

FERNANDA DE LOURDES SOUZA

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FENOL
EM AMOSTRAS AQUOSAS UTILIZANDO UM SISTEMA
AQUOSO BIFÁSICO, CONSTITUÍDO PELO COPOLÍMERO L35 E
SULFATO DE LÍTIO**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S729d
2008

Souza, Fernanda de Lourdes, 1985-

Determinação espectrofotométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico constituído pelo copolímero L35 e sulfato de lítio / Fernanda de Lourdes Souza. – Viçosa, MG, 2008.
xviii, 66f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Maria do Carmo Hespanhol da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Fenol - Análise. 2. Espectrofotometria. 3. Sistemas aquosos bifásicos. 4. Copolímeros triblocos.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 547.41046

FERNANDA DE LOURDES SOUZA

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FENOL EM
AMOSTRAS AQUOSAS UTILIZANDO UM SISTEMA AQUOSO
BIFÁSICO, CONSTITUÍDO PELO COPOLÍMERO L35 E SULFATO DE
LÍTIO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: Quatro de agosto de dois mil e oito



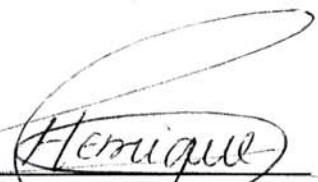
Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso



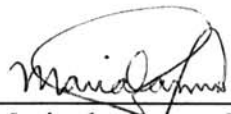
Prof. Dr. Luiz Antônio Minin



Prof.^a Dra. Maria Eliana Lopes
Ribeiro de Queiroz



Prof. Dr. Luis Henrique Mendes
da Silva
(Co-Orientador)



Prof.^a Dra. Maria do Carmo Hespagnol da
Silva

(Orientadora)

Aos meus pais pelo amor constante e infinito,
Aos meus irmãos pelo carinho e incentivo e
À toda a minha família por se fazer tão essencial em minha
vida

Dedico.

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.

(Chico Xavier)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por estar sempre ao meu lado me guiando e iluminando minhas escolhas.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro.

À Prof^ª Maria do Carmo Hespanhol da Silva pela orientação, e por me ensinar a ser uma pessoa mais forte e confiante.

Ao professor Luis Henrique Mendes da Silva, pelas críticas e sugestões.

Ao professor e amigo Antônio Augusto Neves pelo exemplo de vida e profissionalismo, pelo apoio incondicional e constante presença ao longo deste trabalho.

Aos professores, Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Efraim Lázaro Reis pela amizade, carinho, e apoio.

À Prof^ª. Jane Sélia dos Reis Coimbra e ao Prof. Luiz Antonio Minim por permitir a realização dos experimentos no laboratório de processos de separação do DEA/UFV.

Aos professores que aceitaram participar desta banca, em especial ao Prof. Luciano Sindra Virtuoso por vir acompanhando meu trabalho desde a graduação, o meu muito obrigada.

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial a Marisa, a Karine e a D. Onesina pela atenção, prestatividade e profissionalismo.

As minhas irmãzinhas de Viçosa, amigas e companheiras Camila, Bruna, Marília e Carolzinha que foram essenciais nesta etapa da minha vida me dando todo o carinho, apoio e me ensinando o verdadeiro sentido da palavra amizade. Amo vocês!.

Aos amigos que fiz em Viçosa e que ficarão para sempre: Vânia, Denise

Aline, Leandro, Shisley, Leonel, Igor, Flávia, Flaviane, Juliana e Tonimar pela força, amizade e constante presença e incentivo.

À todos os colegas de pós-graduação pelo carinho, pela força, pelos momentos agradáveis de churrascos, caldos, jantares, filme sem filme, aniversários e pela constante presença no Sabor e Cia. Saudades.

Aos amigos do QUIVECOM pela convivência que tornaram o nosso dia-a-dia mais alegre e descontraído. É proibido!!!! (hahahahaha).

A todas as pessoas que me ajudaram desde a chegada em Viçosa em especial ao Diego pelo apoio e compreensão, e a todos os amigos que não citarei nomes para não correr o risco de esquecer de alguém, mas que foram essenciais pelo estímulo, alegria, viagens, e que muito me ajudaram a driblar a saudade de casa.

Ao querido Hugo pelo carinho, apoio e bons momentos vividos ao longo deste ano.

Aos meus pais por tornar possível a realização deste sonho e pelo exemplo de vida, força e amor.

Aos meus irmãos pelo carinho, incentivo e compreensão.

À toda minha família, em especial a Geiseane, Tio Ronaldo e Tia Lilia, pelo amor e respeito e por se fazerem presentes mesmo distantes.

E a todos que de uma forma ou outra contribuíram com a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FERNANDA DE LOURDES SOUZA, filha de Geraldo de Souza e Valmira Vieira de Souza, nasceu no dia 13 de maio de 1985, na cidade de Caratinga, Minas Gerais.

Em Julho de 2004, ingressou no Curso de Licenciatura Plena em Química do Centro Universitário de Caratinga, em Caratinga, diplomando-se com o título de Licenciatura em Julho de 2006.

Em outubro de 2006, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em agosto de 2008.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	xvii
CAPÍTULO 1: Revisão da Literatura	1
1.0 Introdução	1
1.1 Os compostos fenólicos	3
1.2 Métodos de determinação de compostos Fenólicos	5
1.3 Sistema aquoso bifásico	11
1.3.1 Polímeros e Copolímeros: conceitos, estrutura molecular e propriedades	14
1.3.2 Aplicações dos sistemas aquosos bifásicos na partição de solutos	19
1.3.2.1 Partição de Biopartículas	19
1.3.2.2 Partição de íons metálicos	21
1.3.2.3 Partição de complexos inorgânicos	23
1.4 Conclusão	26
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 2: Desenvolvimento de um método para determinação de fenol em água utilizando um sistema aquoso bifásico constituído pelo copolímero L35 e o sal sulfato de lítio.	38
Resumo	38
Introdução	39
2.0 Experimental	40
2.1. Reagentes	40
2.2. Preparo do SAB	41
2.2.1 Coleta e diluição das fases	42
2.3. Efeito do tempo de agitação	42

2.4. Efeito do Comprimento da Linha de Amarração	43
2.5. Efeito da Natureza do Eletrólito	44
2.6. Influência das concentrações dos reagentes	44
2.7. Efeito do pH	45
2.8. Estudo dos parâmetros analíticos	46
2.9. Determinação de fenol em amostras aquosas	47
3. Resultados e Discussão	48
3.1. Efeito do tempo de agitação	50
3.2. Efeito do Comprimento da linha de amarração	51
3.3. Efeito da Natureza do Eletrólito	52
3.4. Influência das concentrações dos reagentes	54
3.5. Efeito do pH	56
3.6. Estudo dos parâmetros analíticos	57
3.7. Determinação de fenol em amostras aquosas	59
4. Conclusão	61
Referências	63

RESUMO

Souza, Fernanda de Lourdes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2008. **Determinação espectrométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico, constituído pelo copolímero L35 e o sal sulfato de lítio.** Orientadora: Maria do Carmo Hespanhol da Silva, Co-Orientadores: Luis Henrique Mendes da Silva e Jane Sélia dos Reis Coimbra.

Neste trabalho foi desenvolvido um novo método espectrofotométrico simples e ambientalmente seguro para a determinação de fenol em amostras aquosas. O método baseia-se na reação do nitroprussiato de sódio (NP), hidrocloreto de hidroxilamina (HH) e fenol em meio básico resultando em um composto de coloração azul-esverdeado decacianodiferrato ($[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$). Esta reação foi realizada em um sistema aquoso bifásico (SAB) formado pelo copolímero tribloco poli-(óxido de etileno)-bloco-poli(óxido de propileno)-bloco-poli(óxido de etileno), $(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$, com massa molar média numérica igual a 1900 g mol^{-1} (L35) com 50% de EO, sulfato de lítio e água. O produto formado na reação se transfere preferencialmente para a fase superior do SAB onde é concentrado. A quantificação do fenol é realizada indiretamente através da medida de absorvância do produto da reação, via um espectrofotômetro de absorção molecular na região do UV/visível. Foram investigados vários parâmetros a fim de se obter as melhores condições experimentais: tempo de agitação, comprimento da linha de amarração (CLA), concentração dos reagentes, pH do meio e tipo de eletrólito formador do SAB. Os parâmetros que originaram melhores resultados analíticos foram: agitação manual por cinco minutos, CLA igual a 43,77 % (m/m), concentração de NP igual a $1669,9 \text{ mg kg}^{-1}$ de NP, concentração de HH igual a $177,20 \text{ mg kg}^{-1}$, pH = 12,00 e eletrólito formador do SAB sulfato de lítio. Após obtenção dos melhores parâmetros analíticos o método foi aplicado para a determinação de fenol em diferentes amostras de água. Estas foram dopadas com $0,5000 \text{ mg kg}^{-1}$ de fenol

originando recuperações quantitativas entre 98% e 113 %. Sob estas condições a faixa de trabalho variou de 0,2500 a 2,000 mg kg⁻¹ com coeficiente de correlação linear igual a 0,99948. O coeficiente de variação foi igual a 0,113 % para concentração de fenol igual a 0,5000 mg kg⁻¹ e o limite de detecção e quantificação foram 0,0426 mg kg⁻¹ e 0,141 mg kg⁻¹ respectivamente.

ABSTRACT

Souza, Fernanda de Lourdes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, august 2008. **Spectrometric determination of phenol in aqueous samples using a two phase system with the copolymer L35 and lithium sulphate.** Adviser: Maria do Carmo Hespanhol da Silva, Co. advisers: Luis Henrique Mendes da Silva e Jane Sélia dos Reis Coimbra.

This work developed a simple and environmentally safe spectrophotometric method for the phenol determination in aqueous samples. The method bases on the reaction of sodium nitroprusside (NP), hydroxylamine hydrochloride (HH) and phenol in alkaline medium resulting in the blue-greenish compound decacyanodyferrate ($[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$). This reaction was accomplished in an aqueous two phase system (ATPS) formed by the triblock copolymer poly-(ethylene oxide) – poly (propylene oxide) - poli (oxyde etylene), $(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$, with average molar mass of 1900 g mol^{-1} (L35), 50% of EO, lithium sulphate and water. The product formed in the reaction is transferred preferentially to the superior phase of ATPS where is concentrated. The phenol quantification is indirectly accomplished through absorbance measure of the reaction product by a spectrophotometer of molecular absorption in the UV/visible area. Several parameters were investigated to obtain the best experimental conditions: agitation time, tie line lengths (TLL), reagents concentration, pH of the medium and the type of electrolyte that forms the ATPS. The parameters that showed the better analytical results were: manual agitation for five minutes, TLL of 43,77% (m/m), NP concentration of $1669,9 \text{ mg kg}^{-1}$, HH concentration of $177,20 \text{ mg kg}^{-1}$, pH = 12,00 and electrolyte that form ATPS of lithium sulphate. Once it was obtained the best analytical parameters the method was applied for the phenol determination in different water samples. These were doped with $0,5000 \text{ mg kg}^{-1}$ of phenol originating quantitative recoveries between 98 to 113%. Under these conditions the range varied from $0,2500$ to $2,000 \text{ mg kg}^{-1}$ with lineal correlation coefficient of 0,99948. The

variation coefficient was 0,113% for the phenol concentration of 0,5000 mg kg⁻¹ and the detection limit and quantification limit were 0,0426 mg kg⁻¹ and 0,141 mg kg⁻¹ respectively.

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1	Revisão da Literatura	1
Figura 1	Reação da 4-aminoantipirina com fenol na presença de ferrocianeto de potássio em pH 7,9.	6
Figura 2	Mecanismo da reação entre nitroprussiato de sódio, hidroxilamina e fenol.	7
Figura 3	Parâmetros termodinâmicos para um ponto de mistura do sistema Poli (óxido de etileno) (PEO) 1.500 g mol^{-1} + fosfato de potássio + água, à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\text{pH} = 7$	12
Figura 4	Diagrama de fases, expresso em coordenadas retangulares, de um SAB formado por copolímero L35 ($\langle M_n \rangle = 1900 \text{ g mol}^{-1}$), Li_2SO_4 e água, a $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$	13
Figura 5	Estrutura molecular da unidade monomérica repetitiva do (a) óxido de etileno e (b) óxido de propileno.	16
Figura 6	Arranjos moleculares para os copolímeros	17
Figura 7	Estrutura molecular de um copolímero tribloco formado por PEO–PPO–PEO.	17
Figura 8	Representação da estrutura tridimensional octaédrica do complexo aniônico nitroprussiato (NP^{2-})	24
Figura 9	Coefficientes de partição do NP^{2-} em função do CLA em SAB formados por PEO 35000 em diferentes sais de sulfato.	25
	Determinação espectrofotométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico, constituído pelo copolímero L35 e sulfato de lítio	38
Capítulo 2		
Figura 1	1A. Mecanismo da reação entre nitroprussiato de sódio, hidroxilamina e fenol [41]. 1B. Foto mostrando a partição do ânion decacianodiferrato em um SAB L35/ Li_2SO_4 à $25 \text{ }^\circ\text{C}$.	49

Figura 2	Espectro UV/vis do $[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$ em FS do SAB L35/Li ₂ SO ₄ .	50
Figura 3	Estudo do tempo de agitação. (■) Agitação em vortex por 1 min (●) Agitação mecânica por 20 min (▲) Agitação manual por 5 min.	51
Figura 4	Curvas analíticas obtidas para cada SAB em diferentes CLA. (■) L35/Li ₂ SO ₄ 5° CLA; (●) L35/Li ₂ SO ₄ 1° CLA; (▲) L35/Na ₂ SO ₄ 5° CLA; (▼) L35/Na ₂ SO ₄ 1° CLA; (◆) L35/K ₂ HPO ₄ -KOH 1° CLA.	53
Figura 5	Variação do sinal analítico em função de diferentes concentrações de NP.(■) [Fenol]= 0,5 mg kg ⁻¹ ;(●) [Fenol]= 1,0 mg kg ⁻¹ ;(▲) [Fenol]= 5,0 mg kg ⁻¹	55
Figura 6	Variação do sinal analítico em função de diferentes concentrações de HH.(■) [Fenol]= 0,5 mg kg ⁻¹ ;(●) [Fenol]= 1,0 mg kg ⁻¹ ;(▲) [Fenol]= 5,0 mg kg ⁻¹	55

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1	Revisão da Literatura.	1
Tabela 1	Biopartículas particionadas em diferentes SAB.	20
Tabela 2	SAB(s) aplicados à partição de metais.	22
Capítulo 2	Determinação espectrofotométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico, constituído pelo copolímero L35 e sulfato de lítio.	38
Tabela 1	Valores de composição global para cada tipo de SAB estudado.	41
Tabela 2	Absorbâncias obtidas utilizando diferentes SAB para uma concentração de fenol igual a $0,5000 \text{ mg kg}^{-1}$.	52
Tabela 3	Valores de absorbâncias obtidos para a concentração de fenol igual a $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ em diferentes pH.	56
Tabela 4	Parâmetros analíticos obtidos na aplicação do método proposto na determinação de fenol em diferentes amostras.	61

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Capítulo 1: Revisão da Literatura

APHA	Associação de Saúde Pública Americana
$C_{polímero}^{FS}$	Concentrações de polímero na fase superior
$C_{polímero}^{FI}$	Concentrações de polímero na fase Inferior
C_{sal}^{FS}	Concentrações do sal na fase superior
C_{sal}^{FI}	Concentrações do sal na fase inferior
CLA	Comprimento da Linha de Amarração
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC	Concentração micelar crítica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DCE	Detector por captura de elétrons
DE	Detecção eletroquímica
ELL	Extração líquido-líquido
EO	Óxidos de etileno
DIC	Detector por ionização com chama
FS	Fase superior
HH	Hidrocloreto de hidroxilamina
I	Inferior
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IV	Infravermelho
K	Coefficiente de partição
LA	Linhas de amarração
LB	Linha binodal
LD	Limite de detecção

LIF	Fluorescência por laser-induzido
LQ	Limite de quantificação
EM	Espectroscopia de massa
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
4-AAP	4-aminoantipirina
n	Grau de polimerização
nm	nanômetros
NPS	Nitroprussiato de sódio
PEO	Poli (óxido de etileno)
PEG	Poli (etileno glicol)
PO	Óxido de propileno
R ²	Coefficiente de correlação
S	Superior
SAB	Sistemas Aquosos Bifásicos
UV	Detecção ultravioleta
λ	Comprimento de onda
% (m/m)	Porcentagem massa/massa
ΔG°	Variação da energia livre de Gibbs
α	Atividades
γ	Coefficiente de atividade

Capítulo 2: Determinação espectrofotométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico, constituído pelo copolímero L35 e sulfato de lítio

EC	Extrato de Café
AD	Água destilada
ADI	Água deionizada
AM	Água mineral

AL	Água de Lagoa
AT	Água de torneira
CV	Coefficiente de Variação
ECEL	Água residual de efluente alcalino de indústria de celulose
CENIBRA	Celulose Nipo Brasileira
-NO	Grupo nitrosil
RMN	Ressonância magnética nuclear
UR	Amostras de urina
UV-Vis	Ultravioleta-visível
$\Delta_r G$	Energia livre de gibbs de transferência (kJ mol ⁻¹)
% (m/m)	Porcentagem massa/massa

Capítulo 1

Revisão da Literatura

1. Introdução

Nas últimas décadas devido a crescente atividade industrial e agropecuária, e conseqüentemente a contaminação do meio ambiente por substâncias orgânicas e inorgânicas, observa-se uma maior preocupação com a conservação dos recursos naturais, principalmente com respeito à disponibilidade de água potável e aos altos custos relativos à sua obtenção^{1,2}. Isto tem levado os órgãos governamentais a estabelecerem limites rígidos e níveis ambientais aceitáveis desses poluentes, exigindo-se assim métodos analíticos ambientalmente seguros e economicamente viáveis que ofereçam alta seletividade e sensibilidade para a identificação e quantificação dessas substâncias³⁻⁵.

