

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAEL GARRETT DOLATTO



ESTUDO DA INTERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE INTERESSE
AMBIENTAL COM SOLO

CURITIBA

2008

RAFAEL GARRETT DOLATTO

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE INTERESSE
AMBIENTAL COM SOLO**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre em Química,
Curso de Pós-Graduação em Química, Setor
de Ciências Exatas, Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr.^o Gilberto Abate
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Iara Messerschmidt

**CURITIBA
2008**

TERMO DE APROVAÇÃO

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE INTERESSE AMBIENTAL
COM SOLO**

por

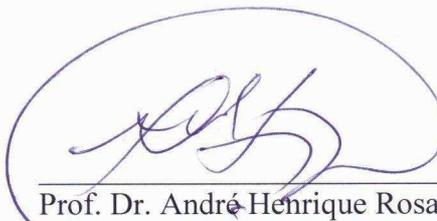
RAFAEL GARRETT DOLATTO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:



Prof. Dr. Gilberto Abate
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. André Henrique Rosa
Dep. Eng. Ambiental – UNESP/Sorocaba



Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta Zamora
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 16 de maio de 2008.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, Marisa
Garrett Dolatto e Celso Dolatto (in memoriam),
que apesar de todas as dificuldades nunca
desistiram e jamais deixaram de acreditar em
meu potencial;*

A minha irmã Karine pela convivência e afeto;

*A meu sobrinho Cauã pelos momentos de
descontração.*

AGRADECIMENTOS

Inicialmente e em especial aos meus pais Mariza e Celso (in memoriam) a quem tanto amo!

A minha irmã Karine e ao meu sobrinho Cauã os quais amo igualmente!

Aos meus amigos e orientadores Prof. Dr. Gilberto Abate e Prof^ª. Dr^ª. Iara Messerschmidt que me iluminaram ao longo deste trabalho e por eles tenho grande respeito e admiração;

Ao prof. Dr. Patricio G. Peralta Zamora pelas valiosas discussões, apoio acadêmico, empréstimo de equipamentos e reagentes sempre que necessário;

Ao prof. Dr. Marco Tadeu Grassi pelas discussões, participação na banca de qualificação e pelo espaço cedido gentilmente em seu laboratório;

Ao prof. Dr. Antônio Salvio Mangrich pelas valiosas discussões;

Ao Clênio Nailto Pillon, Carlos Augusto Posser (Guto) e Carlos Henrique (Bagé) (CPACT/Embrapa - Pelotas-RS) pelas contribuições para o andamento e conclusão deste trabalho;

A Betânia Fraga Pereira pelo dialogo e constate auxílio na condução dos experimentos;

A todos os amigos do Laboratório de Processos e Projetos Ambientais (LABPPAM) pelo companheirismo e bons momentos;

A Edivaltrys pela amizade em nosso Laboratório de Química Analítica Ambiental (LQAA) pela ajuda;

Aos amigos do Laboratório de Química Ambiental (LABQAM) pela boa convivência;

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Química;

Ao Laboratório de Tecnologia Enzimática e Biocatálise (LTEB);

Ao Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) pelas Análises de Fluorescência de Raios X e Difração de Raios X;

Aos professores e técnicos do departamento de Química da UFPR pela colaboração prestada;

Ao curso de Pós-Graduação em Química e ao Departamento de Química da UFPR por me acolher nesta jornada;

A todos os demais que não me recordei que indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho;

A FAPPEG pelo financiamento e colaboração.

*Pai muito obrigado pelos ensinamentos
e amizade...saudades.*

SUMÁRIO

SUMÁRIO	i
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE SÍMBOLOS	Viii
RESUMO	Viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. SOLO	5
2.1.1. <i>Água e Ar no solo</i>	6
2.1.2. <i>Matéria Orgânica (MO) no solo</i>	6
2.1.3. <i>Minerais no solo</i>	9
2.2. ATIVIDADES DE ARGILOMINERAIS.....	10
2.3. PERFIL DO SOLO	11
2.4. TEXTURA DO SOLO	12
2.5. ACIDEZ DO SOLO	14
2.6. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	15
2.7. CONTAMINAÇÃO DE SOLOS E ÁGUAS POR COMPOSTOS FENÓLICOS.....	17
2.8. ESTUDOS PARA MINIMIZAR O IMPACTO DE FENÓIS EM SOLOS E ÁGUAS	18
2.9. PROCESSOS DE SORÇÃO.....	20
2.9.1. <i>Isotermas de Adsorção</i>	21
2.10. BIODEGRADAÇÃO DE FENÓIS EM SOLOS.....	23
2.11. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM ÁGUAS E SOLO.....	25
2.12. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO.....	26
2.13. PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DE EXPERIMENTOS	28
3. JUSTIFICATIVA	29
4. OBJETIVOS	30
4.1. OBJETIVO GERAL	30
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
5. MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1. INFORMAÇÕES SOBRE A AMOSTRA DE SOLO	30

5.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA DE SOLO	31
5.2.2. <i>Determinação do teor de cinzas</i>	31
5.2.3. <i>Determinação dos teores de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio (CHN)</i>	31
5.2.4. <i>Capacidade de Troca Catiônica (CTC)</i>	32
5.2.5. <i>Determinação da textura granulométrica do solo</i>	32
5.2.6. <i>Análise por Fluorescência de raios X (FRX)</i>	32
5.2.7. <i>Análise por Difração de raios X (DRX)</i>	33
5.3. REAGENTES, EQUIPAMENTOS E MATERIAIS AUXILIARES	34
5.4. PADRONIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE FENOL	34
5.5. MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DOS FENÓIS	36
5.6. TESTES DE SORÇÃO EM BATELADA	36
5.7. ISOTERMAS DE SORÇÃO	37
5.8. ENSAIOS DO TEMPO CONTATO ENTRE SOLO E SOLUÇÃO CONTENDO FENÓIS	38
5.9. ENSAIOS PARA A ESTERILIZAÇÃO DO SOLO	38
5.9.1. <i>Ensaio com Cloreto de Mercúrio (II)</i>	38
5.9.2. <i>Ensaio com Azida Sódica</i>	39
5.9.3. <i>Ensaio com solo autoclavado</i>	39
5.10. <i>Ensaio de dessorção</i>	40
5.11. INSTRUMENTAÇÃO UTILIZADA NA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)	41
5.12. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA EM FLUXO	41
5.13. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR FIA	42
5.14. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO DE FENÓIS EM EXTRATOS DE SOLO	43
5.14.1. <i>Ensaio de recuperação em extratos puro de solo (RESP)</i>	44
5.14.2. <i>Ensaio de recuperação em extratos após processo de biodegradação (RESB)</i>	44
5.14.3. <i>Ensaio de recuperação utilizando solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ (RESD)</i>	44
5.15. INFLUÊNCIA DE SILICATOS SOLÚVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE P-CRESOL APÓS DESSORÇÃO DO SOLO COM SOLUÇÃO DE NaOH	45
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA DE SOLO	45
6.1.1. <i>Determinações potenciométricas de pH</i>	45
6.1.2. <i>Teor de cinzas</i>	46
6.1.3. <i>Análise Elementar</i>	46
6.1.4. <i>Granulometria e textura da amostra de solo</i>	47
6.1.5. <i>Análise por Fluorescência de raios X (FRX)</i>	47
6.1.6. <i>Análise por Difração de raios X (DRX)</i>	48
6.1.7. <i>Capacidade de Troca Catiônica (CTC)</i>	50

6.2. ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA (UV) DAS SOLUÇÕES PADRÃO DOS FENÓIS.....	51
6.3. TESTE COM SOLO NA PRESENÇA DE ÁGUA DEIONIZADA, SOLUÇÃO DE CaCl_2 E FENOL.....	52
6.4. ESPECTROS DE ABSORÇÃO DAS ESPÉCIES FENÓLICAS E CURVAS ANALÍTICAS	53
6.5. ENSAIOS EM BATELADA PARA SORÇÃO DE FENOL NA AMOSTRA DE SOLO	60
6.6. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO DE FENOL EM EXTRATOS DE SOLO	62
6.7. ENSAIOS DO TEMPO DE CONTATO.....	63
6.8. ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO	65
6.9. ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO COM SOLO AUTOCLAVADO.....	69
6.10. ENSAIOS DE DESSORÇÃO DE FENOL	71
6.11. ADAPTAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS EM EXTRATO DE SOLOS POR FIA	74
6.12. CURVAS ANALÍTICAS	77
6.13. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO EM EXTRATOS DE SOLO PURO (RESP)	82
6.14. RECUPERAÇÕES EM EXTRATOS DE SOLO APÓS DEGRADAÇÃO (RESB)	83
6.15. INFLUÊNCIA DE SILICATOS SOLÚVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE P-CRESOL APÓS DESSORÇÃO DO SOLO COM SOLUÇÃO DE NaOH	87
7. CONCLUSÕES	88
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Composição volumétrica percentual das fases de um solo ideal.....	5
Figura 2	– Matéria orgânica ligada aos argilominerais presentes no solo.....	7
Figura 3	– Comportamento do contaminante orgânico no solo.	8
Figura 4	– Modelo esquemático da camada estrutural básica de um argilomineral (a) tipo 1:1 e (b) tipo 2:1	10
Figura 5	– Camadas ou Horizontes do solo	12
Figura 6	– Diagrama ternário usado para determinação de textura de solos.....	14
Figura 7	– Classificação das Isotermas de adsorção	22
Figura 9	– Reação entre o fenol com 1-fenil-2,3-dimetil-4-aminopirazolona	26
Figura 10	– Diagrama em fluxo básico de um sistema para Análise por Injeção em Fluxo..	27
Figura 11	– Configuração otimizada do sistema utilizado nas determinações feitas por FIA43	
Figura 12	– DRX da amostra de solo com tratamento.....	49
Figura 13	– Espectros de Absorção na região do UV do fenol, o-cresol e p-cresol	51
Figura 14	– Espectros de absorção na região do UV das soluções de fenol	52
Figura 15	– Espectros de absorção na região do UV dos padrões de fenol utilizados para a obtenção da curva analítica	54
Figura 16	– Espectros de absorção na região do UV dos padrões de o-cresol utilizados para a obtenção da curva analítica	54
Figura 17	– Espectros de absorção na região do UV dos padrões de p-cresol utilizados para a obtenção da curva analítica	55
Figura 18	– Curvas analíticas obtidas a partir das absorbâncias máximas nos comprimentos de onda 270 nm dos padrões de fenol, o-cresol e 277 nm para o p-cresol	56
Figura 19	– Espectros de absorção na região do visível dos compostos formados a partir das soluções padrão de fenol	57
Figura 20	– Espectros de absorção na região do visível das soluções padrão de o-cresol .	58
Figura 21	– Curva analítica obtida a partir das absorbâncias máximas no comprimento de onda 510 nm.....	59
Figura 22	– Percentual de remoção de fenol em função das concentrações iniciais de fenol (mg L^{-1}).....	61
Figura 23	– Gráfico de barras mostrando a recuperação de fenol.....	62
Figura 24	– Ensaio do tempo de contato para as três espécies fenólicas	64
Figura 25	– Ensaio de inibição da biodegradação de fenol	66
Figura 26	– Ensaio de inibição da biodegradação de o-cresol	67
Figura 27	– Ensaio de inibição da biodegradação de p-cresol	68
Figura 28	– Ensaio de inibição da atividade microbiana no solo submetido a processo de autoclave	70

Figura 29 – Ensaio de dessorção de fenol, o-cresol e p-cresol	72
Figura 30 – Ensaio de dessorção de fenol no solo utilizando solução de NaOH 0,10 mol L ⁻¹ e posterior determinação com 4-AAP em 510 nm.....	73
Figura 31 – Interpretação geométrica do planejamento fatorial aplicado aos resultados obtidos para oito ensaios	76
Figura 32 – Fiagrama obtido a partir da leitura da absorbância no λ de fixo de 510 nm dos padrões de fenol.....	78
Figura 33 – Fiagrama obtido a partir da leitura da absorbância em λ de 510 nm dos padrões de o-cresol.....	78
Figura 34 – Curvas analíticas com barras de desvio padrão obtida a partir dos dados de absorção no comprimento de onda 510 nm dos padrões de fenol e o-cresol....	79
Figura 35 – Fiagrama obtido a partir da leitura da absorbância no comprimento de onda 277 nm dos padrões de p-cresol	80
Figura 36 – Curva analítica com barras de desvio padrão obtida a partir dos dados de absorção no comprimento de onda 277 nm dos padrões de p-cresol	81
Figura 37 – Percentuais de recuperação dos compostos fenólicos em extratos de solo	82
Figura 38 – Espectros de Absorção de soluções de NaOH 0,10 mol L ⁻¹ após contato com sílica	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação de algumas frações Granulométricas do solo	13
Tabela 2	– Classificação do pH do solo em água e solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	15
Tabela 3	– Propriedades físico-químicas dos compostos fenólicos avaliados	16
Tabela 4	– Características da Adsorção Física e Química	21
Tabela 5	– Concentrações de fenol utilizadas nos ensaios em batelada	37
Tabela 6	– Combinações possíveis entre os níveis de cada fator utilizado no planejamento fatorial 2^3	42
Tabela 7	– Teores dos dez óxidos principais determinados na amostra.....	48
Tabela 8	– Algumas fases minerais identificadas na amostra de solo por DRX.....	50
Tabela 9	– Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos obtidos a partir dos espectros dos padrões de calibração na região do UV.....	56
Tabela 10	– Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos obtidos a partir dos espectros dos padrões de calibração na região do visível pelo método da 4-AAP	60
Tabela 11	– Recuperações médias para teste de avaliação da influência de AH e AF na determinação de fenol pelo método da 4-AAP nos extratos de solo.....	74
Tabela 12	– Parâmetros testados para otimização do sistema em fluxo	75
Tabela 13	– Níveis inferiores e superiores definidos para o planejamento fatorial 2^3	76
Tabela 14	– Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos	81
Tabela 15	– Determinação de compostos fenólicos em extratos de solo por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV).....	83
Tabela 16	– Recuperação de compostos fenólicos em extratos de solo determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)	84
Tabela 17	– Determinação de compostos fenólicos após dessorção com solução NaOH e determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV).....	85
Tabela 18	– Recuperação de compostos fenólicos em extratos de solo após dessorção com solução NaOH e determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)	86

LISTA DE SÍMBOLOS

APHA	American Public Health Association
APHA/VIS	Método oficial para determinação de fenóis na região do visível
C_e	Concentração em equilíbrio
DRX	Difração de raios X
EPA	US Environmental Protection Agency
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
FIA/UV	Método convencional por FIA na região do Ultravioleta
FIA/VIS	Método oficial adotado a injeção em fluxo na região do visível
FRX	Fluorescência de raios X
GC-MS	Cromatografia em fase Gasosa acoplada a espectrometria de massa
K_{OW}	Constante de partição octanol-água
LD	Limite de Determinação
LQ	Limite de Quantificação
MO	Matéria Orgânica
pK_a	Logaritmo inverso da constante de acidez
RESB	Recuperações em extratos de solo após degradação
UV-VIS	Ultravioleta -Visível
λ	Comprimento de onda
4-AAP	4-aminoantipirina

RESUMO

Neste trabalho foi estudada a interação de três espécies fenólicas de interesse ambiental, fenol, o-cresol e p-cresol, com uma amostra de solo, previamente caracterizada. A sorção dos compostos fenólicos foi avaliada, mantendo-se os compostos em contato com a amostra de solo durante 48 horas, além de ter sido estudado o tempo de equilíbrio aparente. Após o tempo de contato entre os compostos e o solo, a quantificação nas fases sobrenadantes foi realizada pelo método oficial para determinação de fenóis empregando o reagente 4-aminoantipirina (4-AAP) em comprimento de onda de 510 nm ou por absorção na região do UV em 270 ou 277 nm. Foi constatado um processo de adsorção pouco significativo, o que é reforçado pelos baixos valores de $\log K_{OW}$ dos compostos fenólicos e alta solubilidade em meio aquoso. Isso motivou a investigação de possíveis efeitos de biodegradação dos compostos no solo. Para tal, foram empregados métodos químicos de inibição com soluções de $HgCl_2$, ou de NaN_3 ou de esterilização utilizando uma autoclave. Foi possível avaliar o tempo para biodegradação de cada espécie no solo que aumentou na seqüência: fenol (48 h) < o-cresol (72 h) < p-cresol (96 h). Estudou-se também o processo de dessorção dos compostos do solo, com solução de NaOH para extração de fenóis. Não foi constatada a presença dos compostos nos extratos, corroborando a hipótese de biodegradação das espécies fenólicas pela amostra de solo estudada.

Foi proposta uma adaptação do método oficial empregando a 4-AAP e o $K_3[Fe(CN)_6]$, para trabalhar por injeção em fluxo (FIA) na determinação dos compostos em extratos de solo. O método foi otimizado com relação ao pH da solução de $K_3[Fe(CN)_6]$, volume de amostra e volume da bobina de reação, utilizando um planejamento fatorial 2^3 . Obteve-se um bom aumento na frequência analítica com o método adaptado por FIA, além de menor consumo de amostras e reagentes. Foram elaboradas curvas analíticas, empregando o método convencional e o método por FIA para fenol e o-cresol na faixa de 0,50 a 16,00 mg L⁻¹ e de 5,00 a 50,00 mg L⁻¹ para o p-cresol, sendo este último determinado em λ de 277 nm. Foram confrontados os parâmetros de mérito e o desempenho de ensaios de recuperação em extratos de solo, pelo método convencional e por FIA. Para o fenol, as recuperações variaram de 95 a 106% empregando o método convencional e de 93 a 102% para o método por FIA. Para o o-cresol obteve-se recuperações de 98 a 105% empregando o método convencional e 92 a 106% para o método por FIA. O composto p-cresol apresentou recuperação utilizando o procedimento convencional na faixa de 96 a 98% enquanto para o método por FIA foram obtidos valores entre 97 e 110%. Tais valores sugerem uma boa confiabilidade entre ambos os métodos. Além disso, foram obtidos valores de LQ, ligeiramente menores para o método adaptado por FIA, frente ao método convencional. Isso sugere que o método adaptado a FIA, poderia ser empregado como uma boa alternativa na quantificação das espécies fenólicas estudadas no presente trabalho, pelo menos em extratos de solo.

ABSTRACT

The interaction between environmentally relevant phenolic species as phenol, o-cresol and p-cresol were studied in the present work with a previously characterized soil sample. The sorption of the phenolic compounds was evaluated after 48 hours of contact time between the compounds and the soil sample. Additionally, the apparent equilibrium time was investigated. After the suitable contact time, the concentration of the species in the supernatant phases was evaluated employing an official method for determining total phenolic concentration, with the colorimetric reagent 4-aminoantipirine (4-AAP) in wavelength 510 nm or in the UV region between 270 and 277 nm. The results suggest a negligible adsorption process that seems due to the low $\log K_{OW}$ values, as well as the high water solubility. Thus, biodegradation studies between the phenolic compounds and the soil sample were performed. In this way, $HgCl_2$ or NaN_3 solutions were employed as biodegradation chemical inhibitors, as well as an additional sterilization process with an autoclave. The results showed apparent biodegradation time in the following order: phenol (48 h) < o-cresol (72h) < p-cresol (96 h). A NaOH solution was utilized, in order to verify the desorption of phenolic compounds from soil. The compounds were not detected in the alkaline extracts a fact that corroborates the supposition of the biodegradation process.

A Flow Injection Analysis (FIA) method was studied to quantify the phenolic compounds in the soil extracts, using the same reagents of the official method, 4-AAP and $K_3[Fe(CN)_6]$ solutions. Using 2^3 factorial planning, the method was optimized with regard to pH of $K_3[Fe(CN)_6]$ solutions, sample loop and the reaction coil volume. A significant improvement of the analytical frequency and the minimization of the sample and reagents volumes with the FIA method were established. Analytical curves employing the conventional and the FIA methods in the range of 0,50 to 16,00 $mg L^{-1}$ were made to phenol and o-cresol and from 5,00 to 50,00 $mg L^{-1}$ to p-cresol, which was quantified in λ of 277 nm. The figures of merit between the conventional method and the FIA one were compared, as well as the recoveries in soil extracts. Values between 95 to 106% and 93 to 102 were observed to phenol recoveries for conventional and FIA methods, respectively. The o-cresol showed 98 to 105% and 92 to 106% for conventional and FIA methods, respectively. The p-cresol compound presented 96 to 98% and 97 to 110% to conventional and FIA methods, respectively. These results showed a good agreement between both methods. Furthermore, the FIA method provided a lower LOQ values in comparison with the conventional method. This indicates that FIA method could be a good approach to quantify the phenolic species studied in the present work, at least for soil extracts.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, estima-se que 90% dos alimentos consumidos no planeta venham do solo (MELO e AZEVEDO, 1997). No entanto sua poluição cada vez mais, vem se tornando motivo de preocupação para a sociedade e para as autoridades (CETESB, 2008). Em vista disso são fundamentais estudos que venham a contribuir com o entendimento da interação, transporte, tempo de residência e tratamento de contaminantes e ou poluentes no solo.

Além de ser o local da maior parte da produção de alimentos, o solo é o receptor de grandes quantidades de poluentes. Fertilizantes, pesticidas e resíduos sólidos são freqüentemente depositados no solo com tratamentos inadequados e despejos ilegais (CETESB, 2008). Dentre esses, destacam-se os compostos fenólicos, que também podem surgir naturalmente no ambiente decorrente da degradação de matéria orgânica ou degradação de lignina presente na madeira. No entanto, a atividade antropogênica é responsável pela maioria dos descartes de fenóis no meio ambiente (ALEMZADEH, 2002). Neste contexto, deve-se salientar que a contaminação de solos e águas superficiais e subterrâneas por atividades industriais tem tornado as áreas urbanizadas cenários de alto risco ambiental (MIDUGNO *et al.*, 2007).

Os fenóis são originários de plantas industriais, tais como coquearias, refinarias de petróleo e produtoras de resinas dentre outras (ENVIRONMENT AGENCY, 2005). Os compostos fenólicos são álcoois do tipo R-OH no qual R é um radical do tipo aromático, são bastante polares com baixos valores de constantes de partição octanol-água (K_{ow}) que é uma medida de hidrofiliabilidade de um composto orgânico (D'AGOSTINHO e FLUES, 2006).

Ainda são passíveis de fazer ligação de hidrogênio com água e matéria orgânica do solo e dependendo dos tipos de argilominerais presentes podem interagir favorecendo processos de sorção nestes meios (LEMES *et al.*, 2003).

A toxicidade destas espécies, tanto de maneira aguda como crônica, tem sido bastante estudada e sabe-se que a presença destes em água como contaminantes, que em nível de $mg L^{-1}$, afetam significativamente as suas propriedades organolépticas. Podem ter efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos (VEERESH *et al.* 2005), em decorrência dos tempos de exposição.

Rahman e Worch (2005) estudaram o equilíbrio de sorção de fenóis e o efeito do pH em geosorventes (principalmente argilominerais) na transferência de massa intrapartícula. A sorção dos fenóis mostrou dependência do pH e da sua permanência no material adsorvente, sendo possível obter uma regressão linear predizendo a transferência de massa intrapartícula.

A interação de 2,4-diclofenol foi estudada e comparada em solos submetidos a procedimento de autoclave e "in natura". Neste trabalho foi constatada maior interação da espécie fenólica com solo não autoclavado, sugerindo que as mudanças de pH e solubilização de material orgânico pelo procedimento de esterilização na amostra parecem influenciar a magnitude da sorção do composto fenólico avaliado (SHAW *et al.* 1999).

O efeito de poluentes orgânicos na atividade microbiana do solo foi investigado por Welp e Brummer (1999). Eles avaliaram a influência da sorção, solubilidade e especiação de doze compostos, dentre eles o fenol. Os resultados considerando sorção dos compostos indicam que variações de pH em amostras de solo podem modificar as características de sorção dos compostos devido a formação de espécies ionizadas ou neutras. No entanto os autores relatam que as características do solo estudado, bem com a capacidade tamponante, são importantes no destino dos compostos orgânicos avaliados.

A Microextração em fase sólida (SPME) foi utilizada por Baciocchi e colaboradores (2001) para a determinação de fenol e 3-clorofenol em amostras de solo via Cromatografia em fase Gasosa. Os autores ainda avaliaram degradação dos compostos por microrganismos em reatores com condições controladas (nutrientes, minerais e resíduos de interesse) e também investigaram a sorção dos fenóis, em outra amostra de solo com característica argilosa (71% de argila). A conclusão do trabalho sugere um método capaz de determinar os fenóis nas amostras, mostrando a possibilidade de interação dos fenóis avaliados em diferentes condições (degradação e/ou sorção).

O transporte de fenol pelos diferentes perfis do solo foi estudado por Viotti *et al.*, (2005). Para tal, foram realizados experimentos investigativos da sorção e degradação dos compostos fenólicos na amostra de solo. Após determinadas as isotermas de sorção e condições para inibição de degradação foram obtidos modelos matemáticos que avaliam o transporte de fenol o longo do perfil do solo.

A maioria dos trabalhos que relatam estudos envolvendo a interação de compostos fenólicos com amostras de solo, geralmente utilizam algum tratamento na amostra, visando minimizar efeitos da atividade microbiana.

O solo é um corpo natural, é a parte superficial intemperizada da crosta terrestre, não consolidada, que contém matéria orgânica, inorgânica e seres vivos (MCBRIDE, 1994), dentre eles se destacam os microrganismos e fungos (MELO E AZEVEDO, 1997). O solo atua freqüentemente como um "filtro", tendo a capacidade de depuração e imobilizando grande parte das impurezas nele depositadas. No entanto, essa capacidade é limitada, podendo ocorrer alteração da qualidade do solo, devido ao

efeito cumulativo da deposição de poluentes atmosféricos, à aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes e à disposição de resíduos sólidos industriais, urbanos, materiais tóxicos e radioativos (CETESB, 2008).

A disponibilidade de compostos fenólicos para plantas, animais ou microrganismos no solo é determinada, principalmente, pela extensão da adsorção e taxa de dessorção das partículas sólidas do solo. Essas propriedades são dadas pela estrutura molecular do composto, sua concentração no solo, além da temperatura, umidade e características físico-químicas do solo. A habilidade do solo de interagir com esses produtos, ou retardar o movimento dos mesmos, ajuda a reduzir a contaminação do ambiente. A degradação desses compostos pelos microrganismos do solo é considerada o fator principal que determina a sua persistência e o destino no solo (MELO E AZEVEDO, 1997).

Atividade microbiana é reconhecida como um dos fatores mais importantes na eliminação de xenobióticos no ambiente. A função dos microrganismos na transformação química de contaminantes no solo é conhecida há bastante tempo, sendo mostrada em diversos trabalhos de laboratório, comparando as proporções de degradação entre solos ativos e esterilizados (MELO E AZEVEDO, 1997).

Vários estudos descrevem a biodegradação de compostos aromáticos, dentre eles os fenóis e os cresóis (CLAUBEN e SCHMIDT, 1998), por uma ampla variedade de microrganismos, tais como algas, bactérias e fungos. Entre os fungos mais citados estão as espécies *Cunninghamella elegans* e *Phanerochaete chrysosporium* que apresentam a capacidade de oxidar e degradar uma grande variedade de moléculas aromáticas, tais como antraceno, fenantreno e fenóis (MELO E AZEVEDO, 1997). Esses microrganismos têm sido utilizados em processos de biorremediação e na despoluição de solo e sedimentos contaminados por compostos fenólicos clorados e de alta massa molecular (DURAN, 2000).

Buscou-se estudar o tipo de interação que compostos fenólicos vêm a ter com uma dada amostra de solo, com características físico-químicas previamente determinadas. Foram utilizados ensaios em batelada, nos quais foi investigada a capacidade do solo em sorver os fenóis, o tempo de residência no solo de cada espécie estudada e possíveis processos de biodegradação. Para quantificar as espécies fenólicas utilizou-se uma adaptação do método espectrofotométrico direcionado para análises de fenóis pelo método da 4-aminoantipirina na região do visível. Trata-se de um método analítico oficial empregado na quantificação de compostos fenólicos em águas e efluentes, baseado no procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (APHA, 1995). Por ser consolidado, amplamente citado na legislação ambiental de vários países, inclusive no Brasil, apresentar valores adequados

para limites de quantificação (LQ) e baixo custo de realização, foi escolhido para monitoramento da concentração dos fenóis em extratos de solo.

Constatou-se que o procedimento escolhido para quantificação das espécies, oferecia bons valores de LQ e relativa seletividade aos fenóis estudados, no entanto, exibiu dificuldades operacionais no preparo das amostras, resultando em problemas de repetibilidade. Além disso, se mostrou um procedimento demorado, com frequência analítica da ordem de 18 amostras h^{-1} o que acaba tornando-o de difícil implementação em uma rotina que envolva grande número de análises. Outro ponto negativo está relacionado às várias etapas de manipulação das amostras, podendo gerar erros analíticos e conseqüentemente influenciar a repetitividade e reprodutibilidade do método (SKOOG *et al.*, 2006). Além disso, do ponto de vista ambiental, o procedimento em batelada resulta em grandes volumes de rejeitos (cerca de 4 L de solução) após 35 análises determinadas, nos procedimentos implementados no presente trabalho.

Outras técnicas como Cromatografia em Fase Líquida da Alta Eficiência (CLAE) (BHATIA, 1973; CHRISWELL *et al.* 1975; ACHILLI *et al.* 1995; PEÑALVER *et al.* 2002;) e Cromatografia em Fase Gasosa (CG) (BACIOCCHI *et al.*, 2001; LLOMPART *et al.*, 2002; BIELICKA-DASZKIEWICZ *et al.*, 2004; FARAJI, 2005) são freqüentemente citadas na separação e identificação destes compostos, porém os custos para cada análise e dificuldades na preparação das amostras acabam tornando-os dispendiosos e lentos em rotinas com muitas amostras. Uma alternativa interessante são os sistemas espectrofotométricos adaptados a Análises por Injeção em Fluxo (FIA).

Os métodos baseados em FIA apresentam os requisitos necessários a este tipo de determinação, pois oferece considerável incremento da velocidade analítica, minimização na manipulação das amostras, o que configura aumento da reprodutibilidade, além de possibilitar valores de LQ próximos ou menores aos valores estipulados na legislação e no método oficial. Outro aspecto interessante é do ponto de vista ambiental, com a geração de menores volumes de rejeitos e economia de reagentes, aspectos amplamente requeridos nos dias atuais, na chamada Química Analítica Verde (LUPETTI *et al.*, 2004).

Dessa forma, a partir da problemática observada na primeira parte do trabalho envolvendo a quantificação dos fenóis, estudou-se a possibilidade de adaptar e implementar o método por FIA para a determinação de fenóis em extratos de solo. Com isso espera-se um aprimoramento em relação ao método convencional e oficial adaptado, no que diz respeito à aspectos importantes como velocidade analítica, facilidade operacional, reprodutibilidade, redução nos volumes de rejeitos e melhor performance na quantificação de fenóis em extratos de solo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SOLO

O solo é um meio complexo e heterogêneo, decorrente da alteração física e química de rochas, sedimentos ou outros solos, tendo sua formação influenciada por processos que estão constantemente interagindo como a vida, atmosfera e trocas de energia que ocorrem no meio. Sua composição é dada por quantidades variáveis de minerais, matéria orgânica, água, ar e organismos vivos, incluindo plantas, bactérias, fungos, protozoários, invertebrados e outros animais. (CETESB, 2008). A contribuição percentual das fases de um solo ideal é mostrada na Figura 1.

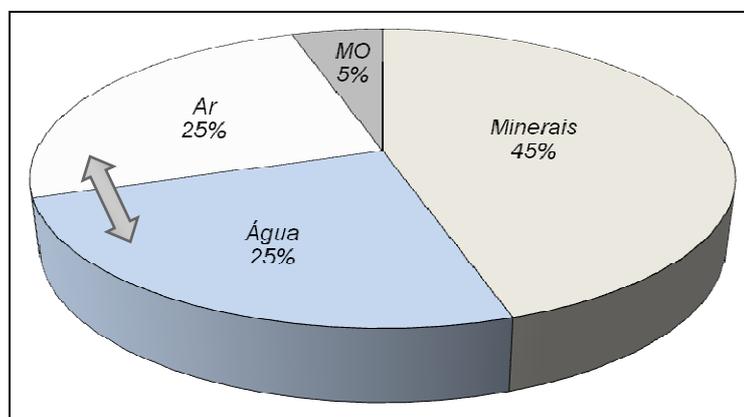


Figura 1 - Composição volumétrica percentual das fases de um solo ideal. MO representa a matéria orgânica (Adaptado de Manahan, 1994).

De acordo com a Figura 1, a composição volumétrica das fases de um solo ideal é dada por:

- A fase sólida é constituída pelo material parental (rocha) que pode ser proveniente do local ou transportado de outra região;
- O Material orgânico, originário da decomposição vegetal e animal;
- A fase líquida, a água ou a solução do solo é composta por elementos orgânicos e inorgânicos em solução;
- A fase gasosa tem composição variável, devido aos gases CO_2 e O_2 que são produzidos e consumidos por raízes de plantas e pelos animais (CETESB, 2008).

2.1.1. Água e Ar no solo

A água do solo desempenha papel fundamental no transporte de substâncias que se encontram nas partículas sólidas do solo para as raízes das plantas. A solução de solo é a porção aquosa do solo que contém materiais dissolvidos provenientes dos processos químicos e bioquímicos do solo e provenientes da troca com a hidrosfera e biosfera. (MANAHAN, 1994)

O ar do solo se encontra nos espaços entre as partículas e cavidades ocupando $\frac{1}{4}$ do volume total do solo. Sua composição difere um pouco do ar da atmosfera no nível do mar (21% O₂ e 0,03% CO₂), pois a decomposição da matéria orgânica em diferentes escalas altera essas concentrações, conforme a equação 1.



O processo de decomposição de matéria orgânica consome oxigênio produzindo CO₂ que acaba reduzindo o pH do solo devido à reação com a água gerando ácido carbônico (MANAHAN, 1994).

2.1.2. Matéria Orgânica (MO) no solo

A matéria orgânica é um componente ativo e importante no solo, a qual, sob um ponto de vista simplificado, pode ser dividida em três frações. A primeira delas é um componente macroscópico, particulado, composto de restos de animais e plantas em diferentes estágios de decomposição. A segunda é uma reunião de vários compostos orgânicos simples disponíveis, oriundos de resíduos vegetais e animais (carboidratos, aminoácidos, proteínas). A terceira é um componente complexo, colorido escuro, largamente aromático e polimérico, denominado húmus, relativamente resistente à degradação (MELO E AZEVEDO, 1997).

Dos componentes orgânicos listados, o húmus do solo é o mais significativo. O húmus é composto de uma fração solúvel em meio alcalino, denominada ácido húmico (AH), uma segunda fração solúvel em qualquer valor de pH conhecida como ácido fúlvico (AF), e uma terceira parte insolúvel em qualquer valor de pH designada como humina (HU). O húmus pode ser entendido como o resíduo originado, quando bactérias e fungos biodegradam o material das plantas. A maior parte da biomassa da planta consiste em celulose relativamente degradável e lignina resistente à degradação. Entre os principais componentes químicos da lignina estão os anéis aromáticos conectados por cadeias de

alquilas, grupos metilas, e grupos hidroxilas. Estes artefatos estruturais ocorrem no húmus do solo e dão a ele muitas de suas propriedades características.

Embora um solo produtivo seja composto de menos que 5% de matéria orgânica, esta determina em grande parte a produtividade do solo. Serve como uma fonte de alimento para microrganismos através de reações químicas, influenciando nas propriedades físicas do solo (MANAHAN, 1994).

O comportamento de retenção de compostos orgânicos no solo é fortemente dependente da matéria orgânica neste meio. De acordo com Stevenson (1994), o AH é o constituinte da matéria orgânica que tende a se fixar à superfície das partículas inorgânicas do solo (principalmente argilominerais, devido a sua elevada área específica), modificando os pontos de sorção para os poluentes orgânicos, conforme a Figura 2.

