

**DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS EN AGUA POTABLE DE LA
CIUDAD DE BOGOTÀ**

CARLOS ENRIQUE CAMPO ALBAN

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL
BOGOTÁ, D.C.
2003**

**DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS EN AGUA POTABLE DE LA
CIUDAD DE BOGOTÀ**

CARLOS ENRIQUE CAMPO ALBAN

Proyecto de grado para optar al título de Magíster en Ingeniería Civil

Asesor:

Qca Sandra Liliana Estévez

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA CIVIL
BOGOTÁ, D.C.**

2003

MIC-2002-II-06

Nota de aceptación

Asesor

Bogotá, Febrero 10/03

A mis padres, hermanos y Pao

AGRADECIMIENTOS

A Sandra Liliana Estévez, por sus ayuda y paciencia.

A Paola Castro por su compañía y entendimiento en los momentos difíciles de este trabajo.

Al personal administrativo y operativo del Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de los Andes.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

1. ANTECEDENTES	16
1.1. MÉTODO EPA 552.2	17
1.2 STANDARD METHOD 6233	18
1.3 VARICIONES A ESTOS MÉTODOS	19
2. ÁCIDOS HALOACÉTICOS	20
2.1 ÁCIDO MONOCLOROACÉTICO	21
2.1.1 Origen	21
2.1.2 Usos	21
2.1.3 Toxicidad	22
2.2 ÁCIDO DICLOROACÉTICO	22
2.2.1 Origen	22
2.2.2 Usos	23
2.2.3 Toxicidad	23
2.3 ÁCIDO TRICLOROACÉTICO	23
2.3.1 Origen	24
2.3.2 Usos	24
2.3.3 Toxicidad	24
2.3.4 Efecto medio ambiental y biodegradabilidad	25
2.4 ÁCIDO MONOBROMOACÉTICO	25
2.4.1 Origen	25
2.4.2 Usos	26
2.4.3 Toxicidad	26
2.5 ÁCIDO DIBROMOACÉTICO	26

MIC-2002-II-06	18
2.5.1 Origen	26
3. ASPECTOS IMPORTANTES DE LOS ÁCIDOS HALOACÉTICOS	27
3.1 FORMACIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS	27
3.1.1 Materia orgánica	27
3.1.2 Cinética de reacción	27
3.1.3 Condiciones de reacción	28
3.2 ESTUDIOS DE TOXICIDAD ACERCA DE	28
ÁCIDOSHALOACETICOS	
3.3 DESTINO MEDIOAMBIENTAL DE LOS ÁCIDOS HALOACÉTICOS	30
3.4 NORMATIVIDAD	31
3.5 TECNICAS DE EXTRACCIÓN DE ACIDOS HALOACÉTICOS	32
3.5.1 Microextraccion en fase sólida	33
3.5.1.1 Principio de la extracción en fase sólida	33
3.5.1.2 Parámetros que afectan la eficiencia de la extracción	34
3.5.1.3 Polaridad, porosidad y área superficial de la fibra	34
3.5.1.4 Espesor del recubrimiento de la fibra	35
3.5.1.5 Agitación de la muestra	35
3.5.1.6 Muestreo por inmersión vs muestreo en espacio de cabeza vacío	36
3.5.1.7 Concentración de sal y pH	36
3.5.1.8 Temperatura	38
3.5.2 EXTRACCIÓN LÍQUIDO - LÍQUIDO	38
3.6 DERIVATIZACIÓN	39
4. MATERIALES Y MÉTODOS	41
4.1 REACTIVOS Y ESTÁNDARES	41
4.2 EQUIPOS	43
4.3 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO	45
4.3.1 Preparación de la muestra	46
4.3.2 Derivatización	46
4.3.3 Extracción	46

MIC-2002-II-06	19
4.4 ANÁLISIS PRELIMINARES	48
4.4.1 Selección de Fibra	49
4.4.2 Análisis de <i>Head-space</i> .	50
4.4.3 Análisis de confirmación en el HRGC/MSD	50
4.4.4 Determinación de los niveles mínimos de detección de ácidos haloacéticos.	51
4.5 ANÁLISIS DE MUESTRAS	51
4.5.1 Análisis de muestras en el Cromatógrafo de gases acoplado con Espectrometría de masas (GC/MSD).	55
4.5.2 Análisis de muestras en el Cromatógrafo de gases acoplado con detector de captura de electrones (GC/ECD).	55
4.5.3 Análisis de muestras de agua	57
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	58
5.1 SELECCIÓN DE FIBRA	58
5.2 ANÁLISIS DE VOLUMEN DE <i>HEAD-SPACE</i> EN EL CROMATOGRFO DE GASES ACOPLADO CON EL DETECTOR SELECTIVO DE MASAS(GC-MSD)	60
5.3 ANÁLISIS DE CONFIRMACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES –DETECTOR DE SELECTIVO DE MASAS	64
5.4 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES MÍNIMOS DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS	66
5.4.1 Sistema de Cromatografía de Gases – Detector Selectivo de Masa	66
5.4.2 Sistema de cromatografía de gases – detector de captura de electrones	68
5.5 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS	70
5.5.1 Curvas de calibración	71
5.5.2 Porcentajes de recuperación	72
5.5.3 Tiempos de retención y estudio de la reproducibilidad de los tiempos de retención	73

MIC-2002-II-06	20
5.5.4 Áreas de respuesta y estudio de la reproducibilidad de las áreas	74
5.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA POTABLE	75
6. RECOMENDACIONES	77
7. CONCLUSIONES	78
REFERENCIAS	80
ANEXOS	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Limites de detección para el método EPA 552.2	18
Tabla 2. Limites de detección para el método Standard Method 6233	18
Tabla 3. Limites de detección para diferentes investigaciones en ácidos haloacéticos	19
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del ácido monocloroacético	21
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas del ácido dicloroacético	22
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas del ácido tricloroacético	24
Tabla 7. Propiedades fisicoquímicas del ácido monobromoacético	25
Tabla 8. Propiedades fisicoquímicas del ácido dibromoacético	26
Tabla 9. Efecto del espesor del recubrimiento de la fibra en la recuperación del analito.	35
Tabla 10. Influencia de la adición de sal y cambio de pH en la eficiencia de la extracción.	37
Tabla 11. Composición del patrón Accustandard M-552.2A-R1	42
Tabla 12. Volúmenes de head-space analizados	50
Tabla 13. Relación carga-masa usadas en la detección de ácidos haloacéticos por MSD modo SIM	51
Tabla 14. Concentraciones utilizadas en la obtención de la curva de calibración	56
Tabla 15. Resultados de la integración analítica del cromatograma de 0.1 µg/L	68
Tabla 16. Niveles de detección mínimos calculados para ácidos haloacéticos.	69
Tabla 17. Curvas de calibración para el MCAA empleando GC-MSD	71
Tabla 18. Curvas de calibración para el rango de concentración bajo	72
Tabla 19. Curvas de calibración para el rango de concentración alto	72

Tabla 20. Porcentajes de recuperación del ácido monocloroacético en 73 muestras de agua.

Tabla 21. Tiempos de retención para MCAA por GC/MSD 74

Tabla 22. Tiempos de retención para ácidos haloacéticos 74

Tabla 23. Áreas de respuesta obtenidas para ácidos haloacéticos 74

Tabla 24. Áreas de respuesta obtenidas para ácidos haloacéticos 74

Tabla 25. Concentraciones promedio de ácidos haloacéticos detectados en 76 muestras de agua potable.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Cromatógrafo de Gases acoplado con Detector Selectivo de Masas 44
(HRGC-MSD)
- Figura 2. Cromatógrafo de gases acoplado con detector de captura de 45
electrones
- Figura 3. Procedimiento de microextracción en fase sólida para el aislamiento 47
de ácidos haloacéticos.
- Figura 4. Montaje en SPME para muestreo en head-space de muestras de 48
aguas potable.
- Figura 5. Representación gráfica de una curva de calibración 53
- Figura 6. Cromatograma obtenido por SPME de una muestra derivatizada de 58
100 µg/L de ácidos haloacéticos con Fibra PDMS.
- Figura 7. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 100 59
µg/L de ácidos haloacéticos con Fibra CAR/PDMS.
- Figura 8. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 60
µg/L de ácidos haloacéticos con una relación de headspace 0.002/2 mL y
Fibra CAR/PDMS
- Figura 9. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 61
µg/L de ácidos haloacéticos con una relación de headspace 3/10 mL y Fibra
CAR/PDMS.
- Figura 10. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 62
µg/L de ácidos haloacéticos con una relación de headspace 70/100 mL y Fibra
CAR/PDMS
- Figura 11. Curva obtenida para concentraciones 0.1, 0.5, 1 y 2 µg/L de 63

muestras derivatizadas de ácidos haloacéticos con headspace 70/100 mL

Figura 12. Perfil cromatográfico de las relaciones (m/z) para el ácido monocloroacético. 65

Figura 13. Cromatograma obtenido por SPME de una muestra de 0.1 µg/L de ácidos haloacéticos derivatizadas 67

Figura 14. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 0.1 µg/L de ácidos haloacéticos 69

Figura 15. Perfil cromatográfico para agua potable 75

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. ESTRUCTURAS DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS REGULADOS POR LA USEPA	83
ANEXO B. CURVAS DE CALIBRACIÓN PARA ÁCIDOS HALOACÉTICOS	85

INTRODUCCIÓN

La interacción del hombre con el medio que lo rodea ha provocado la aparición de ciertos compuestos que llegan a ser de extrema importancia debido a su toxicidad; la desinfección del agua potable con Cloro gaseoso es un ejemplo de ello, ya que ha traído consigo la aparición de compuestos con características tóxicas para los seres humanos [1]. Dentro de estos se encuentran los Trihalometanos (THMs) y los Ácidos Haloacéticos (AHAs), compuestos orgánicos tanto volátiles como no volátiles respectivamente y que contienen halógenos (Cloro y/o Bromo) en su estructura molecular.

La presencia de estos compuestos tóxicos fue reportada en el agua potable desinfectada con Cloro en los años 80s [2] y debido a la posible exposición crónica de los animales y seres humanos a estos se han incrementado los esfuerzos por tratar de establecer cuantitativamente la presencia de los mismos.

En este trabajo se estandarizó una metodología para el análisis de ácidos haloacéticos en agua potable por cromatografía de gases de alta resolución usando un detector de captura de electrones. La técnica de extracción utilizada fue la microextracción en fase sólida (SPME).

1. ANTECEDENTES

El análisis de compuestos orgánicos en plantas, animales, seres humanos y muestras del medio ambiente es complejo. Esto se debe en parte a tres factores a saber. El primer factor relevante es la estandarización de las técnicas de extracción y de detección, debido a que requiere la manipulación de grandes cantidades de muestras y la exposición a compuestos tóxicos durante espacios prolongados de tiempo. El segundo factor, es el costo de la implementación de estas técnicas, ya que requiere la adquisición de costosos patrones cada cierto período de tiempo. Por último la accesibilidad a los equipos necesarios para la detección de las muestras, ya que son extremadamente costosos y además requieren de personal calificado para el análisis de los resultados.

En cuanto a detectores se desea obtener cada vez más, detectores sensibles y universales. Este es el caso del Detector de Captura de Electrones (ECD), el cual es ampliamente usado en el análisis de compuestos orgánicos halogenados tales como los ácidos haloacéticos. Este contiene una pequeña porción de una lamina radiactiva que contiene ^{63}Ni . Estos electrones altamente cargados ionizarán el gas *carrier*, y producirá electrones de baja energía y iones positivos. Cuando un compuesto electrolítico sale de la columna y pasa a través del detector de captura de electrones, este recogerá algunos de los electrones de baja energía y reducirá la corriente del ánodo. El compuesto más electronegativo será el más sensible al ECD. El ECD casi no muestra ninguna respuesta a las aminas, alcoholes e hidrocarburos. Es excepcionalmente sensible a plaguicidas halogenados y

productos secundarios de desinfección con Cloro. Con base en esto es el detector mencionado por la mayoría de referencias bibliográficas [1] y [3] para la detección de ácidos haloacéticos.

La aparición de algunos compuestos con características químicas difíciles para el análisis por cromatografía de gases tales como la polaridad y la no volatilidad, han hecho que se desarrollen técnicas de extracción, las cuales buscan minimizar el uso de solventes, el tiempo de extracción y la manipulación de la muestra, que finalmente incrementa la posibilidad de contaminación de la misma.

En cuanto a técnicas de extracción para los ácidos haloacéticos existe variedad de investigaciones con respecto a estas, la mayoría de estas se basan en el método EPA 552.2. A continuación se mencionan los aspectos más relevantes de algunos de los métodos estándar implementados para el análisis de ácidos haloacéticos así como también se mencionan variaciones realizadas a estos métodos.

1.1 MÉTODO EPA 552.2.

Es un método en el que se utiliza la extracción líquido – líquido con metil terbutil éter como solvente de extracción. Los ácidos haloacéticos que han sido extraídos a la fase orgánica son derivatizados a sus metil esteres utilizando metanol como agente derivatizante. El extracto ácido se neutraliza con una solución saturada de bicarbonato y los ácidos haloacéticos derivatizados son analizados por cromatografía de gases acoplado con un detector de captura de electrones (GC/ECD) [4].

Los límites de detección de este método se muestran en la Tabla 26

Tabla 26. Limites de detección para el método EPA 552.2

Compuesto	MDL* (µg/L)
MCAA	0.273
DCAA	0.242
TCAA	0.079
MBAA	0.066
DBAA	0.204

*MDL: Method detection Limit (Limite de detección del método)

1.2 STANDARD METHOD 6233.

Este método también utiliza extracción líquido– líquido con metil terbutil éter como solvente de extracción y análisis por GC/ECD, pero el agente derivatizante es una solución de diazometano. Los limites de detección (MDL) para este método se muestran en la Tabla 27. [5]

Tabla 27. Limites de detección para el método Standard Method 6233

Compuesto	MDL (µg/L)
MCAA	0.082
MBAA	0.087
DCAA	0.054
TCAA	0.054
DBAA	0.065

Este método tiene limites de detección bajos pero su principal desventaja es el uso de diazometano el cual es un potente cancerígeno además debe ser preparado inmediatamente antes de ser utilizado en la prueba. El método EPA no posee

desventajas apreciables y es así como es la base de la mayoría de las variaciones que se han realizado. A continuación se mencionan algunas de éstas.