Os sistemas aquosos bifásicos (SAB) surgem como uma alternativa promissora, pois são constituídos majoritariamente por água, e os seus demais componentes formadores (polímeros e eletrólitos) não são tóxicos e nem inflamáveis, o que os tornam sistemas de extração ambientalmente seguros. Além disso, seus constituintes são comercialmente disponíveis e de baixo custo⁶.

Uma classe de substâncias encontradas em diversos processos industriais e que são uma preocupação constante do ponto de vista ambiental são os compostos fenólicos, considerados poluentes prioritários por apresentarem alta toxicidade, bioacumulação nas diferentes cadeias alimentares, mesmo em baixas concentrações e persistência no ambiente⁷⁻⁹.

Os compostos fenólicos estão presentes nas mais diferentes concentrações em efluentes de vários processos industriais, tais como: fabricação de insumos agrícolas, presentes em pesticidas e fungicidas; processo de branqueamento da celulose, onde se encontram os clorofenóis; indústrias químicas que processam resinas (fenólicas, epóxidas e poliamidas); indústrias farmacêuticas; indústrias têxteis; beneficiamento da castanha de caju; processos fotográficos; processo de

coqueificação do carvão onde os fenóis são os principais contaminantes, podendo ser encontrados em até algumas gramas por litro; refinarias de petróleo; fabricação de laminados decorativos para o setor moveleiro entre outros⁷⁻¹².

De acordo com resolução CONAMA, artigo 21 número 20 (Brasil 1986), o limite máximo de concentração de fenóis para as classes de rio 1 e 2 (águas destinadas à conservação da vida aquática e ao abastecimento público) é 0,001 mg L⁻¹¹³. Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água desde que obedeçam as condições de apresentarem concentrações de 0,5 mg L⁻¹ de fenol¹³. Na Portaria n° 518 (2004) do Ministério da Saúde, são estipuladas em águas de abastecimento concentrações máximas apenas para compostos derivados do fenol, tais como pentaclorofenol (0,009 mg L⁻¹) e 2,4,6-triclorofenol (0,2 mg L⁻¹). O Instituto Nacional Norte Americano para Saúde e Segurança Ocupacional, estabeleceu como limite de exposição uma concentração igual a 5,0 mg L⁻¹ para fenol e o limite de 2,3 mg L⁻¹ para isômeros de cresol¹⁴.

No entanto, o método oficial da Associação de Saúde Pública Americana, APHA, adotado para a determinação de fenol, envolve um procedimento tedioso e oneroso de extração em clorofórmio para alcançar os limites de quantificação requeridos. Sendo assim, um procedimento de extração e determinação de fenol mais seguro e sensível torna-se necessário¹⁴.

Neste capítulo busca-se trazer uma breve descrição dos compostos fenólicos, sua importância e aplicações nos diversos processos industriais, os principais métodos de determinação, além de revisar a técnica de extração em sistema aquoso bifásico, permitindo prever a sua aplicabilidade na determinação de fenol em águas.

1.1. Os compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são encontrados na natureza como resultado da decomposição de substâncias húmicas, ligninas e taninos uma vez que são estes componentes naturais da madeira (podendo representar cerca de 20 a 30%) e são responsáveis pelas propriedades organolépticas de muitas frutas, bebidas e flores, tais como a cor, adstringência e sabor¹⁵⁻¹⁶.

São encontrados em ambientes aquáticos, sendo produzidos por algas, plantas e invertebrados, e nas fezes e urina de animais, incluindo o homem, contudo, em concentrações bem menores que as geradas pelas atividades antrópicas^{17,18}. Na atmosfera são originados principalmente de reações fotoquímicas de compostos exauridos por veículos, indústrias e na fumaça de cigarros^{10,11,19}.

Eles são os principais produtos de degradação de pesticidas organofosforados e fenoxiácidos clorados. Os mais representativos em águas tratadas são 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol³. Os nitrofenóis são formados fotoquimicamente na atmosfera a partir de compostos exauridos por veículos e em diversos processos industriais.

As concentrações de fenóis nos efluentes industriais variam muito, podendo estar entre 0 a 22 mg L⁻¹ para água de produção de petróleo e gás, ou ainda variar entre 100 a 1000 mg L⁻¹ para outros processos industriais.²⁰ O problema mais grave do fenol é o apresentado na utilização das águas contaminadas para fins potáveis. Águas em concentrações mínimas de 0,05 a 0,1 mg L⁻¹ de fenol, em combinação com o cloro, ficam com um sabor reconhecidamente desagradável de clorofenol²¹.

A indústria de celulose Kraft branqueada além de grande consumidora de água limpa (cerca de 30 a 60 m³ por tonelada de celulose) é geradora de grandes volumes de efluentes a serem tratados antes do lançamento nos corpos receptores²². Estes efluentes são misturas complexas de materiais extraídos da madeira (lignina, carboidratos e extrativos) durante a produção da polpa²³. Além

disso, o uso de compostos clorados como o dióxido de cloro no branqueamento de polpa Kraft leva à formação de uma variedade de compostos orgânicos clorados resultados de reações químicas entre o dióxido de cloro e a lignina remanescente na polpa após a polpação, podendo ser de alta e baixa massa molar, e incluem compostos fenólicos clorados que junto aos demais compostos recalcitrantes são responsáveis pela cor e toxicidade do efluente, o que os torna resistente à degradação biológica²⁴.

Os compostos fenólicos também são conhecidos como compostos disruptivos endócrinos (ECD's) que são substâncias químicas sintéticas que podem imitar ou antagonizar o funcionamento normal do sistema endócrino podendo causar problemas no sistema imunológico e reprodutivo.

Eles estão presentes na lista elaborada pela agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) que contém 126 poluentes prioritários em águas naturais, dos quais 113 são orgânicos, e destes, onze são fenóis substituídos, sendo que o fenol ocupa o 11º lugar entre 126 poluentes²⁵⁻²⁷.

O fenol é um composto da classe dos hidrocarbonetos aromáticos mono – substituídos, e apresenta a fórmula química: C_6H_5OH . São álcoois do tipo ROH, onde R é um grupo benzênico. Os fenóis diferem dos álcoois por terem o grupo OH ligado diretamente a um anel aromático.

É um cristal incolor ou branco em forma de agulha, pouco solúvel em água e com cheiro forte característico, tóxico e de ação cáustica sobre a pele. O ponto de fusão é 40,71 °C e o produto comercial contém em geral menos do que 5% de água. Mistura-se completamente com os solventes orgânicos e sua solubilidade a 20° C é 0,083g de fenol/g de água. São compostos relativamente ácidos, porém menos ácido que os ácidos carboxílicos e podem ser convertidos em seus respectivos sais, por soluções aquosas de hidróxidos, conhecidos como fenóxidos ou fenolatos. De acordo com Juang et al. (1999)²⁸, o fenol apresenta uma área superficial de $3,05 \cdot 10^{-19} \text{ m}^2$ / molécula e pKa de 9,89. Possui raio molecular e 0,31 nm, que corresponde a um diâmetro de 0,62 nm²⁹. É moderadamente volátil à temperatura ambiente, fracamente ácido, sendo ionizado

por reações eletrofílicas e de oxidação³⁰. É considerado veneno trófico, causando efeito de cauterização no local em que ele entra em contato através da ingestão. Os resultados de intoxicação são náuseas, vômitos, dores na cavidade bucal, na garganta e estômago, entre outros. Inicialmente, há uma excitação seguida por depressão, e queda na pressão arterial, seguida de desenvolvimento de coma, convulsão e endemia dos pulmões^{31,32}.

Os fenóis apresentam diversas aplicações, citam-se: fabricação de desinfetantes (fenóis e cresóis); preparação de resinas e polímeros; produção de 2,4,6- trinitrofenol ou ácido pícrico, utilizado como anti-séptico no tratamento de queimaduras e também na preparação de explosivos; fabricação de medicamentos, um exemplo é o ácido o- hidróxidobenzóico, conhecido com o nome de ácido salicílico do qual se obtém o ácido acetilsalicílico, analgésico conhecido comercialmente como aspirina; fabricação de xampus e aditivos para óleos lubrificantes; aplicações dérmicas com finalidades estéticas, tal como a técnica de *peeling*³³⁻³⁶.

Nesta técnica, o fenol é utilizado, pois, produz a coagulação das proteínas da pele, induzindo a uma queimadura química, que ao longo do tempo leva ao rejuvenescimento facial intenso, quando utilizado corretamente. Contudo, estudos dermatológicos afirmam ser o fenol uma substância tóxica para todas as células que penetra e permeia a pele³⁴.

1.2. Métodos analíticos para determinação de fenóis

As principais técnicas analíticas para a determinação de compostos fenólicos incluem a espectrofotometria¹, a cromatografia gasosa (CG) acoplada a detectores como ionização em chama (DIC)³⁷, captura de elétrons (DCE)^{37,38} ou ainda a um espectrômetro de massa (EM)³⁹, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em combinação com detecção ultravioleta⁴⁰, eletroquímica⁴¹, ou detecção fluorescente⁴², além da eletroforese capilar acoplada a diversos tipos de detectores⁷.

Contudo, estes métodos apresentam as desvantagens de não permitirem

um monitoramento contínuo “*in situ*”, pois são caros e necessitam de operadores bem treinados. Em alguns casos requerem uma etapa de extração ou pré-concentração para alcançar os limites de quantificação requeridos para a determinação direta de fenóis em águas potáveis⁴³.

Um das técnicas de extração/pré-concentração mais utilizadas é a extração líquido-líquido (ELL), devido a características como baixo custo, boa aplicabilidade a um grande número de compostos, ser simples e utilizar uma grande variedade de solventes. No entanto, há uma tendência em substituir a ELL pela extração em fase sólida (SPE) ou microextração em fase sólida (SPME), pois a ELL em alguns casos utiliza grandes volumes de solventes tóxicos, ocorre a formação de emulsões, o tempo de análise é longo e existe a dificuldade de automação⁴⁴. Já a SPE requer pequenas quantidades de solventes gerando baixo volume de resíduos na análise, é de fácil automação, e é mais rápida. Entretanto a SPE é mais cara que a ELL, além de sofrer efeitos de matriz⁴⁵.

A extração líquido-líquido (ELL) é usada como técnica de pré-concentração no método padrão de determinação de fenol em água. Este método é baseado na formação de um complexo colorido de antipirina, derivado da reação da 4-aminoantipirina (4-AAP) na presença de ferrocianeto de potássio em pH 7,9^{14,46-47}. A reação é mostrada na Figura 1.

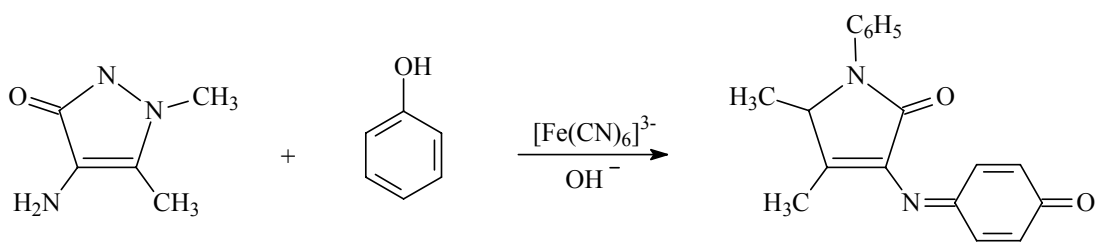


Figura 1. Reação da 4-aminoantipirina com fenol na presença de ferrocianeto de potássio em pH 7,9.

O método envolve uma etapa de destilação onde os fenóis são separados de impurezas não voláteis reagindo com a 4 - aminoantipirina (4-AAP) na presença do ferrocianeto de potássio em meio alcalino formando a antipirina, cuja absorbância é lida em um espectrofotômetro a 500 nm. Este corante pode ser analisado pelo método indireto baseado na extração com clorofórmio e a

absorbância medida a 460 nm. O limite de detecção para o método direto é 0,01 mg L⁻¹ e para o método indireto 0,001 mg L⁻¹.

Este método tem a vantagem de ser simples, de baixo custo e facilmente reproduzível. Contudo, ainda apresenta algumas deficiências por apresentar os resultados de quantidades de fenol total, dos quais se incluem o fenol, fenóis orto e meta substituídos, e os fenóis para substituídos nos quais os substituintes são os grupos carboxila, haletos, metoxila ou sulfônicos. O método não determina os fenóis para-substituídos onde a substituição é um radical alquila, arila, benzoila ou um grupo aldeído por não reagirem com a 4-AAP. Além disso, apresenta alta sensibilidade a variações de pH, o produto da reação de alguns compostos fenólicos não podem ser extraídos com clorofórmio e utiliza solventes tóxicos ao meio ambiente¹⁴.

Um método que tem merecido destaque foi descrito por Nagaraj et al. [48] baseado na reação entre o fenol, pentacianonitrosilferrato de sódio ou comumente chamado de nitroprussiato de sódio (NP) e hidrocloreto de hidroxilamina (HH) em meio básico, formando um complexo de cor azul ([Fe₂(CN)₁₀]¹⁰⁻) segundo a reação mostrada na Figura 2⁴⁹. O método é rápido e sensível quando comparado ao método padrão, embora não seja satisfatório para a determinação de fenol em baixas concentrações, alcançando um limite de detecção igual a 0,1 mg L⁻¹.

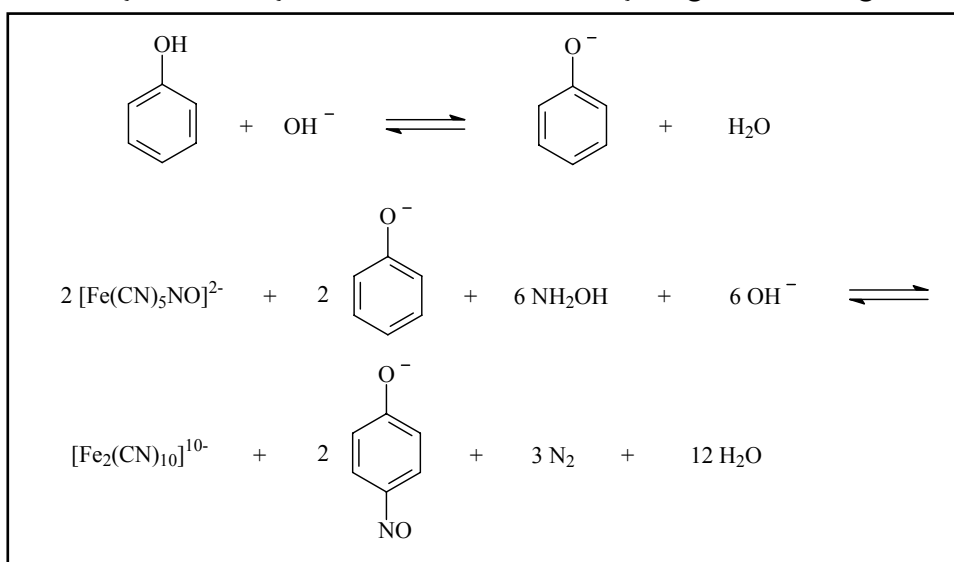


Figura 2. Etapas da reação entre nitroprussiato de sódio, hidroxilamina e fenol⁴⁹.