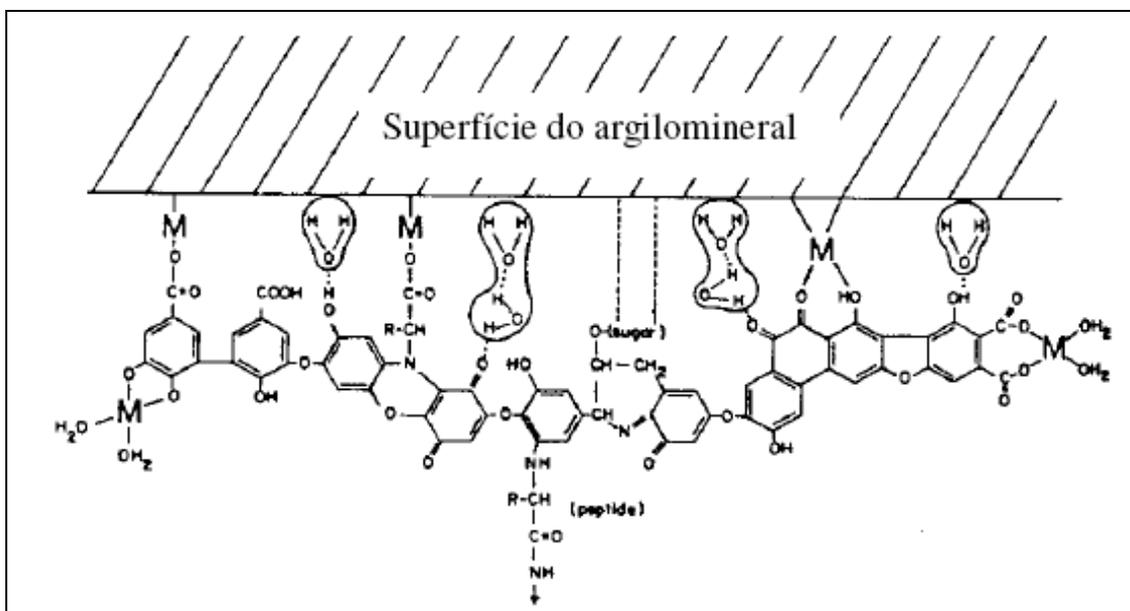


Figura 2 - Matéria orgânica ligada aos argilominerais presentes no solo (STEVENSON, 1994).

A matéria orgânica do solo é considerada heterogênea e consiste de componentes “hard” e “soft” (Figura 3), que exibem comportamentos de sorção diferentes para compostos orgânicos.

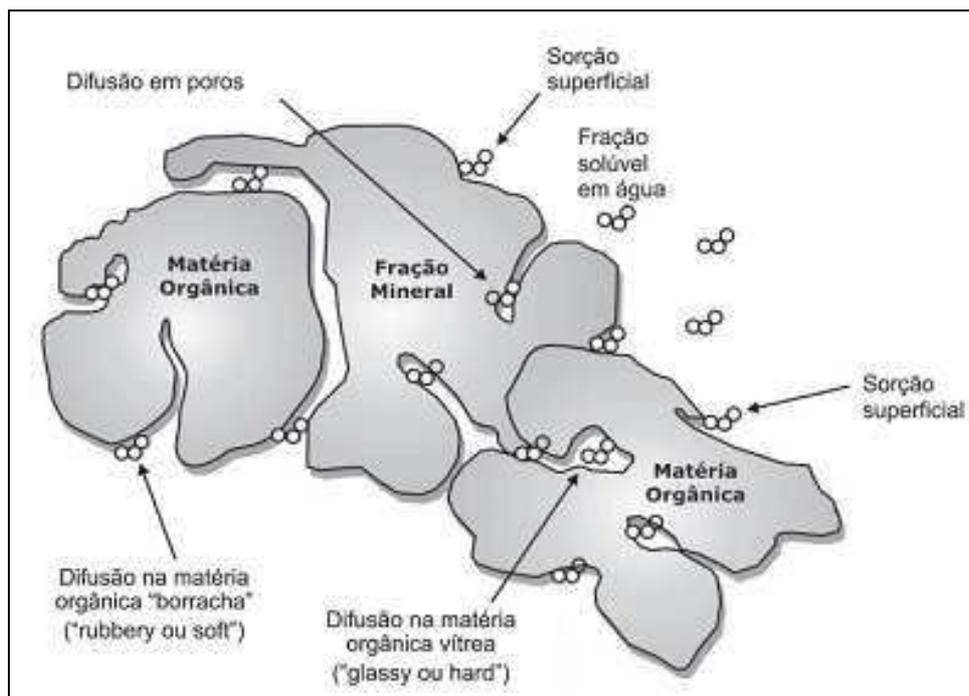


Figura 3 - Comportamento do contaminante orgânico no solo (Adaptado de D'AGOSTINHO e FLUES, 2006).

Os componentes mais acessíveis são denominados matéria orgânica tipo borracha (“soft” ou “rubbery”) e os componentes menos acessíveis são denominados rígidos ou vítreos (“hard” ou “glassy”) que exibem comportamentos de sorção diferentes. O poluente orgânico pode ser sorvido superficialmente pela matéria orgânica aderida à fração mineral ou pela fração orgânica solúvel. Em uma segunda etapa, o poluente orgânico pode difundir-se para dentro dos mesoporos e microporos e interagir com a matéria orgânica “rubbery” ou “soft” (microporos mais acessíveis) ou “glassy” e “hard” (microporos menos acessíveis). A maioria dos sorbentes são corpos altamente porosos, com área superficial interna muito grande e superfície externa constituindo somente uma pequena fração da superfície total do sorbente. Em geral, uma sorção não linear é resultado do processo de sorção na fração “hard” da matéria orgânica do solo (D'AGOSTINHO e FLUES, 2006)

De acordo com Jacques *et al.* (2007), espécies orgânicas apolares presentes no solo têm a permanência na fase líquida limitada, pois demandam que as moléculas de água rompam as pontes de H que estão estabelecidas com outras moléculas de água. Como esta reorganização tem um custo energético muito elevado, o composto apolar é forçado a deslocar-se na direção dos locais de maior hidrofobicidade, representados no solo pela MO e pela superfície dos minerais.

A MO é a principal parte hidrofóbica do solo, porque é constituída principalmente de átomos de C e de H, fazendo com que as pontes de H estejam

limitadas a determinados locais de sua estrutura. Além disso, por se encontrarem em um meio hidrofílico, que é o solo, as moléculas de MO tendem a expor suas superfícies com carga para o exterior e formar espaços hidrofóbicos em seu interior, nos quais os compostos apolares podem penetrar (JACQUES *et al.*, 2007).

Hancock e Dean (1997) avaliaram a interação e extração de quatro espécies fenólicas (fenol, *m*-cresol, 4-etilfenol e naftol) adicionadas em solo que foram extraídas num intervalo de 187 dias e determinadas por CLAE. Em relação a compostos fenólicos os autores relatam estudos sugerindo que mediadores biológicos tem papel importante no destino destes compostos no ambiente, influenciando no acoplamento oxidativo com substâncias húmicas. No mesmo trabalho os pesquisadores obtiveram recuperações entre 77 a 97 %, sendo a maior interação com solo atribuída ao naftol, que pode ser influenciada pela constante de particionamento / complexação com ácidos húmicos solúveis.

2.1.3. Minerais no solo

Os minerais encontrados nos solos são em geral, compostos químicos resultantes de processos inorgânicos, com composição química definida, arranjo atômico ordenado e encontrados naturalmente na crosta terrestre no estado sólido. Os principais grupos de minerais secundários existentes nos solos são os argilominerais, óxidos e hidróxidos (WEBER *et al.*, 2005).

Em solos tropicais, a mineralogia é relativamente simples, sendo constituídos principalmente de Caulinita, óxidos de ferro (Hematita, Goetita e maghemita), óxidos de alumínio (Gibbsite) e menores proporções de minerais do tipo 2:1, como a vermiculita (COSTA *et al.*, 2002).

A fração argila dos solos tropicais e subtropicais é, em grande parte, constituída por minerais como a caulinita, os sesquióxidos de Fe e Al, os minerais de argila expansivos do tipo 2:1, a illita e os óxidos de Ti, como o rutilo e o anatásio. A Caulinita, em termos quantitativos, é o principal componente da fração argila da maioria dos solos tropicais (SOUZA *et al.*, 2007).

Os argilominerais pertencem à classe mineral dos filossilicatos, sendo constituídos, de um modo geral, átomos de oxigênio, alumínio, silício, além de hidroxilas e ocorrem predominantemente na fração do solo denominada argila (diâmetro < 2 µm). Os argilominerais podem ser agrupados conforme a sua composição química e a seqüência do agrupamento das lâminas tetraédricas e octaédricas, conforme as

estruturas cristalinas dos principais grupos de argilominerais, 1:1 (grupo da caulinita) e 2:1 (grupo das esmectitas), de acordo com a Figura 4.

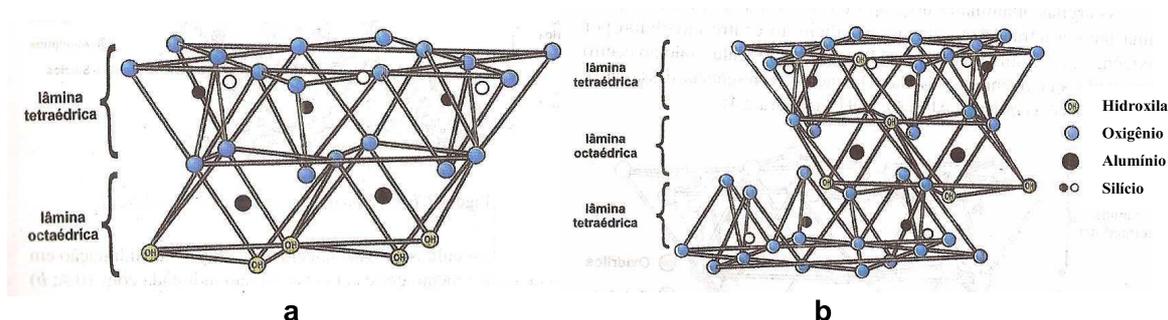


Figura 4 - Modelo esquemático da camada estrutural básica de um argilomineral (a) tipo 1:1 e (b) tipo 2:1 (Adaptado de Luchese et al., 2001).

Os argilominerais 1:1 são formados pela superposição contínua de uma lâmina tetraédrica seguida de uma lâmina octaédrica (Figura 4a). No caso dos argilominerais do tipo 2:1, tem-se uma lâmina octaédrica entre duas lâminas tetraédricas (Figura 4b). As esmectitas são expansivas e apresentam substituição isomórfica: o Al nas lâminas octaédricas pode ser substituído por Mg e Fe, entre outros cátions. O Al pode, por sua vez, substituir o Si nas lâminas tetraédricas. As micas são minerais não expansivos, apresentam átomos de K entre as lâminas tetraédricas e substituição isomórfica parcial no tetraedro de Si (PÉREZ *et al.*, 2004).

2.2. ATIVIDADE DE ARGILOMINERAIS

A maioria das interações que ocorre na fração mineral da argila e na matéria orgânica coloidal, tais como: a adsorção e a dessorção de íons e a dispersão e floculação de colóides, são fenômenos de superfície, portanto o entendimento da quantidade e da distribuição de cargas na superfície dos colóides é fundamental para explicar o comportamento das partículas coloidais, os atributos físicos e químicos do solo.

As cargas elétricas nos colóides dos solos são didaticamente divididas em estruturais (ou permanentes) e variáveis. As cargas permanentes desenvolvem-se na superfície da partícula sólida do solo por substituição iônica, enquanto as variáveis, por meio de dissociação e associação de prótons (H^+) (protonação/deprotonação) e adsorção específica de cátions e ânions (AGUIAR *et al.*, 2002).

A fração argila dos solos das regiões de clima tropical e subtropical, por apresentar avançado grau de intemperização é dominada por argilominerais do tipo 1:1, predominantemente, caulinita. Este mineral, principal e virtualmente o único mineral

silicatado em teor expressivo, e os óxidos e hidróxidos de Fe e de Al conferem superfície com carga elétrica variável nesses ambientes. É de se esperar que esses solos, principalmente nas camadas subsuperficiais, tenham baixíssimas quantidades de carga estrutural, à medida que avança o processo de intemperização (AGUIAR *et al.*, 2002).

Os argilominerais, sendo silicatos hidratados constituídos essencialmente de alumínio e algumas vezes de magnésio e ferro, além de quantidades menores de outros elementos (Ca, Na, K, Cr, Mn, Li), caracterizam-se por serem de pequena dimensão e apresentarem capacidade de sorver quantidades substanciais de água e íons na superfície da partícula. Formados por planos aniônicos superpostos, ao se empilharem originam cavidades. Esta superposição das folhas não se dá de forma compacta, de modo que são originados espaços, nos quais se alojam cátions trocáveis, íons hidroxila e moléculas de água.

Em solos contendo argilominerais com diferentes capacidades de troca iônica e matéria orgânica, a capacidade de troca aumenta, na ordem caulinita < clorita < Illita < montmorilonita. Este aumento está relacionado à redução do tamanho da partícula e, conseqüentemente, ao aumento da área superficial (JACQUES *et al.*, 2007).

Considerando aspectos como textura e conteúdo de matéria orgânica no solo, Melo e Azevedo (1997) concluíram que quanto mais argiloso um solo, maior é o seu grau de adsorção e, se houver a presença de argilominerais do tipo 2:1, a adsorção será ainda maior. Havendo elevado teor de matéria orgânica, a adsorção será aumentada, porque tanto as argilas como os materiais húmicos possuem grande área superficial por unidade de volume. Por exemplo, um grama de argila pode ter uma superfície de 20 a 80 m² (MELO E AZEVEDO, 1997).

2.3. PERFIL DO SOLO

Conforme o material de origem se transforma em solo, ele vai se diferenciando em camadas, mais ou menos paralelas às superfícies, camadas essas denominadas horizontes. O conjunto de horizontes, situados em uma seção vertical que vai da superfície até o material originário, é o perfil do solo que recebe letras para sua codificação.

Os principais símbolos usados são: O, A, E, B, C, e R (Figura 5). Os horizontes que recebem o símbolo O são os que possuem feições mais afastadas do material originário e o horizonte C é o que apresenta aspectos mais próximos da rocha que, por sua vez, recebe a denominação R (adaptado do Manual Técnico de Pedologia IBGE, 2007).

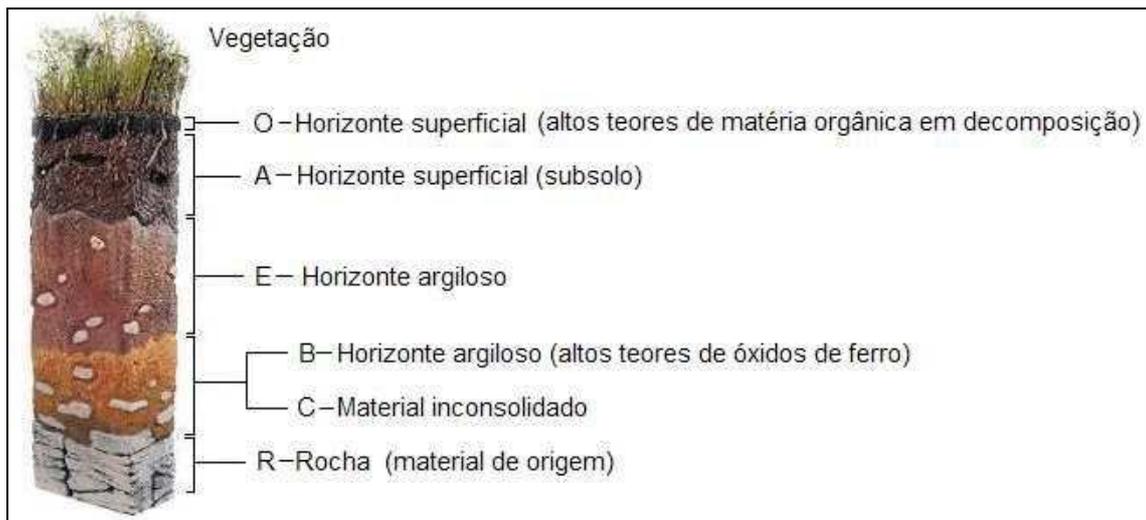


Figura 5 – Camadas ou Horizontes do solo. O: horizonte rico em matéria orgânica total ou parcialmente decomposta; A: material mineral escurecido por matéria orgânica com perda de colóides minerais por lixiviação; E: horizonte estruturado de subsuperfície, que ganha o material perdido pelo horizonte A; B e C: horizontes de subsuperfície, parcialmente intemperizado, constitui transição do solo para a rocha de origem; R: rocha de origem. Adaptado do Manual Técnico de Pedologia (IBGE, 2007).

Segundo o Soil Survey Manual (1993) cada perfil de um solo genérico tem as seguintes composições:

O – horizonte superficial, com acúmulo de matéria orgânica total ou parcialmente decomposta, ocorrendo em solos de mata ou em solos orgânicos, principalmente em baixadas.

A – horizonte superficial, constituído de material mineral escurecido por matéria orgânica, podendo ser também o horizonte de perda de colóides minerais, apresentando, então, textura mais grosseira (mais arenoso).

E – Horizonte argiloso consolidado que apresenta material orgânico decomposto e mineral lixiviados das camadas anteriores.

B – horizonte de subsuperfície, que ganha o material perdido pelo horizonte A e E, textura mais fina (mais argiloso) que o horizonte E, mais colorido e mais estruturado.

C – horizonte de subsuperfície, parcialmente intemperizado, constitui transição do solo para a rocha (material de origem).

R – rocha (material de origem) (SOIL SURVEY MANUAL, 1993)

2.4. TEXTURA DO SOLO

Textura diz respeito às dimensões e características das partículas primárias do solo. Essas partículas são agrupadas em função do tamanho, porém apresentam

características comuns. Segundo o *Manual Técnico de Pedologia* (IBGE, 2007) algumas das partículas que formam as fases do solo são separadas conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação de algumas frações Granulométricas do solo. De acordo com o Manual Técnico de Pedologia (IBGE, 2007)

Fração	Diâmetro de partícula*
Areia grossa	de 2,0 mm a 4,8 mm
Areia média	de 0,42 mm a 2,0 mm
Areia fina	de 0,05 mm a 0,42 mm
Silte	de 0,005 a 0,05 mm
Argila	Inferior a 0,005

**relativo ao diâmetro médio das partículas.*

A fração areia constituída quase que essencialmente de quartzo é responsável pelo aparecimento de macroporos, e, portanto pela aeração do solo, retém pouca água e poucos nutrientes. Fração silte é constituída em sua maior parte por quartzo promove o aparecimento de poucos poros, podendo causar adensamento do solo, retém pouca água e poucos nutrientes. A fração argila é constituída em sua maior parte por minerais de argila, promove a estruturação do solo, fazendo com que ocorra o aparecimento de um elevado volume de poros, principalmente de microporos, retém muita água e muitos nutrientes (ZIMBACK, 2003).

Raramente um solo é constituído de uma só fração granulométrica, daí a necessidade de classes de textura procurando definir diferentes combinações de areia, silte e argila. A Figura 6 mostra o triângulo das classes texturais, adaptado do Manual Técnico de Pedologia (IBGE, 2007) que é utilizado para determinação das texturas do solo.

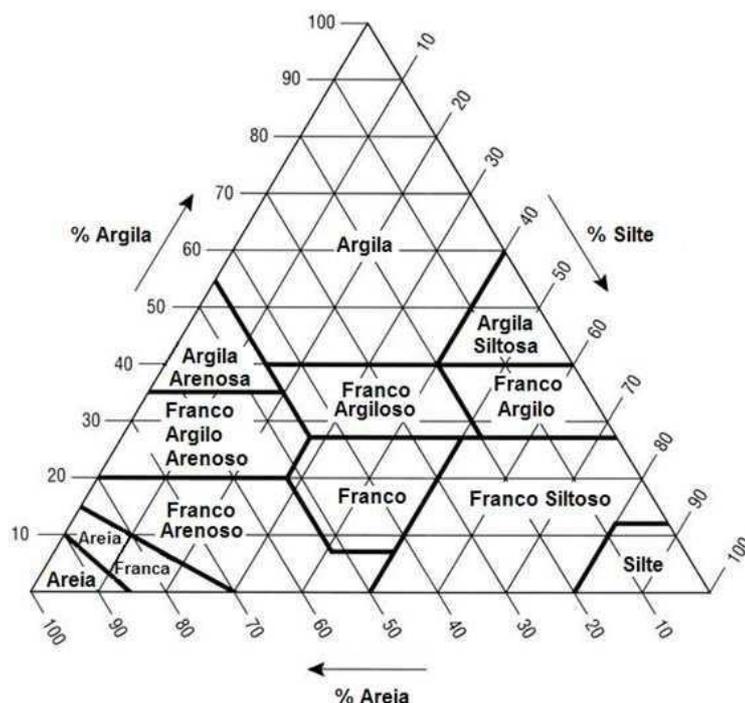
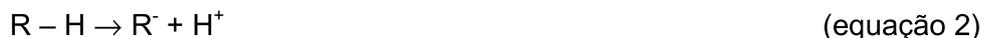


Figura 6 - Diagrama ternário usado para determinação de textura de solos (adaptado de IBGE, 2007).

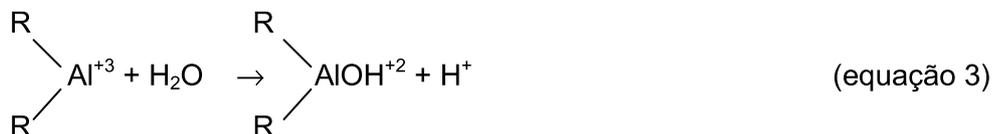
2.5. ACIDEZ DO SOLO

A acidez do solo é uma das medidas mais simples realizadas no solo e origina informações importantes sobre seu manejo, o que é fundamental nos aspectos de maior ou menor produtividade agrícola. O pH também é limitante nas reações de troca iônica, dissolução/precipitação, redução/oxidação, adsorção e complexação (MCBRIDE, 1994). No solo a acidez é explicada basicamente conforme as equações abaixo:

- por reações de ácidos orgânicos fracos dissociados,



- complexos orgânicos contendo Al^{+3} que promovem hidrólise da água,



- acidez da troca de H^+ e Al^{+3} de minerais,
- $K^+ + H^+$ -esmectitas $\rightarrow H^+ + K^+$ -esmectita (equação 4)
- $K^+ + Al^{+3}$ -esmectitas $\rightarrow AlOH^{+2} + K^+$ -esmectita + H^+ (equação 5)
- e acidez não trocável das superfícies de argilas silicatadas.





A acidez dos solos brasileiros é classificada de vários modos, podendo ser generalizada conforme Tabela 2 (PAULLETI, 2004).

Tabela 2 – Classificação do pH do solo em água e solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹

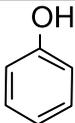
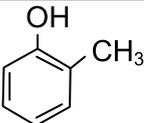
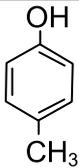
Acidez	pH em Água	pH em CaCl ₂ 0,01 mol L ⁻¹
Muito alta	< 5,0	< 4,4
Alta	5,0 – 5,6	4,4 – 5,0
Média	5,7 – 6,1	5,1 – 5,5
Baixa	6,2 – 6,6	5,6 – 6,0
Muito Baixa	> 6,6	> 6,0

Segundo QUAGGIO e van RAIJ (2001), pode haver uma diferença na determinação destas soluções em torno de 0,6 unidades, pois o emprego de solução salina como do CaCl₂ em concentração 0,01 mol L⁻¹ gera menores valores de pH comparativamente com a água, podendo em alguns casos específicos ocorrer o inverso. Afirmam ainda que, o pH determinado na solução de CaCl₂ é considerado mais adequado por sofrer menor influência do efeito salino da solução do solo. Todavia, existe uma série de fatores que influenciam na determinação do pH. Cabe dizer que em alguns estados como Paraná e São Paulo é adotado método padrão para determinação do pH em amostras de solo empregando método utilizando solução de CaCl₂ em concentração 0,01 mol L⁻¹ (Citado por SILVA, 2006).

2.6. COMPOSTOS FENÓLICOS

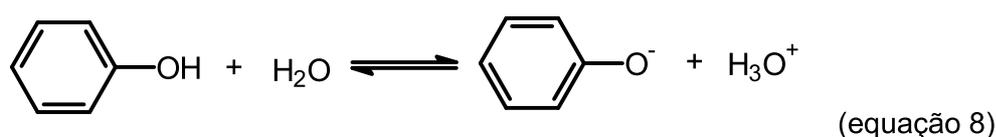
Fenóis são compostos que apresentam um grupo hidroxila diretamente ligado a um anel benzênico (Solomons e Fryhle, 2002). O fenol apresenta a fórmula química: C₆H₅OH. Consiste de um cristal incolor ou branco em forma de agulha, tem odor característico e é corrosivo. O ponto de fusão do fenol é 40,71°C e o produto comercial contém em geral menos do que 5% de água. Mistura-se completamente com os solventes orgânicos (álcool, éter, glicerina, clorofórmio e sulfeto de carbono). O composto mais simples da família é o fenol ou hidroxibenzeno. Os monometilfenóis recebem o nome de cresóis (FERNANDES, 2005). Algumas características físico-químicas das espécies fenólicas estudadas são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas dos compostos fenólicos avaliados (IPCS, 1996)

Propriedades	fenol	<i>o</i> -cresol	<i>p</i> -cresol
Estrutura			
Nomenclatura IUPAC	Hidroxibenzeno	2-metil-hidroxibenzeno	4-metil-hidroxibenzeno
Peso molecular (g mol ⁻¹)	94,11	108,14	108,14
Pressão de vapor (mmHg)	0,357 (20 °C)	0,31 (25 °C)	0,13 (25 °C)
Solubilidade em água a 25°C (g L ⁻¹)	93	25	23
pK _a a 25°C	9,89	10,20	10,17
log K _{OW}	1,46	1,95	1,94
Toxicidade* DL ₅₀ (g kg ⁻¹)	0,41-0,53	1,35	1,80

*toxicidade para ratos (ENVIRONMENTAL HANDBOOK, 2008).

Os fenóis são compostos relativamente ácidos, porém, menos ácidos que os ácidos carboxílicos e podem ser convertidos em seus respectivos sais, por soluções aquosas de hidróxidos. Estes sais são conhecidos como fenóxidos ou fenolatos. Em meio aquoso comporta-se como um ácido fraco conforme equação 8.



Em meio alcalino os compostos fenólicos encontram-se na forma ionizada de fenolato (GUILARDUCI, 2006).

Um valor de grande importância, em estudos envolvendo a sorção de fenóis, é o coeficiente de partição octanol-água (K_{OW}), pois tem ligação com a mobilidade de um dado composto no solo. O K_{OW} é definido como a relação da concentração em equilíbrio de um contaminante orgânico na fase octanol em relação à concentração do contaminante na fase aquosa, conforme a equação 9:

$$K_{OW} = \frac{[C]_O}{[C]_W} \quad (\text{equação 9})$$

Onde, $[C]_o$ denota a concentração em equilíbrio do composto na fase alcoólica e $[C]_w$ representa a concentração do composto químico na fase aquosa. O valor de K_{ow} pode ser usado para estimar o comportamento de compostos orgânicos hidrofóbicos que não interagem eletricamente com a superfície do solo, sendo uma medida indicativa da hidrofobicidade de um dado composto orgânico (D'AGOSTINHO E FLUES, 2006).

De acordo com Veeresh *et al.* (2005) os fenóis podem ter efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos. Por outro lado, não existe evidência indicando o potencial efeito carcinogênico do fenol (BUSCA *et al.*, 2008). Eles são inibidores de crescimento para microrganismos em processos de tratamento biológico (em altas concentrações), sendo que uma concentração de fenol igual ou superior a 1 mg L^{-1} pode alterar algumas das propriedades organolépticas da água (VEERESH *et al.*, 2005).

2.7. CONTAMINAÇÃO DE SOLO E ÁGUA POR COMPOSTOS FENÓLICOS

Segundo a agência de controle ambiental dos Estados Unidos, U.S. Environmental Protection Agency (EPA) a concentração de fenóis em rejeitos aquosos deve ser menor que 1 mg L^{-1} e no Brasil é estabelecida uma concentração de fenóis totais de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (CONAMA, 2005).

Dentre estes poluentes, os compostos fenólicos ocupam destaque, estando presentes na lista de poluentes prioritários da Environmental Protection Agency' (EPA, 1999) totalizando 11 fenóis das 129 substâncias presentes na lista. A produção global de fenóis alcançou 8,4 milhões de toneladas em 2004. São precursores para uma série de seguimentos industriais, dentre eles, o petroquímico, farmacêutico, plástico e de pesticidas (XIAO *et al.*, 2006).

Como o fenol está presente em diversos seguimentos industriais é natural que seja encontrado nos rejeitos destes processos. São gerados na produção de plásticos, desinfetantes, drogas, pesticidas, anti-oxidantes, papel e na indústria petroquímica (ZHAO e LEE, 2001). O descarte indevido, ou seja, sem tratamento destes resíduos ocasionará uma série de conseqüências devido a sua toxicidade para o ambiente aquático e terrestre (VEERESH *et al.*, 2005).

Em vista da toxicidade para os seres vivos e principalmente para o homem, torna-se importante o estudo do comportamento tanto em solução como em fase sólida, mais especificamente no solo, uma vez que estes podem contaminar fontes de água para consumo humano e o solo utilizado na agricultura. Isso tem motivado grande número de estudos ambientais, visando à remoção de compostos fenólicos de meio aquoso.

É relatado na literatura a contaminação e tratamento de águas contendo espécies fenólicas (POULOPOULOS *et al.*, 2006; XIAO *et al.*, 2006). Por outro lado, a contaminação dos solos vem se tornando um problema cada vez mais sério (HEINEGG *et al.*, 2002) em vista do solo ser uma matriz sólida que pode atuar como adsorvente para espécies fenólicas dificultando o seu tratamento e tornando o mesmo muito dispendioso e demorado.

Havendo contaminação do solo, os poluentes presentes podem migrar para os alimentos e serem consumidos pelos seres humanos na sua ingestão. Vários autores descrevem trabalhos relacionados à interação de compostos fenólicos no meio ambiente com uma fase sólida e sua remediação (HUANG *et al.*, 2006; TZIOTZIOS *et al.*, 2005; RAHMAN E WORCH 2005).

2.8. ESTUDOS PARA MINIMIZAR IMPACTO DE FENÓIS EM SOLOS E ÁGUAS

A intensificação das atividades industriais e agrícolas, em consequência do desenvolvimento tecnológico e do crescimento populacional nas últimas décadas, tem ocasionado um considerável aumento dos níveis de contaminantes orgânicos no solo (PAULA, 2007). De sorte que o solo atua freqüentemente como um "filtro", tendo a capacidade de depuração e imobilizando grande parte das impurezas nele depositadas. No entanto, essa capacidade é limitada, podendo ocorrer alteração da qualidade do solo, devido ao efeito cumulativo da deposição de poluentes (CETESB, 2008).

No que diz respeito ao solo, o estudo do comportamento da interação destas espécies com este tipo de sedimento é de grande importância, pois permite entender como os fenóis se comportam quanto ao processo de sorção ou processo que ocorrem em paralelo, por exemplo, degradação biológica e química. De posse desse tipo de informação, pode-se inferir se um evento pluviométrico poderia causar a contaminação do lençol freático. O entendimento da interação permite também a escolha do melhor método de remediação para um determinado local.

Vários trabalhos apresentam métodos de tratamento de áreas contaminadas por poluentes orgânicos e fenóis (ATAGANA, 2004; VEERESH *et al.* 2005; LUO *et al.*, 2005; PRPICH *et al.*, 2006; TALLUR *et al.*, 2006). Busca e colaboradores (2008) publicaram um artigo de revisão comentando alguns métodos recentes para separação e degradação de fenóis em matrizes aquosas e gasosas. Dentre os métodos de separação destacam-se destilação, extração líquido-líquido, adsorção e pervaporação por membrana. Em relação aos procedimentos para degradação os autores citam oxidação total de fenóis por "stripping" (ar ou oxigênio), oxidação por via úmida, oxidação eletrolítica e fotocatalítica. Além disso, os métodos biológicos são interessantes desde

que sejam empregados em águas com concentração de fenol não muito elevada. A degradação geralmente ocorre via microrganismos como fungos e bactérias (MELO e AZEVEDO, 1997).

A degradação de fenol por fungos foi investigada por Atagana (2004). Nesse trabalho sete fungos não basidiomicéticos e aclimatados a fenóis: *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Monicillium*, *Trichoderma* e *Penicillium*, e dois fungos do tipo basidiomycetos, *Pleurotus* e *Phanerochaete* foram isolados de um solo contaminado por fenóis e as cepas inoculadas em amostra de solo contaminado com fenol, *o*-cresol, *m*-cresol e *p*-cresol. Os ensaios no solo (18 tratamentos em reatores) foram conduzidos em condições controladas de temperatura, umidade, luz, pH e nutrientes. Os tratamentos suplementados com nutrientes se mostraram mais efetivos na degradação do fenol (entre 84 e 100%) frente aos não complementados. Os autores ainda relataram resultados de degradação de fenol maiores no tratamento utilizando o consórcio de seis fungos.

Em uma revisão Durán e Espósito (2000) discutem as potencialidades enzimas como fenoloxidasas no tratamento de efluentes contendo compostos fenólicos. De acordo com os autores as enzimas oxidativas de bactérias, fungos e plantas têm sido relatados na literatura desempenhando papel importante em aplicações de tratamento de diversos resíduos. Peroxidases e/ou fenoloxidasas podem agir em poluentes recalcitrantes específicos por precipitação ou transformação para outros produtos e permitir um melhor tratamento final dos resíduos. Já os tratamentos com enzimas *Horseradish peroxidase*, *Lignina peroxidase* e *Manganês peroxidase* podem mineralizar uma grande variedade de compostos aromáticos recalcitrantes. A imobilização destas enzimas em suportes porosos de cerâmica ou resinas não prejudicam a sua estabilidade mostrando bom potencial para a degradação de compostos aromáticos persistentes no meio ambiente. Outras enzimas como, *Tirosinase* e *Lacase* são lembradas na revisão e atuam com eficiência na degradação de fenóis.

Khan e Anjaneyulu (2005) avaliaram a influência dos componentes do solo na sorção de compostos fenólicos em amostras de solo provenientes da Índia e o desenvolvimento de uma tecnologia acessível para remediação de áreas poluídas. Para isso foram desenvolvidas culturas microbianas mistas capazes de degradar os compostos orgânicos até a completa mineralização, sendo as respectivas constantes biocinéticas avaliadas. Os resultados encontrados mostraram que após o tratamento das amostras houve redução acima de 67,5% de matéria orgânica removida. Juntamente com os dados de dessorção foi mostrado que o tratamento consegue reter os compostos fenólicos e assim estes podem ser degradados por microrganismos presentes no solo.

A degradação bacteriana de fenóis em sete amostras de solo (várzea) por via aeróbica e anaeróbica foi examinada por Shibata *et al.* (2006). A degradação por via

aeróbia foi detectada em todas as amostras de solo, com tempos de meia-vida dos fenóis variando entre 2 a 19 dias. Por outro lado, em apenas três amostras de solo foi verificada degradação anaeróbica dos compostos. Os autores sugerem correlação da quantidade de carbono orgânico parece influenciar inversamente, na degradação de 4-t-octilfenol.

2.9. PROCESSOS DE SORÇÃO

Inúmeros processos físicos, químicos e biológicos ocorrem entre duas fases, enquanto outros são iniciados na fronteira dessa interface. A mudança na concentração de uma determinada substância na interface, em comparação com as fases vizinhas é definida como adsorção. Dependendo do tipo de fases em contato, considera-se este processo nos seguintes sistemas: líquido-gás, líquido-líquido, sólido-líquido e gás-sólido (Dabrowski, 2001).

A literatura define como sorbato o soluto que irá interagir com o material sólido e sorbente a fase sólida que irá sorber os compostos. A interação sólido-soluto é chamada genericamente de sorção, englobando os termos adsorção e absorção, que podem ser diferenciados pela forma como as moléculas do sorbato interagem com o sorbente (SITE, 2001).

A adsorção química é específica e envolve a formação de um composto bidimensional, como por exemplo, quando gases entram em contato com superfícies metálicas limpas (ATKINS, 1999). Uma interação forte é indicativa de adsorção química, na qual interações covalentes ou forças eletrostáticas se formam entre a molécula e a superfície. Por outro lado adsorção de fraca intensidade é característica de adsorção física, na qual as interações entre os sítios do adsorbato e a adsorbente são menos energéticas (abaixo de 10 kcal mol^{-1} de adsorbato), sendo um tipo de adsorção não-específica, rápida e reversível. O adsorbato encontra-se ligado à superfície somente por forças de van der Waals (forças dipolo-dipolo e forças de polarização, envolvendo dipolos induzidos).