1.3 VARIACIONES A ESTOS MÉTODOS.

Debido a que cada vez se desea mejorar tanto en las técnicas de extracción como de detección, se han desarrollado variaciones a estas, sobretodo en los aspectos de extracción y derivatización de los ácidos haloacéticos, a continuación se mencionan algunas de las recientes investigaciones encontradas en la revisión bibliográfica.

Tabla 28. Límites de detección para diferentes investigaciones en ácidos haloacéticos

Equipo/Detector	Extracción	Agente derivatizante	LOD*	Referencia
Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS)	Extracción Líquido Líquido (LLE)	Metanol	< 1 ppb	[6]
Cromatógrafo de gases acoplado con Detector de captura de Electrones (GC/ECD)	LLE	Metanol	0.01-0.2 ppb	[3]
Cromatógrafo de gases (GC/ECD)	SPME	Etanol	10-200 ng/L	[1]

* LOD: limit of detection (límite de detección)

2. ÁCIDOS HALOCÉTICOS

Los ácidos haloacéticos son compuestos orgánicos halogenados que se forman por la reacción de la materia orgánica disuelta en el agua a ser tratada (cruda), con el Cloro utilizado para la desinfección. De acuerdo con la US Environmental Protection Agency (USEPA) [7] se conocen hasta el momento aproximadamente 9 compuestos llamados ácidos haloacéticos, a saber:

Ácido bromocloroacético (BCAA, por sus siglas en ingles), ácido bromodicloroacético (BDCAA), ácido clorodibromoacético (CDBAA), ácido dibromoacético (DBAA), ácido dicloroacético (DCAA), ácido monobromoacético (MBAA), ácido monoclorigoacético (MCAA), ácido tribromoacético (TBAA) y ácido tricloroacético (TCAA).

Según USEPA [7], los ácidos regulados son solo cinco, los cuales son: ácido monoclorigoacético (MCAA), DCAA, TCAA, ácido monobromoacético (MBAA) y ácido dibromoacético (DBAA).

A continuación se presenta información relevante sobre algunas de las sustancias pertenecientes a este grupo que fueron estudiadas en el desarrollo experimental y en el **Anexo A** se encuentran las estructuras químicas de las mismas.

2.1 ÁCIDO MONOCLOROACÉTICO

Este compuesto puede sufrir una variedad de reacciones químicas debido a que tiene amplia aplicación como compuesto industrial intermedio. Se comercializa en forma sólida de color blanco, además se puede encontrar en sus formas α , β y γ . Generalmente en el comercio se encuentra en su estado α .

En la Tabla 29 se muestran algunas de las características físico-químicas de este compuesto.

Tabla 29. Propiedades fisicoquímicas del ácido monocloroacético

Formula Molecular	C ₂ H ₃ ClO ₂
Número CAS	79-11-8
Peso molecular	94.5
Punto de fusión	61-62 °C
Punto de ebullición	188
Solubilidad en agua	Soluble, >10 g/100 mL a 20 °C
Constante de ley de Henry	
ln k'_H (kgmol⁻¹atm⁻¹) a 298.15 [8]	11.59 ± 0.14
Log k_{ow}	-0.53 a 0.48
pka	2.8

2.1.1 Origen. Existen dos formas principales de obtener industrialmente el ácido monocloroacético: la cloración del ácido acético (principal forma de obtención en EEUU y Canadá) [9]; y la hidrólisis del tricloroetileno con ácido sulfúrico (practicada en Europa) [9].

2.1.2 Usos. El ácido monocloroacético se emplea en la obtención de compuestos tales como el cloroacetato de sodio y el ácido glicólico.

2.1.3 Toxicidad. En una investigación realizada durante dos años, no se encontró evidencia de actividad cancerígena del MCAA en ratas y ratones, a las cuales se les suministro dosis entre 15 a 30 mg/kg. Se encontró a su vez que la administración de MCAA estaba asociada con lesiones de la mucosa nasal [9].

Por otra parte, la exposición a soluciones líquidas concentradas de MCAA de conejos puede ser rápidamente adsorbida a través de la piel en cantidades tóxicas y provocar incluso la muerte de estos. La dosis letal media (LD₅₀, por sus siglas en Ingles) para el ácido monocloroacético es 76 mg/kg [9].

2.2 ÁCIDO DICLOROACÉTICO

En la Tabla 30 se muestran algunas de las características físico-químicas de este compuesto.

Tabla 30. Propiedades fisicoquímicas del ácido dicloroacético

Formula Molecular	C ₂ H ₂ Cl ₂ O ₂
Número CAS	79-43-6
Peso molecular	128.95
Punto de fusión	9.7 °C
Punto de ebullición	194 °C
Solubilidad en agua	Soluble > 10 g/100 mL a 15°C
Constante de ley de Henry	
ln k'_H (kgmol⁻¹atm⁻¹) a 298.15 [8]	11.69 ±0.11
pka	1.48

2.2.1 Origen. Este ácido se puede obtener sintéticamente de diferentes maneras: por reacción del hidrato de cloral con carbonato de calcio seguida por

acidificación, la cloración del ácido acético y monocloraacético, la reducción electrolítica del ácido tricloroacético y la hidrólisis del pentacloroetano.

2.2.2 Usos. Este ácido posee actividad fungicida y se desarrolló para combatir varias clases de Estafilococos.

2.2.3 Toxicidad. Estudios en animales han demostrado que el ácido dicloroacético causa efectos adversos en el cerebro, testículos y ojos [10]. Además se ha encontrado que este compuesto causa tumores en el hígado de ratas [10].

Una investigación reciente encontró que el DCAA puede causar tumores testiculares en ratones [10]. La LD₅₀ oral en ratas es de 2820 mg/kg y en piel (conejos) es de 510 mg/kg [9]. Este compuesto además puede causar quemaduras cáusticas a la piel y los ojos, y en caso de inhalación, sus vapores son muy irritantes.

2.3 ÁCIDO TRICLOROACÉTICO

Este compuesto fue introducido en 1950 principalmente para control de malezas en cosechas, ya que es un herbicida que preferencialmente ataca los monocotiledones [11].

Se ha encontrado que si la presencia de TCAA fuera de origen antropogénico, se esperaría que las cantidades de este en el hemisferio norte fueran mucho más grandes que en el sur, pero este no es el caso, debido a que se han detectado diferencias muy marcadas entre las encontradas en Chile y en el occidente de Canadá, lo que sugiere que puede existir un flux de forma biogénica [11].

En la Tabla 31 se muestran algunas de las características fisico-químicas de este compuesto.

Tabla 31. Propiedades fisicoquímicas del ácido tricloroacético

Formula Molecular	C ₂ H ₃ ClO ₂
Número CAS	76-03-9
Peso molecular	94.5
Punto de fusión	61-62 °C
Punto de ebullición	188
Solubilidad en agua	Soluble, >10 g/100 mL a 20 °C
Constante de ley de Henry	
ln k'_H (kgmol⁻¹atm⁻¹) a 298.15 [8]	11.59 ± 0.14
Log k_{ow}	<1 – 1.6
pka	0.7

2.3.1 Origen. El ácido tricloroacético se obtiene sintéticamente en EEUU por la exhaustiva cloración del ácido acético; existen patentes que indican la producción de éste por la oxidación del hidrato de cloral con ácido nítrico y la oxidación electrolítica del tetracloroetileno [9].

2.3.2 Usos. Pequeñas cantidades de este compuesto se utilizan como antiséptico, pero la mayoría de la producción se usa en forma de tricloroacetato de sodio, como herbicida [9].

2.3.3 Toxicidad. La LD₅₀ oral en ratas es 5000 mg/Kg [9]. El TCAA presenta un riesgo potencial en el compartimiento acuático, debido a la alta toxicidad en algas. En cuanto al suelo se identifican riegos debido a la alta toxicidad en plantas. En cuanto a la salud humana este compuesto es corrosivo e irritante de los ojos, pero actualmente se considera de bajo riesgo para trabajo sometido a extensas

exposiciones [11]. De acuerdo a la IARC (International Agency for Research on Cancer) este compuesto se puede considerar como no carcinogénico.

2.3.4 Efecto medio ambiental y Biodegradabilidad. Este compuesto se introduce directamente en la fase acuosa debido a que es muy soluble y se disocia fácilmente en agua. Existen evidencias que los microorganismos del suelo provocan su deshalogenación. El tiempo de vida media en el suelo es de pocas semanas. Existen estudios recientes acerca de un mecanismo de decarboxilación acuosa con una vida media de 22 días [11].

2.4 ÁCIDO MONOBROMOACÉTICO

En la Tabla 32 se muestran algunas de las características fisico-químicas de este compuesto.

Tabla 32. Propiedades fisicoquímicas del ácido monobromoacético

Formula Molecular	C ₂ H ₃ BrO ₂
Número CAS	79-08-3
Peso molecular	138.95
Punto de fusión	49°C
Punto de ebullición	206°C
Solubilidad en agua	Miscible
Constante de ley de Henry	
ln k'_H (kgmol⁻¹atm⁻¹) a 298.15 [8]	11.94± 0.21
Log k_{ow}	-0.41
pka	1.10

2.4.1 Origen. Existen diversas formas de obtener este ácido tales como la bromación del ácido acético en presencia del anhídrido acético y piridina y la bromación directa del ácido acético a altas temperaturas [9].

2.4.2 Usos. No se usa comúnmente debido a los elevados costos de producción en comparación con el ácido monocloroacético [9].

2.4.3 Toxicidad. En cuanto al ácido MBAA se encontró que la LD₅₀ oral en ratas es de 50 mg/kg, y de 100 mg/kg en ratones. Aplicaciones de una solución acuosa del 10% a la piel de conejos les causo la muerte en 16 horas [9]. Es muy riesgoso exponerse a este compuesto por ingestión, inhalación o por contacto con la piel y los ojos. Es corrosivo para los ojos y la piel y puede ocasionar severas quemaduras a las membranas mucosas de la boca, esófago y estómago [9]

2.5 ÁCIDO DIBROMOACÉTICO

En la Tabla 33 se muestran algunas de las características fisico-químicas de este compuesto.

Tabla 33. Propiedades fisicoquímicas del ácido dibromoacético

Formula Molecular	C ₂ H ₂ Br ₂ O ₂
Número CAS	631-64-1
Peso molecular	217.40
Punto de fusión	48 °C
Punto de ebullición	232-234 °C
Solubilidad en agua	Muy soluble
Constante de ley de Henry	
ln k'_H (kgmol⁻¹atm⁻¹) a 298.15 [8]	12.33 ± 0.29
pka	0.6

2.5.1 Origen. Uno de los métodos de producción sintética de este ácido es la adición de Bromo al ácido acético en ebullición, el cual contiene 5% de sulfuros y elevar la temperatura a 150°C. Otro método consiste en la oxidación de tribromoeteno con ácido peracético [9].

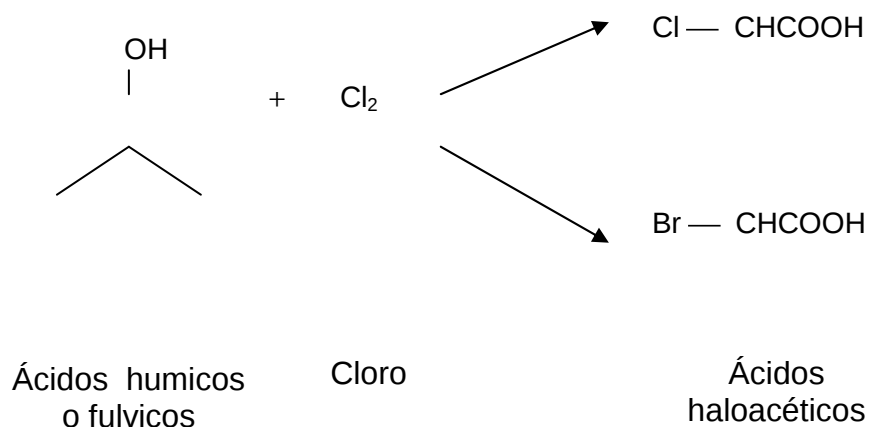
3 ASPECTOS IMPORTANTES DE LOS ÁCIDOS HALOACÉTICOS

3.1 FORMACIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS

La formación de estos ácidos depende de varios factores tales como: la materia orgánica presente en el agua a tratar, la cinética de la reacción, las condiciones de reacción y la dosis del desinfectante.

3.1.1 Materia Orgánica. La materia orgánica es un factor que afecta linealmente la formación de Ácidos haloacéticos, ya que al aumentar hace que se incremente la concentración de estos. La materia orgánica (ácidos húmicos y fúlvicos) se considera como precursora de los THMs y ácidos haloacéticos, debido a su reactividad al Cloro [12].

3.1.2 Cinética de Reacción. La reacción que se puede asumir para la producción de ácidos haloacéticos es la siguiente



La mayoría de los modelos encontrados tratan de expresar el decaimiento del Cloro de una forma exponencial o una cinética de primer orden [13], otros modelos empíricos han tratado de expresar la formación de ácidos haloacéticos y trihalometanos en función de Carbono Orgánico Total, pH y temperatura [13]. A su vez algunos modelos que incluyen un término de segundo orden, tales como materia orgánica o concentración de Cloro han sido propuestos por MacNiell [14], Jedas-Hecart et al. [15], and Clark [16].

3.1.3 Condiciones de reacción. Las variables que afectan notablemente la formación de ácidos haloacéticos son la temperatura, el pH y el tiempo de contacto. El efecto de la temperatura de acuerdo a Hudrey E. Steve [12] es lineal, es decir una variación en temperatura de 10 a 20 °C provoca un incremento en la tasa de formación del 15 al 20% de ácidos haloacéticos.

En cuanto al pH de acuerdo con el mismo autor, el óptimo para la formación de los mismos se encuentra en el rango 5-7, la producción máxima para el DCAA se obtiene a pH entre 7 y 7.5 mientras que valores de pH por encima de 9 inhiben la formación del mismo.