Para melhorar o método descrito anteriormente, Kang et al.⁴⁹ propuseram um novo método sem diluição das amostras, e estudou os parâmetros que podiam influenciar a determinação do fenol, como: comprimento de onda (λ) de máxima absorção, efeito das quantidades de reagentes, tempo de reação e estabilidade, ordem de adição dos reagentes e temperatura, além de investigar o mecanismo da reação, a composição e a estrutura do produto formado.

A metodologia proposta por Kang et al.⁴⁹ envolve um passo de pré-destilação das amostras, sendo todos os reagentes preparados em água destilada sem fenol. A adição dos reagentes segue a seguinte ordem: solução de fenol, solução de nitroprussiato, hidrocloreto de hidroxilamina e solução tampão em pH 12,00. Os tubos são agitados e após 15 minutos é lida a absorbância contra o branco (água destilada).

Os resultados mostraram que o máximo de absorbância ocorre a 700 nm. O método modificado alcançou melhor limite de detecção ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$), boa precisão (desvio padrão relativo=1,3%) e boa recuperação do analito (98%). Sendo que valores de teste F não mostraram diferenças significativas entre o método proposto e o método padrão empregando a 4-aminoantipirina.

Dos métodos cromatográficos, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um dos métodos mais frequentemente utilizados na análise de compostos fenólicos. Neste caso normalmente um passo de pré-concentração é utilizado antes da análise cromatográfica, como a SPME. A CLAE equipada a detecção ultravioleta (UV) e eletroquímica (DE) foi utilizada para analisar 11 compostos fenólicos, utilizando fibras de poliacrilato para extrair os analitos da amostra aquosa, obtendo uma faixa linear de $0,005$ a 30 mg L^{-1} para a detecção UV e 5×10^{-5} a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para a detecção DE. O limite de detecção (LD) foi entre $0,001$ e $0,018 \text{ mg L}^{-1}$ para a detecção UV e 1×10^{-5} a $0,012 \text{ mg L}^{-1}$ na detecção DE. Os desvios padrões relativos foram entre 12,2 e 15,3 % para repetibilidade e reprodutibilidade respectivamente. Na detecção UV os desvios padrões relativos foram entre 13,2 e 18,5 respectivamente. O método quando aplicado a amostras de rios mostrou resultados similares à água deionizada (Milli-Q) indicando que a

presença de componentes da matriz, tais como ácidos húmicos e fúlvicos não interferiram na extração dos compostos fenólicos ⁴¹.

A cromatografia gasosa é bastante explorada no sentido de se avaliar outros métodos de pré-concentração, que utilizem pouco ou nenhum solvente. Esta técnica, acoplada a outros tipos de detectores permite obter os resultados em baixos níveis de concentração em pequeno intervalo de tempo. A técnica de SPME-CG-MS foi recentemente validada estatística e experimentalmente para a análise de fenóis e clorofenóis em águas tratadas e brutas. As condições otimizadas foram obtidas usando fibras de poliacrilato, 20 mL de amostra, 10% de NaCl, pH 4,0 e extração direta a 35 °C e 1000 rpm, por 40 min. O método atendeu aos critérios de linearidade sendo o coeficiente de correlação $R^2 > 0,99$ e o coeficiente de variação menor que 10 % (valor máximo requerido para o método). Os limites de quantificação (LQ) para fenóis e clorofenóis foram entre $5,3 \times 10^{-5}$ e $9,1 \times 10^{-3}$ mg L⁻¹. A repetibilidade foi entre 11% e 19% para a menor concentração e 5,4 e 18% para a concentração mais alta. A recuperação e os efeitos do cloro livre estudados demonstraram que os efeitos de matriz são mais significantes em águas tratadas do que em águas superficiais, no entanto, a adição de tiosulfato de sódio permitiu aproximadamente 100% de recuperação para a maioria dos compostos estudados ³.

A técnica de cromatografia gasosa empregada com detecção por ionização em chama também foi avaliada para a determinação de fenol urinário de trabalhadores do setor de macharia de uma indústria de peças sanitárias. A técnica demonstrou ser precisa e exata com valores adequados de sensibilidade e linearidade ($R^2 > 0,99$). Em termos de recuperação a técnica empregada apresentou-se satisfatória demonstrando uma perda aceitável frente às condições propostas (recuperação superior a 87% para o fenol)⁵⁰.

Apesar dos bons resultados, as técnicas de CG e CLAE, ainda convivem com problemas tais como, complicados procedimentos de preparação da amostra, alto custo e longo tempo de análise, por isso técnicas como a fluorescência por laser-induzido (LIF) tem sido investigada. Como a maioria dos hidrocarbonetos

aromáticos são excitados no ultravioleta e na faixa espectral visível, a alta intensidade do sinal fluorescente pode ser usado para a detecção destes contaminantes. A técnica foi aplicada no monitoramento *in situ* dos níveis ambientais de EDCs fenólicos e apesar de problemas tais como a seletividade na distinção dos compostos, os resultados foram comparáveis aos obtidos por CG-MS mostrando uma tendência consistente em termos de variação sazonal e categorias locais, mostrando ser uma ferramenta poderosa para detecção de contaminantes *on line* e *in situ* em ambientes aquáticos, tendo como vantagens a redução de custo e tempo na análise e evitando complicados procedimentos experimentais como amostragem, *clean-up* e extração⁵¹⁻⁵².

Outra técnica recentemente bastante discutida e avaliada baseia-se na utilização de biossensores para a determinação de fenóis. O biossensor é um dispositivo que combina a especificidade de um elemento biológico ativo para o analito de interesse com a sensibilidade de um transdutor para converter o sinal proporcional à concentração do analito. Esta técnica tem se destacado por apresentar como características únicas: seletividade; relativo baixo custo de construção e estocagem; potencial para miniaturização; facilidade de automação e construção de equipamentos simples e portáteis para um monitoramento *in situ* rápido. Porém apresentam a desvantagem de não serem mais uma das técnicas analíticas clássicas, mas sim atuarem como um complemento a elas, pois alguns biossensores ainda podem apresentar problemas de estabilidade^{53,43}.

Além destas técnicas, a titulação potenciométrica, a polarografia, sensores de quartzo piezométricos, adsorção em sílica, extração líquida e cristalização, são utilizados para a determinação de fenol³³.

Apesar das metodologias existentes, o desenvolvimento de ferramentas analíticas que superem as limitações destas técnicas ainda é necessário. Uma vez, que se busca um método que reúna não só a especificidade, ou a alta sensibilidade, mas que sejam menos poluentes e principalmente economicamente viáveis.

1.3. Sistemas Aquosos Bifásicos

Os sistemas denominados sistemas aquosos bifásicos (SAB, ou em inglês aqueous two-phase system, ATPS), surgem como uma técnica analítica de extração alternativa para substituir as tradicionais técnicas de extração líquido-líquido (ELL) que fazem uso de solventes orgânicos, que normalmente são tóxicos, cancerígenos e, ou inflamáveis⁵⁴.

Os sistemas aquosos bifásicos atendem aos princípios da química verde, pois são constituídos majoritariamente por água, sendo os seus demais componentes formadores (polímeros e sais inorgânicos) não tóxicos e nem inflamáveis, o que os torna um sistema de extração ambientalmente seguro. Além disso, seus constituintes são comercialmente disponíveis e de baixo custo⁵⁵.

A formação dos SAB é conhecida desde o final do século XIX, quando, Beijerinck em 1896 descobriu que soluções aquosas de gelatina e ágar ou gelatina e amido solúvel, misturadas em uma dada faixa de temperatura e concentração, formavam misturas turvas que, em repouso, separavam-se espontaneamente em duas fases líquidas límpidas. A fase mais densa era enriquecida em ágar (ou amido) e a fase superior (FS) em gelatina, sendo que a água era o componente majoritário em ambas as fases^{56,57}. Porém, foi apenas com os trabalhos de Per-Åke Albertsson, em meados da década de 50, que ficou evidente para a comunidade científica a grande potencialidade de aplicação destes sistemas à partição/purificação de materiais biológicos, desde proteínas até células^{58,59}. Este fato estaria relacionado ao elevado teor de água em ambas as fases: meios ricos em água simulam o micro-ambiente natural das biopartículas evitando, assim, mudanças em suas estruturas e perda das atividades biológicas^{60,61}.

Após estas descobertas, os SAB têm sido usados com sucesso não só na extração de biopartículas (como vírus, ácidos nucleicos e proteínas)^{59, 62-64}, mas também na extração de compostos inorgânicos e orgânicos e a partir da metade dos anos 80, na extração de íons⁶⁵⁻⁷⁰. Sendo assim, torna-se importante conhecer

a formação e o comportamento destes sistemas a fim de aplicá-los à extração de novos compostos de interesse ambiental⁷¹.

A formação espontânea de um SAB ocorre quando dois polímeros quimicamente diferentes e hidrossolúveis, ou um polímero e um sal inorgânico são misturados em água, em determinadas condições termodinâmicas críticas estabelecidas, isto é, em uma faixa específica de temperatura, pressão e composição dos constituintes⁷².

Em geral, para um SAB produzido a partir de uma composição global, geralmente definida em termos de porcentagem massa/massa, % (m/m), observa-se que uma das fases formadas será rica em polímero e a outra rica em sal, sendo que, em ambas, predomina a água, Figura 3⁷³.

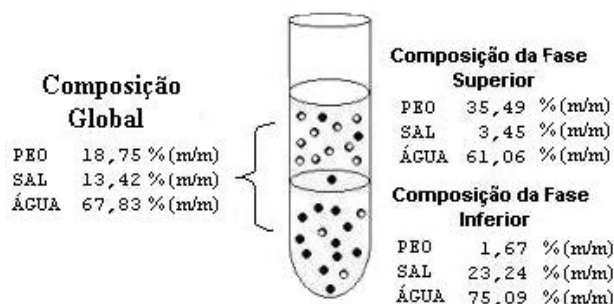


Figura 3. Parâmetros termodinâmicos para um ponto de mistura do sistema Poli (óxido de etileno) (PEO) 1.500 g mol^{-1} + fosfato de potássio + água, à 25 °C e $\text{pH} = 7$ ⁷³.

A composição química das duas fases que se encontram em equilíbrio termodinâmico, são geralmente representadas por meio de um diagrama de fases retangular conforme a Figura 4. Esta representação gráfica é de grande importância para os estudos de partição, pois é utilizada inicialmente como ferramenta fundamental para o desenvolvimento de um processo de extração. Os dados de equilíbrio apresentados nesses diagramas estão relacionados à variação da energia livre de Gibbs (ΔG^0) do sistema. Por sua vez, este parâmetro físico-químico auxilia na compreensão dos mecanismos que governam a partição de um íon no SAB⁷⁴.

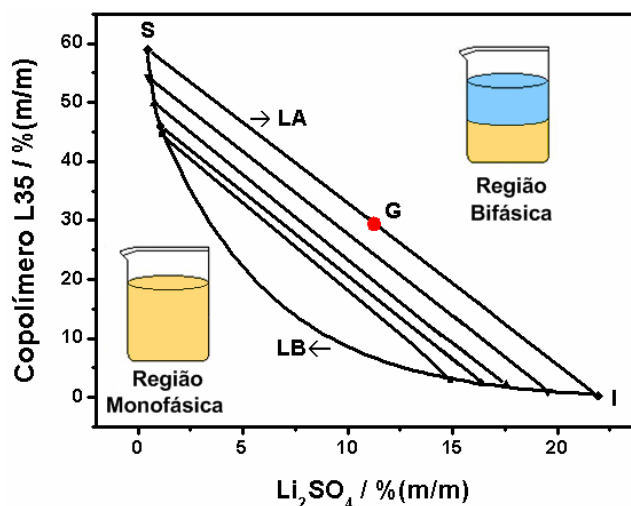


Figura 4. Diagrama de fases, expresso em coordenadas retangulares, de um SAB formado por copolímero L35, Li_2SO_4 e água, a $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}^{75}$.

Neste diagrama de fase, a abscissa representa a concentração de sal em % (m/m) e a ordenada a concentração do polímero em % (m/m) presentes no sistema. Desta forma, o diagrama informa em quais composições globais o sistema se encontra homogêneo ou heterogêneo, sendo essas duas regiões separadas pela linha binodal (LB). Portanto, valores de concentração de polímero e de sal abaixo da LB, correspondem a um sistema monofásico e valores de concentração de polímero e de sal acima da LB, correspondem a um sistema bifásico. A posição da binodal varia de acordo com o tipo e a massa molar média do polímero, natureza química do sal, temperatura e pH do meio. Existem diferentes métodos para a obtenção da linha binodal, sendo geralmente utilizados os métodos de titulação turbidimétrica e de análise das composições das fases⁶⁹.

No diagrama de fase, são também representadas as linhas de amarração (LA), que para uma determinada composição global do sistema (ponto G), fornece a composição das duas fases em equilíbrio, representadas pelos pontos S (fase superior) e I (fase inferior, FI) (Figura 4). A obtenção das linhas de amarração é de grande importância, pois, todas as misturas com composições globais representadas por pontos, presentes em uma mesma linha de amarração, fornecerão fases superiores com propriedades termodinâmicas intensivas (ex: composição) idênticas, porém com propriedades extensivas (ex: volume)

diferentes. O mesmo princípio aplica-se às fases inferiores. O ponto G, localizado no ponto médio da LA que une S e I representa um ponto em que se obtém um sistema bifásico, em equilíbrio termodinâmico, com o mesmo volume de fases superior e inferior.

Um parâmetro termodinâmico freqüentemente utilizado para medir a diferença das propriedades intensivas entre as fases em equilíbrio é o comprimento da linha de amarração (CLA). Este parâmetro é calculado em função das diferenças de concentrações dos componentes em cada fase, sendo que, tal parâmetro é representado matematicamente pela equação 1:

$$CLA = \sqrt{(C_{polímero}^{FS} - C_{polímero}^{FI})^2 + (C_{sal}^{FS} - C_{sal}^{FI})^2} \quad (1)$$

Sendo que, $C_{polímero}^{FS}$ e $C_{polímero}^{FI}$ representam as concentrações de polímero, em % (m/m), presentes na fase superior e inferior, respectivamente, enquanto C_{sal}^{FS} e C_{sal}^{FI} , representam as concentrações do sal, em % (m/m), presentes na fase superior e inferior respectivamente.

À medida que o valor do CLA aumenta, torna-se maior a diferença de composição entre as fases superior e inferior, elevando, conseqüentemente, a eficiência na extração e/ou partição do soluto de interesse.

1.3.1 Polímeros e Copolímeros: conceitos, estrutura molecular e propriedades

Macromolécula é um conjunto formado por um grande número de átomos ligados covalentemente formando uma cadeia principal, seguida em alguns casos de ramificações⁷⁶.

Segundo a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), polímero é definido como uma substância composta de moléculas caracterizadas pela múltipla repetição de uma ou mais espécies de átomos ou grupos de átomos (unidades constitucionais) ligados uns aos outros em quantidades suficientes para

fornecer um conjunto de propriedades que não variam acentuadamente com a adição ou remoção de uma ou de pequenas unidades constitucionais⁷⁶.

Portanto, o polímero poli (óxido de etileno), PEO, é uma macromolécula formada por uma cadeia principal constituída por unidades constitucionais repetitivas do tipo óxido de etileno (EO), (-CH₂-CH₂-O-), unidas por ligações covalentes e grupos terminais R₁= OH e R₂= H (Figura 5a).