A uma temperatura constante a quantidade adsorvida aumenta com a concentração do adsorbato (em solução ou na fase gasosa), e a relação entre a quantidade de sorbato (x) por unidade de massa (m) adsorvida e a concentração em equilíbrio (C_e) é conhecida como isoterma de adsorção. A quantidade de substância adsorvida na superfície decresce com o aumento da temperatura, já que todos os processos de adsorção são exotérmicos (SANTOS, 2003). O processo de sorção é geralmente estudado através dos gráficos de concentração em equilíbrio de um composto na fase sorbente como uma função do mesmo em uma fase gasosa ou em solução a uma determinada temperatura.

Os minerais e superfícies orgânicas de solos (adsorvente) podem adsorver moléculas orgânicas (adsorbato) fraca ou fortemente dependendo do tipo de interação entre o sistema adsorbato-adsorvente. As diferenças entre adsorção química e física são listadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características da Adsorção Física e Química

Propriedade	Física	Química
Calor de adsorção	10 kcal mol ⁻¹	20 kcal mol ⁻¹
Faixa de temperatura de adsorção	Somente abaixo do ponto de ebulição do adsorbato	Em baixa e alta temperatura
Inclinação da isoterma de adsorção	Maior com alta concentração de adsorbato	Menor com alta concentração de adsorbato
Dependência das propriedades do adsorvente	Relativamente baixa	alta
Dependência das propriedades do adsorbato	alta	alta
Energia de ativação da adsorção	Baixa ou nenhuma	Pode ser alta
Número de camadas de moléculas adsorvidas	Múltiplas	Única

2.9.1. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Os dados de adsorção são comumente representados por uma Isoterma de adsorção, a qual é construída, plotando-se a quantidade de adsorbato retido por um sólido como uma função da concentração do adsorbato numa fase gasosa ou solução que está em equilíbrio com o sólido. A forma da linha descrita pela isoterma sugere a informação a respeito da interação de adsorbato-adsorvente. As isotermas são classificadas em quatro tipos, como mostra a Figura 7.

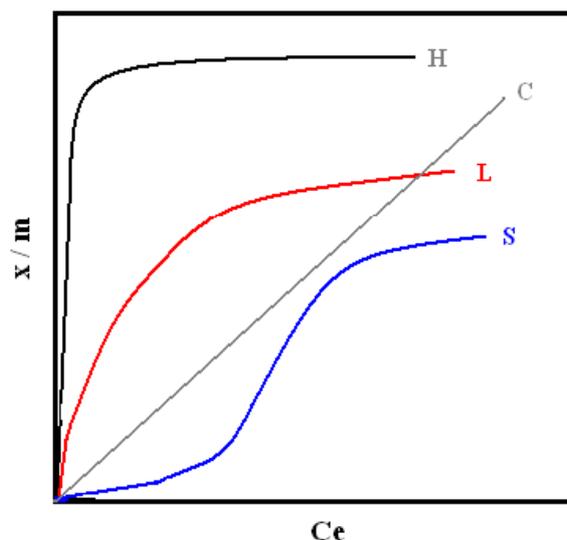


Figura 7 – Classificação das Isotermas de adsorção. x/m : massa de sorbato sorvida por massa sorbente ($\mu\text{g g}^{-1}$); C_e : concentração de sorbato em equilíbrio aparente em solução; H: Isoterma de alta afinidade entre a sorbato e sorbente; C: Isoterma de partição constante; L: isoterma de Langmuir; S: isoterma Sigmoidal sugerindo adsorção cooperativa (Adaptado de MCBRIDE, 1994).

A Isoterma do tipo L (*Langmuir*) reflete uma relativa alta afinidade entre o adsorbato e adsorvente, o que indica usualmente quimissorção. A isoterma do tipo S (*Sigmoidal*) sugere “adsorção-cooperativa” a qual acontece se o sistema adsorbato-adsorbato é mais forte do que a interação adsorbato-adsorvente. Esta condição favorece os “agrupamentos” das moléculas de adsorbato na superfície porque as moléculas interagem mais fortemente entre uma e outra do que com uma superfície diferente. A isoterma do tipo C (*Constant-partitioning*), a qual sugere uma afinidade constante das moléculas de adsorbato para com o adsorvente, é usualmente observada somente numa pequena faixa de adsorção e desvios da relação linear da isoterma são observadas quando se tem alta adsorção. A isoterma do tipo H (*High affinity*), indicativa de interações muito forte (quimissorção), é um caso extremo da isoterma de Langmuir. Esta isoterma não é encontrada geralmente em solos e moléculas orgânicas, pois poucas delas formam ligações iônicas ou covalentes com os colóides do solo (MCBRIDE, 1994).

Outras isotermas são possíveis, no entanto são reconhecidas como híbridas dos 4 tipos descritos. É importante ressaltar que somente a isoterma não provê informação suficiente para descrever o tipo de mecanismo envolvido na adsorção, para tal elucidação deve se buscar outras técnicas como Espectroscopia Molecular (MCBRIDE, 1994).

Muitas fontes de erros estão presentes em ensaios de sorção, tais como, perdas por volatilização, degradação biológica, química dos compostos, tempo de contato insuficiente para ocorrer o equilíbrio, separação ineficiente entre o sorbente e a fase

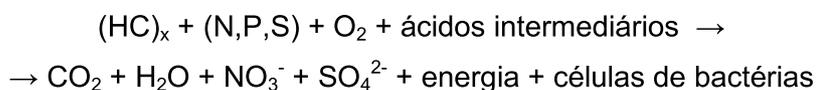
aquosa e a razão sorbente / soluto. Para se ter dados reprodutíveis e confiáveis, os testes de sorção necessitam de uma preparação inicial cuidadosa das fases sorbentes, que incluem secagem, homogeneização e esterilização, esta última necessária para evitar a degradação microbiana do composto estudado durante o experimento (SITE, 2001).

2.10. BIODEGRADAÇÃO DE FENÓIS EM SOLOS

O solo é amplamente habitado por populações de microrganismos como bactérias, fungos, protozoários e algas, além de populações macroscópicas, tais como anelídeos e artrópodes, formando uma complexa teia de comunidade alimentar. A microflora do solo tem papel fundamental nos ciclos globais de nutrientes e carbono, participando de processos importantes como a nitrificação, desnitrificação e mineralização do carbono. Dos organismos ativos desse esforço de reciclagem, os fungos são particularmente efetivos e versáteis, possuindo a capacidade enzimática de degradar substratos bastante complexos e poliméricos, por exemplo, polissacarídeos, tais como celulose, hemicelulose, lignina, amido, quitina e glicogênio; proteínas, como, caseína, queratina e albumina. Por outro lado, as bactérias, em geral, são efetivas na degradação de produtos solúveis simples.

A biodegradação inclui a degradação biológica de poluentes majoritariamente orgânicos, em ambiente subterrâneo. O solo contém bactérias, que ocorrem de forma natural, e que são capazes de provocar a biodegradação dos compostos orgânicos. É, no entanto, nos primeiros horizontes do solo que as condições são mais favoráveis à biodegradação, onde o solo é rico em oxigênio e em microrganismos (LEITÃO, 2006).

O esquema que representa o processo geral da biodegradação é o seguinte:



Neste esquema, $(\text{HC})_x$ representa os hidrocarbonetos e (N,P,S) representa os nutrientes: nitrogênio, fósforo e enxofre, necessários para o metabolismo e crescimento (mais de 60% dos hidrocarbonetos são usados pelas bactérias para a reprodução e materiais celulares) (LEITÃO, 2006).

Uma ampla variedade de microrganismos é capaz de biodegradar compostos aromáticos como fenóis, tais como algas, bactérias e fungos que podem estar presentes tanto em culturas puras como mistas.

Entre os fungos mais citados, tem sido relatado que *Cunninghamella elegans* e *Phanerochaete chrysosporium* apresentam capacidade de oxidar e degradar vários compostos aromaticos, tais como antraceno, fenantreno e fenol. Esses microrganismos têm sido até mesmo usados em processos de biorremediação, na despoluição de solos e sedimentos contaminados por tais compostos. (MELO E AZEVEDO, 1997).

Tallur *et al.* (2006) estudaram uma bactéria identificada como uma espécie *Bacillus sp.* que foi isolada a partir de um solo e era capaz de utilizar *p*-cresol como única fonte de energia o carbono proveniente de compostos fenol, *o*-cresol, *m*-cresol e ácido 4-hidroxibenzóico. Neste trabalho foram também identificados os metabólitos referentes à degradação do composto *p*-cresol e os autores concluíram que essa cepa pode ser usada para biorremediação de ambientes contaminados com compostos fenólicos.

Para estudos envolvendo a interação entre compostos fenólicos com amostras de solo, deve-se utilizar processos de inibição de microrganismos, visando diferenciar entre processo de sorção e de biodegradação. Dentre esses, pode-se citar o uso de autoclave como método de esterilização do solo (TREVORS, 1996 e SITE, 2001) a utilização de azida sódica (TREVORS, 1996 e SITE, 2001) e cloreto de mercúrio (II) (TREVORS, 1996 e VIOTTI, 2005). Esses processos têm se mostrado como boas alternativas, pois promovem esterilização quase que completa do solo sem modificar suas características químicas e físicas.

A biodegradação é geralmente benéfica em termos de redução da poluição das águas subterrâneas, uma vez que as concentrações dos poluentes diminuem, ou podem mesmo eliminar completamente um composto do meio subterrâneo, com produtos de reação não prejudiciais (CO₂ e H₂O). Contudo, se a mineralização do poluente não ocorre, os produtos intermédios de decaimento (metabólitos) que se formam durante estes processos, podem constituir novo motivo de preocupação, por vezes mais grave que a poluição original (LEITÃO, 2006).

A degradação de fenol e *m*-cresol foi estudada por Saravanan *et al.* (2008) utilizando culturas bacterianas enriquecidas e aclimatadas por 1 mês (*Pseudomonas sp.*). Os autores observaram degradação completa em tratamentos de 20 a 40 horas, em condições otimizadas (pH, temperatura e nutrientes). Já Viggiani e colaboradores em 2006 estudaram a degradação de fenol também por culturas de *pseudomonas* e sugeriram a geração de intermédios de indicam a formação de catecol, seguida de abertura de anel e formação de ácido 2-hidroximuconico e semialdeído. Estudo semelhante sobre os intermédios de degradação de fenol foi recentemente publicado (NAIR *et al.* 2008) mostrando a proposta de uma rota de dedradação de fenol indicando coerência com os resultados obtidos por VIGGIANI *et al.* (2006).

2.11. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM ÁGUAS E SOLO

Na literatura têm sido relatados vários métodos para determinação de fenóis em águas e solos, específicos para cada problema analítico, sendo que os mais freqüentes são para a quantificação de fenóis totais em águas e efluentes industriais. Nestas matrizes se destaca na separação, identificação e quantificação dos fenóis a Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia em fase Gasosa (CG) acoplada a espectrometria de massa (GC-MS).

Os métodos baseados em cromatografia em fase gasosa (CG) têm sido utilizados na determinação e quantificação de compostos fenólicos, pois oferecem a resolução e fácil acoplamento com detectores mais sensíveis (FARAJI, 2005). Por outro lado, devido à alta polaridade dos compostos fenólicos, estes tendem a fornecer picos largos e menos resolvidos, sendo necessárias colunas de maiores comprimentos. Em vista disto, várias reações de derivatização têm sido propostas para converter fenóis em compostos menos polares, com melhores características para quantificação cromatográfica (LIOMPART, 2002).

A cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) é o método freqüentemente utilizado na análise de espécies fenólicas, apresentando a vantagem de não requerer derivatização dos compostos (PEÑALVER, 2002) e a possibilidade de analisar amostras em fase aquosa que são mais próximas às condições ambientais. Contudo, a literatura (FARAJI, 2005) relata que a CLAE está propensa a interferências nos caso de amostras ambientais contendo substâncias húmicas, além de ser considerada uma técnica cara e pouco disponível nos laboratórios. Neste sentido, destacam-se os métodos espectrofométricos como alternativas às limitações da CLAE.

Dois métodos são interessantes para a quantificação de fenóis totais via espectrofotometria. O primeiro (APHA, 1995) é baseado na reação entre o reagente de Folin-Ciocalteu, que é uma mistura de heteropoliácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico e fenóis, com subsequente oxidação dos fenóis e formação de um complexo azul com molibdênio e tungstênio (KUNZ, 1999). A faixa analítica recomendada para este método varia de 10,0 a 50,0 mg L⁻¹, sendo útil a amostras com teores mais elevados de fenol e também por se tratar de um procedimento para fenóis totais em águas. O segundo método é o procedimento oficial para quantificação de fenóis totais em águas (APHA, 1995), sendo largamente empregado para a quantificação de fenóis. É baseado na reação da 4-aminoantipirina (4-AAP) com os fenóis na presença de ferricianeto de potássio K₃[Fe(CN)₆] em meio levemente alcalino (pH 7,90). O K₃[Fe(CN)₆] atua como um agente oxidante sobre o fenol na presença da 4-AAP para formar o complexo

aminopirazolona, um composto vermelho intenso do grupo antipirina, conforme mostra a Figura 9. Sua absorvância máxima é medida em λ de 510 nm.

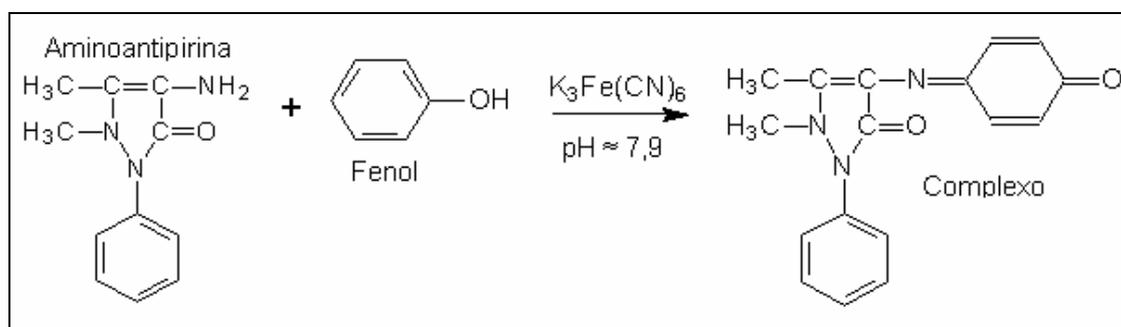


Figura 9 - Reação entre o fenol com 1-fenil-2,3-dimetil-4-aminopirazolona (APHA, 1995).

A concentração de fenol é determinada empregando uma curva analítica de padrões de fenol preparados nas mesmas condições na faixa de 1,00 a 5,00 mg L⁻¹ (APHA, 1995), tendo como vantagem o menor limite de quantificação (LQ), quando comparado ao método de Folin-Ciocalteu.

O método espectrofotométrico por reação com a 4-AAP determina fenol, fenóis *orto*- e *p*-substituídos em que o substituinte é um grupo carboxílico, metoxílico ou sulfônico. Esse método não determina os fenóis, *para*-substituídos nos quais o substituinte é um grupo alquílico (-CH₃), arílico, nítrico, benzílico, nitroso ou aldeídico (APHA, 1995).

Este método clássico se mostra interessante para determinações de fenóis totais do ponto de vista dos valores de LQ alcançados. Contudo, apresenta grande número de operações analíticas, baixa frequência analítica, alto consumo de reagentes e amostras e geração de grandes volumes de rejeitos. Uma atrativa alternativa é sua adaptação às técnicas de análise por injeção em fluxo.

2.12. ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

A demanda cada vez maior pela automação dos procedimentos analíticos esta ligada ao aumento significativo do número de amostras a serem analisadas, principalmente nas áreas clínicas e ambientais, que requerem técnicas rápidas e confiáveis capazes de operar 24 horas por dia. Tais aspectos influenciam no custo das determinações e possibilitam maior número de informações em menor tempo e esforço humano (IUPAC, 1994).

As técnicas baseadas em Análise por Injeção em Fluxo, do inglês *Flow Injection Analyses* (FIA), têm sido muito empregadas na automação de procedimentos analíticos, pois oferece boa frequência analítica, facilidade operacional, precisão e exatidão adequados, redução de custos devido ao menor consumo de reagentes e amostras, menor volume de rejeitos e mais segurança para o operador na manipulação das soluções. Entretanto só se justifica em rotinas nas quais se tem grande quantidade de análises diárias por laboratório, pois o investimento inicial é um pouco mais elevado em relação aos métodos convencionais, além de considerável esforço no sentido de implementar o sistema para operar sob condições de injeção em fluxo. Contudo, devido aos ganhos em termos de velocidade analítica, segurança, economia e menos resíduos gerados acabam justificando o investimento (SKOOG *et al.*, 2006). A classificação dos procedimentos em fluxo é feita de acordo com quatro categorias que são: Análise em fluxo com segmentação por ar (CFA), Fluxo contínuo não segmentado, Análise por Injeção em Fluxo (FIA) e Análise por Injeção Seqüencial (SIA) (ARRUDA, 2005).

As técnicas analíticas baseadas em fluxo têm a injeção de um volume determinado de amostra líquida (geralmente até 500 μL) numa solução móvel que serve como transportadora. A amostra injetada forma uma zona, a qual é conduzida até o detector que registra constantemente os sinais, geralmente de absorvância, (RUZICKA, 1988; KARLBERG, 1989) Ao longo do percurso analítico, a amostra pode receber reagentes, passar por etapas de processamento como, filtração, extração líquido-líquido, pré-concentração, diluição em linha, entre outras. A Figura 10 exhibe o diagrama de uma configuração típica de sistema de análise por injeção em fluxo.

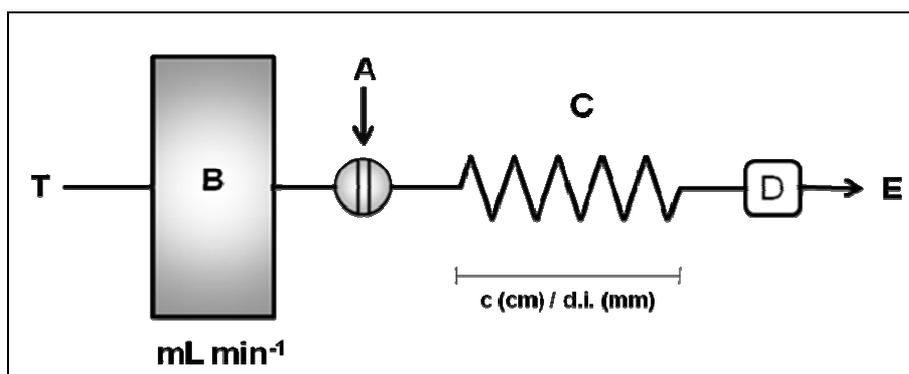


Figura 10 – Diagrama em fluxo básico de um sistema para Análise por Injeção em Fluxo (FIA). T: solução transportadora, B: sistema de propulsão (bomba peristáltica), A: alça de amostragem, C: bobina de reação, D: detector e E: efluente. (Adaptado de KARLBERG, 1989)

Quanto à determinação de fenóis por FIA, Frenzel *et al.* (1992) avaliaram a determinação de fenóis por espectrofotometria via análise por injeção em fluxo por dois tipos de reações colorimétricas; *i*) o método da 4-AAP *ii*) reação de acoplamento oxidativo

de fenol com 3-metil-2-benzotiazolina hidrazona (MBTH). Segundo os autores os dois procedimentos determinam fenóis a uma razão de 60 amostras por hora com desvio padrão de 3%. Relata ainda que o limite de detecção (LD) do método usando MBTH é quatro vezes menor em relação a 4-AAP que é de $30 \mu\text{g L}^{-1}$. O procedimento empregando a MBTH apresentou boa reatividade com *p*-cresol, ao passo que o método empregando a 4-AAP não reage com esse composto, além de possuir elevados valores de absorvidade (FRENZEL *et al.*, 1992).

Três anos depois da publicação anterior o mesmo autor (FRENZEL e KREKLER, 1995) empregando extração com solvente, buscaram minimizar os valores de LQ da reação da 4-AAP por injeção em fluxo. Para isso compararam a extração com clorofórmio e eluente metanólico da imina formada a partir da reação com a 4-AAP com fenol, que por sua vez era retida em uma microcoluna contendo uma fase sorbente de C_{18} imobilizada. Foi relatado que os valores de LQ para extração com clorofórmio ($11 \mu\text{g L}^{-1}$) são maiores em relação ao metanol ($0,4 \mu\text{g L}^{-1}$). No entanto, os autores concluíram que o método não foi apropriado, pois apesar de obter menores valores de LQ, o procedimento acaba sendo complexo, caro e acaba gerando uma série de resíduos tóxicos.

Em 1997, Song *et al.* realizaram estudo semelhante à Frenzel e Krekler (1995) porém empregando pré-concentração on-line de fenóis em pH 2,0 em uma coluna contendo resina Amberlite XAD-4. Os fenóis são eluídos da coluna por uma solução alcalina em pH 13 e conduzidos a uma válvula para mistura, que tinha a concentração determinada pelo método da 4-AAP. Os autores descrevem faixa linear de quantificação de 0,01 a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de fenol com valor de LD de $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ ($n=3$) e frequência analítica de 12 amostras por hora utilizando $4,4 \mu\text{L}$ de amostra por injeção com sensibilidade 13 vezes maior que o método normalmente utilizado em fluxo para quantificação de fenóis.

Outra forma interessante para diminuir o valor de LD do método da 4-AAP acoplado à FIA, foi proposto por Lupetti *et al.*, (2004). Foi obtida uma diminuição do valor de LD de 80 vezes, com o emprego de espectrofotometria com celas de fibra ótica e caminho ótico de 100 cm. Houve ainda a redução de 200 vezes no volume de amostra com o emprego de sistemas de multicomutação (LUPETTI *et al.*, 2004).

2.13. PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DE EXPERIMENTOS

Nos experimentos clássicos de otimização era estudada a máxima resposta de um fator sem considerar sua influência com outros durante a execução do ensaio. No entanto existem situações nas quais ocorrem interações complexas entre fatores. O planejamento experimental apresenta vantagens, sendo capaz de detectar e estimar qualquer interação entre os níveis estudados de cada fator e se os efeitos dos fatores são

aditivos, então o planejamento fatorial necessita de menos ensaios pra proporcionar a mesma precisão em relação ao experimento univariado (MILLER 1993) No entanto devido ao número reduzidos de experimentos, o espaço estudado (referente a faixa estudada) se torna menor, que através dos dados obtidos pode ser expandido e averiguado por meio de novos planejamentos.

O processo no qual se busca os níveis ótimos de cada fator é denominado otimização. O primeiro passo é definir quais fatores tem influência na resposta das medidas estudadas, esses fatores são conhecidos através da pesquisa na literatura e o conhecimento do sistema de estudo por parte do experimentador. Na seqüência são definidos os níveis que cada fator será estudado que geralmente são valores ou propriedades com um valor alto que é representada por sinal “+” e valor baixo com sinal “-”.

Para fazer um planejamento fatorial completo devemos realizar experimentos em todas as possíveis combinações dos níveis dos fatores. Cada um desses experimentos em que o sistema é submetido a um conjunto de níveis definido é um ensaio experimental. Para k fatores, isto é, k variáveis controladas pelo experimentador, um planejamento completo de dois níveis exige a realização de $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ensaios diferentes, sendo chamada por isso de planejamento fatorial 2^k . Para fazer um planejamento 2^3 necessitamos realizar oito ensaios e registrar as respostas observadas (neste estudo valores de absorvância) em todas combinações possíveis dos níveis escolhidos. (BARROS NETO, 2001).

3. JUSTIFICATIVA

A Unidade de Negócio da Industrialização do Xisto, da Petrobras, está localizada em São Mateus do Sul, PR e utiliza o xisto (rocha sedimentar que contém querogênio - complexo orgânico que se decompõe termicamente) produzindo óleo e gás (SIX, 2008).

Dentre os subprodutos gerados na industrialização do xisto, o subproduto líquido apresenta uma série de nutrientes, compostos inorgânicos e orgânicos. Todavia, esse subproduto líquido possui considerável quantidade de espécies fenólicas. Visando verificar a possibilidade de aproveitamento de tais nutrientes na agricultura, foi proposto no presente estudo examinar a capacidade do solo em sorver ou degradar fenóis.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral, estudar o comportamento de compostos fenólicos como fenol e cresóis frente a uma amostra de solo, previamente caracterizada, originária de São Mateus do Sul – PR.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Visando contemplar o objetivo geral acima proposto, diversas etapas foram realizadas, conforme segue:

- 1) Verificar a influência das características físico-químicas da amostra de solo na sorção de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol;
- 2) Analisar o processo de sorção, dessorção e degradação dos compostos fenólicos;
- 3) Desenvolver, ajustar e avaliar o desempenho de método analítico por injeção em fluxo nas regiões do UV e VIS para quantificação das espécies fenólicas.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. INFORMAÇÕES SOBRE A AMOSTRA DE SOLO

A coleta do solo foi realizada em novembro de 2006 na área experimental do Projeto Xisto Agrícola situada no município de São Mateus do Sul, PR que se localiza aproximadamente 150 km de Curitiba.

O solo é classificado conforme EMBRAPA (1999), como Latossolo Vermelho Distrófico típico A proeminente de textura muito argilosa, com relevo plano e floresta subtropical perenifólia.

Com o auxílio de uma pá de corte, as amostras de solo foram coletadas na camada superficial do solo até cerca de 18 cm, acondicionadas em embalagens plásticas e encaminhadas ao Laboratório de Física do Solo da Embrapa, CFACT, Pelotas, RS.

Chegando ao laboratório, as amostras foram secas ao ar a sombra, por um período de aproximadamente dois a três dias sendo peneiradas obtendo-se uma constituição granulométrica na faixa de 2 mm a 0,25 mm. A amostra composta de solo

foi colocada em uma embalagem plástica e identificada, sendo encaminhada ao laboratório de Processos e Projetos Ambientais (LABPPAM) do Departamento de Química da UFPR, Curitiba-PR. Em relação ao peneiramento da amostra esta foi realizada de acordo com procedimento de rotina do Laboratório de Física do Solo da Embrapa. Por outro lado estudos complementares seriam interessantes nessa e em outras amostras de solo "in natura", no sentido de maior similaridade as condições ambientais.

No LABPPAM, para os ensaios de sorção e biodegradação, a amostra passou por processo de secagem em estufa sendo mantida em temperatura de 60 °C por 24 horas e posteriormente acondicionada em dessecador.

Por se tratar de um estudo envolvendo sorção foi solicitada amostra nas quais não houvesse histórico de aplicação de herbicidas, pesticidas, subprodutos líquido da industrialização do xisto, bem como qualquer rejeito de natureza líquida ou sólida, sendo a amostra considerada como testemunha.

5.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA DE SOLO

5.2.1. Determinações de pH

A determinação do pH do solo foi realizado em triplicata nas suspensões de solo (1,000 g) em 30,00 mL de água deionizada e em solução de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ após 1 hora de contato sob agitação constante de 170 oscilações seg⁻¹ (LUCHESE *et al.*, 2001). As medidas foram efetuadas utilizando um potenciômetro Gehaka modelo PG-2000 equipado com eletrodo de vidro combinado com Ag/AgCl como referência.

5.2.2. Determinação do teor de cinzas

Foi efetuada pelo método de perda ao rubro, no qual de 1,5000 ± 0,0001 g de massa de solo (base seca) foi colocada em um cadinho previamente tarado e calcinado em mufla a 650 °C durante 4 horas. O teor de cinzas foi determinado considerando a massa do resíduo mineral que restou no cadinho após a combustão.

5.2.3. Determinação dos teores de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio (CHN)

A análise elementar consiste na determinação de quais são os elementos constituintes de uma determinada molécula e suas proporções. Através desse procedimento determina-se a fórmula bruta de compostos orgânicos. Através da pirólise

de um determinado composto que contenha O, C, S, N e H, e da análise dos gases resultantes de sua decomposição (óxidos de N, SO₂, CO₂ e H₂O), podemos saber a composição percentual em massa destes elementos. A análise elementar foi realizada em quadruplicada no laboratório da central analítica do Instituto de Química Universidade de São Paulo (IQ-USP) utilizando equipamento Perkin Elmer CHN 2400.

5.2.4. Capacidade de Troca Catiônica (CTC)

Utilizou-se um processo baseado na saturação da amostra com íons Na⁺ (Hesse, 1971). Em um tubo de centrifuga de 50 mL, pesou-se 1,0 g da amostra de solo, adicionou-se 25 mL de solução de acetato de sódio em concentração 1,0 mol L⁻¹ (pH 8,2), agitou-se o mesmo durante 5 minutos e centrifugou-se por mais 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e a mesma operação foi repetida mais quatro vezes. O sólido saturado com Na⁺, foi agitado com etanol 95% durante 5 minutos e centrifugado por mais 5 minutos e essa operação foi repetida mais três vezes. Após essa etapa, a fase sólida foi tratada com solução de acetato de amônio 1,0 mol L⁻¹, pH = 7,0, e foram efetuadas três extrações de 30 mL cada como anteriormente, seguida de centrifugação, sendo os três extratos combinados em balão volumétrico de 100,0 mL. O teor de Na⁺ extraído pelo acetato de amônio foi determinado por fotometria de chama, pela comparação com uma curva analítica preparada com padrões em concentrações de 5,00; 25,00; 50,00 e 100,0 mg L⁻¹ de Na⁺, na presença de solução de acetato de amônio em concentração 1,0 mol L⁻¹, bem como uma prova em branco nas mesmas condições. Todas as soluções utilizadas foram preparadas em água deionizada. Para as leituras de intensidade de emissão, foi empregado um fotômetro de chama da marca Digimed, modelo DM-61.

5.2.5. Determinação da textura granulométrica do solo

A determinação da textura granulométrica do solo foi realizada no laboratório de análises de solo EMBRAPA e foi feita através do método da pipeta (EMBRAPA, 1997).

5.2.6. Análise por Fluorescência de raios X (FRX)

A composição química dos elementos presentes em maiores quantidades na amostra foi determinada através de Espectrometria de Fluorescência de Raios X. Nesta técnica a amostra (geralmente uma pastilha de pó prensado) é irradiada com feixe de raios X, que sob estas condições, seus elementos químicos absorvem parte dessa radiação primária e emitem suas linhas características de fluorescência de raios X

(SKOOG *et al.*, 2006). Essa análise foi realizada no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) do departamento de Geologia da UFPR, utilizando o equipamento PHILIPS ANALITICAL, modelo PW 2400/00, equipado com Sampler Changer 2510. O procedimento adotado para a análise de solo seguiu da seguinte maneira:

Primeiramente a amostra de solo teve sua granulometria ajustada em moinho excêntrico, na sequência foi seca em estufa por 12 horas a 50 °C, pesada em balança analítica e levada a mufla para ensaio de perda ao fogo (1000 °C por 2 h). Para a análise química uma massa de 7,0000 g de solo pulverizado e 1,4000 g de cera (C₃₈H₇₆N₂O₇) aglutinante foram pesados, misturados e prensados obtendo-se uma pastilha que foi analisada pelo método por FRX.

Em relação a calibração do equipamento esta é realizada por meio de padrões dos óxidos dos elementos de interesse, dependendo do tipo de amostras e análise a ser conduzida, neste trabalho foi realizada determinação quantitativa e semi-quantitativa (varredura de elementos). Para isso, no caso de análise quantitativa, é feita a calibração por meio de curvas analíticas utilizando padrões certificados de cada óxido do elemento a ser determinado. Por outro lado, na varredura de elementos químicos, a calibração do equipamento é realizada empregando uma única pastilha contendo padrões dos óxidos em concentração conhecida (e certificada) sendo os teores dos óxidos determinados por meio de modelos matemáticos. Cada pastilha empregada na calibração na análise semi-quantitativa é utilizada de acordo com as características da amostra.

5.2.7. Análise por Difração de raios X (DRX)

A Difração de raios X é aplicada na identificação qualitativa e quantitativa de fases minerais, presentes em amostras cristalinas, sendo uma das técnicas mais empregadas na indústria e pesquisa atualmente (SKOOG *et al.*, 2006). Ela se baseia na determinação das distâncias interplanares (d) dos planos cristalinos do material separados entre si, que são proporcionais aos comprimentos de onda dos raios X.

Quando o feixe de raios X incidente, com comprimento de onda conhecido (λ), interage com os átomos dos planos cristalinos da amostra esse sofre o fenômeno da difração. O feixe difratado é detectado em vários ângulos de difração (θ) e colocado em um gráfico de intensidade contra duas vezes o valor de θ .

A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram (característicos para cada fase cristalina) conforme equação 10, onde n é um número inteiro (ALBERS, 2002).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{equação 10})$$

As análises de difração de raios X foram realizadas no Laboratório de Análise de Minerais e Rochas (LAMIR) da UFPR. A análise de solo por DRX seguiu o seguinte protocolo:

Aproximadamente 20 g de solo pulverizado em moinho excêntrico foram desegregados em H₂O deionizada, a suspensão foi transferida para uma proveta de 250 mL onde permaneceu por 2 horas, na sequência o sobrenadante foi colotado em três lâminas de vidro. Cada lâmina recebeu um tratamento específico, sendo a primeira deixada para secagem ao ar, a segunda passou por aquecimento em mufla a 550 °C (12 horas) terceira, após secagem ao ar, teve adição de gotas de Etilenoglicol sendo analisada 8 horas depois por DRX.

5.3. REAGENTES, EQUIPAMENTOS E MATERIAIS AUXILIARES

Todos os reagentes utilizados foram de alta pureza e as soluções preparadas com água deionizada. O fenol utilizado para o preparo das soluções foi cedido pela PETROBRAS/SIX, sendo esse reagente padrão analítico de alta pureza. Uma massa de $1,0000 \pm 0,0001$ g de fenol foi cuidadosamente pesada em balança analítica, dissolvida e diluída até 1000,0 mL com água deionizada; sendo as soluções de *o*-cresol e *p*-cresol preparadas da mesma forma. Todavia, devido aos sólidos serem higroscópicos, foi necessária padronização das soluções utilizando-se o procedimento descrito no item 4.4.

Para todos os ensaios realizados na presença de solo, foi utilizada solução de cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ com objetivo de corrigir a força iônica da suspensão de solo (MCBRIDE, 1994).

Para preparo de soluções, utilizou-se micropipetas LABMATE com volumes variáveis em intervalos de 10 a 100 μL ; de 100 a 1000 μL e de 1,00 a 5,00 mL, ou pipetas de vidro previamente calibradas.

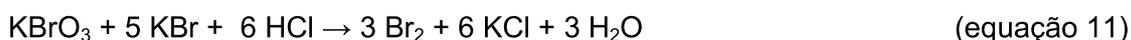
Foram empregados ainda outros equipamentos auxiliares como mesa de agitação horizontal modelo MLW operando a 170 oscilações min^{-1} , centrífuga modelo JANETZKY T23 (3500 rpm), centrífuga modelo FANEM (3500 rpm) estufa GEHAKA.

5.4. PADRONIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE FENOL

A padronização de fenol foi baseada no procedimento do *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1995). Neste método o fenol reage quantitativamente com bromo em meio ácido formando o tribromofenol, sendo a

concentração determinada pela quantidade de bromo em solução após a reação, que é subtraída da quantidade inicial do mesmo.

Foram preparadas soluções estoque de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol em concentração de 1000,0 mg L⁻¹, em água deionizada. Na seqüência, uma alíquota de 10,00 mL de solução estoque de cada solução foi transferida para erlenmeyers de 250 mL nos quais se adicionou 10,00 mL de solução de brometo-bromato de potássio, preparadas analiticamente, em concentração de 1,62.10⁻² mol L⁻¹ de KBrO₃ com excesso de KBr e mais 80 mL de água deionizada. O meio foi acidificado com 5 mL de HCl dando início as reações mostradas nas equações 11 e 12 (SKOOG *et al.*, 2006).



Ao acidificar a solução com ácido clorídrico concentrado ocorre a formação de bromo proporcional à quantidade de bromato utilizada. O bromo produzido reage com o fenol em solução formando o tribromofenol.