Finalmente, el tiempo de contacto es otra variable importante, ya que más del 90% de ácidos haloacéticos se forman en las primeras 5 horas de contacto con el Cloro, pasado este tiempo los niveles de formación son mínimos [12].

3.2 ESTUDIOS DE TOXICIDAD ACERCA DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS

En los últimos años se ha mostrado interés por la exposición a compuestos halogenados presentes en el agua de consumo humano debido a que pueden representar un riesgo crónico de exposición y por lo tanto un riesgo para la salud de los humanos expuestos a estos. Además existen evidencias toxicológicas que sugieren que algunos de ellos son posibles carcinógenos humanos [17].

El grado de carcinogenicidad de estos compuestos ha sido analizado en animales, lo que hace difícil la extrapolación de los resultados a los seres humanos debido a diferentes factores tales como la actividad de los mismos e interacción con otros compuestos dentro del cuerpo humano.

Investigaciones realizadas por la USEPA [17], cuyos objetivos son disminuir la incertidumbre con respecto a los análisis de riesgo relacionados con el uso de animales para este tipo de estudios, se encontró que es difícil predecir la actividad carcinogénica de una mezcla binaria de químicos, ya que el Cloroformo (representante en este estudio de THMs) previno la formación de tumores cancerosos provocados por el DCAA (representante en este estudio de los ácidos haloacéticos junto con el TCAA), y a su vez incrementó la posibilidades de cáncer en los riñones para los ratones machos y disminuyó en las ratas. Lo anterior demuestra la dificultad de establecer un patrón de comportamiento de estos compuestos en un ambiente diferente a los establecidos por los investigadores [17].

En otra investigación realizada por la USEPA se estimó que del 2 al 17% de los casos de cáncer de vejiga podrían ser atribuibles a agua potable que contenga relativamente altos niveles de compuestos halogenados. Estos estimativos se basan en la suposición de que las asociaciones observadas entre el cáncer de vejiga y la exposición a los compuestos secundarios producidos por la desinfección por Cloro reflejan una relación causa-efecto. Los autores de este estudio concluyeron que el riesgo de cáncer de vejiga se incrementa tanto con la duración como con la concentración de la exposición a los productos secundarios de la cloración [18].

Finalmente, resultados de pruebas toxicológicas han sugerido que los niveles seguros de ácidos haloacéticos en agua para adultos que consumen 2 litros de agua en un día son 420 µg/L para el DCAA y 175 µg/L para el TCAA [19].

3.3. DESTINO MEDIO AMBIENTAL DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS

Debido a que los ácidos haloacéticos son solubles en agua, se adsorben con baja afinidad a los suelos y son rápidamente transportados desde el suelo contaminado hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea [20]. Este factor también afecta la volatilidad desde el agua, ya que si los compuestos son muy solubles en agua tienden a ser menos volátiles y también muy biodegradables.

Otro factor importante en este análisis es la constante de la ley de Henry, ya que cuando la presión de vapor es alta con respecto a la solubilidad en el agua, la constante de la ley de Henry también es alta y el compuesto se evaporará. Un alto valor para la constante de la ley de Henry de un contaminante podría sugerir que la inhalación sería la vía de exposición [20]. Como las constantes de la ley de Henry para los Ácidos haloacéticos son elevadas, estos compuestos preferiblemente se evaporarán y por lo tanto se podría sugerir que la inhalación sería la vía de exposición.

El coeficiente octanol-agua (K_{ow}) representa otra importante propiedad en el análisis del destino medioambiental de los Ácidos haloacéticos, ya que compuestos con valores altos de K_{ow} (compuestos con un $\log K_{ow} > 3$ ó > 1000) tienden a acumularse en las porciones lipídicas de los organismos y tienden a concentrarse en suelos y sedimentos [20]; además de transferirse a los humanos a través de la cadena alimenticia. Por el contrario, compuestos con bajos K_{ow} tienden a distribuirse en agua o aire [20], este es el caso de los Ácidos haloacéticos, los cuales de acuerdo a esta propiedad pueden tener preferencia por estos destinos medio ambientales.

Otro factor es el pK_a de estos compuestos, debido a que son bajos se puede establecer que son ácidos débiles, por lo tanto a pH comprendidos entre 6.5 y 9.0, el cual se encuentra establecido como óptimo para agua de consumo humano en

Colombia por la norma 475/98 [21], los ácidos estarán totalmente disociados. Por lo tanto estos ácidos en el agua se encuentran como bases.

De acuerdo con lo anterior se puede concluir que tanto el agua, el suelo y el aire son destinos medio ambientales donde se pueden encontrar los ácidos haloacéticos. Esto queda plenamente demostrado en investigaciones [1] y [22] en las cuales se detectaron ácidos haloacéticos en cualquiera de los destinos anteriormente mencionados.

3.4 NORMATIVIDAD

En 1994, la USEPA propuso que la norma para subproductos de desinfección se desarrollara en dos etapas, la primera consistió en la norma de desinfectantes y desinfección de productos secundarios (D-DBP I). Esta fue propuesta por US Environmental Protection Agency (USEPA) en 1994 [7].

Esta norma contempla un nivel máximo de contaminante (MCL) de 60 $\mu\text{g/L}$ para la suma de cinco ácidos haloacéticos a saber: ácido monocloroacético (MCAA), ácido dicloroacético (DCAA), ácido tricloroacético (TCAA), ácido monobromoacético (MBAA) y el ácido dibromoacético (DBAA).

La norma D-DBP II contempla una reducción del MCL a 30 $\mu\text{g/L}$ además de considerar el ácido bromodicloroacético (BDCAA), ácido clorodibromoacético (CDBAA) y el Ácido tribromoacético. En Europa estos compuestos aún no han sido regulados [7] mientras que la Organización Mundial de la Salud (WHO) ha establecido niveles de 50 $\mu\text{g/L}$ para DCAA y de 100 $\mu\text{g/L}$ para TCAA [7]. En Colombia no se encontró en la norma técnica establecida de calidad del agua potable, ningún ítem acerca de ácidos haloacéticos [21].

3.5 TECNICAS DE EXTRACCIÓN DE ACIDOS HALOACÉTICOS

Las técnicas de preparación de la muestra previas a la detección en el equipo cromatográfico son de gran importancia en la cromatografía de gases, ya que en primer lugar mejoran el comportamiento cromatográfico de los analitos, en segundo lugar aumenta la detectabilidad de los analitos presentes a nivel de trazas y por último permite separar los analitos de la matriz, minimizando el efecto de interferencias en el análisis del extracto final [23].

Existen diversas técnicas por medio de las cuales se puede extraer los compuestos de interés de matrices complejas, por ejemplo: extracción en *head-space* estático y dinámico, destilación-extracción simultánea (SDE), extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase sólida (SPME), extracción soxhlet, extracción con fluido supercrítico (SFE) y extracción líquido-líquido, entre otras [23]

La selección adecuada del procedimiento de extracción, depende principalmente del nivel de concentración de los analitos de interés con respecto a los compuestos de interferencia del estado (sólido o líquido) de la matriz y de las características fisicoquímicas de los analitos: volatilidad, estabilidad térmica, reactividad y polaridad [23],[24].

Los métodos utilizados en diferentes investigaciones de ácidos haloacéticos [1] y [7] son la microextracción en fase sólida (SPME) y la extracción líquido líquido (LLE) respectivamente.

A continuación se mencionan algunos aspectos importantes de estos métodos de extracción.

3.5.1 MICROEXTRACCION EN FASE SÓLIDA. La SPME es una técnica de adsorción-desorción desarrollada en la Universidad de Waterloo (Ontario, Canadá), que elimina la necesidad de solventes y equipos complicados para concentrar los compuestos volátiles y no volátiles en muestras líquidas. La técnica provee resultados lineales sobre un amplio rango de concentraciones de analitos, es compatible con cromatografía de gases de columna empacada o capilar o con cromatografía de gases –Espectrometría de masas [25].

3.5.1.1 Principio de la extracción en fase sólida. Esta técnica es predominantemente un muestreo en equilibrio, en contraste con los otros métodos de extracción en fase sólida, que asumen una extracción total.

El transporte de analitos de la matriz a la fibra empieza tan pronto está en contacto con la matriz. Típicamente la extracción se considera completa cuando el analito ha alcanzado la distribución de equilibrio entre la matriz y la fibra. En la práctica, esto significa que una vez que el equilibrio es alcanzado la cantidad extraída es constante dentro de los límites del error experimental y es independiente del incremento del tiempo de extracción. Las condiciones de equilibrio pueden ser descritas como:

$$\eta = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{K_{fs} V_f + V_s} \quad [1]$$

Donde η es la cantidad extraída por la fibra, K_{fs} es la constante de distribución fibra/muestra, V_f es el volumen de la fibra, V_s es el volumen de la muestra y C_0 es la concentración inicial de un analito dado en la muestra.

En la ecuación anterior se asume que la matriz puede ser representada como una fase homogénea y que no hay espacio libre en el sistema, también indica que hay una relación directamente proporcional entre la concentración de la muestra y la

cantidad de analito extraído. Esta es la base para la cuantificación de analito. La mayor ventaja de la SPME son los volúmenes de muestra extremos.

Cuando el volumen de muestra es muy grande $K_{fs}V_f \ll V_s$ y la ecuación [1] se convierte en:

$$\eta = K_{fs}V_fV_sC_0 \quad [2]$$

Por lo tanto la cantidad de analito extraído es independiente del volumen de muestra [41, CDPV] [26]

3.5.1.2 Parámetros que afectan la eficiencia de la extracción. La polaridad y espesor de la fibra, el método de muestreo, el volumen, el pH, el contenido de sal en la muestra y la agitación de la muestra afectan los resultados de SPME. Ni la extracción completa del analito, ni el completo equilibrio son tan necesarios como mantener consistente el tiempo de muestreo, la temperatura y la profundidad de inmersión de la fibra. Estos tres últimos factores son críticos para obtener resultados reproducibles.

3.5.1.3 Polaridad, porosidad y área superficial de la fibra. Los analitos no polares son más eficientemente extraídos con fibras no polares y los analitos polares con fibras polares. Las pequeñas diferencias en la polaridad de la fase estacionaria que son útiles en cromatografía de gases no producen diferencias apreciables en selectividad en SPME. Comercialmente existen fibras de diferentes composiciones como Polidimetilxilosano (PDMS), Poliacrilato, Polidimetilxilosano divinilbenceno (PDMS/DVB) y Carbowax divinilbenceno (Carbowax/DVB) entre otras.

El incremento en la disponibilidad de área superficial del polímero mejora la extracción de pequeñas moléculas: los pequeños poros de las partículas del Carboxen, lo hacen particularmente efectivo para extraer pequeñas moléculas.

3.5.1.4 *Espesor del recubrimiento de la fibra.* El espesor del recubrimiento de la fibra regula la cantidad extraída de un analito. Un recubrimiento de la fibra más espeso extraerá más de un analito que un recubrimiento delgado.

En la Tabla 34 se muestra el efecto del espesor del recubrimiento de la fibra en la recuperación del analito.

Tabla 34. Efecto del espesor del recubrimiento de la fibra en la recuperación del analito.

Analito	Porcentaje de recuperación		
	Recubrimiento	Recubrimiento	Recubrimiento
	100 μm	30 μm	7 μm
Benceno	2	1	<1
Tolueno	5	1	<1
Etilbenceno	6	4	1
1,3 diclorobenceno	15	5	1
Naftaleno	13	4	1

* valores de área, Fuente: Boletín No 923, Supelco, Sigma-Aldrich 1998

Consecuentemente una fibra más gruesa es útil para retener compuestos volátiles y transferirlos al puerto de inyección del cromatógrafo de gases sin pérdidas, pero una fibra más delgada asegura la rápida difusión y libera los compuestos de alto punto de ebullición durante la desorción térmica. Una fibra más gruesa removerá mas eficientemente los compuestos de la matriz de la muestra, pero la tasa de desorción será prolongada, y los analitos pueden ser retenidos para la siguiente extracción (efecto memoria).

3.5.1.5 *Agitación de la muestra.* La agitación de la muestra intensifica la extracción y reduce su tiempo, especialmente para analitos de alto peso molecular con altos coeficientes de difusión. La agitación inconsistente causa una pobre

precisión. La sonicación promueve la adsorción del analito, pero puede añadir calor a la muestra. Esto es benéfico para vaporizar los analitos en extracción en espacio de cabeza vacío (*head – space*).

3.5.1.6 *Muestreo por inmersión vs muestreo en espacio de cabeza vacío.* Los analitos que tiene presión de vapor pueden ser extraídos por inmersión de la fibra dentro de la muestra, o por muestreo en espacio de cabeza vacío. Los analitos que no tienen presión de vapor deben ser extraídos por inmersión.

3.5.1.7 *Concentración de sal y pH.* El principio es similar al procedimiento de extracción con solvente. Se añade un buffer apropiado directamente a la muestra antes de la extracción para incrementar la fuerza iónica de la solución y disminuir la solubilidad de algunos analitos: también la adición de sal a una muestra incrementa la eficiencia de la extracción para muchos compuestos, particularmente compuestos polares y volátiles en análisis de trazas.

El cambio de pH puede minimizar la solubilidad de algunos compuestos, los compuestos ácidos y básicos son más fácilmente extraídos en pH ácidos y básicos respectivamente. Una combinación de modificación de pH y adición de sal mejora la eficiencia de la extracción de los analitos como se muestra en la Tabla

35

Tabla 35. Influencia de la adición de sal y cambio de pH en la eficiencia de la extracción.

Analito	Sin adición de sal*		Con adición de sal*	
	pH 7	pH 2	pH 7	pH 2
2-clorofenol	1800	2361	3952	14028
Fenol	810	1003	6425	6150
2-metilfenol	761	882	5845	7434
3-metilfenol	1795	1846	15337	19723
2-nitrofenol	422	474	311	2315

* valores de área, Fuente: Boletín No 923, Supelco, Sigma-Aldrich 1998

3.5.1.8 Temperatura. Una temperatura elevada puede disociar eficientemente los analitos de la matriz de la muestra y llevarlos al espacio vacío para la extracción de la fibra. Sin embargo, el coeficiente de distribución fibra / muestra también disminuye con el incremento de la temperatura, resultando en una disminución de la cantidad del analito extraída en el equilibrio. (42, CDPG) [27]

3.5.2 EXTRACCIÓN LÍQUIDO - LÍQUIDO. Una de las técnicas de extracción de compuestos orgánicos más utilizada para matrices líquidas es la extracción con solvente, generalmente llamada extracción líquido – líquido (LLE); es uno de los procedimientos de preparación de muestras más antiguo y comúnmente usado en laboratorios analíticos [28],[29].