A letra “n” representa o grau de polimerização do polímero, ou seja, indica quantos monômeros se repetem ao longo deste bloco. O grau de polimerização também é definido, matematicamente, pela Equação 2.

$$n_{\text{bloco "i" do copolímero}} = \frac{M_{\text{bloco "i"}} - (M_{R1(\text{bloco "i"})} + M_{R2(\text{bloco "i"})})}{M_{\text{monômero do bloco "i"}}} \quad (2)$$

Sendo, M_{bloco “i”}, M_{monômero do bloco “i”}, M_{R1} e M_{R2}, as massas molares do bloco “i”, do monômero referente ao bloco “i” e dos grupos funcionais referentes ao mesmo bloco, respectivamente.

O PEO é também chamado de Poli (etileno glicol), PEG, por ser obtido por meio de reações de polimerização a partir do etileno glicol, sendo que não há restrições quanto ao emprego de ambas as nomenclaturas. Geralmente o nome PEO é empregado para massas molares mais elevadas e PEG para menores.

Copolímero, segundo a IUPAC, é um tipo de polímero produzido a partir de dois ou mais tipos de monômeros que se repetem ao longo de uma cadeia principal, e tais monômeros estão ligados covalentemente entre si por ligações de coordenação ou deficiência de elétrons⁷⁷.

Os copolímeros da série *Pluronic* são macromoléculas constituídas por duas unidades monoméricas diferentes que se repetem ao longo da cadeia principal. As duas unidades monoméricas repetitivas são as de óxido de etileno (EO, Figura 5a) e de óxido de propileno (PO, Figura 5b)⁷⁸.

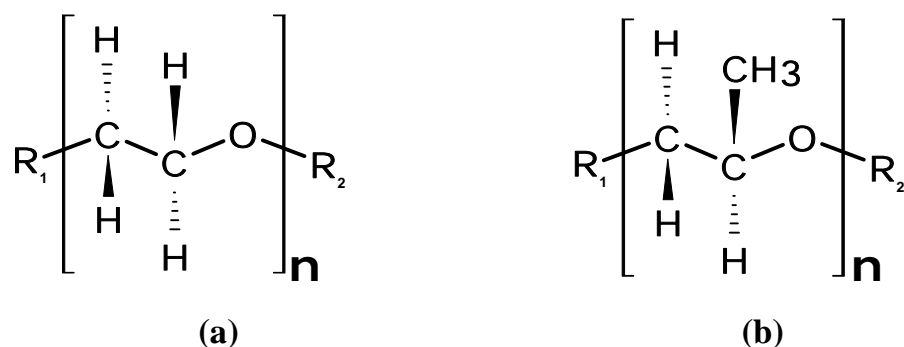


Figura 5. Estrutura molecular da unidade monomérica repetitiva do (a) óxido de etileno e (b) óxido de propileno.

Os copolímeros ocorrem, amplamente, na natureza e na indústria. As proteínas são copolímeros com aproximadamente vinte diferentes tipos de aminoácidos em ordem irregular, mas com a mesma seqüência em toda cadeia. Copolímeros sintéticos são produzidos para melhorar certas propriedades ou, até mesmo, como único meio de atingir essas propriedades.

Nas últimas décadas, os copolímeros blocos têm encontrado inúmeras aplicações na indústria química, farmacêutica e ambiental como agentes antiespumantes, emulsificantes, detergentes, lubrificantes e estabilizantes de dispersão coloidal, formulação de cosméticos e tintas, além de outras aplicações especializadas na área farmacêutica (solubilização e liberação controlada de drogas), em bioprocessamento (proteção de microorganismos contra danos mecânicos) e nas separações (solubilização de compostos orgânicos em soluções aquosas)⁷⁸. Além disso, devido suas propriedades não-tóxicas e sua natureza superficial ativa, os copolímeros blocos também encontram aplicação na área de biomateriais, liberação de drogas e na produção de remédios cardiovasculares⁷⁹.

Os copolímeros estão divididos em randômicos e em blocos. Nestes últimos, as diferentes unidades repetitivas são organizadas em grupos, sendo classificados de acordo com o número de blocos que cada molécula contém e com o modo pelo qual estão arranjados. A Figura 6 mostra alguns exemplos de arranjo molecular para os copolímeros.

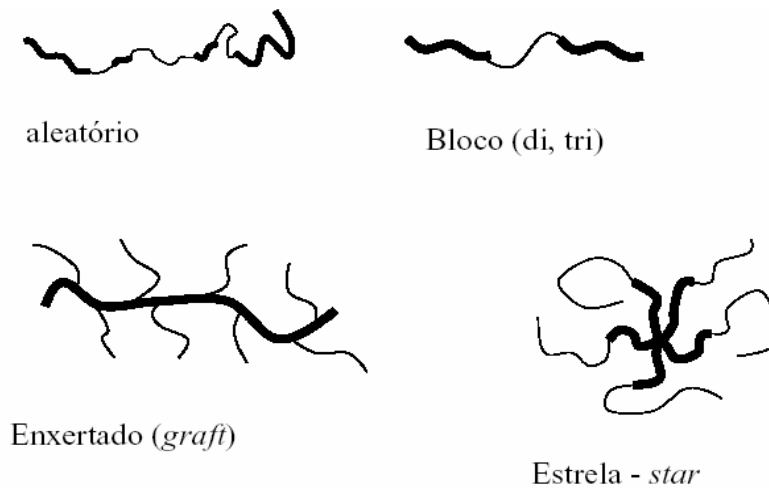


Figura 6. Arranjos moleculares para os copolímeros

Os copolímeros estão disponíveis numa extensão de massas molares que abrange de 1000 a 15000 g mol⁻¹ e razões de composição de PPO/PEO entre 10 a 80% em massa de PEO. A notação para os copolímeros blocos Pluronic (BASF) inicia-se com letras, seguidas de números. A letra “L” indica que o copolímero puro é líquido, “F” indica que o copolímero puro é formado por flocos, e “P” indica que o copolímero puro é uma pasta, todos à temperatura de 25 °C e pressão de 1,00 atm. Os números representam, respectivamente, o estado de agregação do copolímero puro (massa molar do bloco de poli (óxido de propileno) (PPO)) e a fração em massa de blocos de segmentos EO presentes no copolímero.

Portanto, o copolímero L35 é um líquido que possui, em média, 950 g mol⁻¹ de blocos EO e 50 % em massa desses blocos em sua estrutura. Geralmente o copolímero L35 é representado por (EO)₁₁(PO)₁₆(EO)₁₁ (Figura 7).

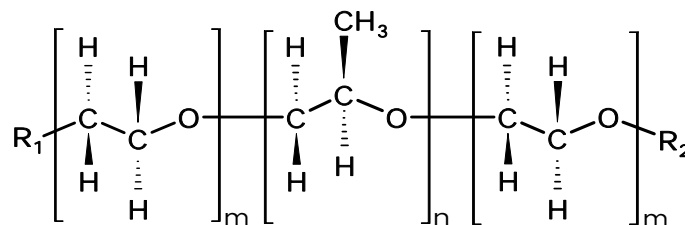


Figura 7. Estrutura molecular de um copolímero tribloco formado por PEO–PPO–PEO.

As macromoléculas dos polímeros e dos copolímeros nunca são do mesmo tamanho, em outras palavras, as amostras poliméricas são, na verdade, uma mistura de moléculas com tamanhos diferentes. A maioria das amostras de polímeros ou copolímeros consiste de uma mistura de polímeros ou copolímeros com diferentes graus de polimerização, ou seja, tais amostras são de natureza polimolecular⁷⁷.

A macromolécula do copolímero L35 é constituída de duas regiões polares, referentes aos dois blocos com segmentos EO, e uma região apolar, referente ao bloco com segmentos PO. Quando em meio aquoso, estas macromoléculas apresentam-se solvatadas. A interação segmento PO/H₂O é mais intensa que a interação segmento PO/segmento PO que se estabelece entre a mesma macromolécula ou uma vizinha, no entanto, estas macromoléculas preferem fazer interações do tipo segmento PO/segmento PO e liberar moléculas de água para o seio da solução, aumentando assim a entropia configuracional do sistema, mesmo que para isso interações entálpicas menos favoráveis devam ser mantidas. O fenômeno descrito é chamado de efeito hidrofóbico.

Devido ao efeito hidrofóbico, o copolímero L35, acima de uma determinada concentração, denominada concentração micelar crítica (CMC), forma agregados moleculares, chamados de micelas⁷⁹⁻⁸² que são estruturas organizadas e dinâmicas que são formadas e destruídas constantemente segundo estudos cinéticos. Tais micelas são constituídas por um núcleo hidrofóbico, constituído por interações segmento PO/segmento PO e uma coroa hidrofílica, constituída por segmentos EO⁷⁸⁻⁸³.

O copolímero L35, quando empregado na construção do SAB, confere uma importantíssima aplicação analítica, que é a solubilização de solutos insolúveis em água, propiciada pela existência de um ambiente micelar. O domínio hidrofóbico é capaz de acondicionar moléculas do soluto pouco solúvel em água⁷⁹⁻⁸⁸.

1.3.2 Aplicações dos sistemas aquosos bifásicos na partição de solutos

Desde o trabalho pioneiro de Albertsson, um dos principais objetivos do estudo e desenvolvimento de novos SAB é extrair e purificar materiais. Solutos, quando presentes num SAB, se particionam/distribuem entre as duas fases.

O coeficiente de partição, K , é um parâmetro termodinâmico definido pela razão das atividades $\mu_s^{o; fase}$ do soluto presente nas fases superior e inferior, respectivamente, do SAB. Geralmente os estudos de partição são realizados em concentrações muito baixas de soluto, podendo ser considerado como sendo realizado em regime de diluição infinita, de maneira que o coeficiente de atividade, $\gamma_{i,\infty}$, tende a 1 e a atividade torna-se igual à concentração. Em tal situação, o K é calculado pela razão entre a concentração do soluto na FS e a mesma espécie na FI.

$$K_s = \frac{[C_s]_S}{[C_s]_I} \quad (3)$$

Em que “C” é concentração do soluto, e os sub-índices “S” e “I” representam fase superior e fase inferior, respectivamente.

O comportamento de partição depende de inúmeras propriedades físico-químicas associadas ao sistema (natureza química do polímero e do eletrólito, temperatura, presença de co-solutos, pH, valor do CLA, concentração do soluto e a própria composição das fases do SAB).

Até o momento os SAB foram aplicados em sua grande maioria na partição de biopartículas, entretanto existe uma lacuna de aplicações dos SAB a outros tipos de solutos. Como veremos a seguir ainda é incipiente a aplicação de SAB a extração de metais, bem como a outros solutos.

1.3.2.1 Partição de Biopartículas

A partição/purificação de biopartículas iniciou-se em 1956 com os

trabalhos de Per-Åke Albertsson ao perceber que além da separação de fases ocorria a partição/purificação de materiais biológicos, desde proteínas, vírus, ácidos nucleicos até outras biopartículas.

As técnicas empregadas em biosseparações devem assegurar que a atividade biológica das moléculas não seja afetada além de obter-se elevada pureza e rendimento. Uma das técnicas de purificação, que preenchem estes requisitos, é a partição de biomoléculas por extração líquido-líquido em sistemas aquosos bifásicos⁷³. Ela eliminou dois problemas referentes à aplicação de sistemas água-solvente orgânico para purificação de biopolímeros: a desnaturação e/ou efeitos de precipitação e a partição extrema de proteínas para uma das fases, por conter em ambas as fases uma grande quantidade de água, oferecendo assim um meio suave para células, organelas celulares e proteínas biologicamente ativas⁵⁸.

A Tabela 1 mostra alguns exemplos de biopartículas recentemente estudadas em diferentes SAB.

Tabela 1. Biopartículas particionadas em diferentes SAB

Biopartícula	Sistema Aquoso Bifásico		Ref
	Componente 1	Componente 2	
Albumina bovina	Dextrana	Ficoll, tampão fosfato	69
Albumina humana	Dextrana	Ficoll	69
Cisteína, fenilalanina, metionina e lisina	PEO ^a	K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄	88
Insulina	PEO-PPO-PEO ^b	K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄	90
Morfina	PEO	K ₂ HPO ₄	91
Protease de <i>Bacillus Subtilis</i>	PEO	K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄	92
Proteínas anticorpos	PEO	Na ₂ HPO ₄ /K ₂ HPO ₄	93
Rotavírus	PEO	(NH ₄) ₂ SO ₄ ou K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄	94

^a Poli(óxido de etileno); ^b Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno).

1.3.2.2 Partição de íons metálicos

Embora os SAB tenham sido descobertos em 1896 por Beijerinck^{56,57}, o primeiro estudo destes sistemas voltados à partição de íons metálicos surgiu apenas em 1984, com os trabalhos de Zvarova e colaboradores⁹⁵, que estudaram a partição de íons metálicos na presença de agentes extratores solúveis em água.

Assim como a partição de bio-solutos, a partição de íons metálicos nos SAB também é influenciada pelos fatores: temperatura, pH, concentração dos componentes em cada fase (CLA), tipo de polímero e de eletrólitos, de aditivos e de agentes complexantes adicionados, e da natureza do soluto. Além disso, a utilização de polímeros com raio hidrodinâmico pequeno visa aperfeiçoar características do sistema como viscosidade, solubilidade do polímero e tempo de separação das fases⁹⁶.

Os tipos de SAB mais empregados para a partição de íons são aqueles do tipo polímero + eletrólito + água, visto os coeficientes de partição serem maiores nestes sistemas do que nos SAB formados por dois polímeros.

Em geral, os trabalhos desenvolvidos até o momento mostram que, nos SAB, a extração de íons metálicos é conduzida de três formas: (a) na presença de um extratante solúvel em água; (b) utilizando-se um extratante ligado ao polímero; (c) na ausência de qualquer agente extrator.

Dentre as três formas de extração, a mais empregada é aquela em que se usa complexantes orgânicos ou inorgânicos solúveis em água. Em geral, esses extratantes promovem uma melhoria na partição dos íons metálicos para a fase rica em polímero. Essa melhora é decorrente de uma maior interação do complexo metálico formado, com os componentes presentes na fase polimérica. Desta forma, a escolha do tipo e concentração do extratante a ser utilizado é importante, pois, este pode otimizar a extração e, ou separação entre um grupo de metais existentes em uma amostra. A Tabela 2 apresenta alguns exemplos de SAB, aplicados para extração de diversos íons metálicos na presença ou ausência de extratantes.

Tabela 2. SAB aplicados à partição de metais

Componente 1	Componente 2	Íon metálico
PEO ^a	Dextrana Sulfato de Sódio ou Dextrana	Actinídeos ⁹⁷
PEO	Na ₂ SO ₄ ou (NH ₄) ₂ SO ₄	Am ³⁺ , UO ₂ ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Sb ³⁺ , Mo ⁵⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Th ⁴⁺ , Lu ³⁺ ⁹⁸
PEO	NH ₄ SCN	Fe ³⁺ , Co ²⁺ , Eu ³⁺ , Zr ⁴⁺ , Sc ³⁺ , Bi ³⁺ ⁹⁹
PEO	K ₂ CO ₃ ou Na ₂ CO ₃	Cf ³⁺ , Th ⁴⁺ , Pu ⁴⁺ , Bk ³⁺ , Ce ³⁺ , Np ⁵⁺ , Am ³⁺ ⁹⁸
PEO	NaOH ou KOH	Ba ²⁺ , Cs ⁺ , Sr ²⁺ , Ca ²⁺ , Na ⁺ , Rb ⁺ ^{98,97}
PPO-2000 ^b ou PVP-K15 ^c	(NH ₄) ₂ SO ₄	TcO ₄ ⁻ ¹⁰⁰
Pluronic-L64 ^d	K ₃ PO ₄ ou NaOH ou (NH ₄) ₂ SO ₄	TcO ₄ ⁻ ¹⁰⁰

^a poli(óxido de etileno)

^b poli(óxido de propileno) de massa molar 2.000 g mol⁻¹.

^c polivinilpirrolidona de massa molar 10.000 g mol⁻¹.

^d copolímero bloco de massa molar 2.900 g mol⁻¹, constituído de poli(óxido de etileno) e poli(óxido de propileno)

Ao contrário do número reduzido de estudos acerca da influência da natureza do polímero sobre o coeficiente de distribuição dos íons metálicos, é grande o número de trabalhos que estudaram o efeito do tipo de eletrólitos sobre a distribuição de espécies carregadas nos SAB¹⁰⁰⁻¹⁰⁵. Isto ocorreu por que é marcante a influência, que a natureza do eletrólito formador dos SAB exerce sobre os valores de porcentagem de extração dos metais¹⁰¹.