Após 15 minutos decorridos de reação o excedente de bromo em solução é convertido à iodo, pela adição de excesso de KI, sendo então o I₂ liberado, titulado com solução de tiosulfato de sódio, previamente padronizada com iodato/iodeto de potássio, utilizando solução de amido como indicador. As equações 13 e 14 mostram as reações que ocorrem (SKOOG *et al.*, 2006).



As soluções padronizadas, necessárias para o monitoramento dos fenóis foram armazenadas em frascos âmbar de volumes adequados, fechados com batoque plástico e mantidas sob refrigeração a 4°C por no máximo por sete dias. Quando se fez necessário, novas soluções foram preparadas e padronizadas, para realização dos procedimentos subseqüentes.

5.5. MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DOS FENÓIS

Os espectros na região do UV-VIS foram obtidos num espectrofotômetro Shimadzu modelo UV – 2401PC do Laboratório de Processos e Projetos Ambientais – LABPPAM do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná – UFPR, empregando uma cela de quartzo com caminho ótico de 1,0 cm.

Para monitorar a concentração dos fenóis utilizou-se dois métodos analíticos por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS. No primeiro procedimento o controle se deu em comprimento de onda (λ) fixo de 270 nm (fenol e *o*-cresol) e 277 nm (*p*-cresol). Nestes valores de λ foram preparadas curvas analíticas em triplicatas, em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, na faixa de concentração entre $5,00$ e $80,0 \text{ mg L}^{-1}$ para cada composto fenólico.

O segundo método é baseado no procedimento descrito no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1995) no qual os fenóis reagem com a 4-AAP $1,0 \text{ g L}^{-1}$, na presença de um agente oxidante como o $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em concentração de $8,0 \text{ g L}^{-1}$ em pH $7,9 \pm 0,2$ ajustado com solução tampão de fosfato em concentração $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. O produto vermelho intenso formado tem sua absorção medida em λ de 510 nm, tipicamente na faixa de concentração de fenóis variando de $1,00$ a $5,00 \text{ mg L}^{-1}$. Neste trabalho foi utilizada uma faixa de concentração para a construção das curvas no intervalo de $0,50$ a $8,00 \text{ mg L}^{-1}$.

5.6. TESTES DE SORÇÃO EM BATELADA

Para realizar os ensaios em batelada a massa de solo foi estimada de acordo com a norma OECD (OECD 106, 2000). Foi pesada uma massa de $1,0000 \text{ g}$ ($\pm 0,0001 \text{ g}$) de solo que foi transferida para dez frascos âmbar com capacidade de 60 mL. No frasco rotulado como amostra 1 (Tabela 4) foi adicionado, com o auxílio de bureta, o volume de $30,00 \text{ mL}$ de solução CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ para servir como prova em branco. Nos demais frascos, volumes crescentes de solução estoque de fenol foram diluídos em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, obtendo-se as concentrações de fenol mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 – Concentrações de fenol utilizadas no ensaio em batelada

amostras	fenol (mg L ⁻¹)		
	1º teste*	2º teste	3º teste
1	0,00	0,00	0,00
2	4,85	0,32	2,50
3	9,70	0,65	5,00
4	19,40	1,29	10,0
5	38,80	2,60	50,0
6	97,0	16,16	200,0
7	194,0	32,33	410,3
8	485,0	161,7	820,7
9	970,0	323,3	-
10	-	808,3	-

*teste: refere-se a cada faixa de concentração de fenol avaliada neste estudo.

Os frascos foram acondicionados em caixa de isopor e adaptados a um agitador orbital de bancada, operando a 170 oscilações min⁻¹ durante 48 horas. Após esse período as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm e as concentrações remanescentes nas fases sobrenadantes, foram determinadas pelo método da 4-AAP em comprimento de onda de 510 nm, utilizando-se alíquotas compatíveis com a curva analítica previamente estabelecida de acordo com o subitem 5.5.

5.7. ISOTERMAS DE SORÇÃO

Procedimento similar ao subitem 5.6 foi efetuado; contudo, as amostras de solo foram mantidas em contato com as soluções, sob agitação por 24 h. Na seqüência, o pH das suspensões foi determinado, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm durante 20 minutos, sendo realizada filtração a vácuo em membrana de nitrato de celulose 0,45 µm. Alíquotas adequadas de cada amostra foram retiradas e diluídas para 100,0 mL, sendo determinadas as concentrações de fenol por meio da técnica da 4-AAP. As isotermas foram obtidas, comparando-se a concentração de fenol adsorvido por grama de solo (mg g⁻¹) *versus* a concentração em equilíbrio na solução sobrenadante (SITE, 2001).

Visando investigar eventuais dúvidas nos resultados obtidos para as isotermas, foi obtido um extrato de solo de forma semelhante ao item anterior, porém na ausência de fenol. Foram adicionados volumes de solução de fenol suficiente para proporcionar as concentrações de 10,00; 30,00 e 60,00 mg L⁻¹, ao extrato e em solução

de CaCl_2 em concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, sendo em seguida os extratos analisados pelo método da 4-AAP e avaliados os percentuais de recuperação.

5.8. ENSAIOS DO TEMPO CONTATO ENTRE SOLO E SOLUÇÃO CONTENDO FENÓIS

Massas de $5,0000 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$ de solo foram colocadas em 4 frascos de 200 mL com 150,0 mL de solução de fenol a $50,00 \text{ mg L}^{-1}$ em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Os frascos foram fechados com batoque plástico, colocados em uma caixa de isopor e mantidos sob agitação de $170 \text{ ciclos min}^{-1}$ por 72 horas. Durante esse período de tempo, retirava-se alíquota de 5,00 mL de cada frasco, as quais eram centrifugadas a 3500 rpm. Analogamente, era preparada prova em branco na ausência de fenol. Alíquotas convenientes eram retiradas e analisadas pelo método da 4-AAP. Ensaio similares foram realizados para *o*-cresol e *p*-cresol, porém com maiores tempos de contato, até 96 horas. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

5.9. ENSAIOS PARA A ESTERILIZAÇÃO DO SOLO

Nesta etapa foram realizados três experimentos distintos na tentativa de esterilizar e inibir a atividade microbiana no solo, bem como de se certificar com relação à ocorrência do processo de degradação microbiana. Primeiramente, um ensaio em triplicata foi realizado por método químico de inibição, utilizando solução de HgCl_2 em concentração de 100 mg L^{-1} (VIOTTI, 2005). Um segundo ensaio, também em triplicata, foi conduzido com solo na presença de NaN_3 a 1% (m/v) (TREVORS, 1996). Um último método de esterilização foi por meio físico, empregando processo de autoclavagem do solo e dos materiais utilizados no teste.

5.9.1. Ensaio com Cloreto de Mercúrio (II)

Para este ensaio utilizou-se seis frascos âmbar de 200 mL, conforme segue:

- Dois frascos que serviram como controle, nos quais não foi adicionado solo, ambos com 150,0 mL de solução de fenol em concentração de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, porém um deles com a presença de solução de HgCl_2 a 100 mg L^{-1} . Estes serviram para avaliar o efeito de volatilização ou degradação química das espécies fenólicas;
- Dois frascos utilizados como prova em branco contendo, em um deles, uma massa de $5,0000 \pm 0,0001 \text{ g}$ de solo e 150,0 mL de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e no outro

frasco, a mesma massa de solo e 150,0 mL de solução HgCl_2 a 100 mg L^{-1} em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$;

- Dois frascos contendo uma massa de $5,0000 \pm 0,0001 \text{ g}$ de solo, 150,0 mL de solução de fenol a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, sendo que em um deles foi adicionado solução de HgCl_2 proporcionando concentração de 100 mg L^{-1} .

Os frascos contendo as suspensões foram fechados com batoque plástico, colocados em caixa de isopor e mantidos sob agitação de 170 ciclos min^{-1} por 10 dias. Durante esse período alíquotas de 4,00 mL das suspensões eram retiradas, centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos e tinham a concentração de fenol determinada por meio de espectrofotometria de absorção na região do UV em λ fixo de 270 nm. Quando o fenol não era detectado nos sobrenadantes a solução mãe era fortificada com uma nova injeção de solução de fenol, proporcionando concentração próxima a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Experimentos análogos foram realizados para *o*-cresol e *p*-cresol, sendo que foram preparadas séries em triplicata para as amostras que não continham HgCl_2 .

5.9.2. Ensaio com Azida Sódica

Nos ensaios com solução de NaN_3 foram empregados também seis frascos âmbar de 200 mL valendo-se das mesmas condições do item 4.9.1., no entanto, foi utilizada solução de NaN_3 com concentração de 1% (m/v) em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ como agente inibidor da atividade microbiana.

Os ensaios de degradação também foram realizados para *o*-cresol e *p*-cresol seguindo as mesmas condições do item 4.9.1 com amostras preparadas em triplicata.

5.9.3. Ensaio com solo autoclavado

Visando maiores evidências no processo de degradação dos fenóis, na presença do solo, foi realizado processo de autoclavagem do mesmo. Para isso quatro frascos âmbar de 200 mL contendo $5,0000 \pm 0,0001 \text{ g}$ de solo foram fechados com algodão e submetidos a autoclave por 30 min a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ por três vezes consecutivas (TREVORS, 1996). Na seqüência, em cada um dos recipientes foi transferido 150,0 mL de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com auxílio de uma bureta previamente limpa com solução de hipoclorito de sódio. Esses frascos foram utilizados como prova em branco.

Em três frascos foram colocadas soluções de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol individualmente, em concentração de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Deve-se

ressaltar, que cuidados com a contaminação do solo por microrganismos após a abertura dos frascos foram levados em conta.

Procedeu-se com a limpeza da vidraria e dos materiais com solução de álcool 70 %, a solução de CaCl_2 foi preparada com H_2O deionizada fervida por 1 hora antes do experimento. Etapas do preparo do ensaio, como abertura dos frascos e transferência dos líquidos foram realizadas próximas a chama do bico de Bunsen.

5.10. ENSAIOS DE DESSORÇÃO

Para os ensaios de dessorção, foram preparadas amostras em triplicata separadamente para cada espécie fenólica estudada. Em cada frasco foi adicionada uma massa de $1,0000 \pm 0,0001$ g de solo, 30,00 mL de solução fenólica a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio de CaCl_2 em concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. As suspensões foram deixadas em agitação por 96 h visando verificar o consumo das espécies fenólicas. Em seguida os frascos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 min e uma alíquota do sobrenadante de 25,00 mL foi retirada e analisada conforme subitem 4.5.

Ao resíduo sólido, foi adicionado 25,00 mL de solução NaOH em concentração $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (CRESPIN *et al.*, 1999) em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções foram agitadas por 1 h, a 170 oscilações min^{-1} , centrifugadas e os sobrenadantes foram retirados sendo adicionado 0,35 mL de HCl concentrado, proporcionando pH próximo de 2. A suspensão formada, foi centrifugada e as fases sobrenadantes analisadas pelo método da 4-AAP (subitem 4.5). Um procedimento análogo foi empregado para *o*-cresol e *p*-cresol, este último monitorado apenas em 277 nm, em função de não haver reação com a 4-AAP.

No intuito de verificar se havia influência das substâncias húmicas no arraste dos compostos fenólicos após a adição de HCl, foram realizados dois testes: No primeiro (teste preliminar) foi adicionada solução de fenol em concentração de $8,00 \text{ mg L}^{-1}$ no extrato de solo alcalino, seguido da adição de HCl. A suspensão foi centrifugada para remover o ácido húmico e a concentração de fenol foi determinada pelo método da 4-AAP e comparada com prova em branco.

O segundo teste foi conduzido com o objetivo de investigar a influência de AH e AF em solução na determinação dos fenóis pelo método da 4-AAP. Para isso foi obtido volume adequado de extrato de solo, ausente de fenóis, utilizando como solução extratora NaOH ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$). A este extrato duas alíquotas de 25,00 mL foram separadas, sendo na primeira adicionado separadamente fenol em concentração de 1,00; 3,00 e 6,00 mg L^{-1} , HCl concentrado, centrifugado e o sobrenadante determinado pelo método da 4-AAP. Na segunda alíquota foi adicionado inicialmente HCl, sendo os AH

precipitados e separados por centrifugação, obtendo-se sobrenadante, onde foi adicionado fenol (1,00; 3,00 e 6,00 mg L⁻¹) determinado novamente pela 4-AAP. Adicionalmente a prova em branco foi testada, considerando os dois procedimentos avaliados.

5.11. INSTRUMENTAÇÃO UTILIZADA NA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA)

Para as determinações por FIA, foi empregado um espectrofotômetro da marca FEMTO modelo 700 PLUS na região do ultravioleta (UV), para as determinações de *p*-cresol, ou na região do visível (VIS) para as determinações de fenol e *o*-cresol. A cela de fluxo utilizada foi da marca Hellma, em quartzo, com 1,0 cm de caminho ótico. Para monitorar o sistema por FIA, foi utilizado o Programa FEMTO FemWin670, versão 1.2. Utilizou-se como sistema de propulsão, uma bomba peristáltica da marca ISMATEC modelo 78016-30 com controle de velocidade, sendo as injeções efetuadas utilizando válvula de acrílico produzida no Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA-USP). Para a condução das soluções, foi utilizada tubulação de Teflon, polietileno e Tygon® com diâmetros internos (d.i.) de 0,8 mm. A construção da alça de amostragem com volume interno de 400 µL e a bobina de reação de comprimento de 60 cm por 0,8 mm de d.i. foi feita em tubulação de polietileno.

5.12. OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA EM FLUXO

Antes das determinações utilizando o sistema em fluxo serem realizadas uma série de fatores foram avaliados quanto à configuração e otimização do sistema. Como vários parâmetros podem alterar o desempenho da técnica, foi estudada a influência da vazão da solução transportadora, confluência dos reagentes, comprimento da bobina de reação e volume interno da alça de amostragem. Para isso foi realizado o monitoramento da absorbância máxima do complexo obtido a partir de uma solução de fenol a 1,00 mg L⁻¹ reagindo com a 4-AAP em fluxo.

Após a definição de quais fatores eram mais relevantes ao desempenho do sistema, foi empregado um planejamento fatorial do tipo 2³ visando a seleção das condições que ofereciam os maiores incrementos de absorbância. Foram utilizados os fatores, *i*) pH da solução de ferricianeto de potássio, *ii*) volume interno da alça de amostragem e *iii*) volume interno da bobina de reação para a realização de oito experimentos. Aos parâmetros que tiveram os efeitos com maiores valores, foram

atribuídos sinal positivo e àqueles com menores valores, sinal negativo. A Tabela 6 mostra todas as combinações entre os níveis de cada fator dos oito ensaios.

TABELA 6 – Combinações possíveis entre os níveis de cada fator utilizado no planejamento fatorial 2^3

Ensaio	Alça de amostragem (μL)	pH da sol. $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	Volume Interno da bobina de reação (μL)
1	200 -	6,2 -	150 -
2	200 -	6,2 -	300 +
3	200 -	11,0 +	150 -
4	200 -	11,0 +	300 +
5	400 +	6,2 -	150 -
6	400 +	6,2 -	300 +
7	400 +	11,0 +	150 -
8	400 +	11,0 +	300 +

5.13. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR FIA

Dois métodos foram dirigidos às determinações em fluxo, sendo um para a quantificação dos compostos fenol e *o*-cresol em extratos de solo, e o segundo destinado a *p*-cresol nos mesmos extratos. Considerando o primeiro procedimento, foram preparados padrões analíticos de fenol e *o*-cresol no intervalo de 0,50 a 16,00 mg L⁻¹ que eram colocados no sistema em fluxo, reagem com a 4-AAP formando os complexos que tinham a sua absorção detectada em λ de 510 nm, conforme o diagrama do sistema mostrado na Figura 11.

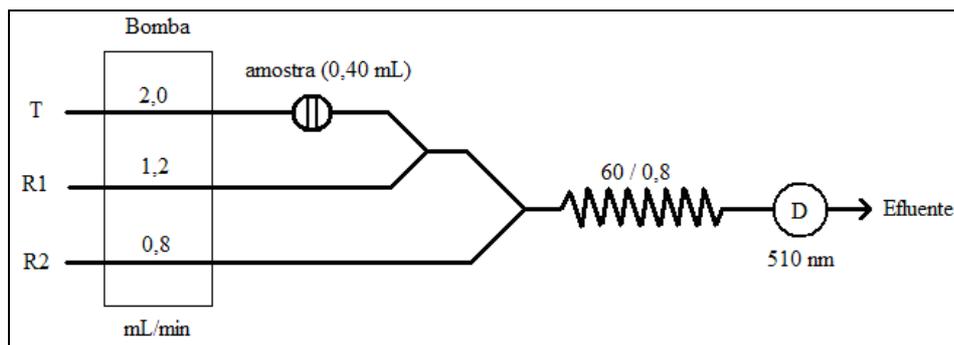


Figura 11 – Configuração otimizada do sistema utilizado nas determinações feitas por FIA sendo que T representa a solução transportadora (H_2O deionizada), R1 o reagente $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em pH 11, R2 o reagente 4-AAP $1,0 \text{ g L}^{-1}$ em meio tamponado (pH $10,0 \pm 0,2$) obtido por meio de tampão contendo H_3BO_4 , KOH e NaHCO_3 . Tubulações de polietileno com d.i de 0,8 mm, bobina de reação com 60 cm de comprimento, alça de amostragem com volume interno de $400 \mu\text{L}$.

A solução transportadora T foi água deionizada. O reagente R1 foi preparado pela dissolução de 1,000 g de 4-AAP em 1000,0 mL de solução tampão, a qual foi preparada em concentração de $5,2 \text{ g L}^{-1}$ de NaHCO_3 , $5,8 \text{ g L}^{-1}$ de H_3BO_3 e $6,2 \text{ g L}^{-1}$ de KOH em água deionizada. O pH de R1 foi então ajustado cuidadosamente a $10,0 \pm 0,2$ com adição de solução de KOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O reagente R2 - $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ foi preparado em concentração 0,2 % (m/v) em água deionizada sendo seu pH ajustado a 11 com NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (FRENZEL *et al.*, 1992; LUPETTI *et al.*, 2004).

No segundo método, as absorvâncias de *p*-cresol dos padrões e amostras foram obtidas diretamente na região do UV, em λ de 277 nm, sem qualquer reação em fluxo conforme Figura 10, contudo, sem a necessidade do uso da bobina de reação.

5.14. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO DE FENÓIS EM EXTRATOS DE SOLO

Nesta etapa foram empregados três ensaios de recuperação distintos:

- O primeiro foi baseado na adição de alíquotas dos fenóis separadamente em extratos puro de solo (sem adição anterior de fenóis). Esse ensaio recebeu a denominação de RESP;
- No segundo teste, foi realizada a fortificação dos compostos em extratos que continham os fenóis, e que sofreram processo de biodegradação, estes foram nomeados como RESB;
- O terceiro foi destinado à quantificação das espécies fenólicas nos extratos que se esperava ocorrer a dessorção das substâncias (RESD).

5.14.1. Ensaio de recuperação em extratos puro de solo (RESP)

A recuperação do fenol e cresóis foi realizada com a adição, separadamente, de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol em extratos de solo puro, os quais foram obtidos deixando-se três frascos contendo $5,0000 \pm 0,0001$ g de solo em contato com 150,0 mL de solução CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ por 96 horas. Decorrido o tempo necessário, foi feita centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos sendo que os sobrenadantes de cada frasco foram misturados obtendo-se em torno de 450 mL de extrato de solo. A esse extrato, em volumes adequados, foi adicionado individualmente, o fenol e *o*-cresol em concentração de 1,00; 10,00 e 50,00 mg L^{-1} e *p*-cresol em concentração de 10,00 e 50,0 mg L^{-1} . As soluções foram agitadas (15 minutos) e analisadas em seguida pelo método APHA/VIS e UV e por FIA/VIS e FIA/UV.

5.14.2. Ensaio de recuperação em extratos após processo de biodegradação (RESB)

Neste experimento foram utilizados os extratos de solo nos quais, anteriormente, havia fenol ou cresóis e que sofreram processo de degradação. Para tal, utilizou-se frascos de 60 mL contendo 1,0000 g de solo em 30,00 mL de solução CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, aos quais foram adicionados fenóis individualmente em concentração de 50,0 mg L^{-1} . Após o tempo necessário para ocorrer a degradação de todos os compostos (96 horas) estes eram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos, separando-se 25,00 mL de cada um extratos sendo que o resíduo (sólido) de solo foi utilizado na terceira parte do experimento (subitem 4.14.3). Aos extratos obtidos, foram adicionadas alíquotas adequadas das soluções estoque de fenol e *o*-cresol a fim de proporcionar concentração de 1,00, 10,00 e 50,00 mg L^{-1} as quais tinham imediatamente a concentração determinada pelo método APHA/VIS e por FIA/VIS. O composto *p*-cresol foi determinado por método espectrofotométrico em λ de 277 nm (UV) e por FIA/UV em concentrações de 10,00 e 50,0 mg L^{-1} .

5.14.3. Ensaio de recuperação utilizando solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (RESD)

Aos resíduos sólidos obtidos no item 4.14.2. foi adicionado um volume de 25,00 mL de solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Estas amostras foram agitadas a 170 oscilações min^{-1} por 1 hora, centrifugadas separando-se as fases líquidas. À estas fases sobrenadantes, foram adicionadas alíquotas, separadamente, dos fenóis proporcionando concentração de 1,00 mg L^{-1} para fenol e *o*-cresol e 5,36 mg L^{-1} para o *p*-cresol. Os sobrenadantes foram agitados por 5 minutos, sendo adicionado 0,35 mL de HCl concentrado para proporcionar pH ao redor de 2,

visando a precipitação dos ácidos húmicos, os quais foram separados por centrifugação. Os sobrenadantes foram analisados pelo método oficial APHA/VIS e por FIA/VIS. O composto *p*-cresol foi determinado por método espectrofotométrico em λ fixo de 277 nm (UV) quanto por FIA/UV. Todos os ensaios descritos neste item e nos anteriores foram realizados em triplicatas.

5.15. INFLUÊNCIA DE SILICATOS SOLÚVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE *p*-CRESOL APÓS DESSORÇÃO DO SOLO COM SOLUÇÃO DE NaOH

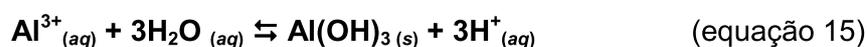
A solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ além de ácidos húmicos extrai silicatos que são solúveis na faixa de pH (básico) e podem causar incremento de absorbância na região do UV mascarando a medida correta dos compostos nesta faixa, especialmente para o *p*-cresol. Nesse sentido, foi testada a influência dos silicatos extraídos nas determinações de *p*-cresol. Foi transferida uma massa de 1,0000 ± 0,0001 g de sílica cromatográfica e 30,00 mL de solução de *p*-cresol a 10,00 mg L⁻¹ em meio de NaOH em concentração 0,10 mol L⁻¹ e de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. As amostras foram agitadas durante uma hora e em seguida tiveram suas absorbâncias lidas em 277 nm contra uma prova em branco preparada nas mesmas condições.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA DE SOLO

6.1.1. Determinações potenciométricas de pH

As suspensões de solo apresentaram pH 4,45 ± 0,01 (T = 24°C) determinado em água destilada e 4,50 ± 0,01 em solução de CaCl₂ em concentração 0,01 mol L⁻¹. Estes valores de pH indicam que esta amostra de solo é classificada como ácida (IBGE, 2007). A acidez dos solos é explicada devido à presença de íons Al³⁺ em solução que reagem com água formando hidróxidos (SPOSITO, 1989) conforme a equação 15, além do fato do CO₂ ser solúvel em água e da presença de ácidos húmico e ácido fúlvico.



Como a sorção dos compostos fenólicos também está relacionada com a presença de cargas na superfície dos argilominerais, estes valores de pH indicam que os prótons fracamente ligados à estrutura das argilas contribuem para a acidez e favorecem sorção pela geração de cargas fracas em sua superfície. Por outro lado, em pH menores que 7,0 compostos fenólicos geralmente se encontram em sua forma protonada, sendo mais hidrofóbicos, o que favorece processos de sorção na matéria orgânica do solo (COSTA *et al.*, 2002).

6.1.2. Teor de cinzas

Determinou-se o teor de cinzas da amostra de solo em triplicata, sendo obtido o resultado médio de $80,21 \% \pm 0,04$ indicando 19,79% de MO na amostra. Todavia, esse valor é muito superior àqueles documentados na literatura (MCBRIDE, 1994) para solos, que relata teores máximos de 5%. Atribui-se essa diferença à perda de hidróxidos na forma de vapor de água da estrutura cristalina dos argilominerais causando diferença significativa na massa. Essa hipótese é corroborada, pelo fato do solo sob investigação apresentar características de solo argiloso, conforme relatado adiante no subitem 5.1.4. No entanto esse método se trata de uma estimativa da MO, pois outras variáveis podem influenciar na determinação, como compostos orgânicos voláteis, C proveniente de carbonatos (PAGE *et al.*, 1982) e água de adsorção na superfície de argilominerais. Em etapas futuras do trabalho poderia ser estudada a possibilidade de análise Termogravimétrica (TG) para maiores esclarecimentos em relação a estimativa da quantidade matéria orgânica na amostra de solo.

6.1.3. Análise Elementar

Um caminho alternativo para determinação do teor de matéria orgânica, consiste na análise elementar para a determinação dos teores de C, H e N. Os valores médios (%) para cada um dos elementos, obtidos pela média de quatro determinações foram: C = $3,7 \pm 0,3$; H = $2,2 \pm 0,2$ e N = $0,10 \pm 0,02$. De acordo com a literatura (PAGE *et al.*, 1982; STEVENSON, 1994; MCBRIDE, 1994), a partir do teor de carbono, pode-se obter o valor de estimativa de matéria orgânica, multiplicando-se o valor obtido por 1,724 (solos de clima temperado), o que proporciona obter um valor estimado de 6,4% de matéria orgânica. Embora esse valor seja superior àquele mencionado pela literatura (MCBRIDE, 1994) de no máximo 5%, é mais coerente frente ao teor de quase 20%, obtido indiretamente pelo teor de cinzas. Esse valor elevado de matéria orgânica sugere que o solo estudado possui características propícias para a sorção de compostos orgânicos, cujos valores de $\log K_{OW}$ sejam mais elevados, como é o caso de poluentes

como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e bifenilas policloradas, cujos valores de $\log K_{OW}$ se situam próximos de 4 a 6. Em nosso caso os três compostos fenólicos estudados apresentam valores entre de $\log K_{OW}$ entre 1,5 e 2,0, valores que são indicativos de baixa afinidade com matrizes ricas em matéria orgânica (ROOSE E BRINKMAN, 2005), como é o caso do solo sob investigação.

Cabe explicar que determinar a quantidade de MO no solo não é tarefa fácil, pois métodos como a queima da MO por via úmida (Dicromato de potássio) ou seca (mulfa) estão sujeitos a erros, ora pela combustão incompleta ou por estimar C proveniente de fontes inorgânicas, como minerais carbonatados, presentes em alguns solos. Devido à dificuldade para determinar o C orgânico no solo, alternativamente a quantidade de C pode ser estimada utilizando um fator de correção que varia de 1,724 a 2,0 sendo que essa faixa é relativa a uma média de C oriundo da MO. O valor pode variar de acordo com tipo de solo e é recomendado ser determinado experimentalmente para cada solo avaliado (PAGE *et al.*, 1982).

6.1.4. Granulometria e textura da amostra de solo

O solo utilizado nos experimentos teve sua textura determinada de acordo com o método da pipeta (EMBRAPA, 1997), que fornece percentuais das frações de areia (0,05 a 2 mm), silte (0,002 a 0,05 a mm) e argila (menor que 0,002 mm).

A amostra de solo estudada apresentou constituição de 2,6% de areia, 31,1% de silte e 62,3% de argila. Para determinação da textura foi utilizado o diagrama mostrado na Figura 6 na revisão bibliográfica.

Quando os valores percentuais são colocados no diagrama da Figura 6, observou-se que a intersecção das concentrações se dava na região de argila, sendo classificado como argiloso (EMBRAPA, 1997).

O fato da amostra de solo ser argilosa é um indício interessante, pois devido a grande área superficial de argilominerais (MELO E AZEVEDO, 1997) fenômenos de adsorção podem ser favorecidos desde que as argilas e os fenóis tenham características favoráveis à interação, por exemplo, cargas elétricas decorrentes da substituição isomórfica em argilas do tipo 2:1.

6.1.5. Análise por Fluorescência de raios X (FRX)

A análise por fluorescência de raios X mostra os teores de elementos químicos na amostra em termos percentuais de seus óxidos. No entanto, vale ressaltar que neste tipo de técnica o que se observa são as absorções de radiação características

de cada elemento químico. Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos dos dez principais elementos na forma de óxidos, determinados para a amostra de solo estudada.

Tabela 7 – Teores dos dez óxidos principais determinados na amostra

Óxido	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	MnO	P ₂ O ₅
Teor (%)	34,08	27,42	12,91	1,55	0,23	0,71	0,04	0,85	0,04	0,25

Os teores obtidos na Tabela 6 mostram boa concordância com valores obtidos para solos semelhantes, em estudo conduzido por Nascimento e Fontes, (2004) com latossolos vermelhos distróficos. No entanto, a FRX não mostra que tipos de argilominerais estão presentes, o que é importante neste estudo, visando tentar elucidar qual a forma de interação dos mesmos com os compostos fenólicos, sendo necessária a caracterização por Difração de raios X. Por outro lado, a FRX provê o fornecimento de informações para auxiliar a identificação mais segura e rápida dos argilominerais por Difração de raios X.

6.1.6. Análise por Difração de raios X (DRX)

As análises de DRX no solo foram conduzidas de acordo com o procedimento descrito em materiais e métodos (item)primeiramente na amostra sem tratamento (lâmina 1) e também após tratamento em mulfa em temperatura de 550 °C (lâmina 2) e com adição de etileno glicol (lâmina 3). O difratograma obtido para a primeira análise, mostrou muita sobreposição de picos, devido aos altos teores de quartzo que está presente na fração arenosa do solo o que acabou mascarando os picos dos demais compostos. Para minimizar o efeito do quartzo, e investigar a presença de argilominerais no segundo ensaio apenas a fração argila foi submetida à análise (lâminas 2 e 3) . O difratograma obtido nesse ensaio é apresentado na Figura 12.

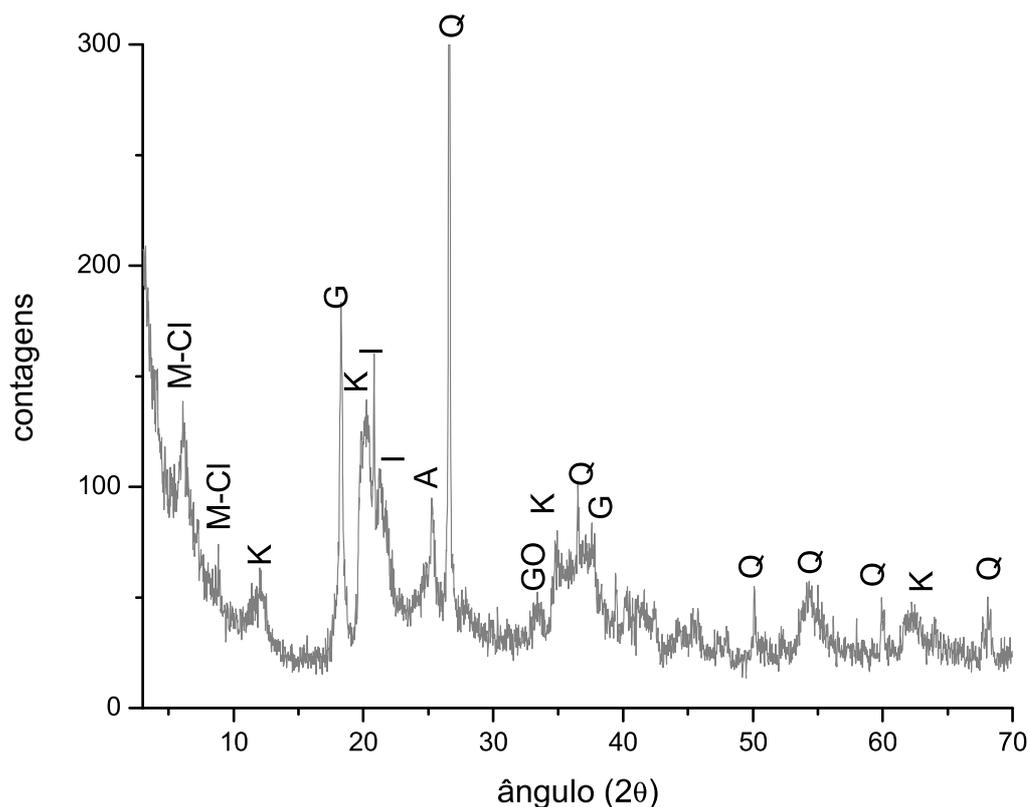


Figura 12 – DRX da amostra de solo com tratamento. M-CI (Montmorilonita-clorita); K (Caulinita); G (Gibsite); I (Ilita); Q (quartzo); A (Anatásio); GO (Goetita).

Apesar de o tratamento minimizar o efeito do quartzo na identificação dos argilominerais no difratograma da Figura 12 observa-se o pico em 27°, este indicativo da presença de quartzo, que mostra uma intensidade grande que acaba sobrepondo outros argilominerais presentes. Contudo, através de ensaios com a fração argila do solo seguido do tratamento com etileno glicol, mufla, auxílio do banco de dados do software e literatura (MOORE e REYNOLDS Jr., 1997) é possível identificar boa parte dos minerais que estão presentes (ALBERS, 2002).

Para identificação dos picos correspondentes é realizado um comparativos entre as três varreduras realizadas nas lâminas testadas. O procedimento de aquecimento tem o objetivo de investigar a perda de estruturas cristalinas de alguns argilominerais, por exemplo, a caulinita, que é visualizada no difratograma pelo deslocamento de picos de difração característico. Efeito similar pode ser utilizado para a explicação do uso do etileno glicol (ETG), que neste caso a molécula de ETG tende a ocupar espaços entre as estruturas de argilas do tipo 2:1, aumentando o espaçamento basal o que desloca o pico de absorção no difratograma (MOORE e REYNOLDS Jr., 1997). Com base nesses tratamentos a Tabela 8 mostra algumas fases minerais identificadas no solo.

Tabela 8 – Algumas fases minerais identificadas na amostra de solo por DRX

Composto	Fórmula Química	Posição (2θ)
Quartzo	SiO ₂	20,8; 26,6; 36,5
Gibbsite	Al(OH) ₃	18,6; 20,2; 37,6
Caulinita	Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄	12,1; 18,9; 19,9; 24,6
Anatásio	TiO ₂	25,3
Illita	2K ₂ O ₃ MgOAl ₂ O ₃ 24SiO ₂ .12H ₂ O	8,7; 21,3; 21,7
Montmorilonita-clorita	Na - Ca - Al - Si ₄ O ₁₀ - O	6,1; 18,3; 24,7
Goetita	Fe ³⁺ O(OH)	33,4

O solo mostrou a presença da caulinita, que é um argilomineral do tipo 1:1. Neste tipo de mineral a presença de cargas na superfície é muito pequena em comparação aos do tipo do 2:1 como a Montmorilonita e Illita, também identificadas de acordo com a Figura 12. Segundo Costa *et al.* (2002) os minerais do tipo 1:1 são resultados do intemperismo acentuado, sendo um indicativo de um solo mais antigo, que não favorece interações eletrostáticas ou fracas em sua superfície. Por outro lado, fases minerais contendo hidroxilas em suas estruturas, como gibbsite e goetita, bem como moléculas de água adsorvidas ou absorvidas poderiam favorecer a formação de ligações de hidrogênio. No entanto para uma melhor afirmação da possibilidade de sorção seriam necessários estudos para a quantificação de cada fase mineral, visto que a DRX não permite quantificar cada uma das espécies encontradas.

6.1.7. Capacidade de Troca Catiônica (CTC)

A amostra de solo apresentou CTC = 31,4 ± 0,3 cmol kg⁻¹ de solo (determinações realizadas em triplicata), utilizando-se o método de saturação da amostra com íons Na⁺, e posterior troca com íons NH₄⁺ (HESSE, 1971). O valor de CTC indica a capacidade dos solos, argilominerais ou colóides presentes no próprio solo de efetuar troca catiônica.