La LLE involucra la separación de los analitos de interés de la matriz por repartición de estos entre dos fases inmiscibles, en la mayoría de los casos, una de las fases es una solución acuosa y la otra es un solvente orgánico, denominado solvente de extracción, hacia el cual los analitos de interés deben mostrar una preferencia significativa para lograr una mayor recuperación y concentración [28], [29].

El procedimiento general de la LLE, consiste en la adición de una cantidad determinada de solvente extractor (por lo general 20% V/V) a la muestra en estudio, seguida de agitación para garantizar el contacto íntimo entre las dos fases y luego un tiempo de reposo durante el cual se separan las fases; finalmente se pasa la capa orgánica a un tubo cónico si es necesario concentrar, o se toma la alícuota para inyectar al cromatógrafo. Cuando se lleva a cabo la LLE por lotes, después de separar la fase orgánica, se adiciona de nuevo solvente extractor, las veces que se considere necesario para obtener una mayor recuperación, aunque en la mayoría de los casos el porcentaje de compuestos recuperados en las extracciones posteriores a la primera es insignificante con respecto a ésta [29],[30].

Para la LLE, el analista debe escoger los solventes orgánicos que tengan baja solubilidad en agua (menor 10%), que sean suficientemente volátiles para ser removidos fácilmente después de la extracción, compatibles con la técnica analítica y que tengan polaridad y propiedades de formación de puentes de hidrógeno que aumentan la recuperación de los analitos de la fase orgánica, a veces, cada solvente es totalmente específico para una clase de compuestos [28],[30].

Una operación muy importante en la LLE es la agitación vigorosa, que permite el contacto íntimo entre las dos fases y ayuda a la transferencia de masa, pero también es posible la formación de emulsiones, particularmente para matrices lípidicas o aquellas muestras que contienen surfactantes. La emulsión debe romperse antes de que ocurra la agrupación de analitos, para ello existen varios métodos, entre los más comunes figuran: la adición de sal, filtración de la solución, extracción continua (calentamiento-enfriamiento), centrifugación, filtración a través de membrana de fibra de vidrio y adición de una pequeña cantidad de un solvente orgánico diferente. El efecto *salting-out* consiste en la adición de sal a la solución

acuosa, ocasionando una disminución en la concentración de analitos en la fase acuosa [28], [30].

Las principales ventajas de la LLE son:

- Simplicidad.
- Disponibilidad de una amplia gama de solventes.
- Equipo simple y económico.
- Permite la extracción de los analitos tanto polares como no polares.

Algunas de las desventajas de la LLE son:

- Formación de emulsiones, que a veces son difíciles de romper.
- Los múltiples pasos hacen adquirir contaminaciones inherentes y pérdidas de analitos.
- En la etapa de concentración, evaporación de grandes volúmenes de solventes tóxicos y a veces inflamables.
- Exposición del analista a vapores de solventes y analitos tóxicos.
- Posibles pérdidas durante la etapa de transferencia y evaporación.

3.6 DERIVATIZACIÓN [25].

Los compuestos orgánicos polares (p.e ácidos) son difíciles de extraer de las matrices biológicas y del medio ambiente y difíciles de separar en columnas cromatográficas. Para evitar estos problemas se han desarrollado técnicas de derivatización con el objetivo de obtener compuestos menos polares y más volátiles, además de incrementar los coeficientes de partición agua/recubrimiento y gas/recubrimiento [25]. Existen diferentes formas de derivatización que se mencionan a continuación:

- En la matriz de la muestra. En la técnica directa (matriz de la muestra) el agente derivatizante se agrega al vial que contiene la muestra, los derivados luego son extraídos por SPME e introducidos en el GC.
- En la fibra de SPME. La derivatización de los analitos directamente en el recubrimiento polimérico de la fibra de SPME se puede realizar de dos maneras. La primera consiste en realizar la extracción y la derivatización simultáneamente por exposición de la fibra que contiene el agente derivatizante a la muestra. El recubrimiento de la fibra puede actuar como un polímetro líquido y así puede actuar como un medio orgánico. La otra forma es realizar la postderivatización seguida de SPME de los analitos. Esta técnica puede ser usada para derivatizar analitos no volátiles y polares y convertirlos en volátiles y menos polares. De esta manera se mejora el comportamiento cromatográfico y la detección de los compuestos de interés.
- En el puerto de inyección de GC. Esta se realiza a una temperatura elevada en el puerto de inyección.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El análisis de ácidos haloacéticos fue realizado utilizando Cromatografía de Gases de Alta Resolución con Detector de Captura de Electrones (HRGC-ECD). Esta técnica instrumental se escogió porque presenta alta sensibilidad y selectividad a los compuestos orgánicos halogenados, además se encuentra establecida en el método EPA 552.2 para el análisis de ácidos haloacéticos en agua potable.

4.1 REACTIVOS Y ESTÁNDARES

Los ácidos haloacéticos estudiados fueron: ácido monocloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido monobromoacético, ácido dibromoacético, ácido tribromoacético, ácido bromocloroacético, ácido bromodicloroacético y el ácido clorodibromoacético; todos estos ácidos fueron obtenidos en una pureza mayor al 99% del estándar Accustandard M-552.2A-R1(Accustandard, Inc. New Haven, CT. USA).

En la Tabla 36 muestra la composición del patrón.

Tabla 36. Composición del patrón Accustandar M-552.2A-R1

Compuesto	Pureza (%)	Concentración gravimétrica (µg/mL)	Concentración Analítica* (µg/mL)
Ácido Bromocloroacético	98.0	40.08	39.28
Ácido bromodicloroacético	98.0	40.04	39.24
Ácido clorodibromoacético	98.0	100.2	98.2
Dalapon	98	40.00	39.2
Ácido dibromoacético	98.0	20.08	19.68
Ácido dicloroacético	99.0	60.00	59.40
Ácido monobromoacético	100	40.00	40.00
Ácido monocloroacético	99.0	60.12	59.52
Ácido tribromoacético	99.2	200.2	198.6
Ácido tricloroacético	99.0	20.04	19.84

*Concentración analítica = Pureza * concentración gravimétrica

El etanol utilizado en el proceso de derivatización fue grado analítico obtenido de Jecaber con una pureza del 99.5%. El ácido sulfúrico concentrado fue grado analítico obtenido de Mallinckrodt AR(ACS) con una pureza del 98%. La preparación de los viales y de todo el material de vidrio usados durante las pruebas incluyó lavado con mezcla sulfocrómica, agua desionizada y un proceso de secado para eliminar la humedad presente. Finalmente se utilizó un tren de tres solventes diferentes: acetona, metanol y hexano con posterior secado de cada uno de los mismos

4.2 EQUIPOS

Las muestras fueron analizadas por Cromatografía de Gases de Alta Resolución acoplado con Detector Selectivo de Masas (HRGC/MSD) y Detección de Captura de Electrones (HRGC/ECD).

Por HRGC/MSD se realizaron diferentes corridas para establecer en primer lugar la recuperación (pruebas de confirmación) que poseía este detector a los ácidos haloacéticos derivatizados (etil haloacetos), en segundo lugar se utilizó para analizar diferentes factores importantes en la SPME tales como la escogencia de la fibra y el espacio libre de cabeza (*head-space*). Las pruebas fueron realizadas utilizando tanto el modo de barrido completo de iones (*Full-scan*) como monitoreo selectivo de iones (SIM).

Se utilizó un cromatógrafo de gases HP 6890 Series II, acoplado a un Detector Selectivo de Masas (HRGC-MSD), dotado con un puerto de inyección *split/splitless*, una columna HP-624 (6% Cinanopropilfenil - 94% dimetilsiloxano copolímero), de 60m x 0.32mm (diámetro interno) x 1.85µm (espesor de la fase estacionaria) y un detector selectivo de masas (MSD) HP 5972 A operado en los modos *full-scan* y SIM. La velocidad de flujo de Helio (He Grado 4.5, AGA) de la columna fue 2.2 mL/min. Se utilizó Helio como gas *make up* y *carrier*. La línea de transferencia y la cámara de ionización se mantuvieron a 260 °C y 170°C, respectivamente y un rango de masas, $m/z = 30-600$.

La programación de temperatura utilizada para realizar el análisis de espectrometría de masas fue: 100 °C hasta 125 °C (5 min) @ 1°C/min.



Figura 16. Cromatógrafo de Gases acoplado con Detector Selectivo de Masas (HRGC-MSD)

En el sistema HRGC/ECD se realizaron pruebas para establecer la recuperación de los ácidos haloacéticos derivatizados además de realizar la curva de calibración para luego realizar análisis de muestras problema.

Se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard (Palo Alto, CA.USA) HP 5890 Series II, dotado con un puerto de inyección *split/splitless* y un sistema de datos HP chemstation A.06.03 [509]. La columna cromatografica fue una HP-5 (6% Cinanopropilfenil - 94% dimetilsiloxano copolímero), de 30m x 0.25 mm (diámetro interno) x 0.25 μm (espesor de la fase estacionaria). Las inyecciones de las muestras se realizaron utilizando *splitless* durante 2 minutos y luego una relación de *split* de 20:1. El Helio y el Nitrógeno fueron usados como gas *carrier* y *makeup* respectivamente. La velocidad de flujo de helio (He Grado 4.5 AGA) de la columna fue 2.0 mL/min. La velocidad volumétrica del Nitrógeno (N₂, Grado 4.5, AGA) fue de 60 mL/min para el detector (⁶³Ni).

La programación de temperatura utilizada para realizar este análisis fue: 40 °C (5 min) hasta 60 °C @ 20°C/min; 60°C hasta 120°C (2 min) @ 10°C/min; 120 °C hasta 280 °C (10 min) @ 10°C/min



Figura 17. Cromatógrafo de gases acoplado con detector de captura de electrones

4.3 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Debido a que los ácidos haloacéticos son compuestos polares y poseen puntos de ebullición elevados se debe recurrir a la derivatización de los mismos con el propósito de obtener compuestos menos polares y mas volátiles.

En este trabajo se utilizó la esterificación de los ácidos haloacéticos como técnica de derivatización. Esta consiste en hacer reaccionar los ácidos haloacéticos con etanol (agente derivatizante) para obtener los respectivos etil haloacetatos (esterificación) utilizando ácido sulfúrico como catalizador. Una vez se realiza la

derivatización se realizó la extracción de los mismos por SPME en *head-space* y posteriormente analizaron en los equipos de detección.

En los siguiente ítems se describe el procedimiento realizado para el análisis de ácidos haloacéticos.

4.3.1 Preparación de la muestra. Para la calibración de la técnica, se prepararon muestras de agua grado HPLC o grado I dopadas con los estándares de AHAs. Para efectuar el dopaje de las muestras se debe escoger un compuesto base debido a que el patrón es una mezcla de compuestos con concentración diferente. Una vez se realiza la selección del compuesto con base en un criterio de peso, se procede a realizar los cálculos respectivos de volumen de patrón para obtener una muestra con la concentración deseada y posteriormente se realiza el recálculo de la concentración para los demás compuestos.

El criterio para escoger el compuesto base en este caso fue el de mayor límite de detección obtenido en una investigación referenciada [1].

Luego se le adicionó a la muestra 225 µL de ácido sulfúrico y 300 µL de etanol. Posteriormente se selló el vial con un septum de 20 mm PTFE/*silicone* y se grafa con tapas de aluminio. Una vez se sella el vial se procede a realizar la derivatización de la muestra.

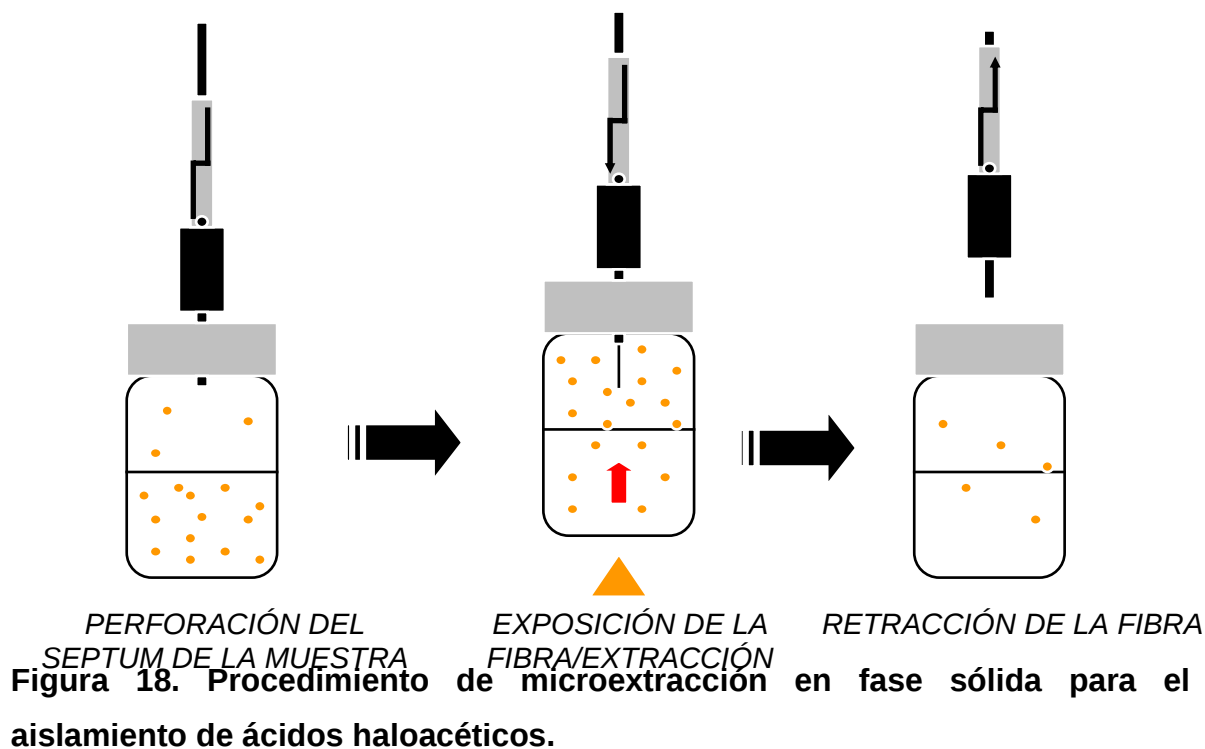
4.3.2 Derivatización. Los ácidos haloacéticos fueron derivatizados una vez la muestra se selló, calentando la misma en un baño de maría hasta 50 °C. La muestra fue agitada (200 rpm) con una barra de agitación magnética durante 20 minutos.