Para comparar o efeito de diferentes componentes sobre a partição de íons, é fundamental que a análise ocorra em SAB que possuam o mesmo comprimento de linha de amarração. Isto se deve ao fato de que diferentes SAB possuem distintas curvas binodais e, conseqüentemente, uma mesma composição global produz fases com diferentes propriedades termodinâmicas, causadas apenas pela diferença em composição química (CLA).

Estudos recentes demonstram que os SAB formados por copolímero L35 e Li_2SO_4 em associação com agentes extratores solúveis (SCN^- e I^-) e insolúveis em água (1N2N e PAN) mostram-se eficientes na extração dos íons metálicos Cd(II), Cu(II), Fe(III) e/ou Zn(II). Os íons Cd(II), Fe(III) e Zn(II) foram extraídos em 98, 100 e 100% para o emprego do agente extrator NaSCN (pH igual a 6,0, 0,80 e 6,0). Os íons Cd(II) e Fe(III) em 100 e 14% para o emprego do agente extrator KI (pH igual a 6,0 e 0,80). Os íons Cd(II) e Fe(III) em 25 e 25% para o agente extrator 1N2N (pH = 6,0). Os íons Cd(II), Cu(II), Fe(III) e Zn(II) em no máximo 71, 36, 100 e 100% para o emprego do agente extrator 1N2N (pH 1 a 13) e os íons Cd(II) em no máximo 81% para o emprego do agente extrator PAN (pH 1 a 13)⁸⁸.

1.3.2.3 Partição de complexos inorgânicos

Até os últimos anos não era conhecido nenhum cátion metálico que se transfiria preferencialmente para fase rica em polímero. Porém em 1995, com os trabalhos de Rogers e colaboradores¹⁰¹ foi descoberto o primeiro ânion, o pertecnetato (TcO_4^-), a se concentrar preferencialmente na fase rica em polímero sem a utilização de agente extrator.

A importância dos estudos realizados, envolvendo a partição desse ânion (TcO_4^-) em SAB, está relacionada ao interesse de promover a purificação de amostras de ^{99}Tc para sua reutilização em procedimentos envolvidos na medicina nuclear, remover o $^{99}\text{TcO}_4^-$ de resíduos nucleares altamente alcalinos, no qual o elevado tempo de meia-vida ($t_{1/2} = 2,12 \times 10^5$ anos) e elevada mobilidade

ambiental do ^{99}Tc apresenta problemas para longos tempos de estocagem e, separar os radioisótopos de metais do grupo 1 e 2 presentes em grande quantidade em resíduos alcalinos, uma vez que estes interferem, significativamente, no processo de remoção seletiva de outros componentes, como pertecnatato e actinídeos^{102,106}.

Buscando maior compreensão da partição de ânions em SAB, em 2006 foi descoberto por da Silva et al.¹⁰⁷ um segundo ânion que se transfere, preferencialmente, para a fase enriquecida em polímero. Trata-se do ânion complexo hexacoordenado pentacianonitrosilferrato ($[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$), comumente conhecido na literatura como nitroprussiato, NP, (Figura 9).

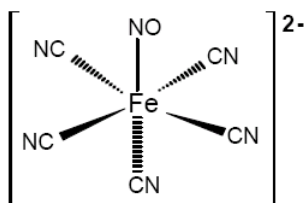


Figura 8. Representação da estrutura tridimensional octaédrica do complexo aniônico nitroprussiato (NP).

O nitroprussiato é um composto bastante utilizado como fonte de (NO) em diversos meios fisiológicos para o tratamento contra hipertensão em razão de sua propriedade vasodilatadora, bem como em tratamento fotodinâmico de doenças, devido sua fotolabilidade, e também em processos cirúrgicos^{108,109}.

Os resultados de partição do NP em SAB formado por poli(óxido de etileno) de massa molar 35000 g mol^{-1} (PEO35000) e sais de sulfatos (sódio, magnésio e lítio) (Figura 9) mostram a forte afinidade do ânion pela fase polimérica. Foi observado que o tipo de eletrólito influencia nos valores do coeficiente de partição, sendo que para um mesmo valor de CLA verifica-se a seguinte ordem crescente: $\text{MgSO}_4 < \text{Na}_2\text{SO}_4 < \text{Li}_2\text{SO}_4$ ¹⁰⁷.

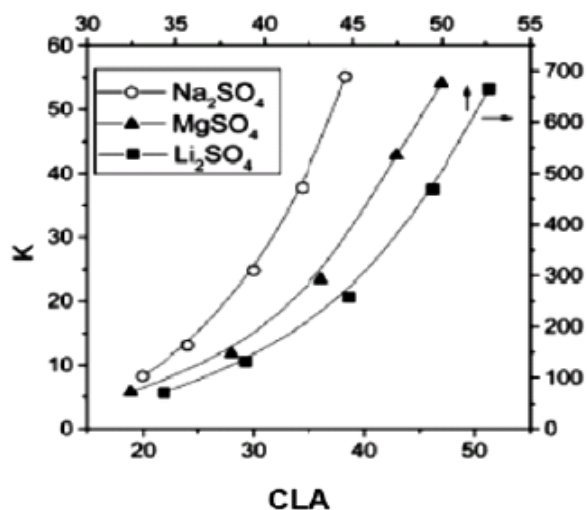


Figura 9: Coeficientes de partição do NP²⁻ em função do CLA em SAB formados por PEO35000 em diferentes sais de sulfato¹⁰⁸.

Os pesquisadores apontam que o comportamento de partição do NP²⁻ é regido por forças de natureza entálpica, ou seja, a interação específica do grupamento nitrosil, NO, do ânion com os segmentos EO do polímero é bastante intensa. Esta idéia foi confirmada por medidas espectroscópicas na região do infravermelho (IV), em que uma intensa alteração na frequência de estiramento do grupo NO, $\nu(\text{NO})$, do nitroprussiato em água e em PEO foi observada e que este parâmetro independe da massa molar do polímero. Os elevados valores do coeficiente de partição encontrados no SAB formado pelo sal Li₂SO₄ são explicados pelo modelo de interação Li⁺-EO e pela formação de um pseudopolicátion, conseqüentemente uma interação eletrostática entre o NP e o pseudopolicátion é formada. Além disso, resultados calorimétricos confirmam as idéias relacionadas com contribuições específicas de entalpia que determinam o particionamento do nitroprussiato em SAB.

Em 2007 foi descoberto um terceiro ânion complexo que se transfere espontaneamente para a fase rica em polímero do SAB, o ânion hexanitrocobaltato ($[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]^{3-}$)¹¹⁰, que assim como o nitroprussiato, possui diversas aplicações analíticas, medicinais e farmacêuticas. O ânion hexanitrocobaltato se transferiu para a fase polimérica do SAB de forma mais intensa do que os ânions pertecnetato (TcO₄⁻) e nitroprussiato, (NP). A

preferência do ânion complexo $[(\text{Co}(\text{NO}_2)_6)]^{3-}$ pela fase rica em polímero dos SAB ocorre via interações intermoleculares específicas entre o complexo, especialmente no sítio de um dos grupamentos nitro (NO_2), e os segmentos EO do polímero ou dos copolímeros graças aos pares de elétrons não- ligantes dos átomos de oxigênio .

A partição destes anions entre as fases pode ser melhor compreendida em termos de interações intermoleculares na mistura, descritas pelo parâmetro termodinâmico chamado de energia livre de transferência, $\Delta_{tr}G^\circ$ e calculada pela relação clássica da termodinâmica: $\Delta_{tr}G^\circ = -RT\ln K_c$, que relaciona diretamente o coeficiente de partição K_c , do ânion com o $\Delta_{tr}G^\circ$. Este parâmetro informa a energia total envolvida no processo de transferência do soluto de uma fase para a outra do SAB. O ânion pentacianonitrosilferrato, por exemplo, mostra alta afinidade com a fase superior alcançando valores de K_c iguais a 120. Assim, o processo de partição é dito espontâneo, pois o valor do parâmetro termodinâmico $\Delta_{tr}G$ foi negativo, ou seja, a partição do complexo para a fase polimérica ocorreu para minimizar a energia livre de Gibbs do sistema¹¹⁰.

1.4 CONCLUSÃO

Conhecendo-se o grande potencial poluidor dos compostos fenólicos (elevada toxicidade, mutagenicidade e bioacumulação) e sua importância no âmbito industrial, seja este químico, petroquímico, farmacêutico, agropecuário ou até mesmo medicinal, percebe-se a necessidade de monitorar os níveis de descarte destes compostos no ambiente.

Busca-se desta forma desenvolver novos métodos de determinação que sejam confiáveis, sensíveis, rápidos, de baixo custo, que permitam um monitoramento in situ, mas que sejam também ambientalmente seguros, substituindo os métodos clássicos que utilizam uma grande quantidade de reagentes e solventes perigosos.

O sistema aquoso bifásico é uma técnica de extração alternativa e

promissora que atende aos princípios da química verde, uma vez que se utiliza polímeros biodegradáveis e reutilizáveis, e reagentes de baixo custo. Além disso, são simples de serem construídos e altamente eficientes.

Neste trabalho busca-se desenvolver um novo método para a determinação de fenol em água, utilizando um SAB constituído por copolímero tribloco L35 e sais inorgânicos baseando-se nas vantagens da utilização de sistemas macromoleculares micelares e determinações espectrofotométricas.

Referências Bibliográficas

- [1] Lupetti, K.O.; Rocha, F. R. R.; Fatibello - Filho, O.; *Talanta* 62 **2004**, 463–467.
- [2] Rosatto S. S.; Freire, R. S.; Duran, N. Kubota L. T.; *Quim. Nova*, Vol.24, **2001**, 77-86.
- [3] Simões, N. G.; Cardoso, V. V.; Ferreira. E.; Benoliel. J.; Almeida, C. M. M.; *Chemosphere* 68 **2007**, 501–510.
- [4] Nameroff, T. J.; Garant, R. J.; Albert, M. B.; *Res. Policy*, **2004** 33(6-7): 959-974.
- [5] Haitaio, L.; Mancai, X.; Zuoqing.; Binglin, H.; *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, 271, 47-53.
- [6] da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Coimbra, J, S, R.; Minim, L, A.; *Quim. Nova*, **2006**, 29, 1332.
- [7] Puig, D.; Barcelo', D.; *Trends Anal. Chem.* 15 **1996**, 362.
- [8] Nielson, A. H.; Allard, A. S.; Hynning, P. A.; Rememberger, M.; *Toxicol. Environ. Chem.* 30 **1991** 3.
- [9] Ohlenbusch, G.; Kumke, M. U. Frimmel, F. H.; *Sci. Total Environ.* 253 **2000**, 63.
- [10] Tremp, J.; Mattrel, P.; Fingler, S.; Giger, W.; *Water Air Soil Pollut.* 68 **1993**, 113.

- [11] Moldoveanu, S. C.; Kiser, M.; *J. Chromatogr. A* 1141 **2007**, 90–97.
- [12] Gatti, R., Gioia, M. G.; Di Pietra, A. M.; Cavrini, V.; *Anal. Chim. Acta* 447 **2001**, 89.
- [13] [http:// www.mma.gov.br/conama](http://www.mma.gov.br/conama), acessada em 10 de julho de 2008.
- [14] Eaton, A. D.; Clesceri, L.S.; Greenberg, A. E.; *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th ed., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation: Washington, **1995**.
- [15] Pérez – Magariño, S.; Revilla I.; González - San José, M. L.; Beltrán, S.; *J. Chromatogr. A*. **1999**, 847(1-2): 75-81.
- [16] Campanella, L.; Beone, T.; Sammartino, M. P.; Tomassetti, M.; *Analyst* **1993**, 118, 979.
- [17] Van Schie, P. M.; Young, L. Y.; *J. Bioremediation*. **2000**, 4:1:1-18.
- [18] Timur, S., Pazarlioglu, N., Pilhoton, R., Telefoucu, A.; *Sens. Actuators, B* **2004**, 92:132-136.
- [19] Robards, K.; *J. Chromatogr. A* 100 **2003**, 657.
- [20] Wu, G.; Zhou, Z.; Chu, B.; *Macromolecules* 26 **1993**, 2117.
- [21] Fernandes, R.; Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, **2005**.

- [22] Munteer, A. H., Mokfienski, J. J.; Amorim, F.; *O Papel*, São Paulo, v.66, n.3, p.64-70, **2005**
- [23] Pires, E. C. Buzzinni, A. P. *Congresso Brasileiro da Associação Técnica de Celulose e Papel - ABTCP*, 32, Brasil, **1999**.
- [24] Morais, A. A. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2006**.
- [25] Federal Register, EPA Method 604, Phenols, Part VIII, 40 CFR part 136, *Environmental Protection Agency*, Washington, DC, 26, October **1984**, p. 58.
- [26] EPA Method 625, Basic/ Neutral and Acids, Part VIII, 40 CFR Part 136, *Environmental Protection Agency*, Washington DC, **1984**, p. 153.
- [27] EPA Method 8041, Phenols by Gas Chromatography: Capillary Column Technique, *Environmental Protection Agency*, Washington, DC, **1995**, p. 1.
- [28] Juang, S. R; Shiau, Y. J.; *J. Hazard. Mater.* B 70, 171-183, **1999**
- [29] Teng, H.; TO, C.; *J. colloid Interface sci* 230, 171-175, **2000**.
- [30] Alberici, M. R. Tese de mestrado- ISQ- Universidade de Campinas, Brasil, **1992**.
- [31] Cesconetto. N. G.; Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, **2002**.
- [32] Brito. F.D, *Toxicologia humana e Geral*, 2ª edição, Livraria Atheneu - Rio de Janeiro- São Paulo, **1988**, 240 – 247,.
- [33] Rosa. S. M. C; Raizern. E.; Tese de Mestrado, Universidade Federal de

Santa Catarina, Brasil, **1995**.

[34] Viraraghavan. T.; Flor. M.; *J. Hazard. Mater.* 57, **1998**, 59-70.

[35] Velasco, M. V. R., Okubo, F. R.; Ribeiro, M. E. Steiner, D.; Bedin, V. *An. Bras. Dermatol.* 79, **2004**, 91-99.

[36] Luttrell, W. E. *Chemical Health & Safety* 10, **2003**, 20-21.

[37] Barták, P., Frnková, P., Cáp, L.; *J. Chromatogr. A* **2000**, 867, 281. 287.

[38] *European Standard*, **1998**. EN12673:1998, Water Quality. Gas Chromatographic Determination of Some Selected Chlorophenols in Water.

[39] Kovacs, A.; Kende, A.; Mortl, M.; Volk, G.; Rikker, T.; Torkos, K.; *J. Chromatogr. A* 1194 1, **2008**, 139-142.

[40] Saitoh, T.; Nakayama, Y.; Hiraide, M.; *J. Chromato. A*, 972 **2002**, 205-209.

[41] Penãlver A.; Pocurull, E.; Borrul, F.; Marcé, R. M.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 953, 79-87.

[42] Wada, M.; Kinoshita, S.; Itayama, Y.; Kuroda, N.; Nakashima, K.; *J. Chromatogr. B* 721 **1999** 179.

[43] Svitel, J.; Miertus, S.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 828

[44] Rodrigues, I.; Llompart, M. P.; Cela, R.; *J. Chromatogr. A* 885 **2000**, 291-304.

- [45] Zhao, L.; Lee, H. K.; *J. Chromatogr. A* 931 **2000**, 95-105
- [46] <http://www.cetesb.sp.gov.br>, cessada em 10 de julho de **2008**.
- [47] ABNT-*Associação Brasileira de Normas Técnicas*-01.043 NBR 10740 SET/**1989**.
- [48] Nagaraj, P.; Bhandari, J. M.; Achar, B. N.; *Indian J. Chem.* 32 A 7 **1993**, 641-643.
- [49] Kang, C.; Wang, Y.; Li, R.; Du, Y.; Li, J.; Zhang, B.; Zhou, L.; Du, Yuzhong. *J. Microchemical* 64 **2000**, 161-171.
- [50] Severo, T. P.; Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, **2006**.
- [51] Ko J. E.; Kim, K. W.; Kang, S.Y.; Kim, S. D.; Hamm, S. Y.; Kim, S. D.; *Talanta* 73 **2007** 674-683.
- [52] Goloubkova, T.; Sprintzer, P. M.; *Arq. Brás. Endocrinol. Metal* 44/4, **2000**, 323-330.
- [53] Rosatto, S. S.; Tese de Doutorado - Universidade de Campinas, Brasil, **2000**.
- [54] da Silva, M. C. H.; da Silva L. H. M.; Paggioli, F. J.; *Anal. Sci.* **2005**, 21, 933.
- [55] Lenardão, E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista, A. C. F.; Silveira, C. C.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 123.