A CTC pode ser classificada como: baixa, menos de 10 cmol kg⁻¹; moderadamente baixa, 10-20 cmol kg⁻¹; moderadamente alta, 20-30 cmol kg⁻¹; alta, 30-50 cmol kg⁻¹; e muito alta, mais de 50 cmol kg⁻¹. Esta é uma classificação aproximada, podendo ser utilizada como referência (FAGERIA, 2004).

Elevadas áreas superficiais podem ser significativas no processo de troca iônica, em face de uma maior exposição de sítios de adsorção. Todavia, a distribuição de carga no solo também está relacionada com a faixa de pH em questão (SPOSITO, 1989). O valor de CTC obtido está próximo daqueles citados na literatura para solos classificados como latossolos vermelhos (COSTA *et al.* 2002 e WEBER *et al.*, 2005).

6.2. ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA (UV) DAS SOLUÇÕES PADRÃO DOS FENÓIS

Inicialmente foram obtidos os espectros de absorção de cada composto na região do UV para as três espécies fenólicas estudadas, em concentração de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ diluídas em solução de $\text{CaCl}_2 0,01 \text{ mol L}^{-1}$, conforme Figura 13.

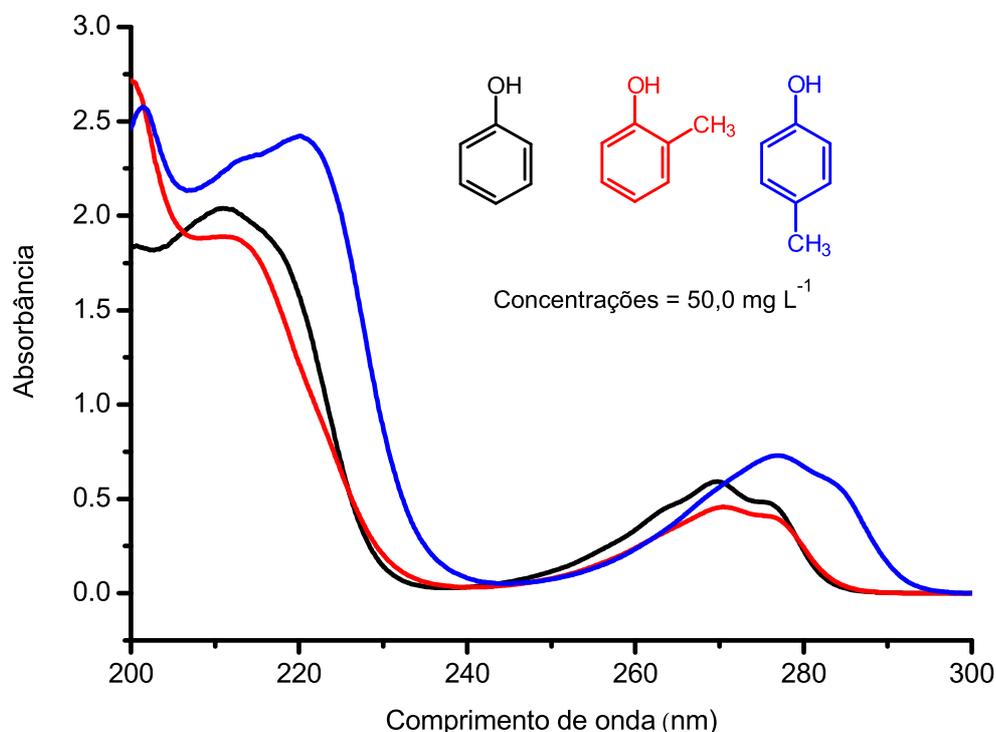


Figura 13 – Espectros de absorção na região do UV dos três compostos fenólicos estudados (fenol, *o*-cresol e *p*-cresol) em concentrações de $50,00 \text{ mg L}^{-1}$ utilizando solução de $\text{CaCl}_2 0,01 \text{ mol L}^{-1}$ como solvente.

Os espectros individuais dos compostos mostraram absorção na região do UV, onde duas bandas de absorção para ambas as espécies são vistas. Na primeira banda em λ de 210 nm os compostos apresentaram absorções intensas, características de sistemas aromáticos (SILVERSTEIN *et al.*, 1991) Já na região de 270 nm uma segunda banda de absorção foi localizada para fenol e *o*-cresol, sofrendo pequeno deslocamento em 277 nm para o composto *p*-cresol.

Inicialmente foi avaliada a possibilidade de determinar a concentração de fenol de forma direta, empregando a absorção na região do ultravioleta em λ igual a 210 nm ou 270 nm. A região em 210 nm mostrou maior absorvidade molar (ϵ), sendo, portanto, mais adequada para a elaboração das curvas analíticas, e para a quantificação das espécies fenólicas em decorrência de propiciar menores valores de limite de quantificação (LQ). Todavia, conforme abordado a seguir, algumas limitações foram observadas, o que requereu a busca por outros métodos.

6.3. TESTE COM SOLO NA PRESENÇA DE ÁGUA DEIONIZADA, SOLUÇÃO DE CaCl_2 E FENOL

Até esse ponto, havia sido estudado o fenol em meio CaCl_2 e em água, porém na presença de solo devido a um tempo de contato prolongado esperava-se a dessorção de alguns compostos do solo, como colóides, minerais e matéria orgânica (basicamente ácidos húmicos, fúlvicos e huminas). Acontece que a presença destas substâncias nas suspensões poderia vir a atuar como interferentes nas determinações dos fenóis, devido a sobreposição espectral na região do UV. Em vista disso se fez necessário um estudo visando avaliar o comportamento de uma dada massa de solo em contato com volume definido de solução na presença de água deionizada, solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, fenol em água deionizada e um branco da solução de CaCl_2 utilizada. Na Figura 14 podemos observar os espectros de absorção na região do UV dos extratos de solo após serem centrifugados e filtrados em membrana de nitrato de celulose com abertura de poro de $0,45 \mu\text{m}$.

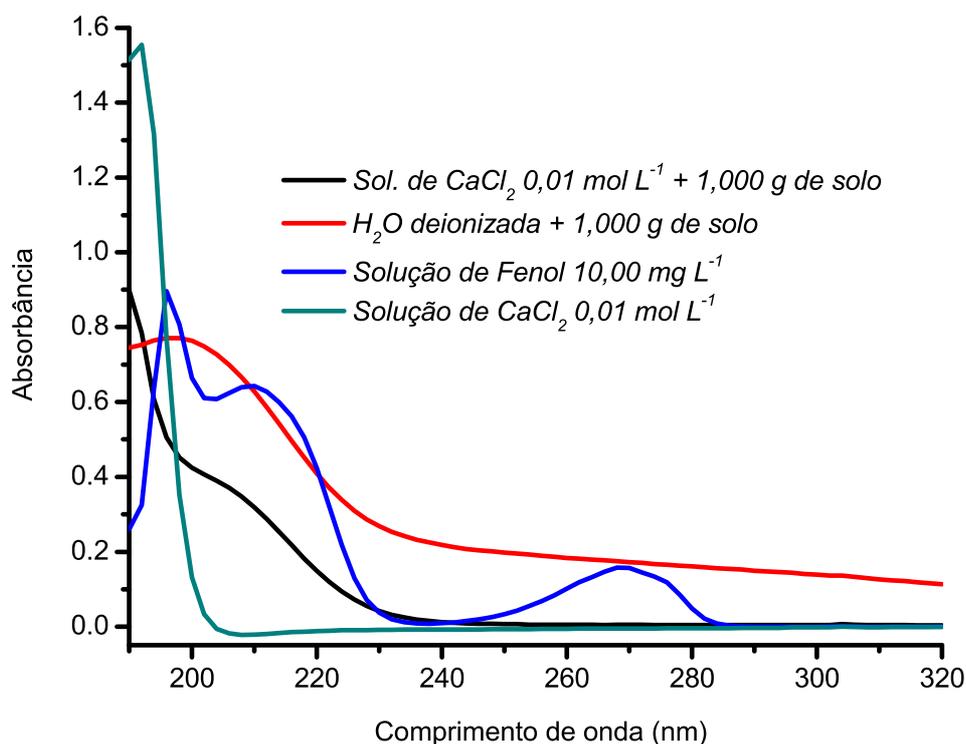


Figura 14 – Espectros de absorção na região do UV das soluções de fenol em água deionizada em concentração de $10,00 \text{ mg L}^{-1}$, água deionizada deixada em contato com $1,0000 \text{ g}$ de solo por 24 horas, solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pura e mantida em contato com $1,0000 \text{ g}$ de solo por 24 horas.

A Figura 14 mostra que ocorre absorção na região compreendida entre 190 a 250 nm. É possível notar que a solução de CaCl_2 absorve na região de 190 a 200 nm, a solução que foi obtida com $1,000 \text{ g}$ de solo que foi mantida em agitação por 24 horas

mostrou absorvância na região 190 a 230 nm. Consta-se também que para o solo em contato com ambas as soluções, ocorrem a dessorção de compostos, possivelmente matéria orgânica (KHAN e ANJANEYULU, 2005). Observa-se ainda que estes compostos extraídos do solo absorvam coincidentemente na mesma faixa de absorção de uma das bandas de absorção da solução de fenol padrão, portanto o problema da sobreposição espectral neste caso, acaba inviabilizando a quantificação do composto nesta região. No entanto, o fenol apresenta uma banda de menor intensidade em 270 nm, na qual não ocorre sobreposição espectral e desta maneira a região no λ de 270 nm foi escolhida para a quantificação do fenol nos experimentos utilizando o método espectrofotométrico na região do UV. Por outro lado, com base no conceito de sólidos suspensos, partículas com tamanhos menores que 0,45 μm podem permear a membrana e dar sinal de espalhamento da luz. Neste caso o procedimento de adição de padrão pode ser utilizado visando minimizar efeitos da matriz. É importante ressaltar, que esse estudo não foi realizado em vista dos resultados de recuperação obtidos que serão mostrados na sequência (item 6.6).

Cabe salientar que o teste apresentado na Figura 14 não foi conduzido para *o*-cresol e *p*-cresol, com base na grande similaridade entre os espectros de absorção dos três compostos investigados, em especial na região de 270 nm, de acordo com a Figura 13.

6.4. ESPECTROS DE ABSORÇÃO DAS ESPÉCIES FENÓLICAS E CURVAS ANALÍTICAS

Em vista da presença de interferentes, absorvendo radiação eletromagnética na região do UV na mesma região que os compostos fenólicos, optou-se pela segunda banda de absorção das espécies nos comprimentos de onda 270 a 277 nm. Porém a absorvidade molar de todos os compostos estudados se mostrou inferior em relação às bandas em 210 nm, o que diminui a sensibilidade do método.

Um método que propicia menores valores de LQ é interessante do ponto de vista ambiental, já que a diminuição dos LQ tem como objetivo se igualar aos valores estipulados na legislação, embora não hajam informações estabelecidas para solos. Apesar disso, decidiu-se extrapolar os valores de concentração na faixa de 5,00 a 80,00 mg L^{-1} para fenol e *o*-cresol e de 5,00 a 50,00 mg L^{-1} para o *p*-cresol. Os espectros dos padrões analíticos dos três compostos foram registrados em triplicata. Todavia, é mostrado apenas um espectro de cada concentração para cada uma das espécies estudadas de acordo com as Figuras 15, 16 e 17, para as soluções de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol, respectivamente.

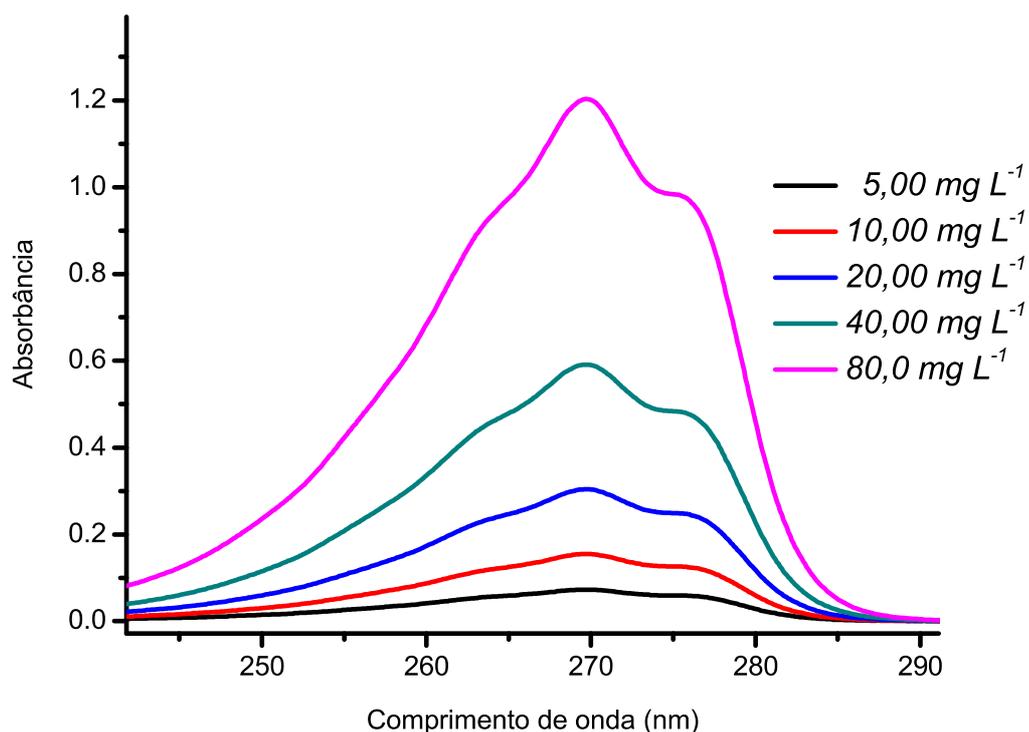


Figura 15 – Espectros de absorção na região do UV dos padrões de fenol utilizados para a obtenção da curva analítica em concentrações de 5,00, 10,00, 20,00, 40,00 e 80,00 mg L⁻¹ em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

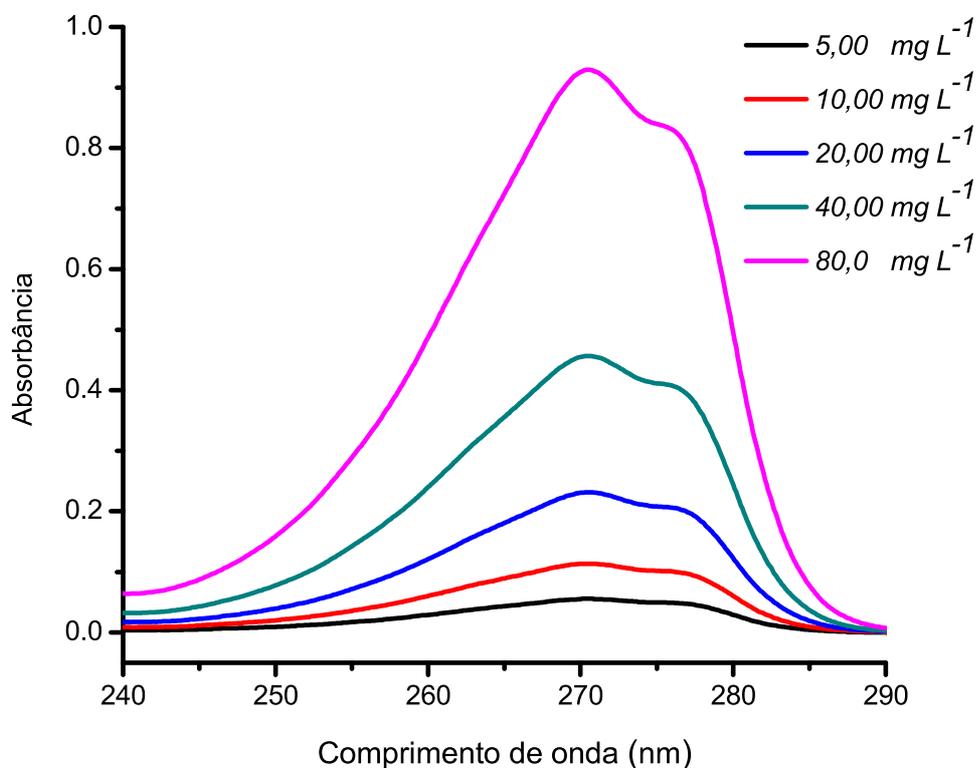


Figura 16 – Espectros de absorção na região do UV dos padrões de *o*-cresol utilizados para a obtenção da curva analítica em concentrações de 5,00, 10,00, 20,00, 40,00 e 80,00 mg L⁻¹ em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

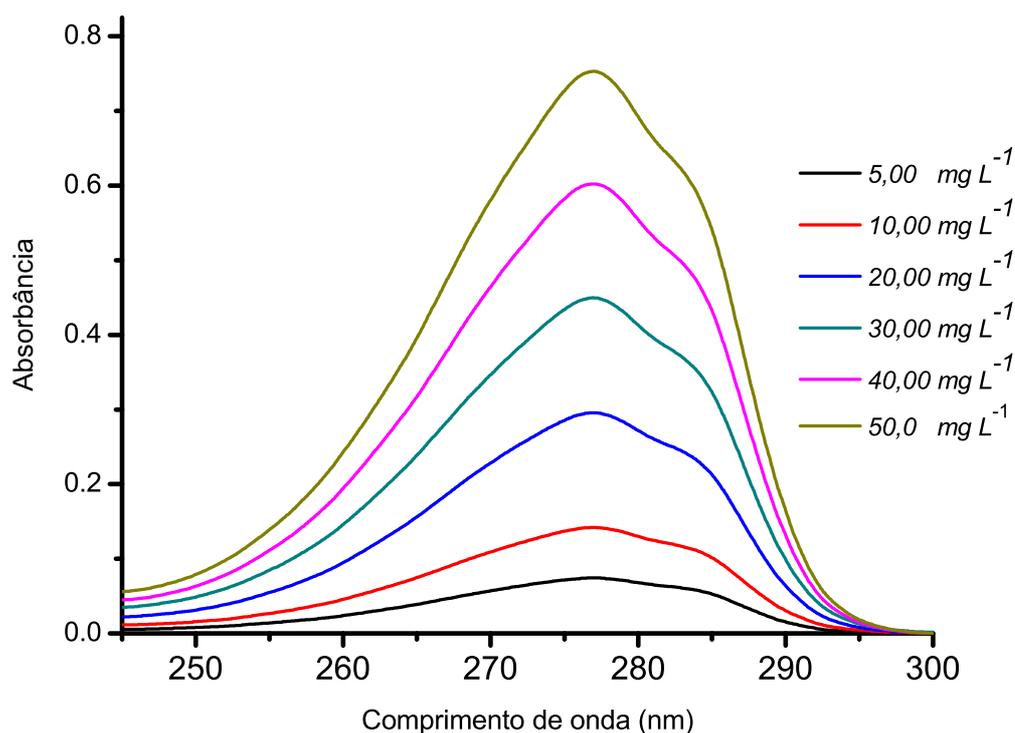


Figura 17 – Espectros de absorção na região do UV dos padrões de *p*-cresol utilizados para a obtenção da curva analítica em concentrações de 5,00, 10,00, 20,00, 40,00 e 50,00 mg L⁻¹ em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

Os espectros dos três compostos, fenol (Figura 15), *o*-cresol (Figura 16) e *p*-cresol (Figura 17) mostraram semelhanças no que diz respeito a forma da banda de absorção, no entanto o fenol apresentou maior absorptividade molar em relação ao *o*-cresol, enquanto o *p*-cresol calculado em 277 nm, apresentou maior valor de absorptividade molar, do que os outros dois compostos, conforme evidenciado pelo valores de absorbância, de acordo com a Figura 13. No que diz respeito às absorbâncias foi observado, que para os dois compostos, variaram na faixa de 0,050 a 1,200 unidades estando abaixo e acima dos valores considerados como adequados pela literatura que é entre 0,200 e 0,800 unidade de absorbância (SKOOG *et al.*, 2006). Por outro lado, em vista dos espectros terem sido realizados em triplicata, foram observados baixos valores dos desvios padrão das leituras em 270 nm o que indica, que apesar da extrapolação, os padrões medidos mostraram dados como boa repetitividade. Com os sinais de absorbância obtidos, foram construídas as curvas analíticas, que são mostradas na Figura 18, onde cada ponto simboliza as médias das absorbâncias realizadas em triplicata, juntamente com barras de desvio padrão. A Tabela 9 lista os parâmetros de mérito obtidos através da regressão linear das curvas analíticas, limites de quantificação calculados de acordo com Skoog *et al.* (2006) e coeficientes de correlação para os três compostos.

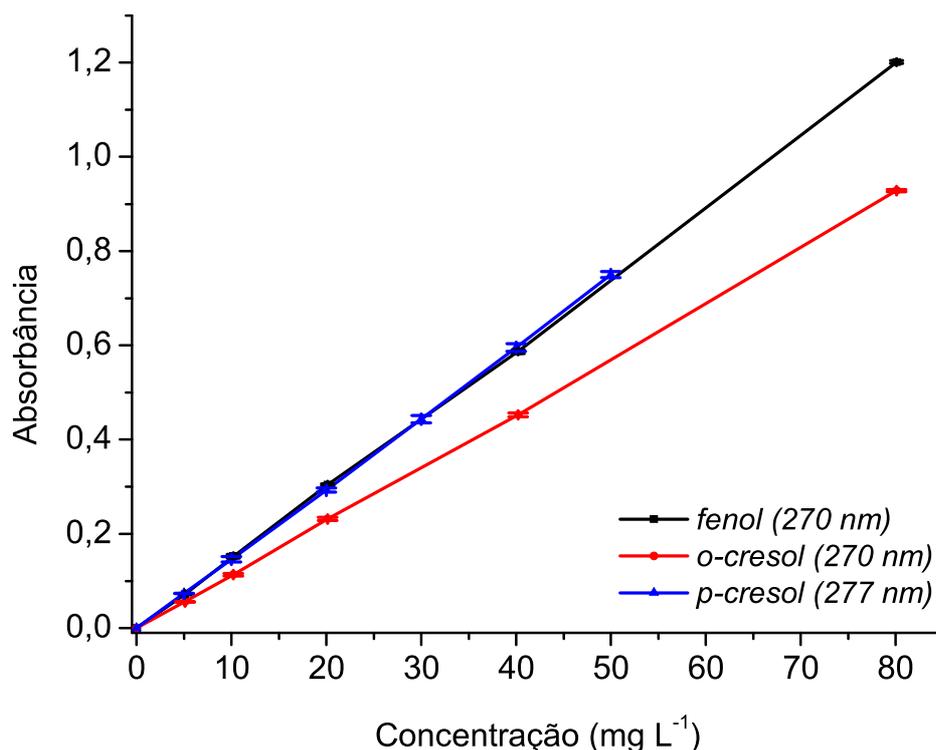


Figura 18 – Curvas analíticas obtidas a partir das absorbâncias máximas nos comprimentos de onda 270 nm dos padrões de fenol, *o*-cresol e 277 nm para o *p*-cresol. As barras de desvio padrão são referentes a ensaio em triplicata.

Tabela 9 – Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos obtidos a partir dos espectros dos padrões de calibração na região do UV.

Composto	Faixa (mg L ⁻¹)	Intercepto	Inclinação	LQ (mg L ⁻¹)	r ²
fenol	5,00 – 80,00	- 0,004 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,31	0,9990
<i>o</i> -cresol	5,00 – 50,00	- 0,004 ± 0,003	0,012 ± 0,001	0,28	0,9995
<i>p</i> -cresol	5,00 – 80,00	- 0,005 ± 0,003	0,015 ± 0,001	0,40	0,9996

De acordo com a Figura 18 e com a Tabela 8, constatou-se que as curvas analíticas obtidas mostraram boa linearidade, com bons coeficientes de correlação, porém, com faixas de concentração aquém do que seria mais apropriado para atender estudos de caráter ambiental. Os valores de intercepto são muito próximos de zero, sugerindo não haver tendência de desvio da Lei de Lambert-Beer, pela utilização de concentrações até 50,00 mg L⁻¹ (*p*-cresol) ou 80,00 mg L⁻¹ (fenol e *o*-cresol). Os valores de inclinação obtidos denotam uma melhor sensibilidade para o *p*-cresol, todavia, um maior valor de LQ foi constatado para esse composto. Isso ocorreu devido ao maior valor médio de desvio padrão observado para a prova em branco, para esse composto, visto que o valor de LQ foi estabelecido com base em (10 x valor médio do desvio padrão do branco) / inclinação da curva analítica (SKOOG *et al.*, 2006). Os valores médios de

desvio padrão das provas em branco de cada um dos compostos foram obtidos pela realização de dez provas diferentes.

Embora os valores de LQ indicassem que poderia se trabalhar com padrões em concentração inicial da ordem de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ optou-se pela investigação de procedimentos alternativos, sendo então estudada a possibilidade de implementar o método da 4-aminoantipirina (4-AAP), a qual consiste de um método padrão para quantificação de fenóis totais em águas (APHA, 1995). A justificativa para o uso de outro método se baseia na possibilidade desse método da 4-AAP ter certa seletividade a alguns compostos fenólicos, o que interessante neste estudo envolvendo matriz de grande heterogeneidade como o solo. Na Figura 19 são apresentados os espectros coletados dos compostos gerados a partir da reação dos padrões de calibração com 4-AAP, preparados na faixa de concentração de $0,50$ a $8,00 \text{ mg L}^{-1}$, neste caso para a espécie fenol.

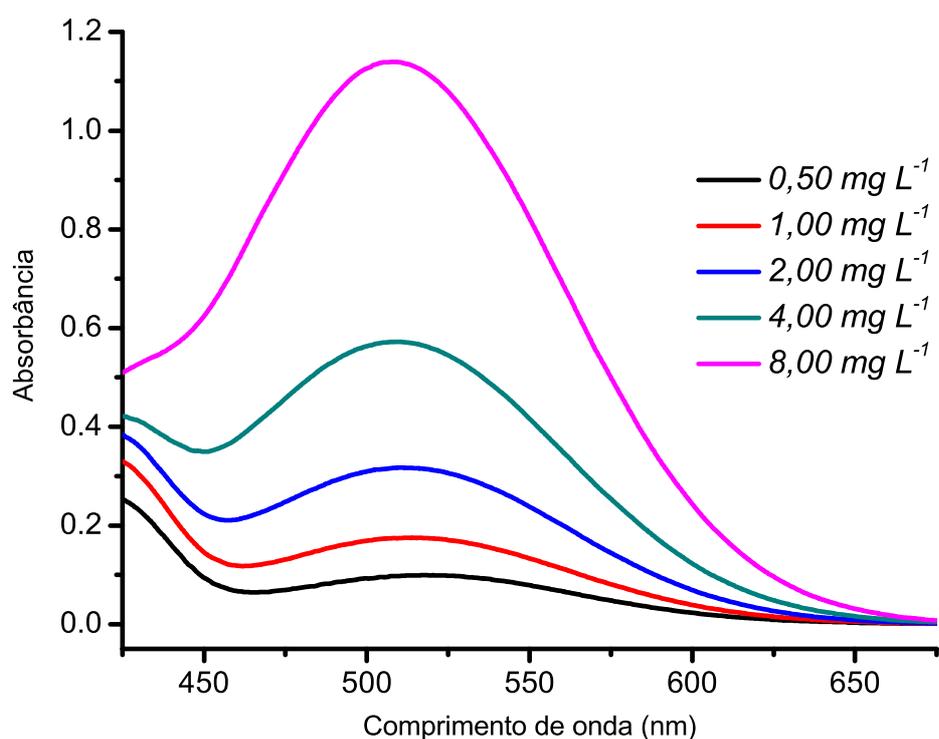


Figura 19 – Espectros de absorção na região do visível dos compostos formados a partir das soluções padrão de fenol em concentrações de $0,50$, $1,00$, $2,00$, $4,00$ e $8,00 \text{ mg L}^{-1}$ após reação com 4-AAP exibindo absorbância máxima no λ de 510 nm .

Na Figura 19 pode-se analisar que o composto formado, após a reação com 4-AAP, absorve luz em λ máximo de 510 nm , o que é concordante com o método relatado pela literatura. Esse método emprega a faixa de concentração de fenol que irá reagir com a 4-AAP variando de $1,00$ a $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, no entanto em vista da possibilidade

de se trabalhar com uma faixa mais ampla de concentração, como nas curvas construídas na região do UV, foram estudadas concentrações variando de 0,50 a 8,00 mg L⁻¹ de fenol, fornecendo sinais de absorbâncias que foram reproduzidas nos demais ensaios (triplicata) no intervalo de 0,100 a 1,150 unidades de absorbância.

Para *o*-cresol foi testada a mesma faixa de concentração dos padrões de calibração, sendo que os espectros de absorção dos compostos gerados, após a reação com a 4-AAP são mostrados na Figura 20.

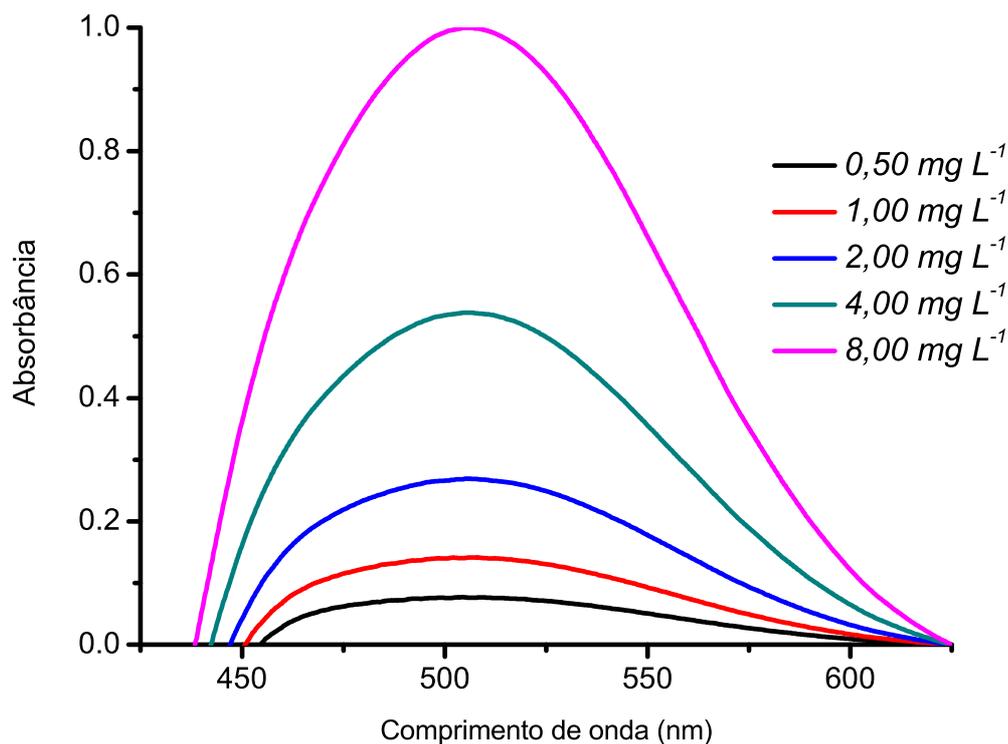


Figura 20 – Espectros de absorção na região do visível das soluções padrão de *o*-cresol em concentrações de 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 e 8,00 mg L⁻¹ após reação com 4-AAP mostrando absorbância máxima no comprimento de onda 510 nm.

Os espectros de absorção na região de 425 a 625 nm dos compostos formados após a reação com 4-AAP e *o*-cresol mostraram novamente absorbância máxima em 510 nm, no entanto valores menores de ϵ foram obtidos, em comparação com o fenol, sendo que as absorbâncias médias obtidas no intervalo foram de 0,070 a 1,000 unidades. De posse dos dados de absorbância médios obtidos em comprimento de onda de 510 nm (média de três determinações), conforme Figuras 19 e 20, foram construídas as curvas analíticas que são mostradas na Figura 21.

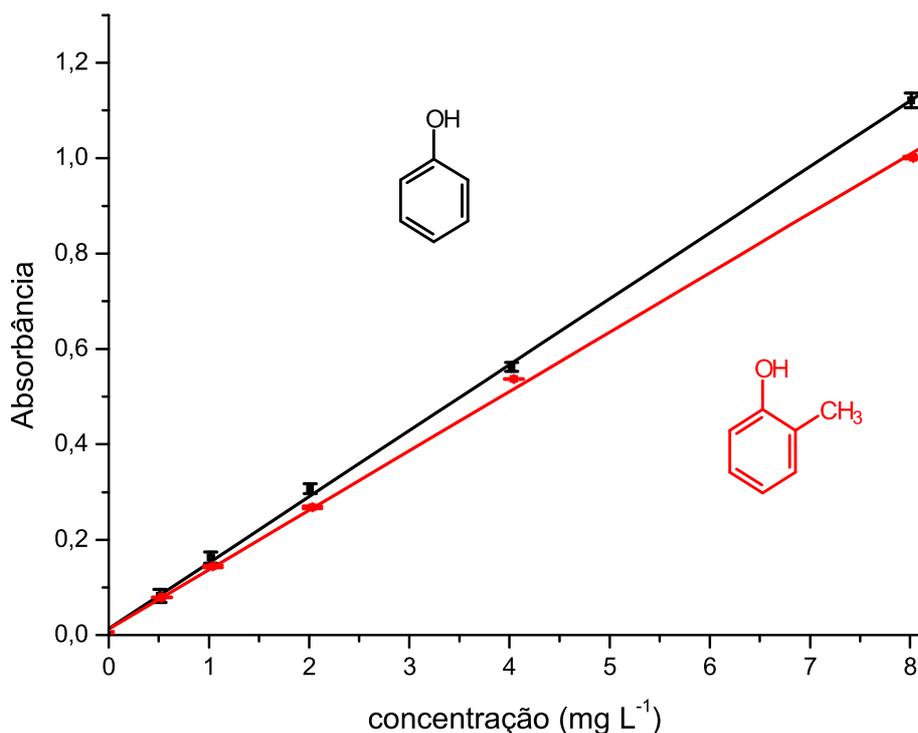


Figura 21 – Curva analítica obtida a partir das absorbâncias máximas no comprimento de onda 510 nm dos padrões de *o*-cresol após reação com 4-AAP contra a concentração de cada padrão variando na faixa de 0,50 a 8,00 mg L⁻¹.

De acordo com as curvas analíticas pode ser verificado que o método da 4-AAP na região do visível propicia obter baixos valores de desvio padrão para os dois compostos, bem como boa correlação entre os pontos. A Tabela 10 resume os parâmetros de mérito obtidos para os dois compostos sendo os limites de quantificação obtidos de acordo com Skoog *et al.* (2006). A princípio, não foram observadas diferenças significativas nos valores de LQ para os dois compostos. Todavia, deve-se ressaltar que na região do UV, o sinal observado para o primeiro ponto da curva analítica para *o*-cresol em concentração de 5,00 mg L⁻¹ foi em torno de 0,050 unidades de absorbância (Figura 18), sugerindo um sinal extremamente baixo para 0,50 mg L⁻¹, ao passo que pelo método da 4-AAP, o primeiro padrão utilizado foi de 0,50 mg L⁻¹, exibindo um sinal médio ao redor de 0,070 unidades de absorbância (Figura 21). Isso levou a concluir que seria melhor utilizar o método da 4-AAP para ambos compostos. Outro aspecto importante é que para os dois compostos foram constatados valores dos coeficientes lineares próximos a zero, sugerindo não haver a tendência de desvio da Lei de Lambert-Beer. Entretanto, deve ser destacado que a solução em maior concentração da curva obtida para *o*-cresol (8,00 mg L⁻¹), mostrou uma tendência sistemática de desvio da linearidade, mantendo, porém, um bom valor de coeficiente de correlação, assim como verificado para o fenol.

Tabela 10 – Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos obtidos a partir dos espectros dos padrões de calibração na região do visível pelo método da 4-AAP.

Composto	Faixa (mg L ⁻¹)	Intercepto	Inclinação	LQ (mg L ⁻¹)	r ²
fenol	0,50 – 8,00	0,020 ± 0,010	0,138 ± 0,001	0,42	0,9993
o-cresol	0,50 – 8,00	-0,023 ± 0,001	0,123 ± 0,001	0,42	0,9995

Apesar do método empregando a 4-AAP ser tedioso, tem a vantagem de ser mais seletivo a compostos fenólicos. Entretanto, esse método não é aplicável a *p*-cresol, e assim, na quantificação desse composto, utilizou-se a região do UV em 277 nm.