4.3.3 Extracción. Para la extracción de los etil haloacetatos presentes en las muestras recolectadas se utilizó SPME, con una fibra de Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) de 75 µm de espesor. La fibra con los

analitos absorbidos durante el periodo de extracción fue expuesta en puerto de inyección operado en el modo *splitless* (250°C).

La extracción de los analitos en el *head-space*, se realizó perforando el septum con el cual se selló la muestra al inicio del procedimiento, luego se expuso la fibra de CAR/PDMS durante 20 minutos con agitación (200 rpm); el siguiente paso consistió en la inyección, desorción y separación de los analitos en el cromatógrafo de gases dotado con detector de captura de electrones y selectivo de masas.

La fibra permaneció en el puerto de inyección durante 10 minutos y la corrida cromatográfica fue de 25 minutos (HRGC/MSD) y de 40 minutos (HRGC/ECD), la diferencia en tiempos se debe a la diferencia de programación entre uno y otro equipo. En la Figura 18 se resume el procedimiento para esta técnica de extracción.



El montaje de muestreo para este tipo de muestras se observa en la Figura 19.



Figura 19. Montaje en SPME para muestreo en *head-space* de muestras de aguas potable.

4.4 ANÁLISIS PRELIMINARES

Antes de realizar el análisis de muestras se llevaron a cabo cuatro análisis, a saber:

- El primero de ellos consistió en la selección de la fibra más apropiada, ya que existen diferentes clases de estas y la recuperación de los ácidos haloacéticos varía dependiendo de las mismas.
- El segundo análisis realizado fue el de *head-space* óptimo con el cual se lograría la mejor respuesta en el detector. Este análisis es importante debido a

que la extracción de los compuestos de interés (etil haloacetatos) se realizará en el *head-space* de la muestra además de observar la importancia del agua en el proceso.

- Una vez se seleccionó la fibra y el *head-space* óptimo, se realizaron los análisis de confirmación de respuesta cromatográfica a los ácidos haloacéticos.
- El cuarto análisis consistió en el análisis de muestras de agua potable.

A continuación se muestra el procedimiento desarrollado para cada uno de los análisis mencionados anteriormente.

4.4.1 Selección de Fibra. Para realizar este análisis se tuvieron en cuenta dos tipos de fibras: 100 % de Polidimetilsiloxano (PDMS), 100 µm de espesor de fase estacionaria y una de carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) con 75 µm de espesor de fase estacionaria; las dos involucran un dispositivo para la fibra (Supelco. Bellefonte, PA. USA). El procedimiento consistió en extraer patrones de la misma concentración utilizando las fibras antes mencionadas. El objetivo de esta prueba fue identificar el tipo de fibra que mostrara una mayor recuperación de los etil ésteres de los AHAs. La variable de respuesta que se buscaba optimizar era la cantidad de analito absorbido por la fibra.

Una vez se tuvieron las suficientes perfiles cromatográficos para establecer cual de las fibras mostraba una mayor recuperación de AHAs se realizó la selección de la misma.

Tanto a la fibra (PDMS) como (CAR/PDMS) tuvieron un procedimiento de acondicionamiento antes de utilizarlas en el análisis de las muestras por SPME, este procedimiento consistió en exponerlas durante 12 horas a 280°C.

Otro procedimiento que se efectuó antes de cada corrida cromatografica fue la realización de una o varias corridas (blanco) dependiendo de la presencia de impurezas en la fibra. Esta se exponía durante 10 minutos en el puerto de inyección y una vez expuesta se inicia la corrida con características iguales a la muestras utilizadas en la curva de calibración y análisis de muestras problema.

4.4.2 Análisis de *Head-space*. Una vez se seleccionó la fibra que mostraba mejor comportamiento con base en la recuperación de AHAs, se procedió a realizar el análisis de *head-space*. Para ello se utilizaron diferentes combinaciones de volúmenes de muestra y *head-space*. Los volúmenes *head-space* considerados se muestran en la Tabla 37.

Tabla 37. Volúmenes de *head-space* analizados

Muestra	Volumen de muestra a derivatizar (mL)	Volumen de recipiente (mL)	<i>head-space</i> (mL)
1	0.002	2	≈ 2
2	3	10	≈ 7
3	70	100	≈ 30

El análisis se realizó derivatizando los volúmenes de muestras mostrados en la Tabla 37. La variable de respuesta en este análisis fue la recuperación de AHAs. Al igual que el análisis de selección de fibra el cromatógrafo utilizado fue el HRGC/MSD.

4.4.3 Análisis de confirmación en el HRGC/MSD. El objetivo de realizar este análisis fue observar la recuperación por parte del detector a los ácidos

haloacéticos y en caso de obtener esta, identificar los compuestos para los cuales existía respuesta.

Este análisis consistió en derivatizar, extraer y llevar a análisis una muestra de una concentración conocida de ácidos haloacéticos. El modo en el cual se realiza la corrida es SIM, luego se buscan las relaciones carga/masa mayoritarias para cada uno de los ácidos y de esta manera se intenta identificar los compuestos para los cuales existe recuperación.

Estas relaciones se muestran en la Tabla 38

Tabla 38. Relación carga-masa usadas en la detección de ácidos haloacéticos por MSD modo SIM

Ester del Ácido	Relación carga-masa m/z
MCAA	42,49,51,77,79,94
DCAA	41,48,77,83,85,111,113
TCAA	47,63,82,83,84,111,117,119,155,157
MBAA	No disponible
DBAA	41,92,109,172,173,174,201,246

4.4.4 Determinación de los niveles mínimos de detección de ácidos haloacéticos. Otro análisis preliminar realizado fue el de nivel mínimo de detección (NMD). Para ello se prepararon soluciones a partir del patrón *Accustandard* (Tabla 36), las concentraciones decrecientes preparadas se muestran en la Tabla 39. El NMD se estableció como la mínima cantidad de muestra que generó una señal cinco veces mayor que el nivel de ruido.

4.5 ANÁLISIS DE MUESTRAS

Una vez se realizaron los análisis de selección de fibra, *head-space* y confirmación, se procedió a intentar cuantificar los ácidos haloacéticos como etil haloacetatos, para ello se utilizaron los equipos GC/MSD y GC/ECD.

El método utilizado en este análisis fue el de curva de calibración, el cual consiste en preparar determinado número de muestras con concentraciones diferentes preparadas a partir de un patrón estándar, las cuales son sometidas al procedimiento de preparación, derivatización, extracción y detección descrito en el numeral anterior, una vez se cumplen estos pasos se procedió a realizar el análisis de la muestras utilizando la integración analítica de los perfiles cromatográficos.

Cada una de estas respuestas representadas como perturbaciones en el cromatograma pueden representar señales de los compuesto de interés, solventes o contaminaciones de la muestra.

Estas perturbaciones se encuentran a un mismo tiempo (tiempo de retención); este tiempo es importante, ya que por medio de comparación con las otras muestras de diferente concentración pueden mostrar la presencia de un compuesto de interés, solvente o contaminaciones.

Al realizar la integración de las diferentes respuestas de muestras con concentraciones diferentes se obtienen las áreas bajo la curva de las perturbaciones, las cuales se pueden relacionar linealmente con la concentración y así obtener la curva de calibración en la cual en el eje de las X se encuentra la concentración y en el eje de las Y el área de repuesta de las perturbaciones.

En la Figura 20 se muestra la correlación obtenida luego de realizar las diferentes corridas con diferentes concentraciones.

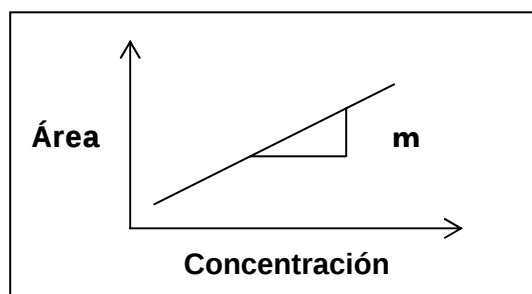


Figura 20. Representación gráfica de una curva de calibración

Para poder validar estadísticamente o analizar la reproducibilidad de los datos se hace necesario realizar corridas de concentraciones similares (réplicas) en un número mayor a dos. Una vez se tienen las réplicas de una misma corrida, se procede a realizar el siguiente análisis estadístico, este análisis se debe realizar tanto a las áreas relativas obtenidas como a los tiempos de retención para un pico cromatográfico (perturbación) en la corrida cromatográfica.

- Se obtiene el promedio aritmético de áreas (μ) de las perturbaciones obtenidas para un mismo punto (igual tiempo de retención) en la corrida cromatográfica.

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad [3]$$

Donde:

μ : Valor promedio, X_i : Valor de la variable (Tiempo de retención o área), n : número de corridas

- Se obtiene la desviación estándar de áreas (σ) de las perturbaciones obtenidas para un mismo punto (igual tiempo de retención).

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad [4]$$

Donde:

σ : Desviación estándar.

- Se procede a dividir la desviación estándar entre el promedio aritmético de los datos obtenidos para el mismo punto.

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} * 100 \quad [5]$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación (%)

De esta manera se obtiene el coeficiente de variación con el cual se puede considerar válido o no el punto obtenido para un compuesto en la curva de calibración. La validez estadística o no de estos se obtiene de la comparación del coeficiente de variación obtenido con datos del manual de las buenas practicas de laboratorio, el cual describe un porcentaje aceptable para la técnica de extracción SPME debe ser inferior al 13% para el caso de áreas mientras que para los tiempos de retención debe ser inferior al 2%.

En caso que el porcentaje de variación sea superior a estos en cualquiera de los dos casos se debe rechazar el perfil cromatográfico y realizar la réplica de la misma concentración.

Luego de validar estadísticamente la relación concentración área se procede a realizar muestras problemas, las cuales tienen una concentración desconocida. Se realiza el procedimiento de preparación, derivatización, extracción y detección de las mismas, una vez se ha llevado a cabo este, se procede a integrar analíticamente las perturbaciones obtenidas en estas corridas. Luego como se posee una relación entre la concentración área para estos compuestos y se posee el área obtenida de las muestras problema, se puede despejar la variable de interés que en este caso es la concentración de ácidos haloacéticos en la muestra problema.

4.5.1 Análisis de muestras en el Cromatógrafo de gases acoplado con Espectrometría de masas (GC/MSD). Para realizar el análisis de la muestras utilizando GC/MSD se utilizo los modos *full-scan* y SIM disponibles en el mismo siguiendo el procedimiento descrito en el numeral.

El objetivo de este análisis fue el confirmar la presencia de los ácidos haloacéticos en las muestras derivatizadas. Para ello se utilizó las relaciones carga-masa de los derivados de los ácidos (compuestos a detectar luego de la derivatización) disponibles en el *software* del equipo, para luego realizar un monitoreo de selectivo de iones (SIM) y de esta manera establecer la presencia o no de estos compuestos.

Los iones utilizados para la detección de los compuestos en el modo SIM se muestran en la Tabla 38. En esta se muestran las relaciones carga-masa para los derivados de los ácidos haloacéticos, a los cuales el detector mostrará perturbaciones en la respuesta cromatográfica.

4.5.2 Análisis de muestras en el Cromatógrafo de gases acoplado con detector de captura de electrones (GC/ECD). Para la obtención de las curvas de calibración se procesaron patrones de ácidos haloacéticos en dos niveles de concentración: en el rango alto, cinco patrones con concentraciones entre 5 – 40 µg/L; en el rango bajo, cuatro patrones con concentraciones entre 0.1-2. Para la preparación de los patrones de calibración se utilizó el estándar certificado de *Accustandard*.

Tabla 39. Concentraciones utilizadas en la obtención de la curva de calibración

Bajo Rango	
Muestra	Concentración (µg/L)
1	0.1
2	0.5
3	1
4	2

Alto Rango	
Muestra	Concentración (µg/L)
1	5
2	10
3	20
4	30
5	40

Una vez preparadas las muestras con estas concentraciones se procedió a realizar el procedimiento descrito en el numeral 4.3.1 al numeral 4.3.3 a las

mismas. Luego de efectuar este se realizó el análisis de las mismas por el método de la curva de calibración.

4.5.3 Análisis de muestras de agua. Se tomaron muestras de agua potable disponible en el Laboratorio de Aguas del CIIA, Para realizar los respectivos análisis de presencia de ácidos haloacéticos.

El procedimiento para la toma de muestras consistió en dejar correr el agua de la llave durante 5 o más minutos y luego en un recipiente de vidrio limpio y seco se tomaba una muestra de 10 mL, luego con una pipeta de vidrio se midió el volumen de muestra (3 mL) a la cual se le realizaría el procedimiento de derivatización y extracción para ácidos haloacéticos mencionado en los numerales.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como se mencionó anteriormente los análisis que se realizaron fueron: escogencia de la fibra, escogencia de *head-space* y el análisis de muestras por el método de curva de calibración.

5.1 SELECCIÓN DE FIBRA

En las siguientes figuras se muestran los perfiles cromatograficos obtenidos luego de usar una fibra de PDMS 100 μm y una de CAR/PDMS 75 μm para llevar a cabo el procedimiento de extracción por SPME y la detección de los derivados de ácidos haloacéticos; este análisis se realizó en el GC/MSD.