- [56] Beijerinck, M. W.; *Zbl. Bakt. II Natur.* **1896**, 627, 698.
- [57] Beijerinck, M. W.; *Kolloid Z. Z. Polym.* **1910**, 7, 16.
- [58] Tiselius, A.; Porath, J.; Albertsson, P.A.; *Science* **1963**, 141,13.
- [59] Albertsson; P-Å. Partition of Cell Particles and Macromolecules, 3rd ed., Wiley, New York, **1986**.
- [60] H. Walter, G. Johansson, *Methods in Enzymology*, vol. 228, Academic Press, Londres, 1994, pp. 600–608.
- [61] Walter, H., Brooks, D. E., & Fisher, D. (**1985**). Partitioning in aqueous two-phase systems. New York: Academic Press.
- [62] Klomklao, S.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Simpson, B. K.; Kishmura, H.; *Process Biochem.* **2005**, 40, 3061.
- [63] Giraldo-Zuniga, A. D.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; Rojas, E. E. G.; *J. Food Eng.* **2006**, 72, 302.
- [64] Terreni, M.; Ubiali, D.; Pagani, G.; Hernandez - Justiz, O.; Fernandez - Lafuente, R.; Guisan, J. M.; *Enzyme Microb. Technol.* **2005**, 36, 672.
- [65] Esmanhoto, E.; Kilikian, B. V.; *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2004**, 807, 139.
- [66] Rito - Palomares, M.; *J. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, 12, 535.
- [67] Griffin, S. T.; Spear, S. K.; Rogers, R. D.; *J. Chromatogr., B: Anal. Technol.*

Biomed. Life Sci. **2004**, 807, 151.

[68] Zaslavsky, B. Y. *Anal. Chem.* **1992**, 64, 765 A,.

[69] Zaslavsky, B. Y. *Aqueous Two Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications*, Marcel Dekker: New York, **1995**

[70] Amin, A. S.; Issa, Y. M. *J.Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 31, 785-794, **2003**.

[71] Ishii, K.; Tanaka, Y.; Hata, K.; Goto, M.; Saitoh, K.; Minamisawa, H.; Shibukawa, M.; *Bunseki Kagaku* **2004**, 53, 911.

[72] da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J. *Quim. Nova*,. 29, 6, **2006** 1332-1339,

[73] Züniga, A. D. G., Tese de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2000**.

[74] da Silva, L. H. M.; Meirelles, A. J. A. *Carbohydr. Polym.* **2001**, 46, 267,

[75] da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M; Amim Junior, J.; Guimarães, R. O.; Martins, J. P.; *J. Chem. Eng. Data* **2006**, 51, 2260.

[76] Elias, Hans-Georg.; *Macromolecules: structure and properties*; vols. 1 e 2, **1928**.

[77] Van Krevelen, D. W. *Properties of Polymers*, Amsterdam: Elsevier, 875p, 3^a ed., **1992**.

- [78] Alexandridis, P.; Hatton, T. A.; Holzwarth, J. F.; *Macromol.* **1994**, *27*, 2414.
- [79] Alexandridis, P.; Hatton, T. A.; *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **1995**, *96*, p.1-46.
- [80] Kozlov, M. Y.; Melik-Nubarov, N. S.; Batrakova, E. V.; Kabanov, A. V.; *Macromol.* **2000**, *33*, 3305.
- [81] Bromberg, L.; Temchenko, M.; *Langmuir.* **1999**, *15*, 8627.
- [82] Xing, L., Mattice, W. L., *Macromol.* **1997**, *30*, 1711.
- [83] Ruy, R. B.; Tese de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2007**.
- [84] Hamley, I. W. (Editor); The physics of block copolymers, *Oxford University Press*, New York, **1998**.
- [85] Mao, G.; Sukumaran, S.; Beaucage, G.; Saboungi, M. L.; Thiyagarajan, P.; *Macromol.* **2001**, *34*, 4666.
- [86] Lopes, J. R. Watson, L.; *Langmuir.* **1998**, *14*, 750.
- [87] Förster, S.; Zisenis, M.; Wenz, E.; Antonietti, M.; *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 9956.
- [88] Rodrigues, G. D.; da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *Sep. Purif. Technol.* **62** **2008** 689 –695.
- [89] Shang, Q. K.; Li, W.; Jia Q.; Li, D. Q.; *Fluid Phase Equil.* **2004**, *219*, 195.

- [90] Haraguchi, L. H.; Mohamed, R. S.; Loh, W.; Pessôa Filho, P. A.; *Fluid Phase Equil.* **2004**, 215, 1.
- [91] Li, S.; He, C.; Gao, F.; Li, D.; Chen, Z.; Liu, H.; Li, K.; Liu, F.; *Talanta* **2007**, 71, 784.
- [92] Chouyyok, W.; Wongmongkol, N.; Siwarungson, P.; Seeroong, N.; *Proc. Biochem.* **2005**, 40, 3514.
- [93] Platis, D.; Labrou, N. E.; *J. Chromatog. A*, **2006**, 1128, 114.
- [94] Benavides, J.; Mena, J. A.; Cisneros-Ruiz, M.; Ramírez, O. T.; Palomares, L. A.; Rito-Palomares, M.; *J. Chromatog B*, **2006**, 842, 48.
- [95] Zvarova, T. I.; Shkinev, V. M.; Vorob'eva, G. A.; Spinakov, B. Ya.; Zolotov, Yu. A.; *Mikrochim. Acta* **1984**, 3, 449.
- [96] Zafarani - Moattar, M. T.; Sadeghi, R.; *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 50.
- [97] Shkinev, V.M.; Molochnikova, N.P.; Spivakov, B.Y.; Myasoedov, B.F.; *Em Aqueous Biphasic Separations: Biomolecules to Metal Íon*; Rogers, R.D.; Eiteman, M.A., eds.; Plenum Press: London, **1995**.
- [98] Rogers, R. D.; Bond; A. H.; Bauer, C. B.; *Sep. Sci. Technol.* **1993**, 28, 139
- [99] Nifantéva, T. I.; Shkinev, V. M.; Spivakov, B. Ta.; Zolotov, Yu. A.; *Zh. Anal. Khim.* **1989**, 44(8), 1368.
- [100] Rogers, R. D.; Zhang, J.; *J. Chromatogr., B* **1996**, 680, 231.

- [101] Rogers, R. D.; Bauer, C. B.; Bond, A. H.; *Sep. Sci. Technol.* **1995**, 30 (7-9) 1203.
- [102] Rogers, R. D.; Bond; A. H.; Bauer, C.B.; Zhang, J.; *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, 47 (5/6), 497.
- [103] Rogers, R.D.; Bond, A.H.; Bauer, C.B.; Zhang, J.; Griffin, S.T.; *J. Chromatogr., B* **1996**, 680, 221.
- [104] Rogers, R. D.; Bauer, C. B.; *J. Chromatogr., B* **1996**, 680, 237.
- [105] Zhang, T.; Li, W.; Hou, W.; Gao, H.; Wu, J.; Xu, G.; Chen Jing; Liu, H.; Chen, Jiayong.; *Hydrometallurgy* **2001**, 62, 41.
- [106] Nair, A. G. C.; Das, S. K.; Deshmukh, S. M.; Prakash, S.; *Radiochim. Acta* **1992**, 57, 29.
- [107] da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 23540.
- [108] Shishido, S. M.; Oliveira, M. G.; *Photochem. Photobiol.* 71, **2000**, 273-280.
- [109] Shishido, S. M.; Oliveira, M. G.; *Prog. Reac. Kin. Mech.*; 26, **2000**,1468.
- [110] de Brito, G. M.; Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2007**.

Capítulo 2

Determinação espectrofotométrica de fenol em amostras aquosas utilizando um sistema aquoso bifásico, constituído pelo copolímero L35 e sulfato de lítio

Resumo

Neste trabalho foi desenvolvido um novo método espectrofotométrico simples e ambientalmente seguro para a determinação de fenol em amostras aquosas. O método baseia-se na reação entre o nitroprussiato de sódio, hidrocloreto de hidroxilamina e fenol em meio básico resultando em um composto de coloração azul-esverdeado decacianodiferrato ($[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$). Esta reação ocorre em um sistema aquoso bifásico (SAB) L35/ $\text{Li}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$, onde o produto formado se transfere preferencialmente para a fase superior do SAB onde é concentrado. A quantificação do fenol é realizada por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV/visível. O método foi aplicado a determinação de fenol em diferentes amostras de água, onde as mesmas foram dopadas com $0,5000 \text{ mg kg}^{-1}$ de fenol originando recuperações quantitativas entre 98% e 113 %. Sob estas condições a faixa de concentração variou de $0,2500$ a $2,000 \text{ mg kg}^{-1}$ com coeficiente de correlação linear igual a $0,99948$. O coeficiente de variação foi igual a $0,113 \%$ para concentração de fenol igual a $0,5000 \text{ mg kg}^{-1}$ e o limite de detecção e quantificação foram $0,0426 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,141 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente. O método proposto além de ser sensível é economicamente viável e principalmente menos poluente e mais seguro à saúde humana.

1. INTRODUÇÃO

A conscientização a respeito do uso da água e da conservação dos recursos naturais é crescente, principalmente devido a disponibilidade restrita das fontes de água doce e aos altos custos relativos a obtenção de água potável^{1,2}. A presença de fenóis nos diversos tipos de despejos industriais tem levado os órgãos governamentais a estabelecer limites rígidos e níveis ambientais aceitáveis desses poluentes.

As legislações ambiental brasileira e americana estabeleceram os limite de 0,001 mg L⁻¹ de fenol em águas naturais e 0,5 mg L⁻¹ para fenol total em efluentes de qualquer fonte poluidora³⁻⁴. As principais técnicas analíticas para a determinação de compostos fenólicos incluem a espectrofotometria¹, a cromatografia gasosa (CG) com detecção por ionização em chama (FID)⁵, por captura de elétrons (DCE)^{6,5} ou acoplada ao espectrômetro de massa (EM)⁷. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em combinação com detecção ultravioleta⁸, eletroquímica⁹, e/ou detecção fluorescente¹⁰, além da eletroforese capilar acoplada a diversos tipos de detectores, também são técnicas largamente empregadas¹¹.

Contudo, estes métodos apresentam as desvantagens de não permitirem um monitoramento contínuo *in situ*, pois são caros e necessitam de operadores bem treinados. Em alguns casos é necessária uma etapa de extração ou pré-concentração para alcançar os limites de quantificação requeridos para a determinação direta de fenóis em águas potáveis³, como no caso do método oficial adotado pela Associação de Saúde Pública Americana (APHA) que apesar de ser simples, de baixo custo e facilmente reproduzível, requer uma extração tediosa com clorofórmio para alcançar o limite de quantificação requerido¹². Além de apresentar alta sensibilidade a variações de pH, e o produto da reação de alguns compostos fenólicos não poder ser extraído com clorofórmio, sendo este solvente muito tóxico tornando o método perigoso para a saúde humana¹³.

Um método que tem merecido destaque foi descrito por Nagaraj et al.¹⁴. Este método se baseia na reação entre o fenol, nitroprussiato de sódio (NP) e

hidroclorato de hidroxilamina (HH) em meio básico, formando um produto de cor azul. O método é simples, estável, rápido e sensível quando comparado ao método padrão, embora não seja satisfatório para a determinação de fenol em baixas concentrações, alcançando um limite de detecção igual a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Em melhoria ao método descrito anteriormente, Kang et al.¹³ propuseram um procedimento sem diluição das amostras nos tubos de ensaio e adotou um passo de pré-destilação para as amostras de águas antes das análises, atingindo um limite de detecção um pouco mais baixo da ordem de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Contudo, ainda apresenta as desvantagens de sofrer interferência de concentrações acima de 100 mg L^{-1} de íons comuns, tais como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , NH_4^+ , Al^{3+} , entre outros, além de necessitar do passo de pré-destilação das amostras antes das análises.

Sendo assim, neste trabalho desenvolveu-se um método para a determinação de fenol utilizando um sistema aquoso bifásico (SAB)¹⁵⁻¹⁸, onde o produto gerado na reação do nitroprussiato de sódio (NP) com hidroclorato de hidroxilamina (HH) e fenol, em meio básico é pré-concentrado na fase superior do SAB (rica em copolímero), sendo determinado espectrometricamente na região do UV/visível, baseando-se nas vantagens da utilização de sistemas macromoleculares micelares e nas determinações espectrofotométricas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes

O copolímero tribloco L35, com massa molar média numérica igual a 1900 g mol^{-1} e fórmula molecular $(\text{EO})_{11}(\text{PO})_{16}(\text{EO})_{11}$, foi adquirido da ALDRICH (EUA). Os compostos $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99 %), hidroclorato de hidroxilamina, sulfato de lítio monohidratado (99 %), sulfato de sódio (99 %), hidrogenofosfato de potássio (99 %) e hidróxido de sódio (99 %), foram comprados da VETEC Química Fina LTDA (Brasil). O hidróxido de potássio (99%) foi obtido da Merck (Alemanha). O fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) foi adquirido da Aldrich (EUA) com 99% de pureza. Todas as soluções foram preparadas com

reagentes de grau analítico e em água destilada.

2.2. Preparo do SAB

Os SAB foram preparados em cinco Comprimentos de linha de amarração (CLA) diferentes, ou seja, cinco sistemas com diferentes composições de copolímero (L35), eletrólitos e água. As concentrações para gerar cada SAB foram obtidas utilizando dados de diagrama de fase encontrados na literatura^{19,20}. As soluções estoque de copolímero e sais foram misturadas a fim de se obter no sistema a 2 gramas de fase superior e 10 gramas de fase inferior gerando no final uma massa total igual a doze gramas.

As soluções estoque de L35 e dos sais (Li_2SO_4 , Na_2SO_4 e $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KOH}$) foram preparadas em água destilada de tal forma que ao misturá-las gerassem as composições globais dos SAB dadas na Tabela 1. O pH da água sempre foi ajustado com solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e medido com um peagâmetro, modelo pH 330i, fabricado pela WTW (Alemanha) antes do preparo das soluções estoque de sal e copolímero. Isto porque existe uma influência da presença de outros componentes (ex.: ácidos, bases, sais ou agentes extratores) sobre o comportamento de partição do complexo.

Tabela 1. Valores de composição global para cada tipo de SAB estudado

Tipo de SAB	Composição Global	
	% (m/m) Polímero	% (m/m) sal
L35/ Li_2SO_4 (1° CLA)	7,78	13,48
L35/ Li_2SO_4 (5° CLA)	14,01	16,93
L35/ Na_2SO_4 (1° CLA)	13,36	12,06
L35/ Na_2SO_4 (3° CLA)	17,69	14,65
L35/ $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KOH}$ (1° CLA)	24,04	16,34

A solução estoque do nitroprussiato de sódio foi preparada utilizando

como solvente a solução estoque de L35. As soluções de hidrocloreto de hidroxilamina e fenol foram preparadas utilizando como solvente a solução estoque dos sais listados na tabela 1.

Massas apropriadas da solução estoque de fenol na faixa de concentração de 0,2500 a 2,000 mg kg⁻¹ foram adicionadas em tubos de vidro com tampas, seguida pela adição de 2,0000 g de solução estoque de NP a 1666,0 mg kg⁻¹ e 5,0000 g de solução estoque de HH a 443,00 mg kg⁻¹, utilizando balança analítica ($\pm 0,0001$) (modelo Libor AEX-200B, SHIMADZU, Japão).

