747 SUPLENDO

EPA 552.2 Acids Calibration Mix

certified reference material, in methyl tert-butyl ether (varied)

SDS

Propriedades

Relevant Categories	ISO Series Drinking Water Methods, Additional Standards, Analytical Standards, Analytical Chromatography, Certified Reference Materials (CRMs), Misc...
grade	certified reference material
	TraceCERT [®]
feature	standard type calibration
packaging	ampule of 1 mL
concentration	in methyl tert-butyl ether (varied)
application(s)	HPLC: suitable gas chromatography (GC): suitable
	Show More (11)

Descrição

Other Notes

This Certified Reference Material (CRM) is produced and certified in accordance with ISO Guide 34:2009 and ISO/IEC 17025:2005. All information regarding the use of this CRM can be found on the certificate of analysis.

Application

Refer to the product's Certificate of Analysis for more information on a suitable instrument technique. Contact Technical Service for further support.

Legal Information

TraceCERT[®] is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC.

Disponibilidade e Preços

SKU - Tamanho de Embalagem	Disponibilidade	Preço (BRL)	Quantidade
06000000000047747	Previsão de entrega em 21.05.18	579,00	0

[BULK ORDER](#)

[ADICIONAR AO CARRINHO](#)

Personalized Product Recommendations

49047
EPA 552 Halogenated Acids
Mix
certified reference material,
2000 µg/mL each component in
methyl tert-butyl ether

861213
EPA Acid Calibration Mix 1
certified reference material,
2000 µg/mL each component in
methylene chloride