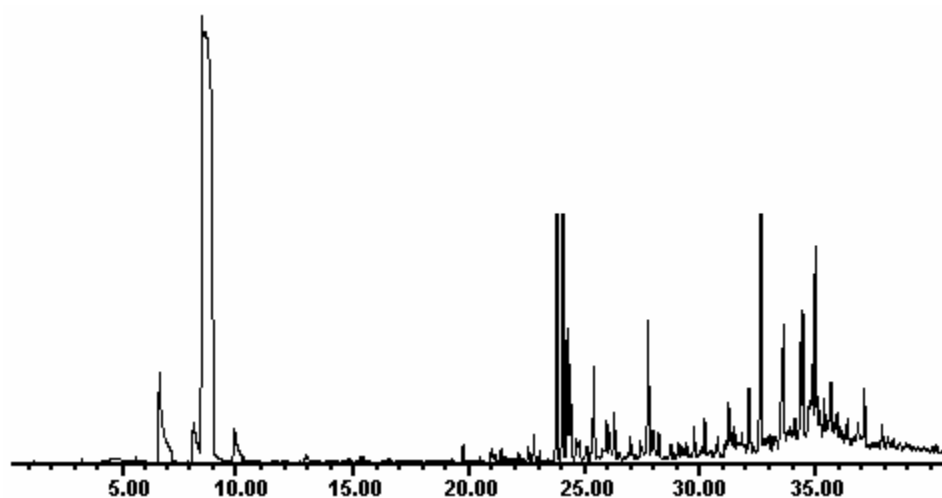


Figura 21. Cromatograma obtenido por SPME de una muestra derivatizada de 100 $\mu\text{g/L}$ de ácidos haloacéticos con Fibra PDMS.

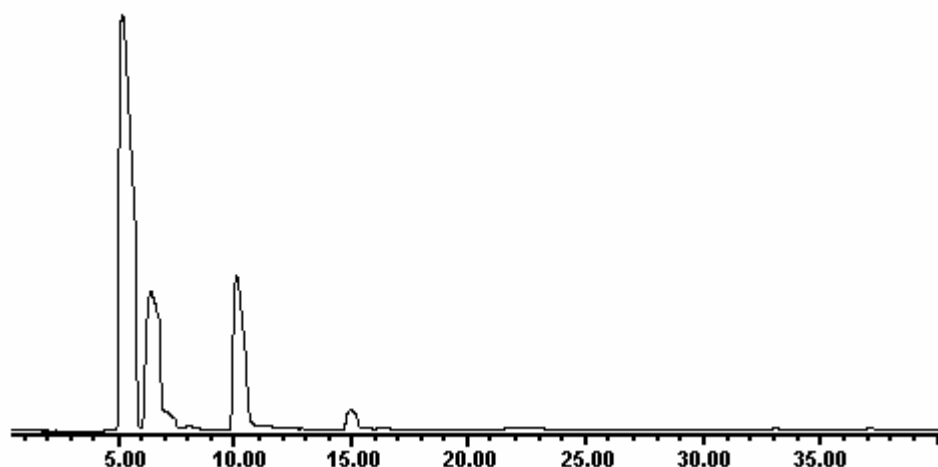


Figura 22. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 100 µg/L de ácidos haloacéticos con Fibra CAR/PDMS

La diferencia en los perfiles pueden explicarse de la siguiente manera:

- Contaminación en el material de vidrio empleado para realizar las pruebas.
- Presencia de contaminantes en el agua desionizada usada para la preparación de la muestra y/o en los reactivos usados para la derivatización.
- Contaminación de la fibra en el proceso de derivatización como en el proceso de extracción y exposición de la fibra.
- Efecto memoria de la fibra.

Luego de analizar cada uno de los factores mencionados se concluyó que la presencia de contaminación en el perfil se debe en mayor parte a la utilización de los reactivos necesarios para la derivatización (ácido sulfúrico y etanol).

Como puede observarse en la Figura 21 y Figura 22, la fibra que mejor respuesta cromatográfica tiene luego de realizar los procesos de preparación, derivatización

y extracción de la muestra es la fibra de Carboxen-Polidimetilxiloxano (CAR-PDMS). Con base en este análisis se concluyó que esta fibra se debería usar en los siguientes análisis.

5.2 ANÁLISIS DE VOLUMEN DE *HEAD-SPACE* EN EL CROMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO CON EL DETECTOR SELECTIVO DE MASAS(GC-MSD)

En las siguientes figuras se muestran los perfiles cromatográficos obtenidos para cada una de las combinaciones. Estas combinaciones se realizaron tomando el volumen de muestra y de recipiente mostrado en la **Tabla 11**.

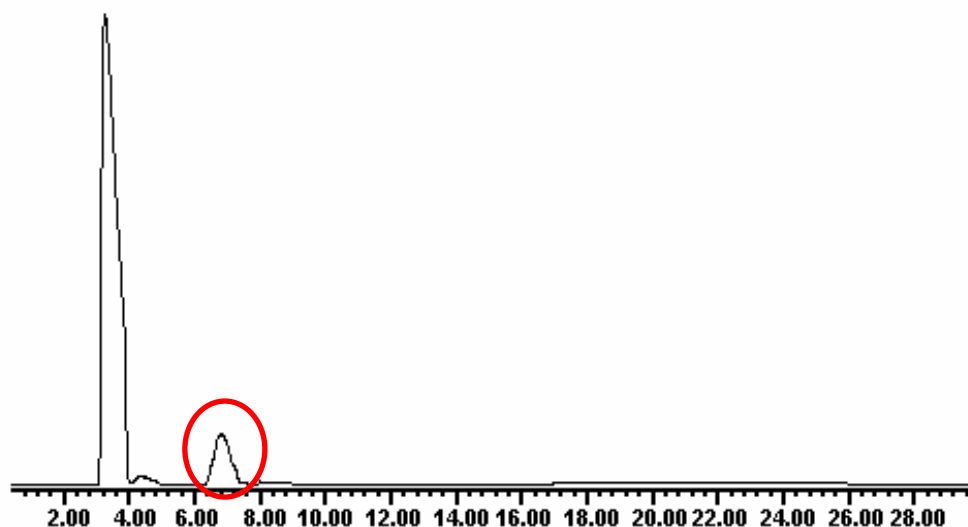


Figura 23. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 $\mu\text{g/L}$ de ácidos haloacéticos con una relación de *headspace* 0.002/2 mL y Fibra CAR/PDMS

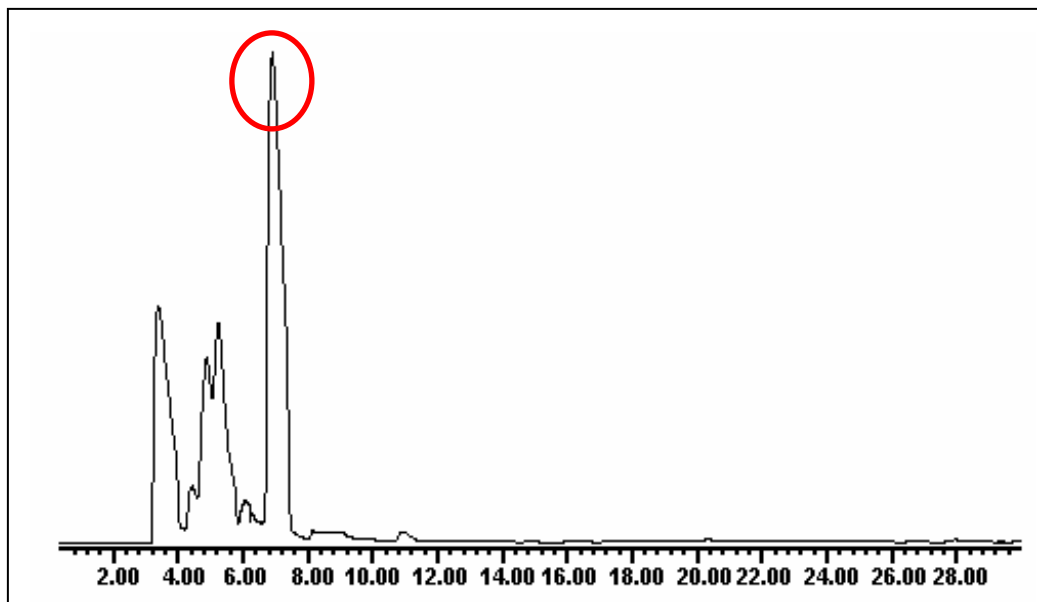


Figura 24. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 $\mu\text{g/L}$ de ácidos haloacéticos con una relación de *headspace* 3/10 mL y Fibra CAR/PDMS.

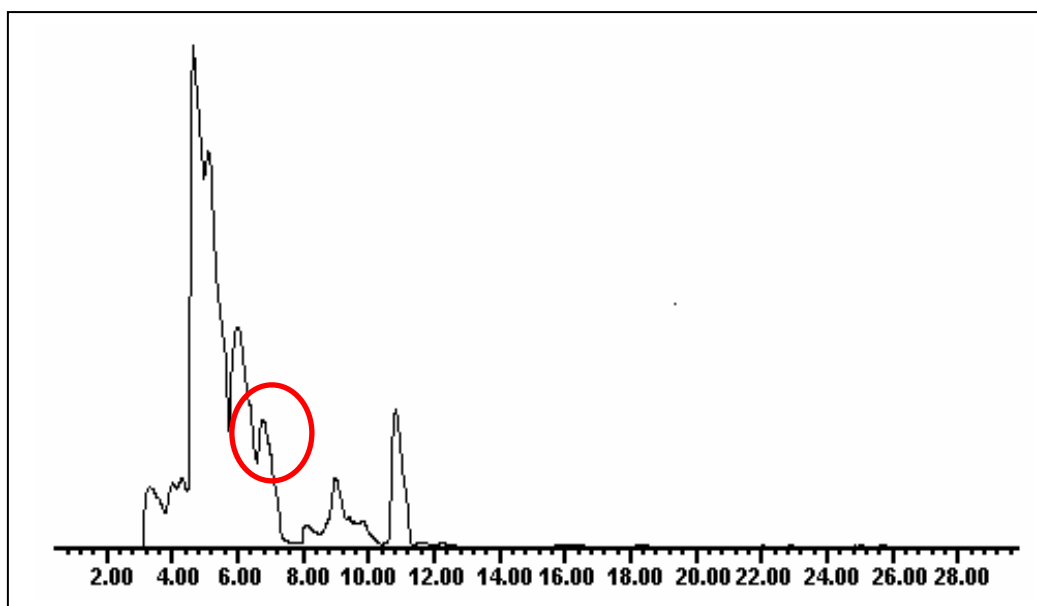


Figura 25. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 5 $\mu\text{g/L}$ de ácidos haloacéticos con una relación de *headspace* 70/100 mL y Fibra CAR/PDMS

En la Figura 23, se observa la aparición de dos picos cromatográficos bien definidos los cuales corresponden a la señal de etanol y como más adelante se comprueba la presencia de ácido monocloroacético en aproximadamente 6.6 minutos de tiempo de retención.

En la Figura 24, se observa la aparición de otros picos cromatográficos no tan definidos además de la presencia de algunas impurezas en el perfil cromatográfico. La respuesta para el ácido monocloroacético mejora como era de esperarse debido a que la masa en la muestra del compuesto se incrementa; el tiempo de retención es de 6.6 minutos nuevamente.

La Figura 25 muestra los picos cromatograficos que aparecieron en la Figura 24 menos definidos e inclusive de mayor respuesta que el ácido monocloroacético, esto se debe al incremento en la masa, ya que al aumentar el volumen de la muestra se incrementa la masa de los compuestos a analizar. Sin embargo se esperaría que a mayor volumen de muestra el detector presentará una mayor respuesta como es el caso de la Figura 23 y Figura 24, pero este no es el caso de la Figura 25, en la cual la respuesta no varía con respecto a los otros cromatogramas analizados. Este aspecto se analiza realizando una pequeña curva de calibración y se encontró el comportamiento mostrado en la Figura 26.

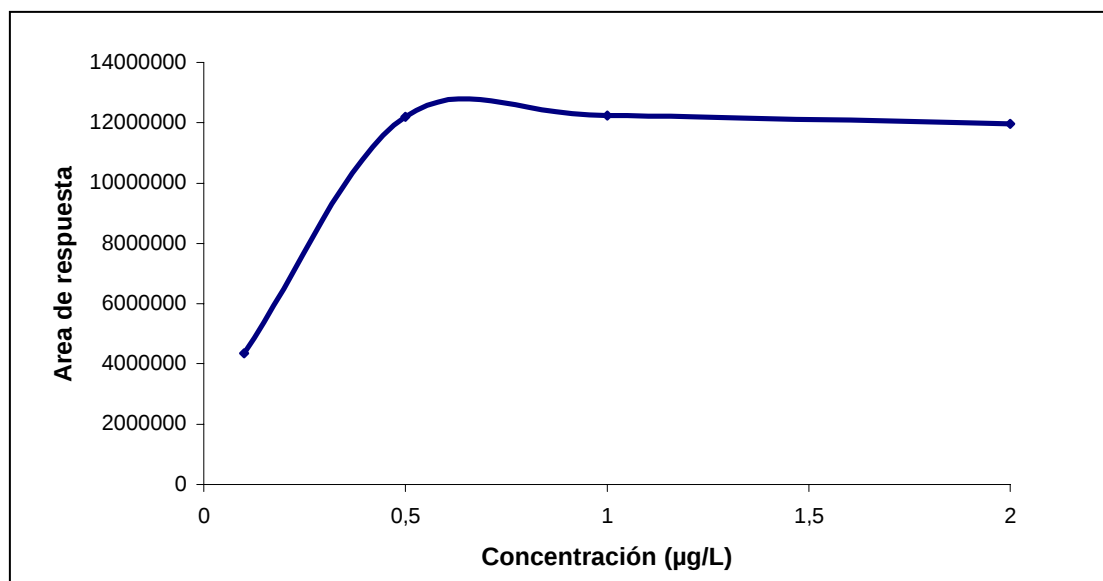


Figura 26. Curva obtenida para concentraciones 0,1, 0,5, 1 y 2 µg/L de muestras derivatizadas de ácidos haloacéticos con *head-space* 70/100 mL

La curva anterior describe un comportamiento típico de saturación, con lo cual se concluyó que al utilizar esta combinación la fibra utilizada para la SPME se presenta una saturación de la fibra por la presencia excesiva de analitos y que por lo tanto la respuesta que exhibe a concentraciones superiores no es la adecuada.