Dessa forma, partiu-se para a execução dos experimentos de adsorção envolvendo a amostra de solo na presença dos três compostos fenólicos separadamente.

6.5. ENSAIOS EM BATELADA PARA SORÇÃO DE FENOL NA AMOSTRA DE SOLO

Nos ensaios em batelada foi estudada inicialmente a capacidade do solo em sorver o fenol. Para isso, uma relação de solo e volume de solução foi mantida dentro de padrões estabelecidos (OECD, 2000) visando o melhor aproveitamento da quantidade de amostra de solo, ou seja, a relação utilizada foi 1,0000 ± 0,0001 g em 30,00 mL de solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, sendo essa solução também recomendada na norma para testes em batelada preparados na presença de solo.

Uma vez definida a proporção solo/solução adotou-se preliminarmente um período de 24 h de tempo de contato para agitação, concentrações conforme Tabela 4 do subitem 4.6., obtendo-se perfil conforme mostra a Figura 22.

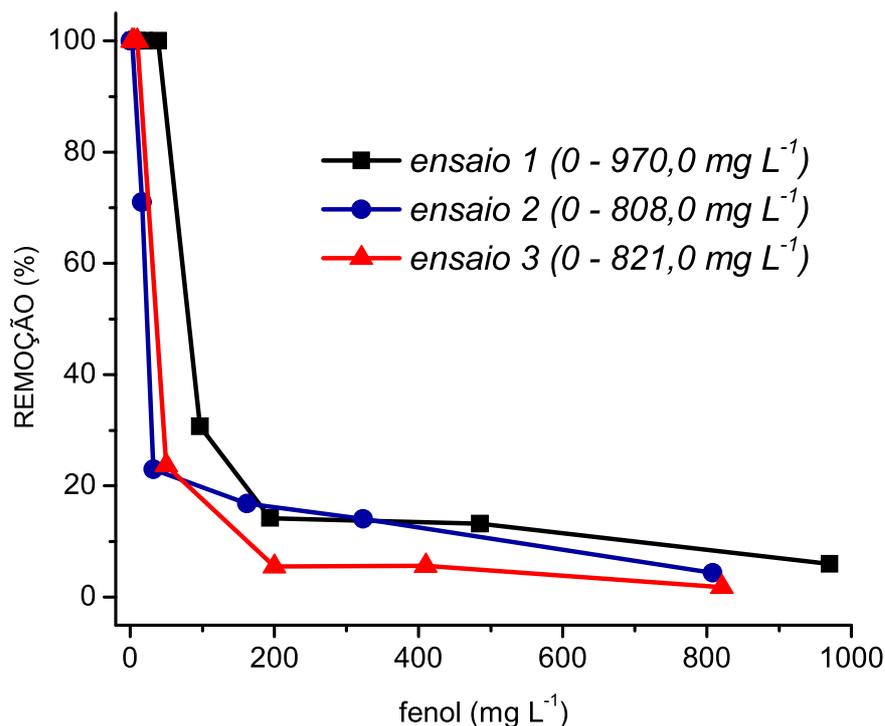


Figura 22 – Percentual de remoção de fenol em função das concentrações iniciais de fenol (mg L^{-1}). Condições: massa de solo de 1,0000 g em 30,00 mL de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e concentrações iniciais de fenol de acordo com a Tabela 4. Tempo de contato de 24 h em temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$ com agitação constante de 170 oscilações min^{-1} .

A Figura 22 mostra que o percentual de fenol removido tende a ser total nas concentrações iniciais dos primeiros pontos dos três ensaios realizados que vão até em torno de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$. Os pontos iniciais de cada curva proporcionaram valores de absorbância inferiores ao sinal do menor ponto da curva analítica, portanto foram estimados. Nos demais pontos a % de remoção tende a diminuir com o aumento da concentração de fenol. De modo geral, as três faixas estudadas mostraram comportamento semelhante, porém com discrepâncias nas determinações dos pontos com concentrações mais elevadas sugerindo, possivelmente que outros processos poderiam estar atuando em paralelo. Dentre esses, pode-se citar: *i*) tempo insuficiente para ocorrer o equilíbrio aparente entre o adsorbato e adsorvente; *ii*) o método empregado na determinação das concentrações não estava adequado ao tipo de matriz (extrato de solo); *iii*) ocorrência de degradação química ou biológica do fenol ao longo do experimento. Além disso, deve-se considerar a grande heterogeneidade do material (solo) somados a erros indeterminados como possível causador da baixa repetibilidade. Partiu-se então para checar se a recuperação do método analítico estava sendo adequada, empregando o procedimento da 4-AAP.

6.6. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO DE FENOL EM EXTRATOS DE SOLO

O método de determinação de fenóis totais (APHA, 1995) é específico para quantificação em águas, no entanto, devido à presença da matéria orgânica (MO) e colóides extraídos nas suspensões de solo, cogitou-se a possibilidade desses atuarem como interferentes no procedimento que emprega a reação com a 4-AAP. Para investigar tal suposição, foi feito um ensaio de recuperação de fenol em solução CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e nos extratos de solo. Para isso foi obtido previamente extratos aquoso do solo estudado sem adição de compostos fenólicos. Neste procedimento foram preparados 3 frascos individuais contendo cada um $1,0000 \text{ g}$ ($\pm 0,1 \text{ mg}$) de solo em $30,00 \text{ mL}$ de solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Estes permaneceram em agitação por 24 horas, após centrifugação (2500 rpm por 10 min) os sobrenadantes obtidos ($25,00 \text{ mL}$) receberam adição de solução de fenol na faixa de $10,00$ a $60,00 \text{ mg L}^{-1}$. Além disso, para determinação também foi utilizado o método espectrofotométrico direto, sendo feita as leituras em λ de 270 nm . Os resultados obtidos são mostrados no gráfico de barras da Figura 23.

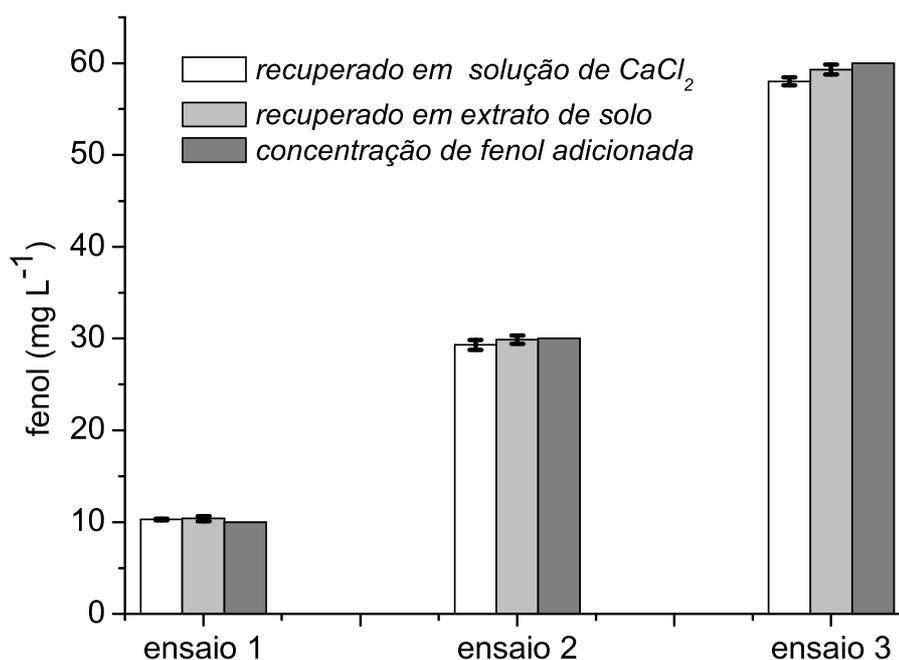


Figura 23 – Gráfico de barras mostrando a recuperação de fenol em concentrações adicionadas de $10,00$, $30,00$ e $60,00 \text{ mg L}^{-1}$ em amostras contendo solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e extrato de solo. As barras de desvio são referentes a determinações em triplicata pelo método da 4-AAP.

A Figura 23 mostra que o método escolhido para as determinações de fenol em solução se mostrou apropriado em vista dos bons valores de recuperação e baixos desvios. Este teste foi interessante, pois foi um indicativo que o método da 4-AAP tem

certa especificidade para fenol sofrendo relativamente pouca interferência da MO e colóides dessorvidos do solo. Além disso, os baixos valores dos desvios descartam a possibilidade de flutuações muito alta das concentrações determinadas, sugerindo que outro processo ocorre em paralelo, causando a incoerência de pontos com as curvas observadas na Figura 22. Em relação às determinações conduzidas pelo método espectrofotométrico direto, os desvios observados foram próximos ou menores ao método da 4-AAP. Deste modo, passou-se a uma próxima etapa, na qual foi estudado o tempo de contato ideal para ocorrer o aparente equilíbrio entre o adsorbato e adsorvente para a continuidade dos estudos de sorção.

6.7. ENSAIOS DO TEMPO DE CONTATO

Visando investigar o tempo necessário para ocorrer o equilíbrio aparente entre o adsorbato e o adsorvente, foram realizados ensaios nos quais se monitorava a concentração dos três compostos em intervalos regulares de tempo. Os compostos foram estudados separadamente, sendo retiradas alíquotas das suspensões de solo, sendo as mesmas centrifugadas, filtradas e as concentrações remanescentes determinadas pelo método previamente estabelecido na região do UV. Os resultados obtidos para os três compostos estudados são mostrados na Figura 24.

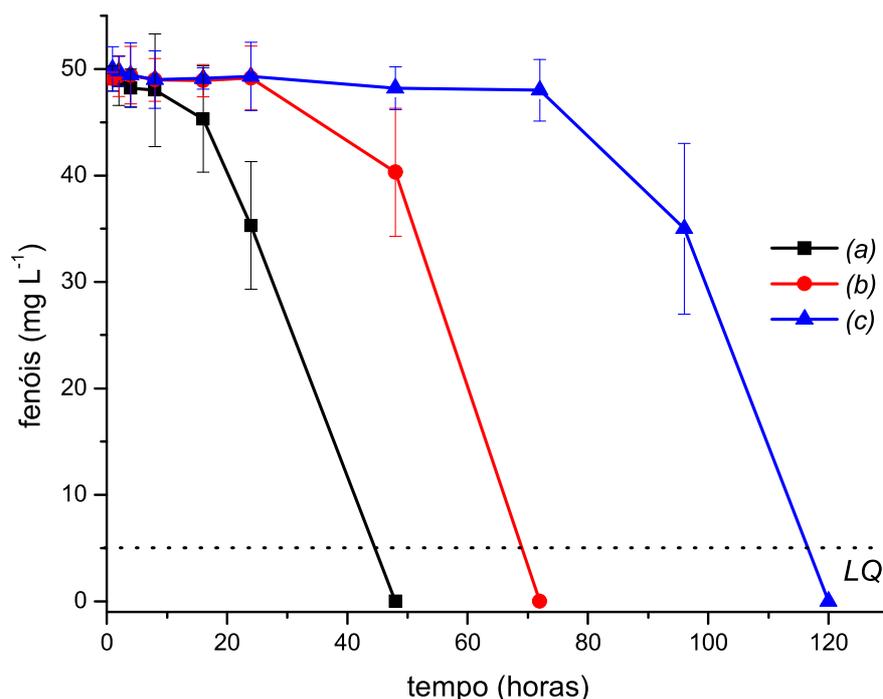


Figura 24 – Ensaio do tempo de contato para as três espécies fenólicas. (a) suspensão de fenol; (b) suspensão de *o*-cresol; (c) suspensão de *p*-cresol. Nos três casos, as concentrações de cada composto foi de 50 mg L⁻¹ em 5,0 g de solo, com volume final de 150,0 mL, na presença de solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, sob agitação constante de 170 oscilações min⁻¹ e T = 24 ± 3°C. Os pontos abaixo do LQ representam valores estimados.

Após 48 horas de tempo de contato, não foi mais possível detectar fenol, o que foi constatado para os demais compostos que mostraram comportamento semelhante, por outro lado, apresentaram maiores tempos de contato até não serem mais detectados empregando as curvas analíticas obtidas na região do UV (Figura 18). Foram realizados 11 ensaios semelhantes para fenol, sob mesmas condições experimentais, e todos mostraram os mesmos perfis de comportamento, sendo a hipótese de que um processo de adsorção ocorria com equilíbrio aparente a partir de 48 horas para fenol, estando abaixo da possibilidade de quantificar. Isso também pode ser verificado para *o*-cresol e *p*-cresol, para os tempos aproximados de 72 h e 120 h, respectivamente. Por outro lado esses dois últimos compostos mostraram patamares bem delineados até cerca de 24 h e 72 h, respectivamente, o que poderia ter levado a inferir que havia sido atingido o tempo de equilíbrio aparente. Nos três casos poderia se concluir que a adsorção estava sendo completa, em torno de 100% de remoção. Entretanto, deve-se salientar que os valores de constantes de partição octanol-água (log K_{OW}) para fenol, *o*-cresol e *p*-cresol são, respectivamente, 1,5; 2,0 e 1,9, enquanto as solubilidades (g L⁻¹) em água estão por volta de 67; 26 e 22, para a mesma ordem dos compostos anteriormente mencionada (IPCS, 1996), o que sugere que poderia haver uma maior tendência dos compostos permanecerem na fase aquosa. Portanto, não

seriam adsorvidos, em especial pela matéria orgânica do solo, o que gerou o levantamento de uma segunda hipótese. Poderia estar ocorrendo um processo paralelo frente à adsorção, ou seja, degradação química ou biológica, embora a amostra de solo tivesse sido seca e mantida em dessecador. Para avaliar essas possibilidades foram utilizados três ensaios para verificar a possível biodegradação dos compostos e um quarto ensaio para investigar se ocorre dessorção dos compostos que supostamente teriam sido recém incorporados à amostra de solo.

6.8. ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

Foram realizados esses experimentos com o objetivo de avaliar se os compostos fenólicos em contato com o solo, por um período de tempo semelhante aos que haviam sido estudados anteriormente, sofriam algum processo de biodegradação ou volatilização. A literatura (TREVORS, 1996) cita uma série de métodos que podem ser utilizados na inibição e ou esterilização do solo. Nesta etapa foram escolhidos três métodos, dois deles que são por via química com o uso de agentes inibidores como o HgCl_2 e NaN_3 e o último, se trata do processo no qual o solo é autoclavado. Cabe informar, que os pontos mostrados nas Figuras 25, 26 e 27, evidenciam o valor médio de três experimentos. Contudo, as barras de desvios não foram apresentadas por dificultarem uma melhor visualização gráfica, sendo que a variação observada não foi muito significativa, sendo na maioria dos casos inferior a 10%.

Os resultados obtidos para o composto fenol a partir de ensaios em triplicata com concentração $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ em contato com solo por durante 10 dias frente à outra amostra nas mesmas condições, porém na presença de HgCl_2 e NaN_3 são mostrados na Figura 25.

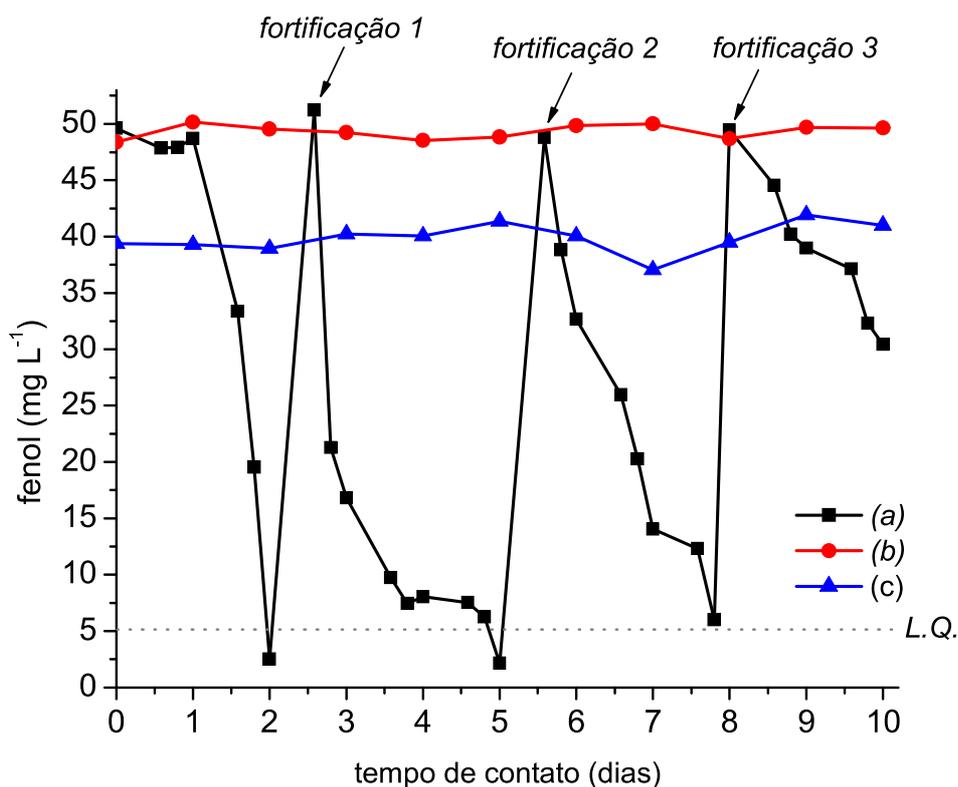


Figura 25 – Ensaio de inibição da biodegradação de fenol. (a) fenol e solo; (b) fenol, solo e solução de HgCl_2 $100,0 \text{ mg L}^{-1}$; (c) fenol, solo e solução de NaN_3 1% (m/v). Condições: Concentração de fenol inicial = $50,00 \text{ mg L}^{-1}$, bem como as três fortificações efetuadas; meio iônico de CaCl_2 em concentração $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; massa de solo = $5,0000 \text{ g}$; volume final = $150,0 \text{ mL}$; agitação constante de $170 \text{ oscilações min}^{-1}$, $T = 24 \pm 3^\circ\text{C}$. Cada ponto representado no gráfico corresponde a média de três experimentos.

É possível notar que inicialmente a suspensão contendo HgCl_2 , ao longo de 10 dias de monitoramento, não mostrou redução na concentração de partida de fenol mostrando que os efeitos de adsorção e volatilização são pouco pronunciados nestas amostras. Concomitantemente, as suspensões contendo fenol em NaN_3 mostraram perfil semelhante ao HgCl_2 , no entanto observou-se queda na concentração de fenol em relação ao adicionado inicialmente. Isto sugere a possibilidade de adsorção de fenol pelo solo em torno de 20%, quando utilizada azida sódica como agente inibidor. Poderia estar havendo uma influência da azida no sentido de facilitar um processo de adsorção de fenol no solo. Infere-se também que este efeito de adsorção não é significativo na presença de HgCl_2 , que poderia de alguma maneira bloquear os sítios de adsorção do solo impedindo o fenol de interagir. Por outro lado, na suspensão na qual não foi adicionado inibidor, observa-se que o fenol não é mais detectado em solução após 48 horas de contato nas condições experimentais estudadas. Ainda foi testada a capacidade do solo em degradar uma nova quantidade de fenol na solução (fortificação 1). Novamente, notou-se que o composto não foi detectado na suspensão após 72 horas.

Uma segunda fortificação de fenol foi efetuada (fortificação 2) sendo observado mesmo tempo para ocorrer a degradação e na última injeção (fortificação 3) em 48 horas tinha-se praticamente 50 % de degradação constatada. A degradação do fenol após as novas injeções foi considerada um forte indicativo da ocorrência de degradação do composto frente ao processo de adsorção. Os ensaios realizados para os compostos *o*-cresol e *p*-cresol em condições semelhantes são mostrados nas Figuras 26 e 27.

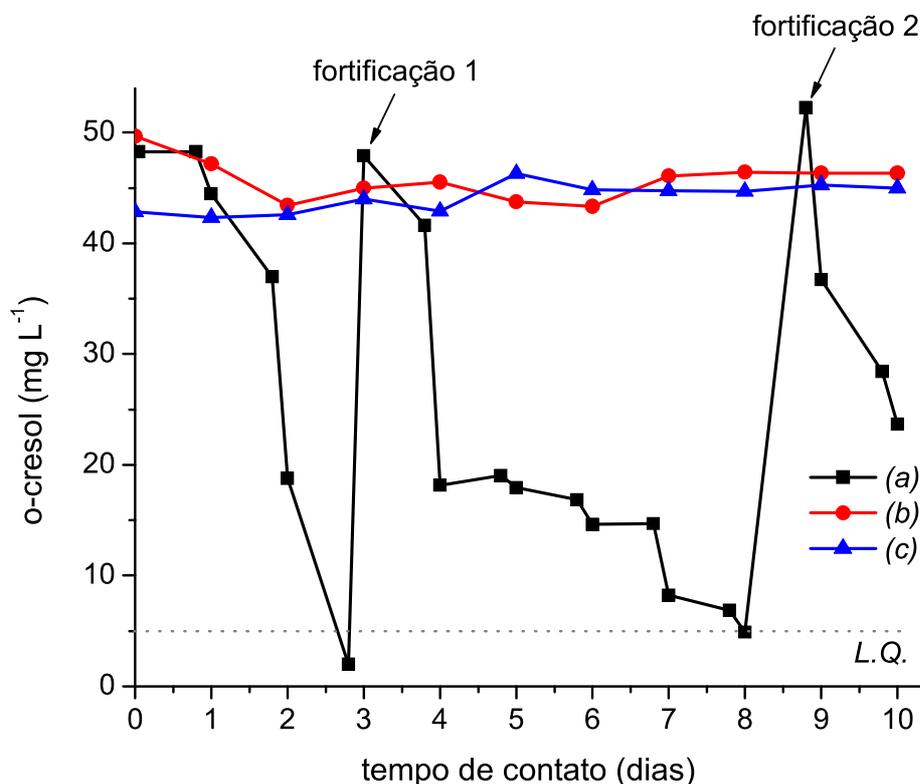


Figura 26 – Ensaio de inibição da biodegradação de *o*-cresol. (a) *o*-cresol e solo; (b) *o*-cresol, solo e solução de HgCl₂ 100,0 mg L⁻¹; (c) *o*-cresol, solo e solução de NaN₃ 1% (m/v). Condições: Concentração de *o*-cresol inicial = 50,00 mg L⁻¹, bem como as três fortificações efetuadas; meio iônico de CaCl₂ em concentração 0,01 mol L⁻¹; massa de solo = 5,0000 g; volume final = 150,0 mL; agitação constante de 170 oscilações min⁻¹, T = 24 ± 3°C. Cada ponto representado no gráfico corresponde a média de três experimentos.

Conforme Figura 26, a suspensão contendo inibidor HgCl₂ também não apresentou variação significativa na concentração inicial, no entanto foi observada diferença em relação ao fenol, sendo que houve ligeira diminuição de concentração do *o*-cresol estabilizando em torno de 43,0 mg L⁻¹. Em relação ao ensaio com NaN₃ percebe-se que a adsorção ocorre de maneira rápida e tende estabilizar em média de 42,0 mg L⁻¹ que se aproxima do valor da concentração medida nas suspensões contendo mercúrio. Já para as condições avaliadas a suspensão sem inibidor e com *o*-cresol a partir de três dias mostra uma possível degradação do mesmo. Quando feita uma nova injeção (fortificação 1) em concentração próxima a inicial observa-se degradação ou que o

composto não é mais detectado em 5 dias. A partir da segunda fortificação (fortificação 2) os resultados indicaram degradação de 50% da quantidade inicial adicionada. Diferentemente do ensaio anterior com fenol o *o*-cresol parece interagir mais fracamente com o solo isso favorece um tempo de residência no solo menor e conseqüentemente há menor disponibilidade para ocorrer degradação tornando-a mais lenta, o que é evidenciado pelo maior tempo de degradação observado.

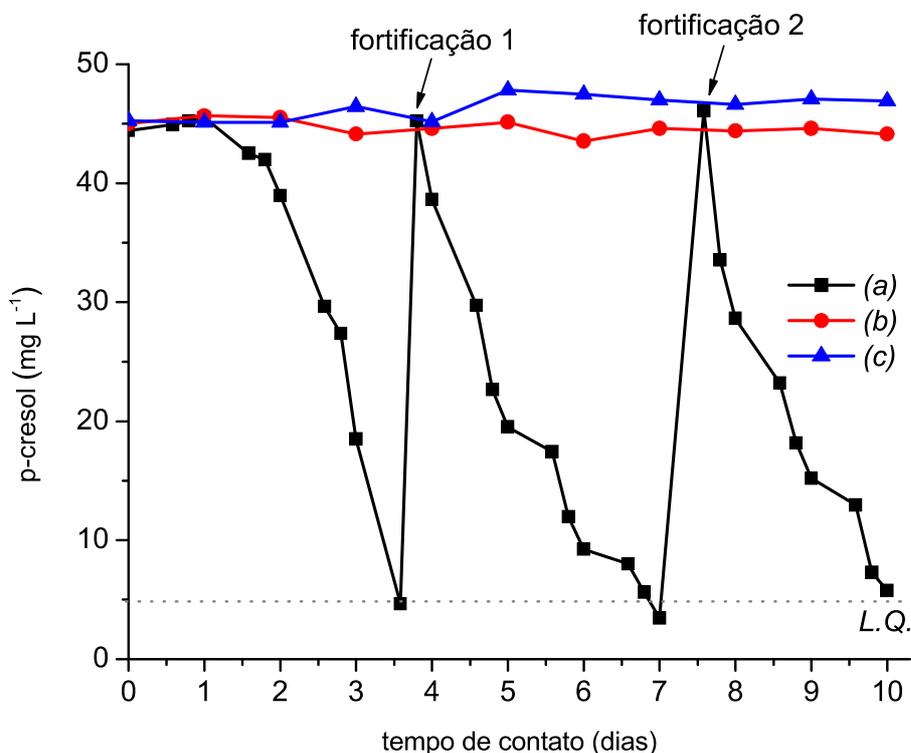


Figura 27 – Ensaio de inibição da biodegradação de *p*-cresol. (a) *p*-cresol e solo; (b) *p*-cresol, solo e solução de HgCl_2 100,0 mg L^{-1} ; (c) *p*-cresol, solo e solução de NaN_3 1% (m/v). Condições: Concentração de *p*-cresol inicial = 50,00 mg L^{-1} , bem como as três fortificações efetuadas; meio iônico de CaCl_2 em concentração 0,01 mol L^{-1} ; massa de solo = 5,0000 g; volume final = 150,0 mL; agitação constante de 170 oscilações min^{-1} , $T = 24 \pm 3^\circ\text{C}$. Cada ponto representado no gráfico corresponde a média de três experimentos.

No teste referente ao *p*-cresol parece haver um maior tempo para ocorrer o processo de degradação, ao redor de quatro dias de tempo de contato. Para a primeira adição de *p*-cresol foi observado tempo de degradação de três dias, ao passo que para a segunda adição, quatro dias foram requeridos para total degradação. As suspensões contendo os inibidores HgCl_2 e NaN_3 também mostraram diminuição na concentração de partida a qual se manteve constante ao longo de 10 dias. Tendo em vista que depois de um dia, a concentração variou muito pouco devido a perdas por volatilização, neste caso tem-se um indicativo de um processo de adsorção de *p*-cresol na amostra estudada quando o efeito da degradação microbiana é inibido. Ainda em comparação aos demais

compostos o *p*-cresol parece ter a menor interação com o solo, sendo sua degradação não favorecida cineticamente.

É importante salientar, que embora não mostrados, os espectros obtidos na região do ultravioleta não apresentaram sinais de absorção, o que sugere não haver a presença de compostos intermediários com características de absorção nessa região. Seria adequada a utilização de uma técnica de separação, com valores de LQ compatíveis visando uma investigação mais minuciosa das espécies citadas.

A degradação de fenol e *m*-cresol foi estudada por Saravanan *et al.* (2008) utilizando culturas bacterianas enriquecidas e aclimatadas por um mês (*Pseudomonas* sp.). Os autores observaram degradação completa em tratamentos de 20 a 40 horas, em condições otimizadas (pH, temperatura e nutrientes). Já Viggiani e colaboradores em 2006 estudaram a degradação de fenol também por culturas de *pseudomonas* e sugeriram a geração de intermediários de indicam a formação de catecol, seguida de abertura de anel e formação de ácido 2-hidroximuconico e semialdeído. Estudo semelhante sobre os intermediários de degradação de fenol foi recentemente publicado (NAIR *et al.* 2008) mostrando a proposta de uma rota de dedradação de fenol indicando coerencia com os resultados obtidos por VIGGIANI *et al.* (2006).

6.9. ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO COM SOLO AUTOCLAVADO

Os ensaios utilizando inibição ou esterilização de solo por via química são interessantes devido à praticidade e eficiência no que se propõe. No entanto a interação desses com o solo podem interferir no estudo de sorção, já que os inibidores podem se ligar aos sítios ativos de adsorção ou reagir com a espécie em estudo (SITE, 2001). Com base nisso, foi realizado um ensaio com solo submetido a processo de autoclave que é o método de esterilização que promove as menores modificações na amostra. Neste processo foram mantidas as mesmas condições dos experimentos realizados nos itens anteriores, sendo realizados testes em duplicata, com os resultados obtidos mostrados na Figura 28.

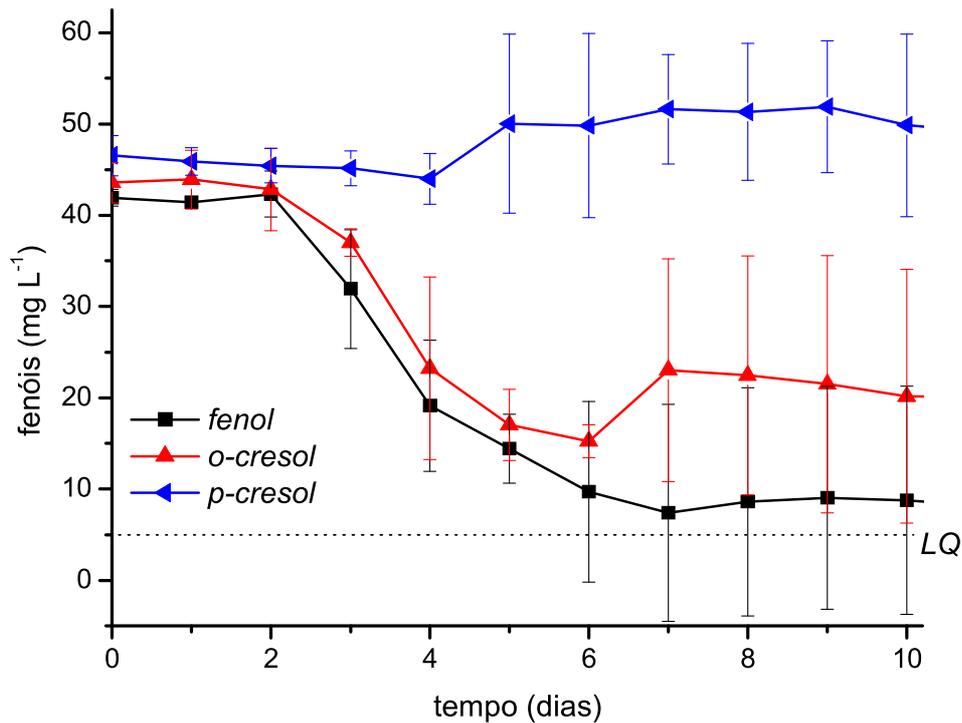


Figura 28 – Ensaio de inibição da atividade microbiana no solo submetido a processo de autoclave por 3 vezes durante 30 min na presença das três espécies fenólicas. Massa de solo utilizada de 5,0000 g em 150,0 mL de CaCl_2 0,01 mol L⁻¹ com fenóis estudados individualmente em concentração de 50,00 mg L⁻¹, agitação constante de 170 oscilações min⁻¹ e $T = 24 \pm 3^\circ\text{C}$ ao longo de um período de 10 dias. Cada ponto no gráfico representa a média de dois experimentos.

Os compostos, fenol e o-cresol, apresentaram degradação ao longo do dez dias de monitoramento, mostrando ainda que no sétimo dia a degradação estabilizou em torno de 8,0 mg L⁻¹ para o fenol e 23,0 mg L⁻¹ para o o-cresol. A suspensão contendo p-cresol mostrou decaimento da concentração até o quarto dia que na seqüência do experimento, no quinto dia, mostrou aumento da concentração. O comportamento tão distinto dos compostos é explicado tendo em vista a natureza com que foram realizadas as determinações diárias. Essas eram feitas duas vezes ao dia, retirando-se alíquotas de 4,00 mL de cada frasco, centrifugando e analisando o sobrenadante na região do UV. Acontece que o processo de autoclave esteriliza o solo, porém enquanto este não seja inoculado ou contaminado novamente com microrganismos. Como várias alíquotas foram retiradas das amostras, a possibilidade de contaminação biológica é grande apesar de todos os cuidados inerentes a isso serem seguidos quando se inseria as ponteiros de pipeta, limpeza e fechamento dos frascos. Isso é reforçado pelos desvios apresentados na Figura 28, principalmente após metade do início dos experimentos, sugerindo haver a referida contaminação. Seria interessante o uso de câmara de exaustão e atmosfera inerte para resultados livre de contaminação biológica seguindo com extremo cuidado no preparo das soluções utilizadas. Por outro lado, a questão relativa a heterogeneidade do

material estudado, neste caso o solo e o método de autoclave podem influenciar na determinação dos compostos, pois a autoclave pode modificar as características físico-químicas do solo. De acordo com Shaw e colaboradores (1999) o processo de autoclave pode favorecer a liberação de matéria orgânica solúvel, proveniente de material húmico ou biomassa morta. Os autores ainda relatam que o pH de solos argilosos pode modificar em função da liberação de maior quantidade de ácidos orgânicos fracos, porém essa alteração deve variar conforme a capacidade tamponante de cada solo (SHAW et al., 1999).

6.10. ENSAIOS DE DESSORÇÃO DE FENOL

Na Figura 29 é mostrado o ensaio em triplicata de dessorção de fenol, *o*-cresol e *p*-cresol originário de um experimento contendo 1,0000 g de solo na presença de 50,0 mg L⁻¹ dos compostos fenólicos, separadamente, os quais foram mantidos 96 horas sob agitação. Cabe ressaltar que os esses estudos foram conduzidos visando investigar a possibilidade de sorção e dessorção dos compostos fenólicos frente a outros processos, por exemplo, degradação biológica.

Após o tempo de contato foi realizada leitura da absorbância em 270 nm e 277 nm dos sobrenadantes. Verificou-se que os compostos não eram mais detectados no limite de quantificação da curva analítica. Isso levou a pressupor que os compostos estariam adsorvidos no solo e deveriam ser dessorvidos.

A fase sólida foi submetida a uma extração com NaOH 0,10 mol L⁻¹, que proporciona recuperação quantitativa de compostos fenólicos em amostras de solo (CRESPIN *et al.*, 1999). O efeito do NaOH em solução tende a deixar os compostos desprotonados na forma de íons fenolatos, que são hidrofílicos. Para fenol e *o*-cresol empregou-se o método da 4-AAP, ao passo que para o *p*-cresol utilizou-se a determinação em λ de 277nm.