Os tubos foram cobertos com papel alumínio, com o objetivo de se evitar a fotodecomposição do complexo formado. Posteriormente foram agitados manualmente por cinco minutos para que a transferência do complexo pudesse acontecer mais rapidamente, levados a centrífuga (modelo 2-3, Sigma, Alemanha) por meia hora a 3084,2 g afim se acelerar a separação das fases e imersos em banho termostatizado (modelo MQBTC 99-20, MICROQUÍMICA Equipamentos LTDA, Brasil) onde permaneceram em repouso, à $(25,0 \pm 0,1)$ °C, por 12 h até atingirem o equilíbrio termodinâmico.

2.2.1 Coleta e diluição das fases

Após atingirem o equilíbrio termodinâmico, onde se observa a limpidez das fases, aproximadamente 1 g de fase superior foi coletada vagarosamente com seringas descartáveis de polietileno e agulhas de aço inox. Em frascos de polietileno as massas de fase superior recolhidas foram pesadas e diluídas com solução estoque de L35. As fases diluídas foram lidas contra o branco, que constitui a fase superior do sistema montado sem a adição de fenol a 715 nm em um espectrofotômetro UV-Visível (modelo 600S, FEMTO, Brasil) em cubetas de plásticos de 1 cm.

2.3. Efeito do tempo de agitação

O sistema L35/Li₂SO₄ (5° CLA) foi escolhido como referência para o estudo das melhores condições experimentais. No ponto de composição global selecionado, as concentrações de copolímero L35 e Li₂SO₄ foram 14,01 (m/m) e

16,93 % (m/m), respectivamente.

A concentração de NP utilizada foi igual a 277,66 mg kg⁻¹ e HH igual a 184,58 mg kg⁻¹ respectivamente. Os experimentos foram realizados em duplicata com concentrações de fenol 0,0; 1,0; 2,5 e 5,0 mg kg⁻¹. Três experimentos de agitação foram realizados, o primeiro através da agitação via um vortex (modelo 541-19000-27-1, CERTOMAT[®] MV, Alemanha) durante 60 segundos. O segundo experimento foi realizada através de uma agitação mecânica, através de uma bomba peristáltica onde se adaptou um frasco de polietileno cortado com furos em que se ajustava os tubos de ensaio com tampas, a agitação se baseia em movimentos de rotação, porém, os tubos sofriam uma pequena inclinação, fazendo com que as fases pudessem quebrar a interface existente, aumentando o contato e a interação entre ambas. A velocidade foi a 1468,6 g por 20 minutos. E o último experimento realizado com agitação manual durante cinco minutos, em que os tubos eram inclinados a aproximadamente 45°, agitados rapidamente em movimentos pra cima e para baixo. Após a agitação todos os tubos foram imersos em banho termostatizado à (25,0 ± 0,1) °C, permanecendo em repouso por 72 horas. A coleta da fase superior foi realizada conforme o item 2.2.1.

2.4. Efeito do Comprimento da Linha de Amarração

Para o SAB L35/Li₂SO₄ os comprimentos de linha de amarração estudados foram: 43,77 e 62,53. Desta forma, foram escolhidos para o sistema L35/Na₂SO₄ valores de CLA iguais a 46,77 e 64,06 e para o sistema L35/K₂HPO₄-KOH, CLA igual a 63,57. As soluções estoque de L35 e do respectivo sal foram preparadas em água destilada pH = 12,00. A solução estoque de L35 foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de NP. As soluções estoque dos respectivos sais foram utilizadas como solvente para o preparo das soluções de HH e soluções de referência do fenol.

As soluções de referência de fenol preparadas variaram entre 0 e 2,000 mg kg⁻¹. Para isso massas apropriadas das soluções de referência de fenol foram adicionadas em tubos de vidro com tampas, seguida pela adição de 2,0000 g de

solução estoque 1665,9 mg kg⁻¹ de NP e 5,0000 g de solução estoque de HH (443,00 mg kg⁻¹) a fim de obter a faixa dinâmica desejada. Todos os experimentos foram realizados em duplicatas. Os sistemas foram imediatamente cobertos com papel alumínio, agitados manualmente por cinco minutos, centrifugados 30 min a 3084,2 g e levados ao banho termostático por 12 horas (25 °C), procedendo assim o item 2.2.1.

2.5. Efeito da Natureza do Eletrólito

Foram obtidas curvas analíticas para cada sistema em diferentes comprimentos de linha de amarração: L35/Li₂SO₄ 1° e 5° CLA; L35/Na₂SO₄ 1° e 5° CLA; L35/K₂HPO₄-KOH 1° CLA.

As soluções estoque de L35 e dos sais foram preparadas em água destilada pH = 12,00. A solução estoque de L35 foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de NP. As soluções estoque dos respectivos sais foram utilizadas como solvente para o preparo das soluções de HH e soluções de referência do fenol.

As soluções de referência de fenol preparadas variaram entre 0 e 3,300 mg kg⁻¹. Para isso massas apropriadas das soluções estoque de fenol foram adicionadas em tubos de vidro com tampas, seguida pela adição de 2,0000 g de solução 1665,9 mg kg⁻¹ de NP e 5,0000 g de solução 443,00 mg kg⁻¹ de HH.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Os sistemas foram imediatamente cobertos com papel alumínio, agitados manualmente por cinco minutos, centrifugados 30 min a 3084,2 g e levados ao banho termostático por 12 horas (25 °C). As fases superiores foram então coletadas conforme o item 2.2.1.

2.6. Influência das concentrações dos reagentes

Soluções estoque de L35 a 59,869 % (m/m) e Li₂SO₄ a 22,023% (m/m) foram preparadas em água destilada em pH = 12,00. A solução estoque de L35 foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de NP. A solução estoque do Li₂SO₄ foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de HH

e de referência do fenol.

As soluções de NP estudadas variaram de 166,99 a 6679,5 mg kg⁻¹, sendo a concentração de HH fixada em 443,00 mg kg⁻¹.

Para estudar a concentração ideal de HH, a concentração de NP foi fixada em 1669,9 mg kg⁻¹ e as concentrações de HH variaram de 88,641 a 1063,7 mg kg⁻¹.

As soluções de referência de fenol foram 1,2; 2,4 e 12,0 mg kg⁻¹. Massas apropriadas das soluções de referência de fenol e de HH foram adicionadas em um tubo de vidro com tampa de tal forma a obter as concentrações desejadas de cada soluto e totalizar 10,0000 g. Em seguida 2,0000 g de solução estoque de nitroprussiato foram adicionados ao mesmo tubo.

No experimento onde se desejava estudar o efeito da concentração de HH 5,0000 g de solução de referência de fenol foi adicionada a um tubo de vidro com tampa, seguida pela adição 5,0000 g de solução estoque de HH e 2,0000 g de NP (1669,9 mg kg⁻¹).

Todos os experimentos foram realizados em duplicatas. Os sistemas foram imediatamente cobertos com papel alumínio, agitados manualmente por cinco minutos, centrifugados 30 min a 3084,2 g e levados ao banho termostático por 24 horas (25 °C), e assim procedeu-se o item 2.2.1.

2.7. Efeito do pH

As soluções estoque de copolímero L35 e de Li₂SO₄ (59,8692 % e 22,0231% m/m) foram preparadas em água destilada em pH 8,00; 10,00; 12,00; 13,00 e 14,00. A solução estoque de L35 foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de NP. A solução estoque do Li₂SO₄ foi utilizada como solvente para o preparo das soluções de HH e de referência do fenol.

Massas apropriadas de soluções estoque de fenol em concentrações iguais a 1,0 e 2,0 mg kg⁻¹ foram adicionadas em tubos de vidro com tampas, seguida pela adição de 2,0000 g de solução estoque de NP (1669,9 mg kg⁻¹) e 5,0000 g de solução estoque de HH (443,00 mg kg⁻¹).

Todos os experimentos foram realizados em duplicatas. Os sistemas foram imediatamente cobertos com papel alumínio, agitados manualmente por cinco minutos, centrifugados 30 min a 3084,2 g e levados ao banho termostático por 12 horas (25 °C) e item 2.2.1.

2.8 Estudo dos parâmetros analíticos

Para assegurar a credibilidade do método desenvolvido, alguns parâmetros analíticos foram analisados. Neste trabalho foram considerados os critérios linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão²¹⁻²³.

A faixa linear foi estabelecida avaliando a resposta do detector ultravioleta-visível para concentrações crescentes 0 e 3,300 mg kg⁻¹ do padrão de fenol. Após a análise espectrométrica, foram construídas curvas analíticas relacionando a absorbância com a concentração do fenol. A linearidade foi avaliada, pelo coeficiente de correlação determinado pela regressão linear das curvas analíticas construídas.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados utilizando os parâmetros da curva analítica para o SAB L35/Li₂SO₄. O LD e LQ foram considerados como 3,3 e 10 vezes, respectivamente, a razão entre o coeficiente linear e angular da curva analítica²².

A precisão do método foi verificada sob condição de repetibilidade. Ela foi avaliada pela estimativa do desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de sete repetições do SAB fortificado com 0,5 mg kg⁻¹ de fenol.

A exatidão neste trabalho foi avaliada através dos ensaios de recuperação, o qual se baseia no fator de recuperação (R) que é definido como a proporção da quantidade de substância de interesse, previamente adicionada à matriz, que é extraída e passível de ser analisada.²¹ As amostras aquosas foram fortificadas em uma concentração 2,0000 mg kg⁻¹ de fenol para se obter no final uma concentração igual a 0,5 mg kg⁻¹.

2.9 Determinação de fenol em amostras aquosas

O método proposto foi aplicado para a determinação de fenol em amostras de água destilada (AD), deionizada (ADI), mineral (AM), de torneira (AT), de Lagoa (AL), de água residual de efluente alcalino de indústria de celulose (Kraft branqueada de eucalipto) (ECEL), extrato de café (EC) e urina (UR).

As amostras de água destilada, água ultra pura (Milli-Q System, Millipore, USA) e água da torneira foram obtidas no laboratório. As amostras de água mineral foram adquiridas no comércio local. A amostra do efluente de indústria de celulose foi obtida da CENIBRA. A amostra de água superficial foi coletada na lagoa da Universidade Federal de Viçosa, localizada aproximadamente a 1 km da entrada principal. A urina foi coletada de várias micções durante três dias, de voluntários sadios, acadêmicos da Universidade Federal de Viçosa, não possuindo histórico de contato com compostos fenólicos, ou matérias à base de fenóis. Todas as amostras foram coletadas em frasco de polietileno e estocadas a 10 °C na ausência de luz e posteriormente ajustadas a pH = 12,00 com solução 1 mol L⁻¹ de hidróxido de sódio.

A amostra de ECEL foi filtrada, sendo uma parte desta amostra diluída 5 e outra 10 vezes, portanto foram utilizadas três amostras, ECEL sem diluição s/d, diluída 5 e 10 vezes (d/5x e d/10x). As amostras de urina foram preparadas sem diluição e diluídas num fator de 10 e 20 vezes (s/d, d/10x e d/20x). A amostra de café foi obtida de cafés cerejas onde foi macerada, extraída com metanol, e posteriormente diluída por um fator de 40 vezes (d/40x).

O SAB utilizado para a determinação de fenol nas amostras foi o L35/Li₂SO₄ na 1^oCLA, cuja composição global foi igual a 7,78% (m/m) de L35 e 13,48% (m/m) de Li₂SO₄.

Para obtenção da curva analítica preparada em água destilada (pH 12,00), massas apropriadas de soluções estoque de fenol preparadas em solução estoque do sal na faixa de concentração entre 0,2500 a 2,000 mg kg⁻¹ foram adicionadas em tubos de vidro com tampas, seguido pela adição de 3,0000 g de solução estoque de nitroprussiato a 1665,9 mg kg⁻¹ e 3,0000 g de solução estoque de

hidrocloro de hidroxilamina em solução estoque do sal a uma concentração igual a 443,00 mg kg⁻¹. Os tubos foram agitados manualmente durante 5 min, centrifugados por 30 min a 3084,2 g e deixados em repouso em banho termostático por 12 h à 25 °C.

As amostras de água e urina ajustadas a pH = 12,00 foram utilizadas como solvente para o preparo da solução estoque de sal contendo HH e fenol. E a água destilada ajustada em pH 12,00 foi utilizada como solvente no preparo da solução estoque de L35 que foi utilizada no preparo da solução de NP.

As amostras foram analisadas em triplicata e fortificadas com a 2,0000 mg kg⁻¹ de fenol. Os tubos foram preparados da mesma maneira em que se obteve a curva analítica descrita anteriormente, e em seguida, procedeu-se o item 2.2.1.

3. Resultados e Discussão

O método proposto baseia-se na reação entre NP, HH e fenol em meio básico produzindo um composto de coloração verde-azulado decacianodiferrato ($[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$) representado na Figura 1. Este composto particiona-se preferencialmente para a fase superior (FS) do SAB, rica em polímero.²⁴ O processo de transferência do ânion complexo ($[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$) para fase rica em copolímero se compara ao que ocorre com os ânions complexos hexacoordenado pentacianonitrosilferrato ($[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$) e o hexanitrocobaltato ($[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]^{3-}$) cujo comportamento de partição foi estudado por da Silva et al.²⁵⁻²⁶.

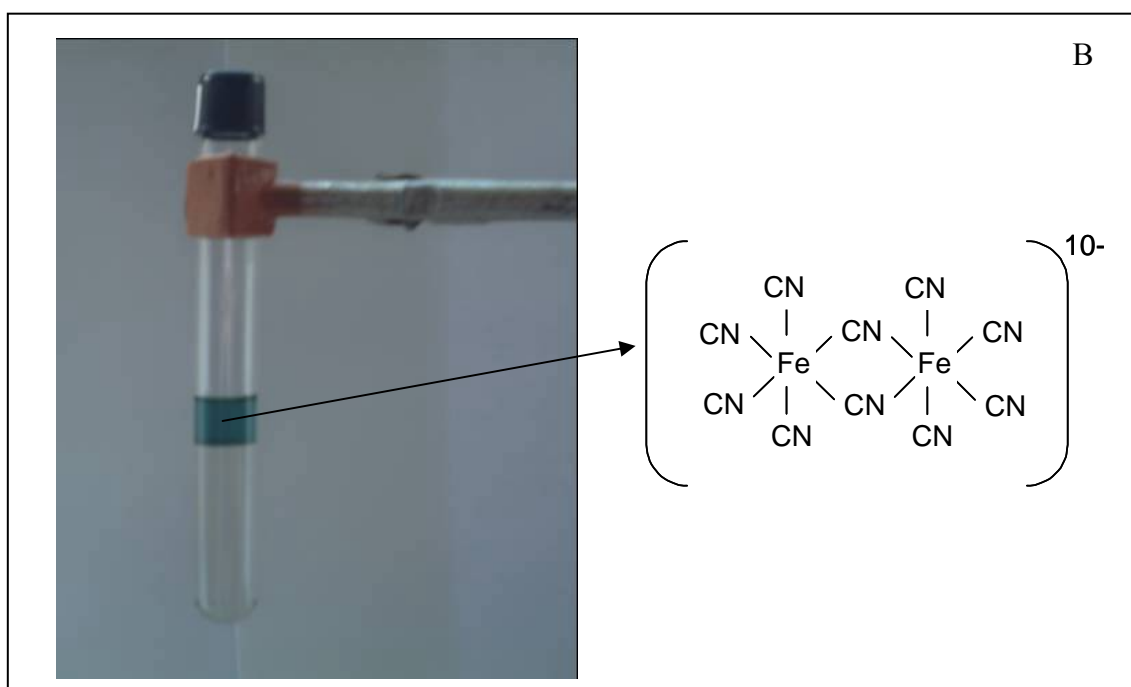
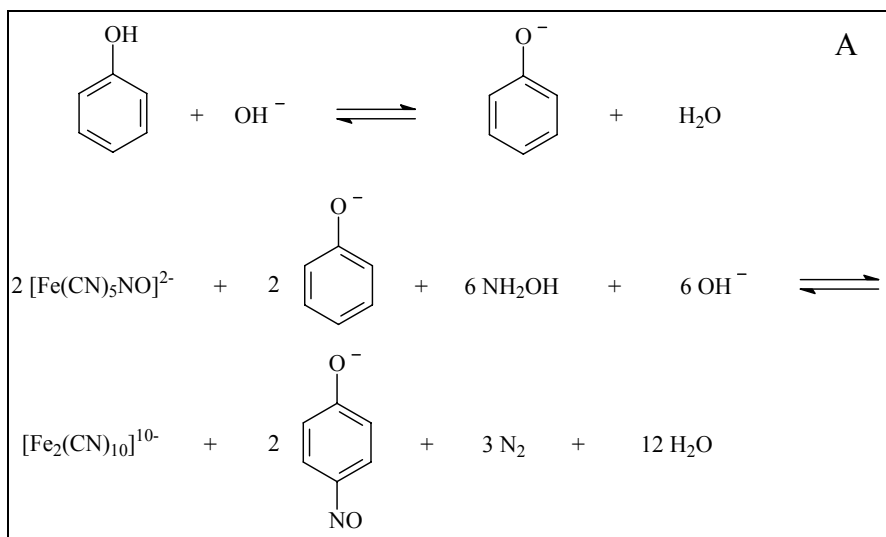


Figura 1A. Etapas da reação entre nitroprussiato de sódio, hidroxilamina e fenol⁴¹. **1B.** Foto mostrando a partição do ânion decacianodiferrato em um SAB L35/Li₂SO₄ à 25 °C.