En la Figura 23, Figura 24 y Figura 25 se observa que aunque existe diferencia entre los perfiles cromatográficos, esta es solo en la magnitud de recuperación de los mismos. Como se mencionó anteriormente esto se debe a una relación de proporcionalidad entre el volumen de muestra y la masa de los compuestos de interés, es decir a mayor volumen de muestra existirá un número mayor número de analitos (masa) en la misma y en el momento de la extracción, estos pasarán en mayor número del *head-space* a la fase estacionaria proporcionada por la fibra. Con base en esto existirá un mayor número de analitos al momento de la lectura en el cromatógrafo y por lo tanto una mayor recuperación en el cromatograma.

Otro aspecto que se puede concluir de este análisis es el papel poco importante que juega el volumen de agua en el proceso de derivatización y extracción de las muestras de ácidos haloacéticos, lo que se explica por el comportamiento similar de las muestras con un volumen de muestra de 70 mL y un volumen casi nulo de 0.002 mL. Aunque más adelante se comprobó que existían algunos inconvenientes con el uso de ésta.

Con base en este análisis el *head-space* escogido fue la combinación 3/10 mL (3 mL de muestra/10 mL de recipiente) por facilidad en el manejo de la muestra comparado con la combinación 0.002/2 mL; otro factor que se tuvo en cuenta fue el consumo mínimo de reactivos comparado con la muestra de combinación 70/100 mL, además de la saturación de la fibra que se encontró al utilizar esta combinación.

5.3 ANÁLISIS DE CONFIRMACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES – DETECTOR DE SELECTIVO DE MASAS

En la Figura 23 se muestra un cromatograma obtenido por SPME de una muestra derivatizada de 5 µg/L de ácidos haloacéticos con Fibra CAR/PDMS, utilizando un GC/MSD.

En la

Figura **27** se muestra el perfil cromatográfico obtenido al realizar la búsqueda de las relaciones carga-masa en el cromatograma de la Figura 23 para el ácido monocloroacético.

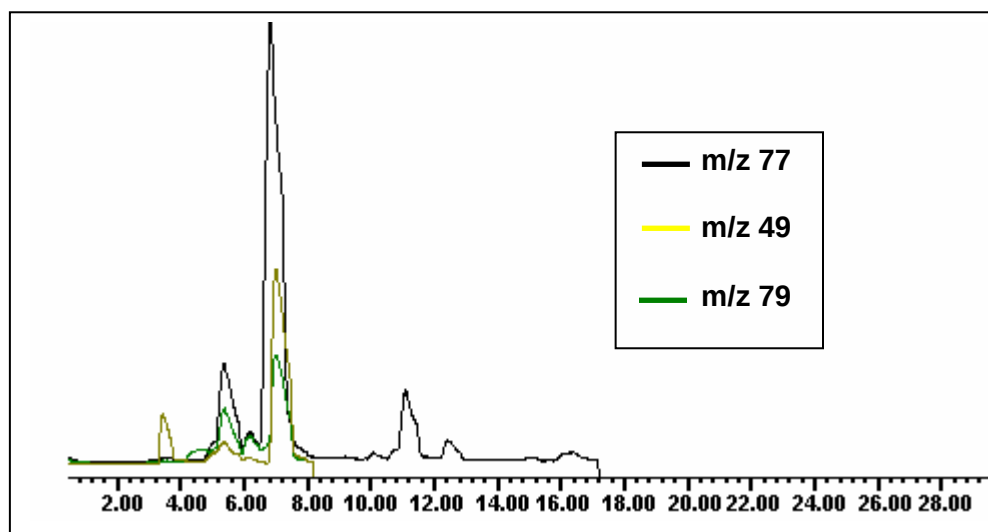


Figura 27. Perfil cromatográfico de las relaciones (m/z) para el ácido monocloroacético

Como se mencionó al realizar la búsqueda de las relaciones carga-masa mayoritarias para los ácidos haloacéticos se encontró que existía respuesta sólo para el ácido monocloroacético (como se observa en la Figura 27), mientras que para los otros ácidos la búsqueda de las relaciones carga-masa de los mismos no produjo resultados, esto se puede explicar de la siguiente manera:

- La derivatización y/o la técnica de extracción de los ácidos haloacéticos fue selectiva solo para este ácido.
- El límite de detección del equipo se encontraba muy por encima de las concentraciones utilizadas en este análisis, por lo tanto no se presentaría ningún tipo de respuesta para estos compuestos.

Además de encontrar que el detector de espectrometría de masas solo presentaba respuesta para el ácido monocloroacético, se encontró luego de realizar una corrida cromatográfica que en el agua desionizada disponible (blanco) para realizar las pruebas existía este ácido, lo que impidió la evaluación de la técnica de extracción, ya que al dopar muestras con este compuesto no se tenía la certeza de la concentración en la muestra (concentración base).

Debido a esto se intentó establecer un patrón de comportamiento de la concentración de este compuesto en el agua utilizada para las pruebas, pero luego de obtener varios perfiles cromatográficos se encontró que la concentración base del ácido monocloroacético en el agua desionizada no poseía un patrón definido.

Finalmente, se concluyó que aunque el detector presentaba respuesta al ácido monocloroacético, esta respuesta no se podía tomar como real para una muestra a la cual se le realizaba el procedimiento de derivatización y extracción.

5.4 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES MÍNIMOS DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS

Al realizar este análisis se encontró la mínima cantidad de cada uno de los ácidos haloacéticos utilizados para la cual el detector puede mostrar una respuesta aceptable (relación señal/ruido = 5/1). Se utilizaron dos combinaciones, el cromatografo de gases acoplado con el detector selectivo de masas y el cromatografo de gases acoplado con el detector de captura de electrones.

5.4.1 Sistema de Cromatografía de Gases – Detector Selectivo de Masa. En la Figura 28 se muestra el cromatograma obtenido para una muestra dopada con una concentración de 0.1 µg/L.

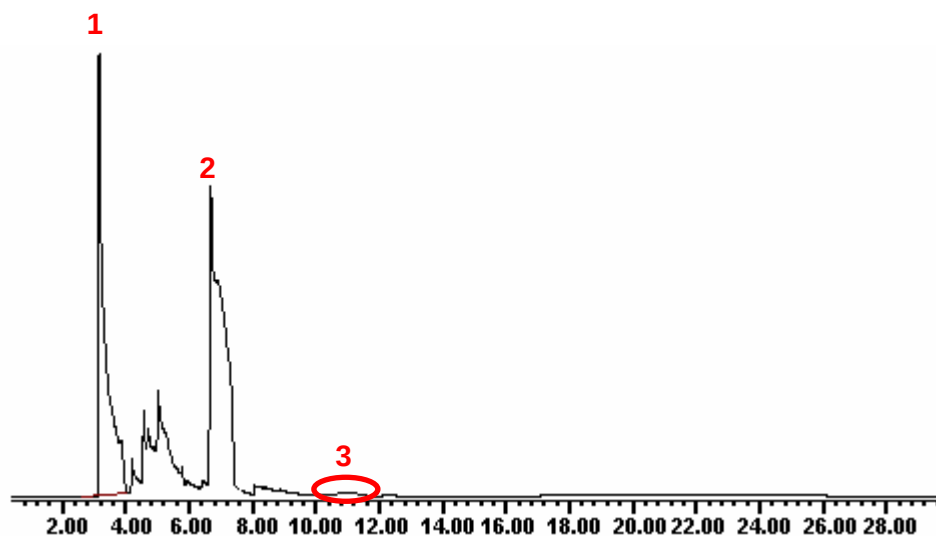


Figura 28. Cromatograma obtenido por SPME de una muestra de 0.1 µg/L de ácidos haloacéticos derivatizados.

Como se observa en la Figura 28 existe respuesta para un tiempo de retención de aproximadamente 6.6 minutos para el ácido monocloraacético. Como se estableció anteriormente el ácido monocloraacético estaba presente en el agua desionizada usada para realizar los análisis, lo que impide el acertado estudio del nivel mínimo de detección (NMD).

Sin embargo, se intentó cuantificar el NMD considerando una relación proporcional del área de respuesta y de la concentración. Para ello se tomó como base el área de respuesta que producía una muestra de 0.1 µg/L y luego se consideró un área para la cual se generaría una señal cinco veces mayor que el nivel de ruido. Se escogió el área del pico número tres como la mínima cantidad que representa una señal.

El resultado de la integración analítica del cromatograma se muestra en la Tabla 40.

Tabla 40. Resultados de la integración analítica del cromatograma de 0.1 µg/L

Pico	Área
1	5.005.678
2	6.760.234
3	199439

Los cálculos para el NMD se muestran a continuación:

Área del pico cromatográfico (2) = 6760234

Concentración = 0.1 µg/L

Área con relación 5:1 $\approx 199439 * 5 = 997195$

Nivel mínimo de detección = $\frac{997195 * 0.1}{6760234}$

NMD = 0.014 µg/L ≈ 15 ng/L

De acuerdo con lo anterior el nivel mínimo de detección teórico para un sistema de cromatógrafo de gases acoplado con un detector selectivo de masas en modo SIM fue de 15 ng/L (partes por trillón) para el ácido monocloroacético.

5.4.2 Sistema de cromatografía de gases – detector de captura de electrones. En cuanto al sistema de cromatógrafo de gases acoplado con el detector de captura de electrones, en la Figura 29 se muestra el perfil cromatográfico obtenido para la mínima concentración de bajo rango preparada a partir de los patrones Accustandard (0.1 µg/L).

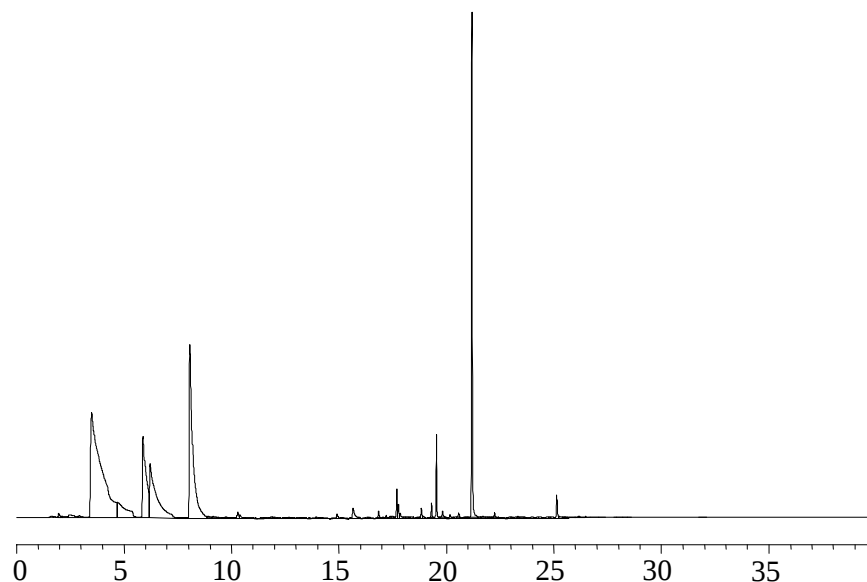


Figura 29. Cromatograma obtenido por SPME de muestras derivatizadas de 0.1 µg/L de ácidos haloacéticos

Se observa en el perfil cromatográfico la existencia de muchos picos cromatográficos, los cuales pueden ser considerados como respuestas de los ácidos haloacéticos, señales de solvente y contaminaciones.

Debido a este tipo de respuesta no se pueden identificar apropiadamente los compuestos para los cuales el detector presenta sensibilidad, sin embargo a continuación se muestran los niveles mínimos de detección para cada uno de estos compuestos. Se han nombrado como compuestos 1, 2, 3 y 4, por la imposibilidad para identificarlos.

Tabla 41. Niveles de detección mínimos calculados para ácidos haloacéticos.

Compuesto	NMD (ng/L)
1	36
2	14
3	6.3
4	> 2000

El compuesto 4, no se encontró en la curva de bajo rango por lo tanto se concluye que el NMD para este compuesto es mayor a 2 µg/L.

Las diferencias encontradas entre los límites de detección para los compuestos estudiados pueden explicarse de la siguiente manera:

- La respuesta del detector depende del número de grupos electronegativos, en este caso el número de átomos de Cloro o Bromo, presentes en la molécula. De este modo las moléculas con mayor número de halógenos (Cloro o Bromo) en su estructura, son detectadas en menores concentraciones, este es el caso para el compuesto número 3.
- La respuesta del ECD varía también de acuerdo a la posición de los grupos en la molécula, dependiendo de la eficiencia electrónica de cada molécula haciendo más o menos probable la reacción de captura de electrones.

5.5 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS

Debido a la presencia de interferencias no fue posible a simple vista identificar los ácidos haloacéticos. Sin embargo un posterior análisis con ayuda del *software* disponible en el equipo, permitió detectar cuatro ácidos haloacéticos. Estos compuestos se consideran como ácidos haloacéticos por los siguientes aspectos:

- Como se mencionó en el numeral 1 el detector de captura de electrones únicamente presenta respuesta a compuestos electronegativos y en pocas ocasiones a compuestos oxigenados, de acuerdo con esto la respuesta que se esta mostrando es para compuestos electronegativos tales como los ácidos haloacéticos, los cuales presentan como su nombre lo indica halógenos en su estructura y por lo tanto son compuestos electronegativos.
- Los compuestos detectados responden a la derivatización con la cual se deseaba hacer reaccionar los ácidos (polares y no volátiles) con el agente derivatizante para convertirlos en ésteres (menos polares y volátiles).
- Se encuentran en el *head-space* en el cual se realiza el muestreo.
- Estos compuestos responden de una manera lineal al aumento de las concentraciones en las muestras a ser analizadas.

A continuación se mencionan algunos parámetros necesarios para la estandarización de la técnica.