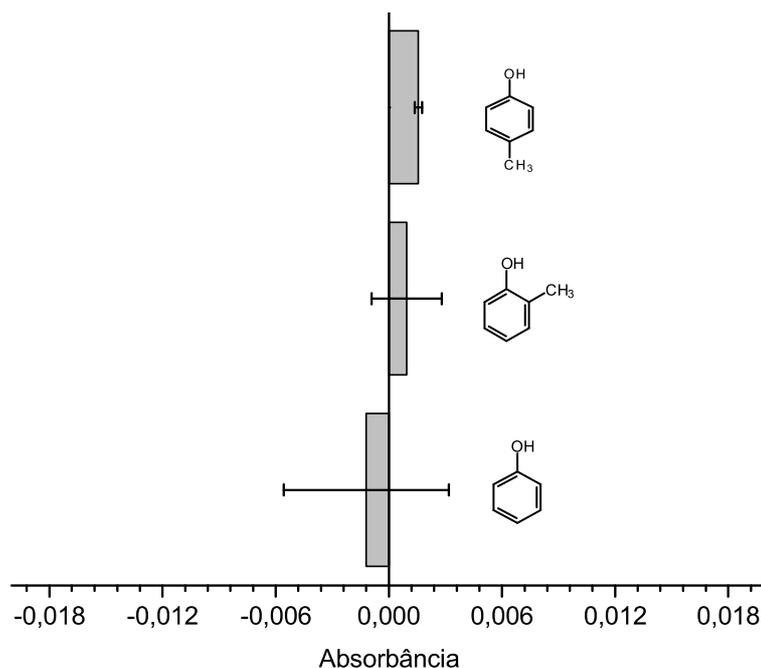


Figura 29 – Ensaio de dessorção de fenol; *o*-cresol; e *p*-cresol. Condições: 1,0000 g \pm 0,0001 g de solo em 30,00 mL de solução na presença de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. Agitação constante de 170 oscilações min⁻¹ durante 1 h, na presença de NaOH 0,10 mol L⁻¹. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Na Figura 29 observa-se que para os três compostos as absorbâncias registradas em triplicata mostram valores médios de -0,002 a 0,003, ou seja todos abaixo do limites de quantificação das curvas analíticas, reforçando que os compostos não estão mais presentes em solução e adsorvidos no solo. Alguns valores de desvio se mostraram altos, porém em decorrência das medidas que praticamente podem ser consideradas ruído instrumental da técnica.

Cogitou-se que na extração com solução de NaOH além dos fenóis seriam também extraídas substâncias húmicas do solo, pois em procedimentos de extração de substâncias húmicas de sedimentos também é empregada solução de hidróxido de sódio (IHSS, 2008). Durante a condução dos experimentos, foi observado nos extratos de solo, obtidos usando solução de NaOH, aspecto turvo com cor castanha-amarelada, indicativo de matéria orgânica (SPOSITO, 1989), sendo necessário procedimento para precipitação dos ácidos húmicos em solução. Cabe explicar que a etapa de precipitação foi necessária, em vista da forte absorção na região do UV-VIS da M.O. que poderia sobrepor a banda de absorção dos fenóis e causar interferência na determinação dos compostos pelo método da 4-AAP e espectrofotométrico direto. Acontece que as moléculas de ácidos húmicos (AH) que compõem parte da M.O. são macromoléculas com área superficial considerável, estas poderiam interagir com os fenóis e arrastá-los durante a etapa de precipitação. Para verificar essa influência foi realizado ensaio no qual

foi adicionado fenol a extratos de solo que continham as soluções dos fenóis que foram degradados anteriormente. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 30.

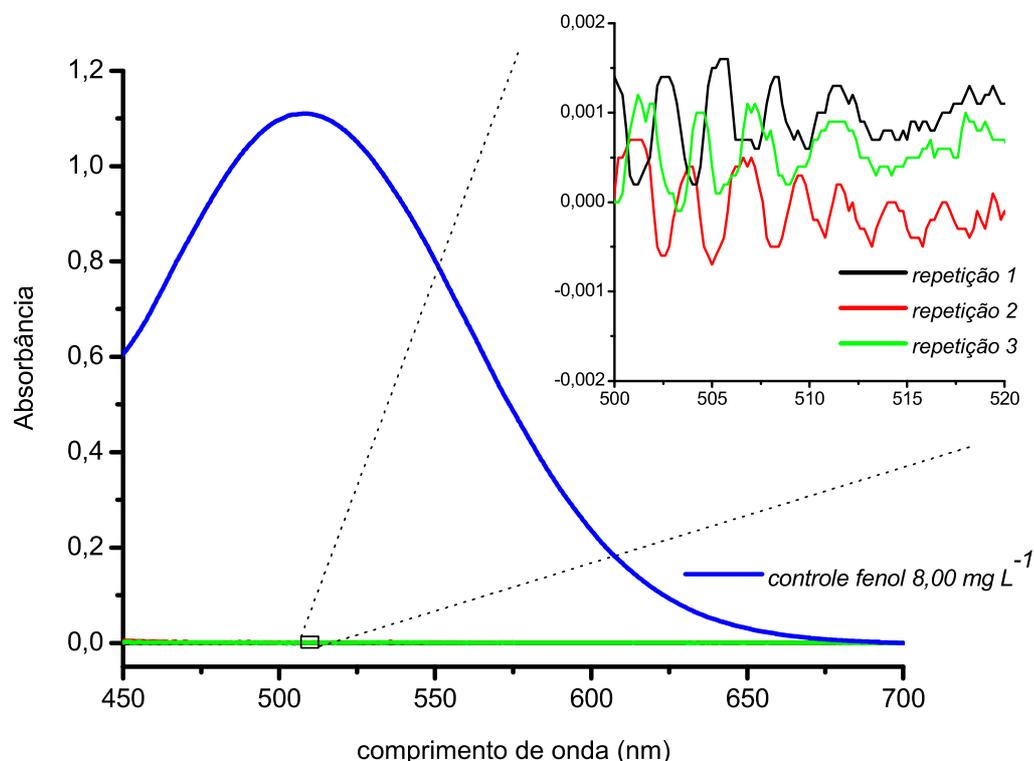


Figura 30 – Ensaio de dessorção de fenol no solo utilizando solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ e posterior determinação com 4-AAP em 510 nm. Condições: 1,0000 g ± 0,0001 g de solo em 30,00 mL de solução na presença de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. Agitação durante 1 h na presença de solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Na Figura 30 nota-se que na solução na qual foi adicionado 8,00 mg L⁻¹ de fenol, mostrou absorbância em 510 nm característica da reação com 4-AAP, enquanto os demais ensaios mostraram não haver a presença de absorção característica nessa região. Dessa forma, constatou-se que não havia o arraste de fenóis, mensurável pelo método, por parte da matéria húmica, indicando que há pouca influência nos resultados de recuperação dos fenóis nos extratos de solo testados e nas condições do estudo. Embora não mostradas as figuras para *o*-cresol e *p*-cresol, cabe informar que os experimentos mostraram resultados semelhantes ao estudo com fenol. Contudo, o ensaio para o *p*-cresol utilizou a medida na região do UV em comprimento de onda 277 nm. Por outro lado, moléculas de ácidos fúlvicos que permanecem em solução, mesmo após a etapa de precipitação, geralmente apresentam mais estruturas fenólicas proporcionalmente aos AH, isto poderia favorecer a interação dos fenóis por ligações de hidrogênio (Huang *et al.*, 2003), sugerindo incremento de erros na determinação pelo

método da 4-AAP. Para isso foi conduzido estudo em extratos de solo visando investigar a influência de AF comparativamente a AH utilizando o método da 4-AAP. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Recuperações médias para teste de avaliação da influência de AH e AF na determinação de fenol pelo método da 4-AAP nos extratos de solo

Fenol adicionado (mg L ⁻¹)	AH	AF
	Rec.* (mg L ⁻¹)	Rec.* (mg L ⁻¹)
1,00	0,87 ± 0,01	0,77 ± 0,01
3,00	2,65 ± 0,01	2,36 ± 0,04
6,00	4,16 ± 0,01	3,76 ± 0,01

*Recuperações médias e desvio padrão referente a ensaios em triplicata.

Primeiramente os resultados de prova em branco para ambos os procedimentos não indicaram a presença de espécies fenólicas com absorção acima do LQ da técnica. Em relação ao teste que considera o efeito de arraste do fenol pela molécula de AH, observou-se recuperações (%) médias variando de 70 ± 1 a 86 ± 1 . No que se refere aos resultados considerando influência do AF, os valores de recuperações (%) médias determinados foi de 62 ± 1 a 76 ± 2 , sugerindo um efeito maior na determinação pelo método da 4-AAP. Esse resultado parece indicar que há interação favorável do fenol com AF, que apresentam mais estruturas fenólicas em sua molécula em relação ao ácido húmico o que poderia propiciar maior afinidade entre fenol-AF. Por outro lado vale ressaltar que outras variáveis já citadas anteriormente (heterogeneidade do material, colóides e erros indeterminados) podem contribuir para as discrepâncias nos valores de recuperação.

6.11. ADAPTAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS EM EXTRATO DE SOLOS POR FIA

Durante a execução dos experimentos para a quantificação de espécies fenólicas, foi utilizado procedimento oficial para a determinação de fenóis totais em águas (APHA/VIS), o qual foi adaptado para quantificação em extrato de solo. Tal método é trabalhoso e demorado. Por exemplo, o tempo para realização de 35 determinações fica em torno de 3 a 4 horas, portanto, apresenta baixa frequência analítica. Além disso, há grande consumo de reagentes que são caros, geração de grandes volumes de rejeitos, o que não é interessante do ponto de vista ambiental, além de analiticamente estar sujeito a erros devido a muitas operações analíticas. Assim, foi proposta a implementação deste

método, porém adaptado a FIA, visando determinação dos compostos fenólicos totais em extratos de solo.

A literatura relata em diversos trabalhos vários arranjos do sistema em fluxo para a determinação de fenóis totais pelo método da 4-AAP (FRENZEL e KREKLER, 1995; LUPETTI *et al.*, 2004; GUILARDUCI *et al.* 2006) O que se observa na maioria dos trabalhos, são pequenas diferenças resultantes das otimizações feitas de acordo com a demanda de cada pesquisa. Segundo Karlberg (1989), em especial para o sistema por FIA, a melhor maneira de se obter a máxima resposta do detector é otimizando-o de acordo com a amostra, tipo de determinação e os equipamentos disponíveis.

Este estudo foi realizado em duas etapas, sendo que a primeira consistiu de vários ensaios preliminares de modo univariado com o intuito de aperfeiçoar e observar quais parâmetros, quanto à configuração do sistema em fluxo, teriam maior impacto no incremento da absorvância dos fenóis após a reação com 4-AAP. Assim na Tabela 12 são listados os fatores que foram estudados nessa etapa.

Tabela 12 – Parâmetros testados para otimização do sistema em fluxo

Parâmetro Testado	Variação	A _{510 nm}
Vazão da solução transportadora (mL min ⁻¹)	1,20	0,089
	1,80	0,091
	2,20	0,091
Volume interno da bobina de reação (µL)	direto	0,065
	150	0,124
	300	0,127
	600	0,089
Alça de amostragem (µL)	1200	0,092
	200	0,036
	300	0,072
Solução K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,2 % m/v (pH)	400	0,093
	6,0	0,060
	9,0	0,079
Tubulação/d.i. (mm)	11,0	0,090
	0,3	0,080
	0,5	0,078
	0,8	0,082

Os resultados obtidos a partir da Tabela 12 mostram que três parâmetros são significativos no incremento de absorvância, que são: o volume interno da alça de amostragem, tamanho da bobina de reação e pH da solução de K₃[Fe(CN)₆]. Esses fatores foram escolhidos e estudados por meio de planejamento fatorial 2³. Quanto aos demais fatores, tiveram preferência aqueles que garantiam a máxima economia dos reagentes e minimização de rejeitos tiveram a preferência.

Dessa forma o planejamento fatorial foi estudado de modo que àqueles fatores com menores valores foi atribuído sinal negativo e os com maiores efeitos foi atribuído sinal positivo, como é mostrado na Tabela 13.

Tabela 13 - Níveis inferiores e superiores definidos para o planejamento fatorial 2^3

Fatores	Efeitos	
	Nível (-)	Nível (+)
pH da solução de $K_3[Fe(CN)_6]$	6,2	11,0
Volume interno da alça de amostragem (μL)	200	400
Volume interno da bobina de reação (μL)	150	300

Os resultados (absorbâncias em 510 nm) do planejamento descritos no subitem 4.12. (materiais e métodos) são mostrados na Figura 31, onde as absorbâncias das soluções após reação com a 4-AAP esboçam o planejamento fatorial representado em um sistema cartesiano com um eixo para cada fator estudado. Os oito ensaios realizados para todas as possíveis combinações entre os fatores correspondem aos vértices do cubo.

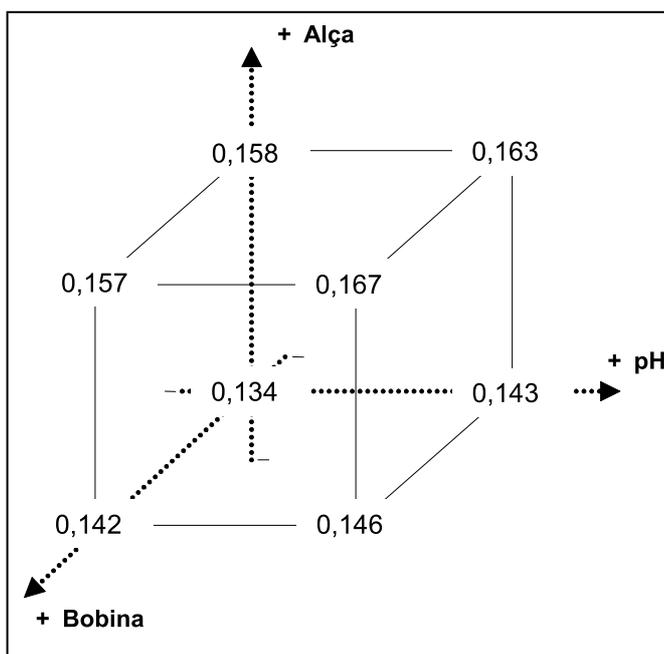


Figura 31 - Interpretação geométrica do planejamento fatorial aplicado aos resultados obtidos para oito ensaios

Através do cálculo dos efeitos para aos níveis em que as variáveis foram estudadas observa-se que a mudança de pH de 6,2 para 11,0 exerce pouca influência na absorbância do produto da reação do fenol com a 4-AAP, pois o efeito (0,007) é próximo do desvio padrão (0,0024) dos experimentos realizados. A estimativa do desvio padrão

foi avaliada conforme Barros Neto *et al.*, 2001 que considera a médias das variâncias das amostras, ponderadas pelos respectivos graus de liberdade.

Por outro lado a mudança da alça de amostragem de 200 para 400 μL teve um efeito significativo (0,02), obteve-se, em média, um incremento de absorbância de 0,02, quando se usou a alça de amostragem com maior volume interno.

Quando foi testadas bobinas de reação (de 150 para 300 μL) a absorbância aumentou, em média, 0,0035 que não foi significativo. Efeitos de interação entre os fatores também não se mostraram significativos.

Alças com maiores volumes foram testadas, no entanto notou-se alargamento dos picos. Cabe ressaltar que os valores da otimização ficaram concordantes com as configurações encontradas na literatura (FRENZEL, 1992). A configuração final do sistema depois de otimizado, que foi utilizada em todas as análises por FIA é mostrada na Figura 11 (materiais e métodos).

6.12. CURVAS ANALÍTICAS

De posse das condições adequadas para a melhor resposta na quantificação dos fenóis por FIA, passou-se a etapa de construção das curvas analíticas de cada espécie fenólica. Nas Figuras 32 e 33 são apresentados os fiagramas obtidos, respectivamente, para o fenol e *o*-cresol. Vale destacar que os sinais observados em λ de 510 nm são referentes aos compostos formados após a reação com 4-AAP na faixa de concentração de 0,50 a 16,00 mg L^{-1} .

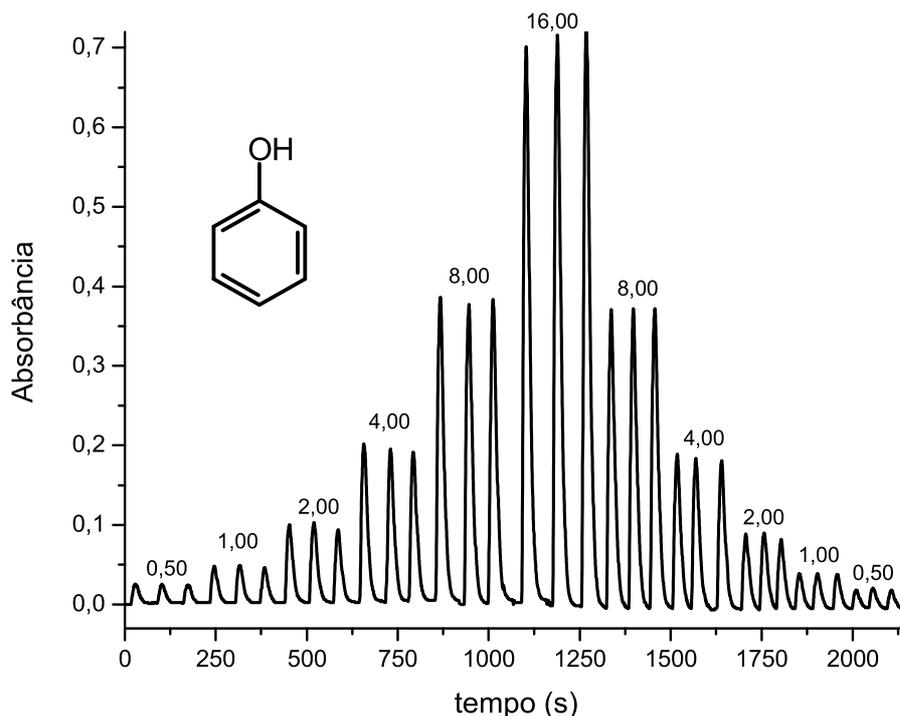


Figura 32 – Fiograma obtido a partir da leitura da absorbância no λ de fixo de 510 nm dos padrões de fenol em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em concentração 0,50, 1,00, 2,00, 4,00, 8,00 e 16,00 mg L^{-1} após reação com 4-AAP. Condições: Gráfico obtido a partir de injeções em triplicata, onde cada pico representa a injeção de um padrão de calibração preparado separadamente.

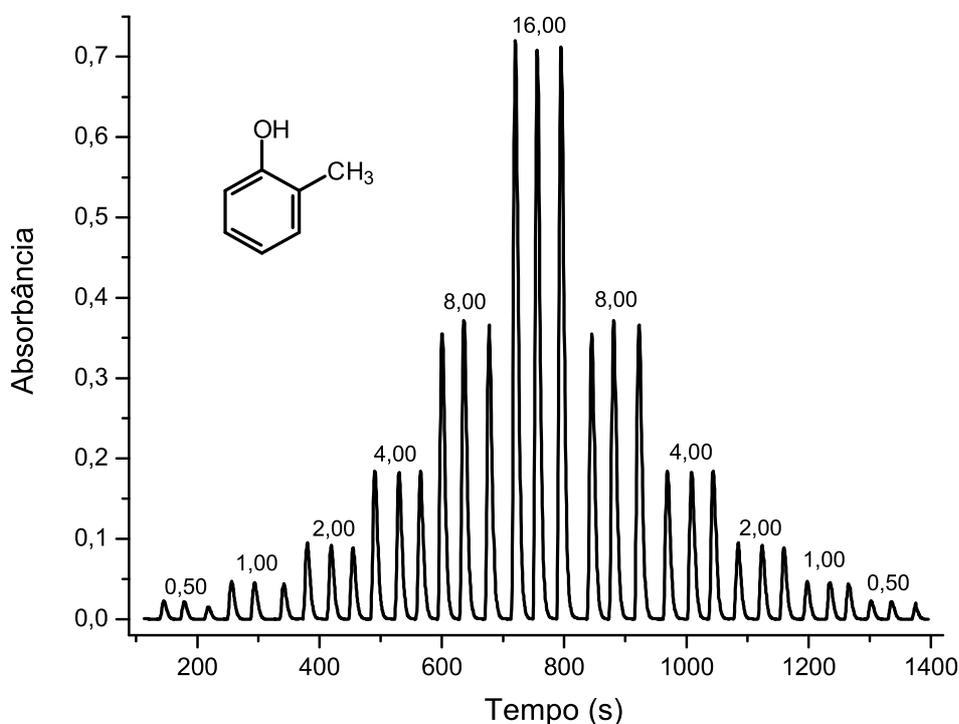


Figura 33 – Fiograma obtido a partir da leitura da absorbância em λ de 510 nm dos padrões de *o*-cresol em meio de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ em concentração 0,50, 1,00, 2,00, 4,00, 8,00 e 16,00 mg L^{-1} após reação com 4-AAP. Condições: Gráfico obtido a partir de uma triplicata, onde cada pico representa a injeção de um padrão distinto.

Na Figuras 32 e 33 são mostrados os picos referentes às respostas dos padrões de calibração de injeções feitas em triplicata. Inicialmente foram obtidos os picos dos padrões na seqüência crescente de concentrações. Após a injeção do último ponto de concentração de 16,00 mg L⁻¹, ao redor de 1320 s para o fenol e 820 s para o *o*-cresol, os padrões foram novamente medidos, porém na seqüência decrescente de concentração iniciando com a amostra de concentração 8,00 mg L⁻¹. Este procedimento foi realizado com o intuito de mostrar que não ocorre contaminação entre injeções subsequentes de cada padrão e também não há anomalias na linha de base.

De posse dos dados obtidos nos diagramas, foram elaboradas as curvas analíticas para cada composto, ambas sendo mostradas na Figura 34.

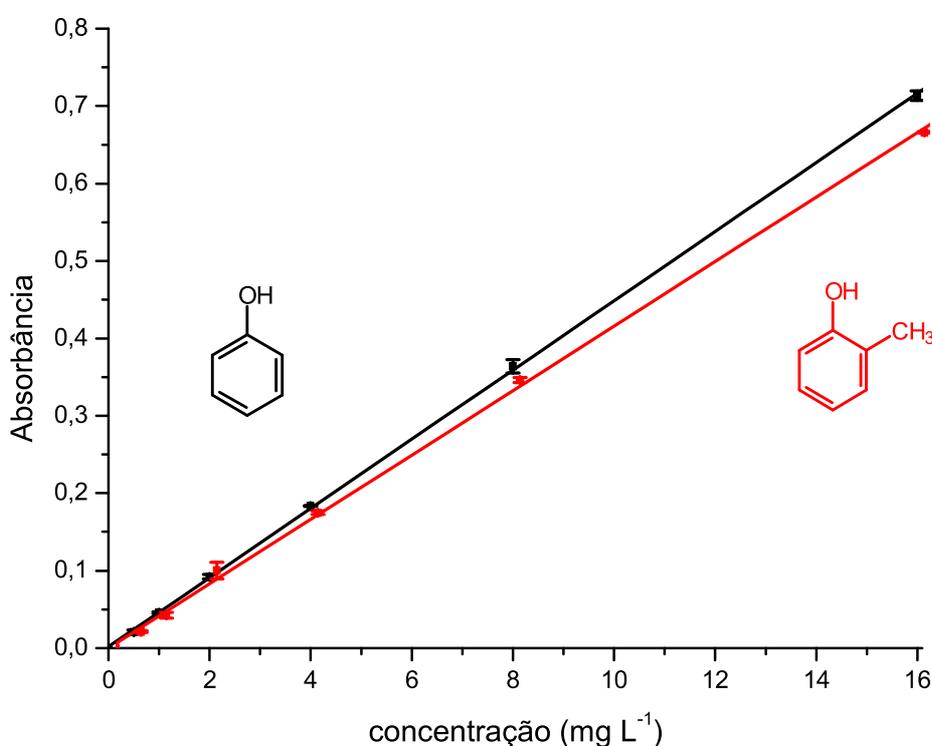


Figura 34 – Curvas analíticas com barras de desvio padrão obtida a partir dos dados de absorção no comprimento de onda 510 nm dos padrões de fenol e *o*-cresol após reação com 4-AAP. Concentrações variando de 0,50 a 16,00 mg L⁻¹.

De posse da curva analítica do fenol e observando que houve boa linearidade com baixos valores de desvio padrão, optou-se pela mesma faixa de concentração para o composto *o*-cresol variando igualmente de 0,50 a 16,00 mg L⁻¹.

As duas curvas mostradas na Figura 34 exibiram perfis lineares, mesmo com a extrapolação da concentração do fenol e *o*-cresol. No entanto, observa-se que o ponto com concentração 16,00 mg L⁻¹ se mostra tendencioso a um desvio da relação linear. Contudo, não chegou a influenciar significativamente na regressão linear.

A Figura 35 mostra o diagrama obtido a partir dos padrões de calibração de *p*-cresol na faixa de 5,00 a 50,0 mg L⁻¹, cuja determinação foi efetuada na região do UV em λ de 277 nm e na Figura 36 é mostrada a curva analítica obtida para o mesmo.

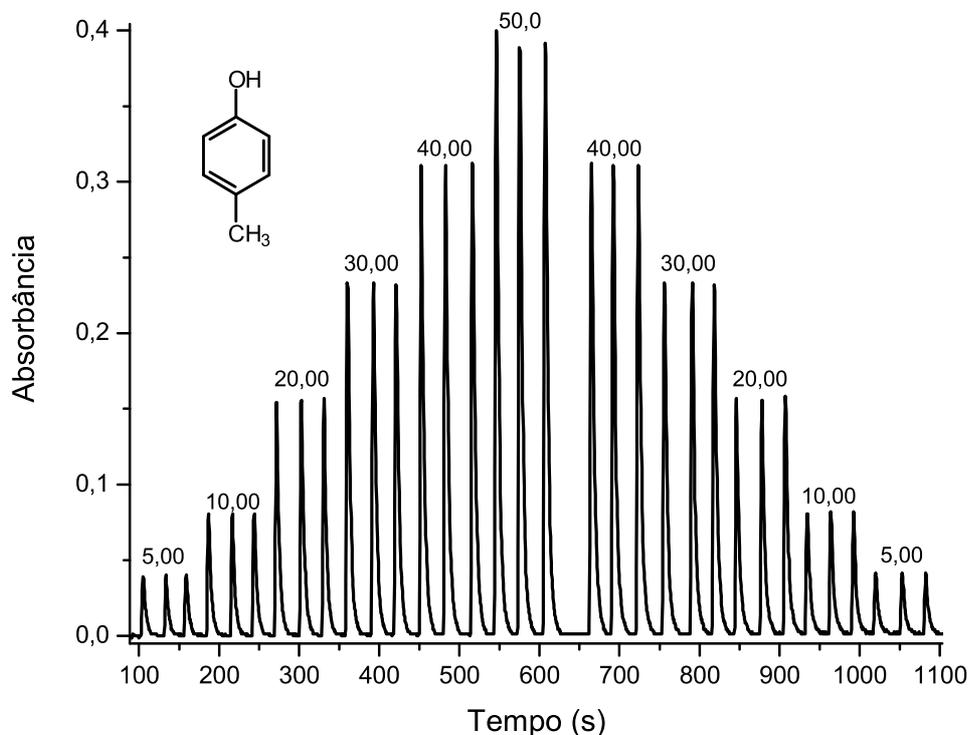


Figura 35 – Diagrama obtido a partir da leitura da absorbância no comprimento de onda 277 nm dos padrões de *p*-cresol em meio de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ em concentração 5,00 10,00, 20,00, 30,00, 40,00 e 50,0 mg L⁻¹. Condições: Gráfico obtido a partir de triplicata, onde cada pico representa a injeção de um padrão distinto.

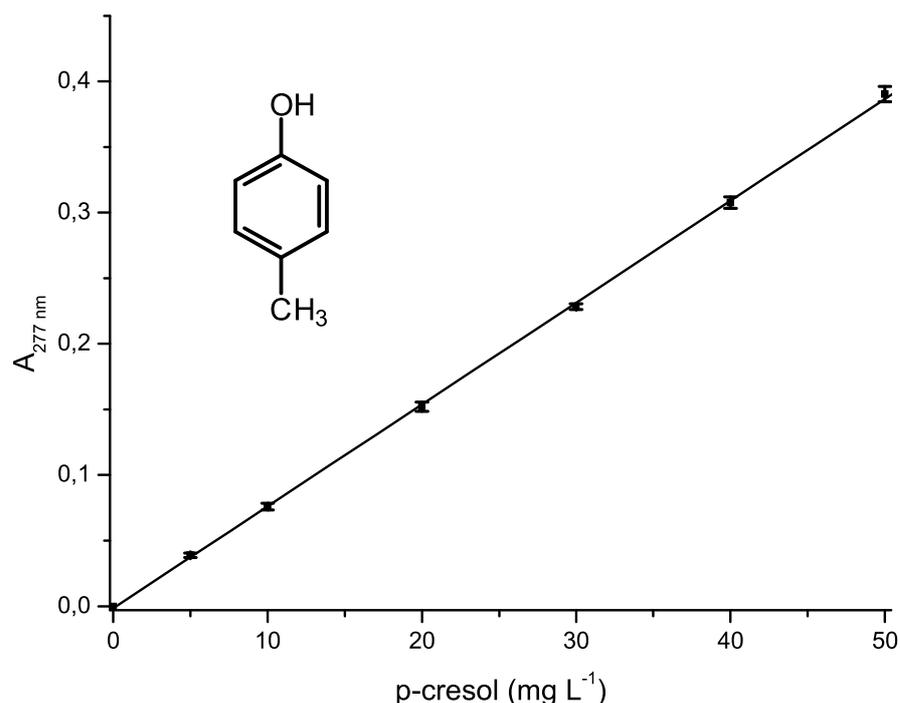


Figura 36 – Curva analítica com barras de desvio padrão obtida a partir dos dados de absorção no comprimento de onda 277 nm dos padrões de *p*-cresol. Concentrações variando de 5,00 a 50,0 mg L⁻¹.

De acordo com a curva acima, pode ser verificada boa correlação entre os pontos, bem como pequenos desvios de acordo com as barras mostradas. A Tabela 14 mostra uma comparação entre os valores obtidos anteriormente por espectrofotometria convencional e pelo método adaptado para trabalhar em fluxo, para os três compostos estudados.

Tabela 14 – Parâmetros de mérito obtidos para os compostos fenólicos

	Método	Faixa (mg L ⁻¹)	Intercepto	Inclinação	LQ (mg L ⁻¹)	r ²
fenol	FIA/VIS	0,50 - 16,00	0,009 (± 0,002)	0,041 (± 0,001)	0,30	0,999
	APHA/VIS	0,50 - 8,00	0,02 (± 0,01)	0,138 (± 0,001)	0,42	0,999
o-cresol	FIA/VIS	0,50 - 16,00	0,045 (± 0,001)	0,002 (± 0,002)	0,26	0,999
	APHA/VIS	0,50 - 8,00	-0,023 (± 0,001)	0,123 (± 0,001)	0,42	0,999
<i>p</i> -cresol	FIA/UV	5,00 - 50,0	- 0,005 (± 0,003)	0,015 (± 0,001)	0,40	0,999
	UV	5,00 - 50,0	0,008 (± 0,001)	-0,002 (± 0,001)	0,92	0,999

A técnica por espectrofotometria empregando FIA quando comparada em termos de LQ ao método da APHA apresenta valores um pouco inferiores, de acordo com os resultados mostrados na Tabela 10. Em ambos os casos foram obtidos bons coeficientes de correlação. Os dois métodos são direcionados para a determinação de compostos fenólicos em águas, porém, neste trabalho a matriz na qual se quer determinar fenóis contém uma série de compostos que podem ser desorvidos, como colóides, matéria orgânica e ácidos húmicos. Assim, foram necessários ensaios para avaliar o comportamento dos fenóis quando determinados pelas duas técnicas em termos de recuperação em extratos de solo.

6.13. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO EM EXTRATOS DE SOLO PURO (RESP)

A exatidão do método em batelada (APHA/VIS e UV) adaptada ao sistema em fluxo foi testada por ensaios de recuperação dos três compostos fenólicos estudados, individualmente em extratos de solo puro. Os valores de recuperação (%) obtidos para o fenol, *o*-cresol e *p*-cresol, para APHA e FIA, em três faixas de concentração e recuperações médias obtidas nos intervalos de concentração de 1,00 a 50,0 mg L⁻¹, são mostrados na Figura 37. Para o fenol e *o*-cresol utilizou-se o método da 4-AAP e para o *p*-cresol foi utilizada a determinação na região do UV em λ de 277 nm.

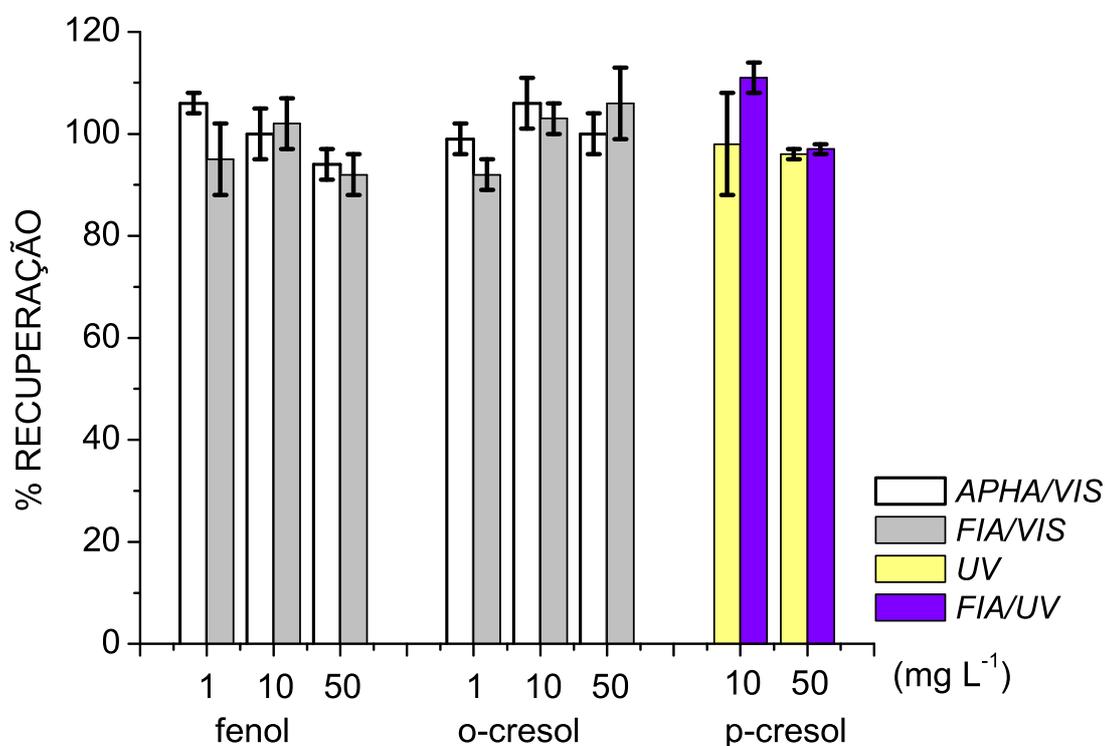


Figura 37 – Percentuais de recuperação dos compostos fenólicos em extratos de solo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

De acordo com a Figura 37, para o fenol as recuperações variaram de 95 - 106% empregando o método da APHA/VIS e de 93 – 102% para o método FIA/VIS. As amostras de *o*-cresol apresentaram percentagem média de recuperação de 98 a 105% empregando o método APHA/VIS e 92 a 106 % para o método FIA/VIS. O composto *p*-cresol apresentou recuperação utilizando o procedimento convencional em λ de 277 nm, na faixa de 96 – 98 % enquanto para o método em fluxo (FIA/UV) foram obtidos valores entre 97 e 110%. De modo geral, esses valores são bons, permitindo obter respostas apropriadas e aparentemente não foi demonstrada uma tendência de um método ser melhor que o outro. Todavia, deve-se ressaltar que o método adaptado para operar em fluxo é muito mais fácil de ser executado, além de mais rápido.

6.14. RECUPERAÇÕES EM EXTRATOS DE SOLO APÓS DEGRADAÇÃO (RESB)

Para avaliar o desempenho dos métodos APHA/VIS e UV frente a FIA/VIS e FIA/UV foram realizados ensaios com amostras de extrato de solo. Na Tabela 15 são apresentados os resultados obtidos após 96 horas de contato com solo e os compostos fenólicos separadamente.

Tabela 15 - Determinação de compostos fenólicos em extratos de solo por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)

Amostras	^a C _i (mg L ⁻¹)	APHA/VIS		FIA/VIS		
		^b A _{510 nm}	^c C (mg L ⁻¹)	A _{510 nm}	C (mg L ⁻¹)	
fenol	F1	50,0	0,004	^d ND	0,006	ND
	F2	50,0	0,011	ND	0,009	ND
	F3	50,0	0,000	ND	0,002	ND
<i>o</i> -cresol	O1	50,0	0,002	ND	0,002	ND
	O2	50,0	-0,003	ND	-0,001	ND
	O3	50,0	0,008	ND	0,012	ND
			^e UV	C (mg L ⁻¹)	^f FIA/UV	C (mg L ⁻¹)
<i>p</i> -cresol	P1	50,0	-0,001	ND	0,005	ND
	P2	50,0	-0,002	ND	0,004	ND
	P3	50,0	-0,002	ND	0,003	ND

^aC_i: concentração inicial dos compostos fenólicos em cada amostra; ^bA_{510 nm}: Absorbância medida após reação com 4-AAP em λ de 510 nm; ^cC: concentração; ^dND: referente a valores de concentração não detectados; ^eUV: determinado pelo método convencional diretamente em λ de 277 nm; ^fFIA/UV: determinado por injeção em fluxo na região de UV em λ de 277 nm.