5.5.1 Curvas de calibración. En la Tabla 42 se resume las curva de calibración para el ácido monocloroacético obtenida del análisis en GC/MSD

Tabla 42. Curvas de calibración para el MCAA empleando GC-MSD

Compuesto	Ecuación*	R ²
MCAA	$A = 408560 * C + 1000000$	0.985

*A =área y c =concentración

En la Tabla 43 y Tabla 44 se muestran las curvas de calibración obtenidas para los compuestos detectados por análisis en GC-ECD.

Tabla 43. Curvas de calibración para el rango de concentración bajo

Compuesto	Ecuación*	R ²
1	$A = 72619.19 * C + 7667.39$	0.990
2	$A = 102231.57 * C + 18284.3$	0.989
3	$A = 434507.74 * C + 57171.69$	0.987

Tabla 44. Curvas de calibración para el rango de concentración alto

Compuesto	Ecuación*	R ²
1	$A = 97537.14 * C + 387124.2$	0.986
2	$A = 313495.318 * C + 240322$	0.989
3	$A = 75160025 * C + 395564.1$	0.960
4	$A = 3062.2474 * C + 2233.43$	0.994

*A = área y c = concentración

En el **Anexo B**, se encuentran las gráficas de las curvas de calibración para el MCAA y los dos rangos de concentración.

Según los datos reportados en la Tabla 42, Tabla 43 y Tabla 44, los coeficientes de correlación lineal logrados en las calibraciones fueron altos permitiendo así la reproducibilidad del método.

5.5.2 Porcentajes de recuperación. En cuanto a este parámetro se encontraron los siguientes datos para los dos sistemas mencionados.

En la Tabla 45 se muestran los porcentajes de recuperación obtenidos por el análisis de dos muestras dopadas con un detector selectivo de masas.

Tabla 45. Porcentajes de recuperación del ácido monocloroacético en muestras de agua.

Compuesto	Ácido monocloroacético	
[] µg/L	0.1	1
% Recuperación	76.0	63.3

Los porcentajes de recuperación obtenidos empleando el sistema GC-ECD no se calcularon, debido a que no se tenía la certeza de los compuestos identificados, debido a esto no se conocía la concentración inicial con la cual la muestra fue dopada y por lo tanto el cálculo de los porcentajes no se podía realizar.

5.5.3 Tiempos de retención y estudio de la reproducibilidad de los tiempos de retención. En la Tabla 46 se reportan el valor del tiempo de retención (t_R) obtenido para el MCAA.

Tabla 46. Tiempos de retención para MCAA por GC/MSD

Compuesto	t_R^* , [min]	CV %
1	6.8	0.32

En la Tabla 47 se muestran los tiempos de retención para los compuestos detectados.

Tabla 47. Tiempos de retención para ácidos haloacéticos

Compuesto	t_R^* , [min]	CV %
1	5.853	0.34
2	6.063	0.26
3	8.044	0.05
4**	8.912	0.74

*Promedio de dos inyecciones

**El software del equipo no detectó este compuesto en la curva de bajo rango, los datos mostrados corresponden a una concentración de 5 µg/L.

Los coeficientes de variación obtenidos para los tiempos de retención variaron entre 0.05 y 0.74%, lo cual hace evidente la alta reproducibilidad de la inyección manual en GC.

5.5.4 Áreas de respuesta y estudio de la reproducibilidad de las áreas. En la Tabla 48 se muestra el resultado del área de respuesta (A_R^*) obtenida el MCAA analizado.

Tabla 48. Áreas de respuesta obtenidas para ácidos haloacéticos

Compuesto	A_R^*	CV %
MCAA	1973879	5.15

En la Tabla 49 se muestran los resultados de áreas para los compuestos estudiados. Este estudio se realizó para una concentración de 2 $\mu\text{g/L}$.

Tabla 49. Áreas de respuesta obtenidas para ácidos haloacéticos

Compuesto	A_R^*	CV %
1	147330	6.99
2	216970	3.21
3	884660	1.26
4**	22386	5.12

*Promedio de dos inyecciones

**El software del equipo no detectó este compuesto en la curva de bajo rango, los datos mostrados corresponden a una concentración de 5 $\mu\text{g/L}$.

Los coeficientes de variación obtenidos variaron entre 6.99 y 1.26%. De acuerdo al manual de las buenas prácticas de laboratorio, estos porcentajes se encuentran dentro del rango aceptable de reproducibilidad de la SPME.

5.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA POTABLE

Para el análisis de muestras de agua potable se realizó el procedimiento descrito en el **numeral 4.3.1** y **numeral 4.3.3**, y se obtuvo la siguiente respuesta.

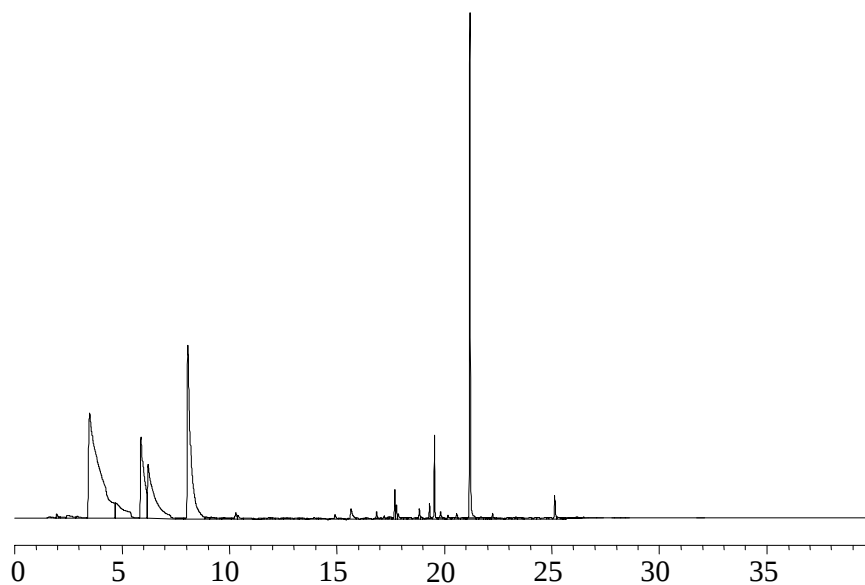


Figura 30. Perfil cromatográfico para agua potable

Luego de realizar un análisis de las muestras de agua potable mediante el software disponible en el equipo se identificaron cuatro ácidos haloacéticos detectados en el análisis por GC-ECD.

Utilizando la curva de calibración se cuantificó la concentración de los ácidos que presentaron recuperación en las muestras de agua potable. Los resultados se muestran en la Tabla 50.

Tabla 50. Concentraciones promedio de ácidos haloacéticos detectados en muestras de agua potable.

Compuesto	Concentración (µg/L)
1	0.4
2	4.3
3	1.0
4	2.8

Las concentraciones mostradas en esta tabla se obtuvieron utilizando las ecuaciones que se muestran en la Tabla 43 y Tabla 44 de las curvas de calibración.

Estas concentraciones de los ácidos identificados se encuentran en un rango medio de acuerdo con los rangos establecidos por la curva de calibración.

La suma de estas concentraciones es inferior a 10 µg/L, lo que presume que la muestra de agua potable analizada cumple con la norma EPA, asumiendo que los compuestos en esta encontrados son cuatro de cinco que contempla la misma.

6. RECOMENDACIONES

Implementar una técnica de extracción tal como la Extracción líquido líquido para ácidos haloacéticos que permita comparar la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) estandarizada en este trabajo.

Realizar un muestreo amplio a toda la red de distribución de agua potable del Acueducto y Alcantarillado de Bogotá. Este muestreo unido a un diseño experimental permitirá validar estadísticamente aún más la técnica de extracción utilizada en este trabajo.

Una vez se posean datos consistentes de campo intentar obtener los parámetros necesarios para calibrar un modelo de calidad de agua que intente explicar el comportamiento de los ácidos haloacéticos en la red de agua potable de la ciudad de Bogotá.

7. CONCLUSIONES

En la presente investigación se estandarizó una técnica en la cual los ácidos haloacéticos fueron derivatizados a sus esteres etílicos bajo condiciones ácidas y alcohólicas para permitir su análisis por cromatografía de gases acoplado a un detector de captura de electrones utilizando la microextracción en fase sólida (SPME) como técnica de extracción.

La reproducibilidad en los tiempos de retención (%CV: 0.05 y 0.74%) y en las áreas cromatográficas (%CV : 6.99 y 5.12) fue lograda en el análisis cuali- y cuantitativo de los ácidos haloacéticos usando un sistema HRGC-ECD, con lo que se asegura una acertada reproducibilidad de la técnica.

Se encontró que la mejor fibra a utilizar para realizar la extracción era la de Carboxen-Polidimetilxiloso de 75 μm ; también se encontró que la combinación óptima de muestra-*headspace* para realizar la extracción era de 3/10 mL respectivamente.

Con ayuda de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas se confirmó la presencia del ácido monocloroacético en el agua potable en rangos menores de 1.5 $\mu\text{g/L}$. Sin embargo, el límite de detección del equipo posiblemente impidió una respuesta positiva a los demás compuestos que pudiesen estar en muestras de agua potable.

Las muestras de agua potable analizadas en el cromatógrafo de gases acoplado con el Detector de Captura de Electrones y tomadas en el laboratorio del

Ingeniería Ambiental del Centro de Innovación tecnológica de la Universidad de los Andes permitió confirmar la presencia de ácidos haloacéticos en el agua potable, sin embargo la identificación de los mismos fue difícil.

REFERENCIAS

- (1) M.N. Sarrión, F.J. Santos, M.T. Galcerán. Solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-ion trap mass spectrometry for the análisis of haloacetic acids in water. En: Journal of Cromatography A. 859 (1999) pp. 159-171.
- (2) Uden,P.C.; Miller, J.W. J.Am. Water Works Assoc. 1983, 75 (10), 524-527
- (3) Nikolaou, Anastasia D. Golfinopoulos, Spyros K. Et al. Detremination of haloacetic acids in water by acidid methanol esterification –GC-ECD method. En: Water Research. 36. 2002. pp: 1089-1094.
- (4) Metodo EPA 552.2. Página comercial de Ultrascientific. Disponible en Internet www.ultrasci.com/method552_2
- (5) Standard Method
- (6) Xie Y. Analyzing haloacetic acids using gas cromatography/mass spectrometry. En: Water Research. 35 Número 6. 2001. pp. 1599-1602.
- (7) U.S. EPA. Disinfectants and disinfection byproducts: Proposed rule. FED Reg 59:38668-38829,1994.
- (8) Bowden, D. S.L. Clegg and P. Brimblecombe. The henry´s law constant of the haloacetic acids. En: Journal of Atmospheric Chemistry. 1. Número: 29. 1998. Pp: 85-107.

(9) Villegas, Carla de Pilar. Evaluación de la formación potencial de trihalometanos y trihalometanos en agua potable usando microextracción en fase sólida como método de extracción. 2000. Tesis de Maestría Universidad de los Andes.

(10) Página de Internet www.eurochlor.org/chlorine/publications/TCA_APPENDICES.pdf

(11) Pagina de Internet www.waterquality.crc.org.au/misc/DBP_hrudey.pdf

(12) Página de Internet www.ecs.umass.edu/cee/reckhow/publ/84/acschapter.html

(13) MacNeill, Andrew L. (1994), Mechanistic Modeling of Trihalomethanes and other Neutral Chlorination By-Products Master's Project, Dept. of Civil and Environmental Engineering, University of Massachusetts at Amherst

(14) Jedas-Hécart, A.; El Morer, A.; Stitou, M.; Bouillot, P.; Legube, B. (1992), "Modelisation De La Demande En Chlore D'une Eau Traitee," Water Res. 26:8:1073

(15) Clark, Robert M. (1998), "Chlorine Demand and TTHM Formation: A Second-Order Model," Journal of Environmental Engineering, ASCE 124:1:16

(16) Página de Internet de la EPA. <http://www.epa.gov/safewater/mdbp/dbp1.html>

(17) Página de Internet http://www.uoguelph.ca/cntc/publicat/toxtalk/toxtalk_fall99.shtml

(18) Página de Internet
http://sfwater.org/detail.cfm/MC_ID/10/MSD_ID/51/MTO_ID/NULL/C_ID/654#haloacetic

(19) Página de Internet de CEPIS <http://www.cepis.ops-oms.org/eswww/fulltext/gtz/metoiden/metcap02.html>

(20) Norma técnica colombiana de calidad de agua potable. Decreto 475/98.

(21) Brian F. Scott, David Mactavish et al. Haloacetic acids in Canadian lake waters and precipitation. En: Environmental Science & Technology. 34. Número: 20. 2000. pp: 4266-4272.

(22) GOOSENS, E., JONG, D., JONG, G.J., et al., On-line Sample treatment-Capillary Gas Chromatography, Cromatographia, 1998, 47, (5/6), pp 313-345

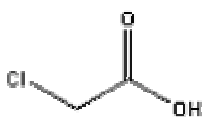
(23) MARSILI, Ray., Techniques for analyzing Food Aroma. Edited by Ray Marsili, Ed. Dean Foods Company Rockford, Illinois. 1997, 383p.

(24) Pawliszyn, Janusz. Solid phase microextraction – Theory and practice SPME-.

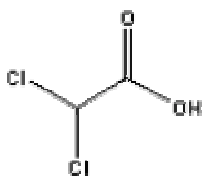
(25) MAJORS, R.E., Liquid Extraction Techniques for sample preparation. LC-GC, 1996, 14 (11), pp 936-943

(26) JENNINGS, W., Chromatographic Methods: Sample preparations for gas chromatography. Ed. Verlag-Heidelberg. E.E.U.U., 1983, 104p.

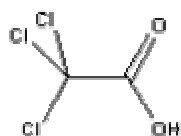
ANEXO A. ESTRUCTURAS DE ÁCIDOS HALOACÉTICOS REGULADOS POR LA USEPA



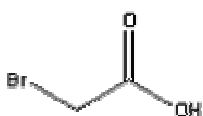
Ácido monocloraacético



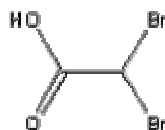
Ácido dicloroacético



Ácido tricloroacético



Ácido monobromoacético



Ácido dibromoacético

ANEXO B. CURVAS DE CALIBRACIÓN PARA ÁCIDOS HALOACÉTICOS