Na Tabela 15 estão representados os três compostos estudados divididos em três amostras de mesma concentração inicial (50,0 mg L⁻¹). Após 96 horas os extratos

foram analisados usando o método clássico (APHA/VIS) e os resultados foram comparados com o procedimento proposto por FIA/VIS. Como o *p*-cresol não reage significativamente com a 4-AAP este foi determinado em λ de 277 nm (UV) e por FIA/UV.

As absorvâncias obtidas para fenol e *o*-cresol pelos dois métodos distintos comprovam que nas suspensões de solo, esses compostos não estão presentes em quantidades mensuráveis. Quanto ao *p*-cresol, nota-se também que não foi detectada a presença dessa espécie em concentração igual ou acima ao LQ da curva analítica. Quanto a outros parâmetros comparativos entre os dois procedimentos, foi medido o tempo para efetuar as leituras e volume de rejeitos gerados pelas técnicas que foi de 1 hora para APHA/VIS gerando 1,1 L de descarte, já por FIA/VIS menos de 10 minutos foram gastos para todas as medidas realizadas em injeções em triplicata gerando 30 mL de efluente. Os dados coletados mostram que o ganho de tempo e menor volume de rejeitos e coerências nas determinações por FIA são significativamente melhores em contraste com o método oficial e clássico por batelada.

Por outro lado, devido ao longo tempo de contato, a MO que é extraída em solução pode interagir com os fenóis, podendo ser um interferente nas determinações. Com base nisso foi feito um ensaio de recuperação nos mesmos extratos nos quais não foram detectados os compostos. Estes consistiam da fortificação das suspensões com fenol e *o*-cresol em concentração de 1,00 mg L⁻¹ e *p*-cresol a 5,36 mg L⁻¹, as quais foram determinadas pelas duas técnicas e comparadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Recuperação de compostos fenólicos em extratos de solo determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)

Amostras	Adicionado (mg L ⁻¹)	APHA/VIS		FIA/VIS		
		Encontrado (mg L ⁻¹)	^b Rec. (%)	Encontrado (mg L ⁻¹)	Rec. (%)	
fenol	F1	1,00	0,90	90	0,97	97
	F2	1,00	1,04	104	0,90	90
	F3	1,00	0,94	94	1,00	100
				96 ± 6	96 ± 4	
<i>o</i> -cresol	O1	1,00	1,00	100	1,01	101
	O2	1,00	1,00	100	0,94	94
	O3	1,00	1,04	104	0,99	99
				101 ± 2	97 ± 4	
<i>p</i> -cresol ^a	P1	5,36	5,42	101	5,24	98
	P2	5,36	5,57	104	5,12	95
	P3	5,36	5,71	106	5,55	103
				104 ± 2	99 ± 4	

^adeterminado pelo método clássico diretamente em λ de 277 nm; ^brecuperações em termos percentuais; valores destacados em cinza representam os valores médios de três determinações e desvio padrão

Na Tabela 16 observa-se, que após as suspensões serem fortificadas com fenol e *o*-cresol, as recuperações médias ficaram em torno de 104 a 99 % para os compostos fenol e *o*-cresol e 96% referente ao *p*-cresol que são considerados adequados. Já em comparação com a técnica por FIA foram obtidas também ótimas recuperações variando de 96 a 99% para os três compostos, mostrando que a MO e os colóides extraídos, inerentes ao experimento de tempo de contato com solo, parecem ter pouca influência na quantificação pelos métodos empregados.

Os fenóis sofrem processo de biodegradação, sendo observado um tempo de residência no solo de 96 horas para a degradação quase que na totalidade de soluções em concentração de 50,0 mg L⁻¹ dos fenóis em aproximadamente 1,0 g de solo. No entanto essa informação foi obtida através dos ensaios de inibição microbiana e experimentos que visaram à possível dessorção dos fenóis que estariam ligados aos sítios de adsorção no solo. Para isso foi utilizada como extrator solução de NaOH em concentração 0,10 mol L⁻¹ que é adequado a extração quantitativa de fenóis que são mais hidrofílicos na forma de fenolatos em solução do que em solo (CRESPIN *et al.*, 1999). Os resultados obtidos a partir da extração dos fenóis em solo que permaneceu em contato de 96 horas com cada composto são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Determinação de compostos fenólicos após dessorção com solução NaOH e determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)

Amostras	^a C _i (mg L ⁻¹)	APHA/VIS		FIA/VIS		
		^b A _{510 nm}	^c C (mg L ⁻¹)	A _{510 nm}	C (mg L ⁻¹)	
fenol	F1	50,0	0,010	^d ND	0,004	ND
	F2	50,0	0,013	ND	0,009	ND
	F3	50,0	0,018	ND	0,007	ND
<i>o</i> -cresol	O1	50,0	0,020	ND	0,014	ND
	O2	50,0	0,021	ND	0,012	ND
	O3	50,0	0,020	ND	0,009	ND
			^e UV	C (mg L ⁻¹)	^f FIA/UV	C (mg L ⁻¹)
<i>p</i> -cresol	P1	50,0	0,004	ND	0,006	ND
	P2	50,0	0,007	ND	0,013	ND
	P3	50,0	0,007	ND	0,004	ND

^aC_i: concentração inicial dos compostos fenólicos em cada amostra; ^bA_{510 nm}: Absorbância medida após reação com 4-AAP em λ de 510 nm; ^cC: concentração; ^dND: referente a valores de concentração não detectados; ^eUV: determinado pelo método convencional diretamente em λ de 277 nm; ^fFIA/UV: determinado por injeção em fluxo na região de UV em λ de 277 nm.

A Tabela 17 mostra sinais de absorbância relativamente maiores se comparados aqueles fornecidos pelos ensaios de recuperação anteriores (Tabela 15),

possivelmente estes valores de absorvância mais altos são decorrentes da extração com solução de NaOH que além dos fenóis que teoricamente foram recém incorporados ao solo também extraem ácidos húmicos que podem contribuir com o incremento da absorvância caso reaja com a 4-AAP. Acontece que estes compostos podem reagir com a 4-AAP gerando incremento de absorvância, que neste caso ficaram abaixo do LQ de ambas as técnicas.

Isso mostrou que os métodos apresentaram desempenho semelhante e confirmaram que não havia fenóis nos extratos de solo após dessorção com solução de NaOH. Além disso, foi constatado um volume de rejeitos ao redor de 1,3 litros de solução com tempo de análise de 2 horas para o método em batelada e por FIA foram gerados 60 mL de rejeitos com as análises realizadas em 12 minutos.

Nesta etapa surgiu a dúvida quanto à influência que os diversos tratamentos que as amostras sofreram viriam a afetar o desempenho dos métodos na quantificação dos compostos. Dessa forma, foram realizados ensaios de recuperação nos extratos de solo dessorvidos anteriormente. Os ensaios de recuperação nos extratos de solo após a dessorção com solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹, são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18 - Recuperação de compostos fenólicos em extratos de solo após dessorção com solução NaOH e determinados por métodos em batelada (APHA/VIS e UV) e injeção em fluxo (FIA/VIS e FIA/UV)

Amostras	Adicionado (mg L ⁻¹)	APHA/VIS		FIA/VIS		
		Encontrado (mg L ⁻¹)	^b Rec. (%)	Encontrado (mg L ⁻¹)	Rec. (%)	
fenol	F1	1,00	0,93	93	0,88	88
	F2	1,00	0,93	93	0,90	90
	F3	1,00	0,94	94	0,96	96
				93 ± 1	91 ± 3	
o-cresol	O1	1,00	0,90	90	0,91	91
	O2	1,00	0,92	92	0,86	86
	O3	1,00	0,91	91	0,95	95
				91 ± 1	91 ± 4	
p-cresol ^a	P1	5,37	5,79	108	7,4	138
	P2	5,37	6,00	112	6,4	119
	P3	5,37	7,00	130	6,7	125
				117 ± 10	127 ± 8	

^adeterminado pelo método clássico diretamente em λ de 277 nm; ^brecuperações em termos percentuais; valores destacados em cinza representam os valores médios de três determinações e desvio padrão.

De acordo com a Tabela 18 as recuperações médias obtidas para fenol e o-cresol se mantiveram na faixa de 91 a 94 % em relação ao método APHA/VIS, menores se comparados aos ensaios apenas com solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹. Esses resultados

podem ser um indicativo de que uma pequena parte dos fenóis tende a ser arrastado pelas moléculas de AH, culminando com recuperações pobres, que por outro lado exibem valores dentro de um limite aceitável. Já para o *p*-cresol foram observadas recuperações em uma faixa mais ampla. Isso pode ser em decorrência de em 277 nm observar-se que a solução do branco do solo tem absorção considerável e como esta é usada para ser subtraída do valor dos sinais das amostras, é possível que haja maior concentração destas espécies e estas atuem com interferentes causando incremento de absorbância. Seria interessante como tentativa futura de otimizar os métodos que as curvas analíticas fossem construídas com o próprio extrato de solo a fim de minimizar os efeitos da matriz ou ainda um procedimento de adição de padrão poderia ser empregado.

6.15. INFLUÊNCIA DE SILICATOS SOLÚVEIS NA QUANTIFICAÇÃO DE *p*-CRESOL APÓS DESSORÇÃO DO SOLO COM SOLUÇÃO DE NaOH

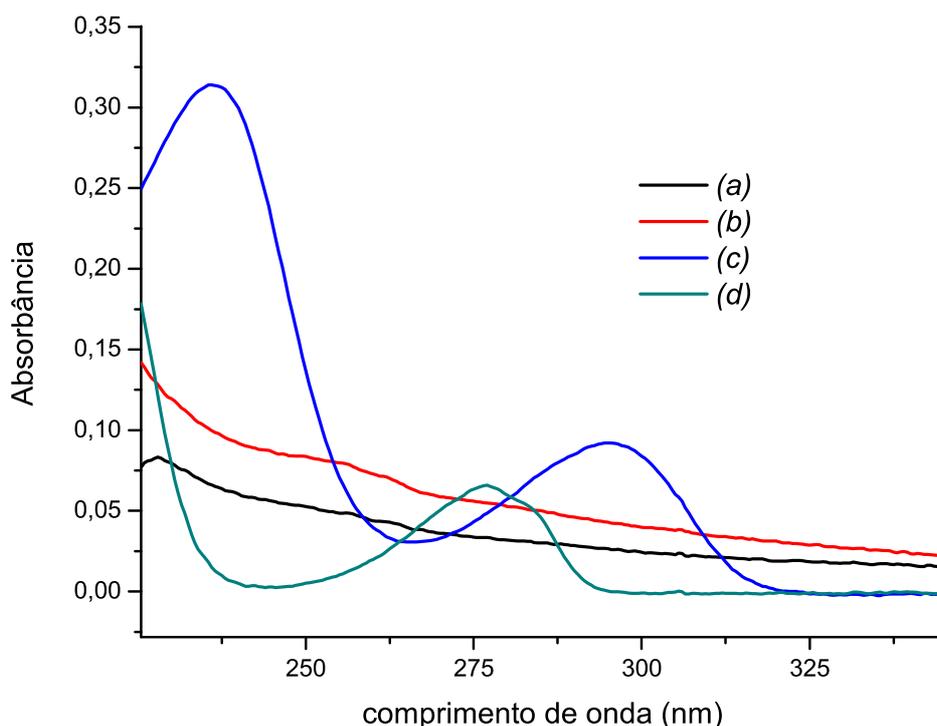


Figura 38 – Espectros de Absorção de soluções de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ após contato com sílica. (a) Solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ deixada em contato por 1 hora sob agitação constante com $1,000 \text{ g}$ de sílica pura sem adição de HCl; (b) Mesmas condições de (a), no entanto apenas adicionado $0,35 \text{ mL}$ de HCl concentrado; (c) *p*-cresol adicionado ao meio (sílica + $30,00 \text{ mL}$ de solução de NaOH) em concentração de $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ contendo HCl ($0,35 \text{ mL}$) e (d) *p*-cresol $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ após acidificação com HCl.

De acordo com a Figura 38 nota-se que ocorre absorção significativa da solução (a) e (b) que não continham fenóis na região em 277 nm , a qual é utilizada na quantificação do composto *p*-cresol. Como pode ser visto neste caso os silicatos solúveis

ou também colóides de sílica acabam atuando como interferente nesta técnica modificando os valores de absorvância determinados neste comprimento de onda. Isso sugere os valores elevados de recuperação obtidos para o *p*-cresol, conforme Tabela 16.

7. CONCLUSÕES

Durante o monitoramento do fenol pelos ensaios de batelada e principalmente por experimentos de tempo de contato foi possível inferir que os compostos estavam sendo adsorvidos. Além disso, a caracterização do solo permitiu classificar como solo argiloso, contendo argilominerais do tipo 1:1 e 2:1, além de outras fases minerais, tendo ainda informação que se trata de um latossolo altamente intemperizado. Era de se esperar adsorção dos compostos fenólicos devido a grande área superficial das argilas. Entretanto, as características físico-químicas dos compostos não são favoráveis ao processo de interação, assim como a amostra de solo, favorecendo sua permanência na fase aquosa de acordo com os valores de $\log K_{ow}$ e pH no qual foram conduzidos os ensaios propiciando sua degradação. A literatura mostra que a biodegradação neste tipo de estudo pode levar a dados de sorção superestimados, assim como a questão da volatilização e degradação química dos compostos. Estas observações conduziram ao estudo da inibição da atividade microbiana com solução de cloreto de mercúrio (II) e azida sódica, além de ensaios com solo autoclavado, visando constatar se ocorria processo de biodegradação dos compostos fenólicos.

Os resultados mostraram um processo de adsorção pouco favorável, sendo indicativo estar havendo processo de degradação por microrganismos. Os resultados utilizando solução de $HgCl_2$ 100 mg L⁻¹ e azida sódica NaN_3 (1% m/v) mostraram que nessas soluções os microrganismos são inibidos e a degradação não ocorre sendo observada a concentração constante ao longo de dias, inclusive com efeitos mínimos de volatilização, e processo de adsorção pouco pronunciado. Fato que se tornou mais evidente, pois foi realizada a extração (dessorção) dos fenóis que eventualmente estariam adsorvidos ao solo. Os testes mostraram que pouco ou nenhum resíduo dos compostos eram determinados após tempo de contato de 48 horas com o solo e subsequente extração em solução de hidróxido de sódio em concentração 0,10 mol L⁻¹.

Em paralelo ao estudo de sorção dos fenóis em solo, buscou-se avaliar o sistema de injeção em fluxo acoplado a método oficial (APHA/VIS) adaptada a determinação das espécies em extratos de solo.

De acordo com a literatura o método oficial APHA/VIS é específico para análise de fenóis em águas e efluentes. Mesmo para essas matrizes é necessário tratamentos para limpeza da amostra, por exemplo, extrações, filtração, pré-concentração

e destilação. Para o caso das determinações de fenóis em extratos o que se observou que o procedimento oficial é adequado a quantificação destes em extratos de solo da amostra de solo utilizada. A presença e influência de matéria orgânica e colóides que são extraídos durante os ensaios é minimizada desde que seja utilizado solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ para melhorar a separação de fase nas suspensões de solo, o que configura uma vantagem, pois sua utilização elimina etapas de filtração em membrana que causam perda de amostra, aumenta o número de operações analíticas encarecendo o tempo de análise e favorecendo erros experimentais.

Apesar do método oficial em batelada ser considerado adequado às determinações, foi constatada baixa velocidade analítica, alto consumo de reagentes e geração de grandes volumes de rejeitos. A técnica de FIA adaptada ao procedimento oficial mostrou ser uma boa alternativa para um grande número de amostras, pois houve incremento na velocidade analítica, valores próximos ou menores de LQ foram observados, volumes de amostras, reagentes e efluentes foram reduzidos drasticamente mostrando vantagens ambientais no seu uso. Por outro, se faz necessário um longo tempo para ajuste do método para operar em fluxo.

Os ensaios de recuperação mostraram resultados semelhantes entre os métodos por fluxo e o método convencional. Em tais ensaios, constatou-se boa exatidão e precisão. No entanto, nas determinações na região do UV tanto para o procedimento em batelada e por FIA foram observadas variações nos resultados de recuperação devido a presença de silicatos solúveis extraídos nas etapas que envolviam adição de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. A diferença de concentração pode ter influência na região do UV como foi mostrado nos ensaios com silicato. Uma alternativa a isso pode ser a minimização de efeitos de matriz com procedimento de adição de padrão que poderão ser realizados em uma etapa futura do trabalho.

O trabalho como um todo, sugere que os três compostos fenólicos estudados exibiram uma interação pouco pronunciada pela amostra de solo estudada, o que permite inferir que os mesmos podem ser lixiviados pela coluna do solo por eventos pluviométricos, com conseqüente comprometimento do lençol freático. Todavia se um maior tempo de residência ocorrer entre os compostos e o solo estudado é possível que ocorra total degradação das espécies, antes do processo de lixiviação, face aos resultados obtidos. Deve-se salientar que as conclusões aqui obtidas são válidas para os três compostos fenólicos estudados, bem como para a amostra de solo com as características aqui relatadas, não devendo tais resultados serem extrapolados para qualquer amostra de solo, bem como para outros compostos fenólicos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHILLI, G.; CELLERINO, G. P.; D'ERIL, G. M.; BIRD, S. Simultaneous determination of 27 phenols and herbicides in water by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. **Journal of Chromatography A**. 697, 357-362, 1995.
- AGUIAR, M. R. M. P.; NOVAES, A. C.; GUARINO, A.W.S. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Quím. Nova**. 25, 1145-1154, 2002.
- ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**. 48, 34-37, 2002.
- ALEMZADEH, I.; VOSSOUGH, F.; HOUSHMANDI, M. Phenol biodegradation by rotating biological contactor. **Biochemical Engineering Journal**. 11, 19-23, 2002.
- ANDRADE, L.S.; LAURINDO, E.A.; de OLIVEIRA, R.V.ROCHA-FILHO, R.C.; CASS, Q.B. Development of a HPLC Method to Follow the Degradation of Phenol by Electrochemical or Photoelectrochemical Treatment. **J. Braz. Chem. Soc.** 17, 369-373, 2006.
- APHA - **American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 19th Edition. Water Environment Federation, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Washington, DC, USA, 1995.
- ARRUDA, Z., A., M.; COLLINS, H., C.; Informações Essenciais para a caracterização de um sistema de Análise em Fluxo. **Quím. Nova**. 28, 739-742, 2005.
- ATAGANA, H. I. Biodegradation of phenol, *o*-cresol, *m*-cresol and *p*-cresol by indigenous soil fungi in soil contaminated with creosote. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 20, 851-858, 2004.
- ATKINS, P., W.; **Físico-Química**. V. 3. Capítulo 5, LTC Editora, Rio de Janeiro, 1999.
- BACIOCCHI, R.; ATTINA, M.; LOMBARDI, G.; BONI, M. R. Fast determination of phenols in contaminated soils. **Journal of Chromatography A**. 911, 135-141, 2001.
- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Editora da Unicamp, Campinas, 2001.
- BASTOS, A. E. R.; MOON, D. H.; ROSSI, A.; TREVORS, J. T.; TSAI, S. M. Salt-tolerant phenol-degrading microorganisms isolated from Amazonian soil samples **Arch Microbiol**. 174, 346-352, 2000.
- BHATIA, K. Determination of Trace Phenol in Aqueous Solution by Aqueous Liquid Chromatography. **Analytical Chemistry**. 45, 1973.

- BIELICKA-DASZKIEWICZ, K.; DEBICKA, M.; VOELKEL, A. Comparison of three derivatization ways in the separation of phenol and hydroquinone from water samples. **Journal of Chromatography A**. 1052, 233–236, 2004.
- BRAILE, P.M.; CAVALCANTI, A.W.E.J. **Manual de Tratamento de águas Residuárias industriais**. CETESB, 1993.
- BRITTO, J.M.; RANGEL, M. do C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. **Quim. Nova**. 31, 114-122, 2008.
- BUSCA, G.; BERARDINELLI, S.; RESINI, C.; ARRIGHI, L. Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. **Journal of Hazardous Materials**. 160, 265-288, 2008.
- CESCONETTO, N.; G. **Decomposição de fenol e efluente da indústria de papel e celulose por fotocatalise heterogênea**, Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, **Índice e Padrões de Qualidade do solo**, disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br>, acessada em abril de 2008.
- CHRISWELL, C. D.; CHANG, R. C.; FRITZ, J. S. Chromatographic Determination of Phenols in Water. **Analytical Chemistry**, 47, 8, 1975.
- CLAUBEN, M.; SCHMIDT, S. Biodegradation of phenol and *p*-cresol by the hyphomycete *Scedosporium apiospermum*. **Res. Microbiol**. 149, 399-406, 1998.
- CONAMA** - Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução nº 357 de 17/03/2005.
- COSTA, A. C. S. DA; ALMEIDA, V. C. DE; LENZI, E.; NOZAKI, J. Determinação de cobre, alumínio e ferro em solos derivados do basalto através de extrações seqüenciais. **Quím. Nova**. 25, 548-552, 2002.
- CRESPIN, A., M.; GALLEGO, M.; VALCAREL, M. A semiautomatic Module for the Direct Leaching and Determination of Sixteen Phenols in Agricultural Soils. **Analytical Chemistry**. 71, 14, 1999.
- DABROWSKY, A. Adsorption - From theory to Practice. **Advances in Colloid and Interface Science**. 93, 135-224, 2001
- D'AGOSTINHO, A.; FLUES, M. Determinação do coeficiente de distribuição (K_d) de benzo(a)pireno em solo por isotermas de sorção **Quim. Nova**. 29, 657-661, 2006.
- DURAN, N.; ESPOSITO, E. Potencial applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. **Applied Catalyses B: environmental**. 714, 1-17, 2000.
- DYMINSKI, A. S. **Contaminação de solos e águas subterrâneas**. UFPR, 2006.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412p. il. (EMBRAPA/CNPS-RJ. Documentos, 5).

- EMBRAPA-CNPS - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997.
- ENVIRONMENT AGENCY - Department for Environment, Food and Rural Affairs The Environment Agency. **Soil guideline values for phenol contamination**. Science Report SGV, 2005.
- ENVIRONMENTAL HANDBOOK**: Documentation on monitoring and evaluating environmental impacts. Volume III. Disponível em: <http://www2.gtz.de/uvp/publika/English/begin.htm> acessado em 20/08/2008.
- EPA - U.S. Environmental Protection Agency**. <http://www.epa.gov> acessado em 18/01/2007.
- FAGERIA, N. K. Produção de Sementes Sadias de Feijão Comum em Várzeas Tropicais. **Embrapa Arroz e Feijão Sistemas de Produção**. 4, 2004.
- FARAJI, H. β -Cyclodextrin-bonded silica particles as the solid-phase extraction medium for the determination of phenol compounds in water samples followed by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**. 1087, 283–288, 2005.
- FERNANDES, R.; **Adsorventes alternativos para remoção de fenol em solução aquosa**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- FRENZEL, W.; KREKLER, S. Spectrometric determination of total phenolic by solvent extraction and sorbent extraction optosensing using flow injection methodology. **Anal. Chim. Acta**. 310, 437 – 446, 1995.
- FRENZEL, W.; OLEKSY-FRENZEL, J.; MÖLLER, J. Spectrometric determination of phenolic compounds by flow-injection analysis. **Anal. Chim. Acta**. 261, 253 – 259, 1992.
- GUILARDUCI, S. V. V.; MESQUITA, P. J.; MARTLLI, B.,P.; GORGULHO, F. H. Adsorção de fenol sobre carvão ativado em meio alcalino. **Quim. Nova**. 29, 1226-1232, 2006.
- HANCOCK, P.; DEAN, J. R. Extraction and Fate of Phenols in Soil **Analytical Communications**. 34, 377–379, 1997.
- HEINEGG, A.; MARAGOS, P.; MASON, E.; RABINOWICZ, J.; STRACCINI, G.; WALSH, H. **Soil contamination and urban agriculture. A practical guide to soil contamination issues for individuals and groups 2002**. McGill University. 2002.
- HESSE, P.R. **A textbook of soil Chemical Analysis**. John Murray Publishers, London, 1971.
- HUANG, J.; WANGA, X.; JINA, Q.; LIUA, Y.; WANG, Y. Removal of phenol from aqueous solution by adsorption onto OTMAC-modified attapulgite. **Journal of Environmental Management**. 84, 229-236, 2007.

- IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual Técnico de Pedologia. 2ª Ed. 4, Rio de Janeiro, 2007.
- IHSS - International Humic Substance Society:** Isolation of IHSS Soil Fulvic and Humic Acids. Disponível em <http://www.ihss.gatech.edu/soilhafa.html> acessado dia 28/03/2008.
- IPCS INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY CRESOLS - **HEALTH AND SAFETY GUIDE.** Health and Safety Guide. 100, 1996.
- IUPAC - International Union Of Pure and Applied Chemistry Classification And Definition Of Analytical Methods Based On Flowing Media. **Pure & Appl. Chem.** 66, 2493-2500, 1994.
- JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Cienc. Rural.** 37, 2007.
- KARLBERG, B.; PACEY, G. E. **Flow Injection Analysis - A Practical Guide.** v. 10, 1989.
- KHAN, Z.; ANJANEYULU, Y. Influence of soil components on adsorption-desorption of hazardous organics-development of low coast technology for reclamation of hazardous waste dumpsites. **Journal of Hazardous Materials B118.** 161-169, 2005.
- KOUTNY, M.; RUZICKA, J.; CHLACHULA, J. Screening for phenol-degrading bacteria in the pristine soils of south. **Siberia Applied Soil Ecology.** 23, 79–83, 2003.
- KRISHNA, A. K.; GOVIL, P. K. Heavy metal distribution and contamination in soils of Thane 8211 Belapur industrial development area, Mumbai, Western India. **Environ. Geology.** 47, 2005.
- KUNZ, A. Remediação de Efluente Têxtil: Combinação entre processo químico (ozônio) e biológico (p. chrysozoryum). **Tese de Doutorado.** Campinas, 1999.
- LEITÃO, T. E.; BARBOSA, A. E.; HENRIQUES, M. J.; IKÄVALKO, V-M.; MENEZES, J. T. M. **Avaliação e gestão ambiental das águas de escorrência de estradas.** Relatório Final - INAG, 2006.
- LEMES, M. J. L.; FILHO, P. M. F.; PIRES, M. A. F. Influência da mineralogia dos sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e pardo na composição química das águas de abastecimento público **Quim. Nova.** 26, 13-20, 2003.
- LIOMPART, M.; LOURIDO, M.; LANDÍN, P.; GARCÍA-JARES, C.; CELA, R. Optimization of a derivatization–solid-phase microextraction method for the analysis of thirty phenolic pollutants in water samples. **J. Chromatogr. A.** 963, 137–148, 2002.
- LLOMPART, M.; LOURIDO, M.; LANDIN, P., GARCIA-JARES, C.; CELA, R. Optimization of a derivatization–solid-phase microextraction method for the analysis of thirty

- phenolic pollutants in water samples. **Journal of Chromatography A**. 963, 137–148, 2002.
- LUCHESE, E. B.; Favero, L.O.B.; Lenzi, E. **Fundamentos da Química do Solo, Teoria e Prática**. Freitas Bastos Editora, Rio de Janeiro, 2001.
- LUO, Q.; ZHANG, X.; WANG, H.; QIAN, Y. The use of non-uniform electrokinetics to enhance in situ bioremediation of phenol-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials B121**. 187–194, 2005.
- LUPETTI, O. K.; ROCHA, P. R. F.; FATIBELLO-FILHO, O. An improved flow system for phenols determination exploiting multicommutation and long pathlength spectrophotometry. **Talanta**. 62, 463–467, 2004.
- MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. 6 ed., 1994.
- MCBRIDE, M. B. **Environmental Chemistry of Soils**. New York OXFORD UNIVERSITY, 1994.
- MELO, I. S. de.; AZEVEDO, J. L. de. **Microbiologia Ambiental**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997.
- MIDUGNO, R.; ROISENBERG, A.; VIERO, A. P.; SANBERG, E.; MIRLEAN, N. Utilização de solos locais para tratamento de efluentes do refino de petróleo contendo metais. **Quím. Nova**. 30, 2007.
- MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Estadística para Química Analítica**. segunda edição, Addison-Wesley Iberoamericana, 1993.
- MOORE, D.; REYNOLDS Jr., R. C. **X-Ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals**. Second edition, New York, 1997.
- NAIR, I. C.; JAYCHANDRAN, K.; SHASHIDHAR, S. Biodegradation of Phenol. **African Journal of Biotechnology**. 7, 4951-4958, 2008.
- NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. Correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **R. Bras. Ci. Solo**. 28, 965-971, 2004.
- OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS**. Adsorption - Desorption Using a Batch Equilibrium Method. OECD/OCDE 106 Adopted: 21st January 2000.
- PAULA, A. M. de.; SIQUEIRA, J. O. de.; SOARES, C. R. F. S. Contaminação do solo com antraceno e creosoto e o crescimento vegetal e a colonização micorrízica pelo *Glomus etunicatum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 31, 2007.
- PAULLETI, V. **Nutrientes: Teores e Interpretações**. 2ª Edição. Fundação ABC para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária. Castro. Paraná. 86, 2004.
- PEÑALVER, A.; POCURULL, E.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M. Solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water. **Journal of Chromatography A**. 953, 79–87, 2002.

- PÉREZ, C. A. S.; GOBBI, D.; MARCOS, J. L. N.; PADUANI, C.; ARDISSON, J. D. Caracterização de argilas encontradas em solos de Terras Indígenas do RS com o auxílio da espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷Fe. **Cerâmica**. 50, 115-121, 2004.
- POULOPOULOS, S. G.; ARVANITAKIS, F.; PHILIPPOPOULOS, C. J. Photochemical treatment of phenol aqueous solutions using ultraviolet radiation and hydrogen peroxide. **Journal of Hazardous Materials B129**. 64–68, 2006.
- PRPICH, G. P.; ADAMS, R. L.; DAUGULIS, A. J. Ex situ bioremediation of phenol contaminated soil using polymer beads. **Biotechnology Letters**. 28, 2027–2031, 2006.
- QUAGGIO, J. A.; van RAIJ, B. Determinação do pH em Cloreto de Cálcio e da Acidez Total. Em: **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Editado pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, SP. 181-188, 2001.
- RAHMAN, M.; WORCH, E. Nonequilibrium sorption of phenols onto geosorbents: The impact of pH on intraparticle mass transfer. **Chemosphere**. 61, 1419–426, 2005.
- ROOSE, P.; BRINKMAN, U. A. Th. Monitoring organic microcontaminants in the marine environment: principles, programmes and progress. **Trends in Anal. Chem.** 24, 897-926, 2005.
- RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection Analysis. Wiley interscience, New York, 1988.
- SANTOS, M. A. S. **Isotermas de Adsorção**. Universidade Federal de Santa Maria. 2003.
- SARAVANAN, P.; PAKSHIRAJAN, K.; SAHA, P. Biodegradation of phenol and m-cresol in a batch operated internal loop airlift bioreactor by indigenous mixed culture predominantly *Pseudomonas* sp. **Bioresource Technology**. In Press, Correted Proof. Available on line 12 May, 2008.
- SHAW, L. J.; BEATONB, Y.; GLOVERC, L. A.; KILLHAMB, K.; MEHARGA, A. A. Re-inoculation of autoclaved soil as a non-sterile treatment for xenobiotic sorption and biodegradation studies. **Applied Soil Ecology**. 11, 217–226, 1999.
- SHIBATA, A.; INOUE, Y.; KATAYAMA, A. Aerobic and anaerobic biodegradation of phenol derivatives in various paddy soils. **Science of the Total Environment**. 367, 979–987, 2006.
- SILVERSTEIN, R.; BASSLER, G.; MORRILL, T. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Ed. Guanabara Koogan, 5ª ed., Rio de Janeiro, 1991.
- SITE, D. A.; Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent/Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants. A Review. **J. Phys. Chem. Ref. Data**. 30, 2001.

- SIX - Superintendência de Industrialização do Xisto
<http://www2.petrobras.com.br/minisite/refinarias/portugues/six/conheca/conheca.html>
Acessada em 28 de abril de 2008.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Pioneira Thomsom Learning, 2006.
- SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**. Vol. 2. Sétima ed. LTC 2002.
- Soil survey manual** - Soil Survey Division Staff. Soil Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 18, 1993.
- SONG, W.; ZHI, Z.; WANG, L.; Amberlite XAD resin solid-phase extraction coupled on-line to a flow injection approach for rapid enrichment and determination of phenols in water and waste waters. **Talanta**. 44, 1423 – 1433, 1997.
- SOUZA, I. G. Jr.; COSTA, A. C. S.; SAMBATTI, J. A.; PETERNELE, W. S.; TORMENA, C. A.; MONTES, C. R.; CLEMENTE, C. A. Argila de solos subtropicais à área superficial específica e à capacidade de troca catiônica. **R. Bras. Ci. Solo**. 31, 1355-1365, 2007.
- SPOSITO, G. **The Chemistry of Soils**. University of California at Berkeley. Oxford University Press. New York, 1989.
- TALLUR, P. N.; MEGADI, V. B.; KAMANAVALLI, C. M.; NINNEKAR, H. Z. Biodegradation of *p*-cresol by *Bacillus* sp. Strain PHN 1. **Current Microbiology**. 53, 529–533, 2006.
- TREVORS, J. T. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. **Journal of Microbiological Methods**. 26, 53-59, 1996.
- TZIOTZIOS, G.; TELIOU, M.; KALTSOUNI, V.; LYBERATOS, G.; VAYENAS, D. V. Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. **Biochemical Engineering Journal**. 26, 65–71, 2005.
- U.S. DEPT. OF AGRICULTURE. Soil Conservation Service. Soil Survey Staff. **Soil Survey Manual**. U.S. Dept. of Agric. Handb. 18. U.S. Govt. Print. Off. Washington, DC. 1993.
- VEERESH, G. S.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Treatment of phenol and cresols in upflowanaerobic blanket (UASB) process: a review. **Water Research**. 39, 154–170, 2005.
- VIGGIANI, A.; OLIVIERI, G.; SIANI, L.; DI DONATO, A.; MARZOCHELLA, A.; SALAINO, P.; BARBIERI, P.; GALLI, E. An airlift biofilm reactor for the biodegradation by *Pseudomonas stutzeri* OX1. **Journal of Biotechnology**, 123, p. 464-477, 2006.
- VIOTTI, P.; PAPINI, P.; STRACQUALURSI, N.; GAMBA, C. Contaminant transport in an unsaturated soil: laboratory tests and numerical simulation model as procedure for parameters evaluation. **Ecological Modelling**. 182, 131 – 148, 2005.

- WEBER, O. L. S.; Chitolina, J. C.; Camargo, O. A.; Alleoni, L. R. F. Cargas elétricas estruturais e variáveis de solos tropicais altamente intemperizados. **R. Bras. Ci. Solo**, 29, 867-873, 2005
- WELP, G.; BRUMMER, G. W. Effects of Organic Pollutants on Soil Microbial Activity: The Influence of Sorption, Solubility, and Speciation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 43, 83-90, 1999.
- XIAO, M.; ZHOU, J.; TAN, Y.; ZHANG, A.; XIA, Y.; JI, L. Treatment of highly-concentrated phenol wastewater with an extractive membrane reactor using silicone rubber. **Desalination**. 95, 281–293, 2006.
- ZHAO, L.; LEE, HK. Determination of phenols in water using liquid phase microextraction with back extraction combined with high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**. 93, 95-105, 2001.
- ZIMBACK, C. R. L. **Formação dos solos**. CEPAG – Grupo de Estudos E Pesquisas Agrárias Georeferenciadas, FCA/UNESP, 2003.