A Figura 2 mostra um espectro UV/visível obtido para o decacianodiferrato particionado para a fase superior do SAB L35/Li₂SO₄. Observa-se um máximo de absorvância em 715 nm. O espectro obtido para o decacianodiferrato ([Fe₂(CN)₁₀]¹⁰⁻) no SAB foi semelhante ao obtido por Kang et al. em soluções aquosas.¹³ O comprimento de onda igual a 715 nm foi escolhido

para as análises, pois a mais alta razão sinal / branco foi obtida.

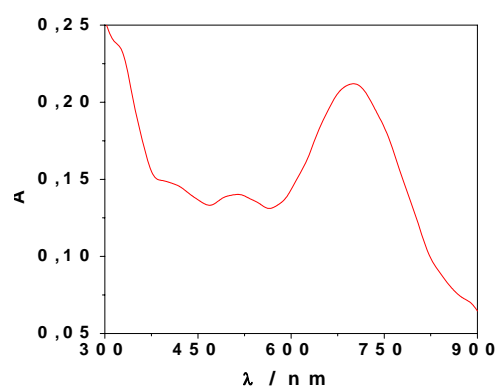


Figura 2. Espectro Ultravioleta-visível do decacianodiferrato $[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-}$ particionado na fase superior do SAB L35/Li₂SO₄.

3.1. Efeito do tempo de agitação

A Figura 3 mostra o efeito do tipo de agitação no sinal analítico (absorbância). É possível observar que na agitação em vortex por 1 minuto a absorvidade é menor do que na agitação mecânica por vinte minutos e esta por sua vez é menor do que em agitação manual por cinco minutos. Este é um resultado interessante, pois a agitação manual evita utilização de equipamento e conseqüentemente gasto de energia, minimizando o custo da análise. Além disso, os resultados mostram que a agitação manual promoveu uma maior superfície de contato entre as fases, fazendo com que a formação e a transferência do produto formado fossem mais rápidas.

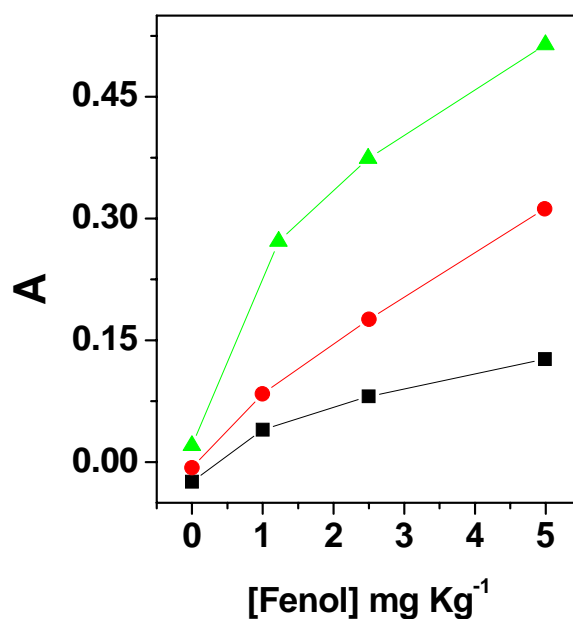


Figura 3. Estudo do tempo de agitação. (■) Agitação em vortex por 1 min, (●) Agitação mecânica por 20 min e (▲) Agitação manual por 5 min.

3.2. Efeito do Comprimento da linha de amarração

O comprimento da linha de amarração é um parâmetro, que expressa a diferença nas funções termodinâmicas intensivas entre as fases superior e inferior [27]. É dependente da diferença da concentração de sal e da concentração da macromolécula (% m/m) presente nas fases superior e inferior e foi calculada segundo a equação 1:

$$CLA = \sqrt{(C_{polímero}^{FS} - C_{polímero}^{FI})^2 + (C_{sal}^{FS} - C_{sal}^{FI})^2} \quad (1)$$

Os parâmetros $C_{polímero}^{FS}$ e $C_{polímero}^{FI}$ representam as concentrações de polímero, em % (m/m), presentes na fase superior e inferior, respectivamente, enquanto C_{sal}^{FS} e C_{sal}^{FI} , representam as concentrações do sal, em % (m/m), presentes na fase superior e inferior respectivamente.

A Tabela 2 mostra os valores do CLA calculados e o sinal analítico

correspondente a cada SAB, cuja concentração de fenol foi fixada em 0,5000 mg kg⁻¹. Observa-se que para o sistema L35/Li₂SO₄ quanto maior o valor da CLA, maior é o sinal analítico. Isto ocorre devido à maior diferença entre as propriedades termodinâmicas intensivas entre as fases geradas, fazendo com que o composto formado seja mais concentrado na fase superior. Resultados semelhantes foram obtidos para os ânions [Fe(CN)₅(NO)]²⁻, [Co(NO₂)₆]³⁻ e [Mn(CN)₅NO]²⁻ em que o coeficiente de partição (K) aumenta com o aumento da CLA, ocorrendo em todos os casos uma concentração preferencial do ânion na fase rica em polímero. Este resultado é semelhante ao obtido por da Silva et al.²⁵, em que se observou que independente da massa molar do polímero, uma relação exponencial crescente entre K e CLA foi obtida para os sistemas formados por PEO e diferentes sais de sulfato.

Tabela 2. Absorbâncias obtidas utilizando diferentes SAB para uma concentração de fenol igual a 0,5000 mg kg⁻¹

SAB	CLA (% m/m)	Sinal analítico	*dp
L35/Li ₂ SO ₄	43,77	0,215	0,0078
L35/Li ₂ SO ₄	62,53	0,241	0,0042
L35/Na ₂ SO ₄	46,77	0,072	0,0035
L35/Na ₂ SO ₄	64,06	0,052	0,0071
L35/K ₂ HPO ₄ -KOH	63,57	0,072	0,0007

*dp: estimativa do desvio padrão (n=2)

3.3. Efeito da Natureza do Eletrólito

A natureza do eletrólito formador do SAB interfere significativamente na partição do soluto²⁸⁻³⁰. Desta forma foram estudados SAB constituídos por L35/Na₂SO₄, L35/Li₂SO₄ e L35/K₂HPO₄-KOH a fim de verificar a influência do eletrólito na partição do [Fe₂(CN)₁₀]¹⁰⁻ e conseqüentemente na determinação de fenol. A Figura 4 mostra que o SAB L35/Li₂SO₄, tanto para o 1º como para o 5º valor de CLA, apresenta o maior sinal analítico. Os demais SAB proporcionaram uma menor eficiência na determinação de fenol.

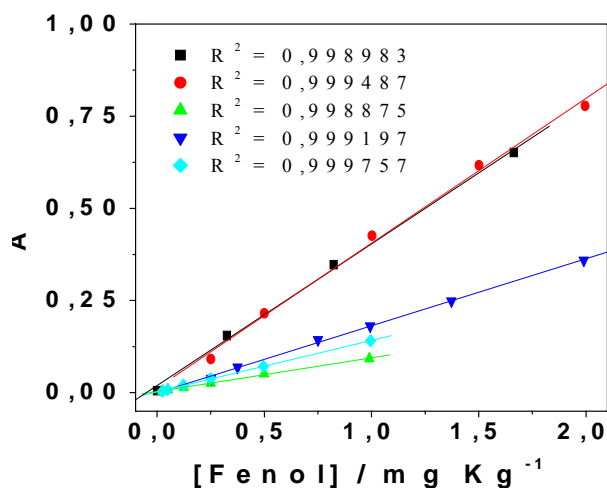


Figura 4. Curvas analíticas obtidas para cada SAB em diferentes CLA. (■) L35/Li₂SO₄ 5° CLA; (●) L35/Li₂SO₄ 1° CLA; (▲) L35/Na₂SO₄ 5° CLA; (▼) L35/Na₂SO₄ 1° CLA; (◆) L35/K₂HPO₄-KOH 1° CLA.

Estudos anteriores mostram que Na⁺ possui uma maior eficiência em induzir a separação de fase do que o íon Li⁺¹⁸. Isto é demonstrado pela maior região bifásica do diagrama em que se emprega Na₂SO₄ do que o Li₂SO₄¹⁹. Entretanto, os resultados mostram que o Li₂SO₄ possui maior capacidade de transferir o complexo ([Fe₂(CN)₁₀]¹⁰⁻) para a fase rica em copolímero. Isto é explicado pela forte interação entre o cátion Li⁺ e o segmento EO da cadeia de polímeros do tipo PEO que são mais intensas do que Na⁺-EO^{31,32,33,34}, e confirmada por medidas de RMN,³¹ eletroquímicas³² e calorimétricas¹⁸, além de simulações moleculares³³. Mas, para que ocorra a interação dos íons com as unidades EO, deverá haver primeiramente a retirada das moléculas de H₂O da camada de solvatação tanto das espécies carregadas quanto dos monômeros. De acordo com Silva et al. (2000)¹⁸, o sal Li₂SO₄ apresenta o mais alto valor de entalpia de transferência (parâmetro de interação íon - EO), pois, sendo a interação do cátion com as moléculas de H₂O predominantemente do tipo íon-dipolo (energia inversamente proporcional ao raio do íon na rede cristalina), o menor raio do Li⁺, quando comparado ao raio do Na⁺, levaria ao primeiro a ter uma maior energia de hidratação.

Após a retirada das moléculas de H₂O da camada de solvatação, ocorrem

as interações Li^+ -EO, levando à existência de uma grande densidade de carga positiva que se forma ao longo dos segmentos EO do copolímero L35. Dessa maneira, as interações cátion-EO conduzem a formação de um pseudopolicátion que interage eletrostaticamente com o complexo $([\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-})^-$, contribuindo para uma maior minimização da energia do sistema, quando comparado com o cátion Na^+ . Assim, o processo de transferência do ânion decacionodiferrato $([\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}]^{10-})$ e conseqüentemente seus maiores valores de absorção são maiores no SAB formados por copolímero L35 e Li_2SO_4 .

3.4. Influência das concentrações dos reagentes

As Figuras 5 e 6 mostram o efeito da quantidade de nitroprussiato de sódio e hidrócloro de hidroxilamina, respectivamente, na formação do complexo, mantendo-se o pH do meio igual a 12,00. Nota-se que para concentração de NP igual a 1669 mg kg^{-1} obtêm-se um sinal de absorbância máximo. Estequiométricamente, quantidades abaixo de 1669 mg kg^{-1} são insuficientes para que todo o fenol seja consumido e para que a reação eletrofílica formando o decacianodiferrato seja completa. Valores acima de 1669 mg kg^{-1} , já não afetam significativamente a reação. No estudo do efeito da concentração de hidrócloro de hidroxilamina, observa-se que a medida que se aumenta a quantidade, se favorece a reação, aumentando-se assim a formação do complexo até $177,1995 \text{ mg kg}^{-1}$ onde então obtêm-se o máximo de absorbância. Entretanto maiores concentrações de HH levam a uma diminuição significativa do sinal analítico, indicando que o excesso deste agente redutor do Fe^{2+} para Fe^0 pode levar a formação de outros complexos em solução que já não absorvem neste comprimento de onda.

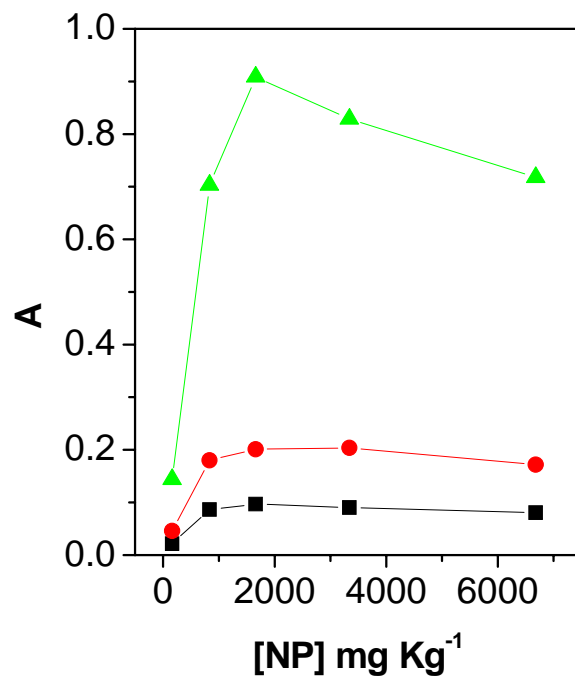


Figura 5. Variação do sinal analítico em função de diferentes concentrações de NP.(■) [Fenol]= 0,5 mg kg⁻¹; (●) [Fenol]= 1,0 mg kg⁻¹; (▲) [Fenol]= 5,0 mg kg⁻¹

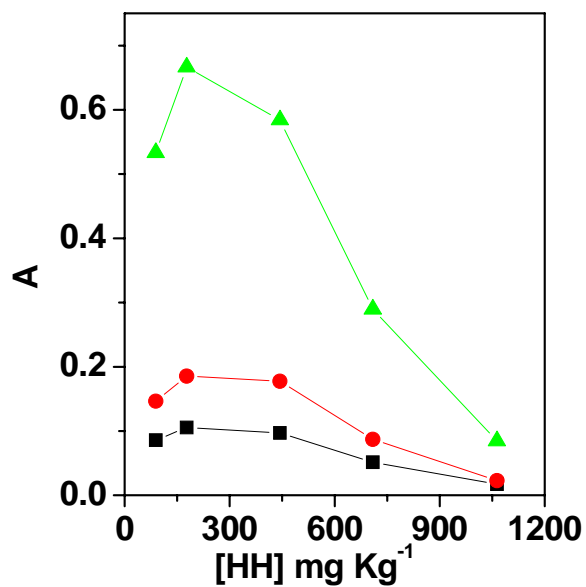


Figura 6. Variação do sinal analítico em função de diferentes concentrações de HH.(■) [Fenol]= 0,5 mg kg⁻¹; (●) [Fenol]= 1,0 mg kg⁻¹; (▲) [Fenol]= 5,0 mg kg⁻¹

3.5. Efeito do pH

A Tabela 3 mostra a influência do pH sobre o sinal obtido para a concentração de fenol igual a $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$. O maior sinal analítico foi obtido para pH do meio igual a 12,00.

Tabela 3: Valores de absorvâncias obtidos para a concentração de fenol igual a $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ em diferentes pH.

pH	Sinal Analítico
8,00	-0,016
10,00	0,008
12,00	0,416

Nota-se que a reação é bastante favorecida em pH 12,00, pois com o aumento da concentração de íons hidroxila no meio é promovida a desprotonação da molécula de fenol, convertendo-o à fenolato. O íon oxigênio negativo (O^-) do anel benzeno repele o elétron o que faz do anel benzeno muito reativo, tornando-o um bom doador de elétrons. Como um eletrófilo, o grupo nitroso na forma de NO^+ ataca o anel benzeno e a reação eletrofílica ocorre mais facilmente (Figura 1A).

Neste estudo, observou-se que após a preparação das soluções estoque de sal em águas destilada ajustada em pH 12,00, há uma pequena queda no pH de aproximadamente 0,5 unidades. Sendo assim uma solução em pH 12,00, após o preparo da solução estoque de sal caiu pra aproximadamente pH 11,5. Como o máximo de absorvância foi obtida em pH 12,00, está de acordo com os resultados obtidos por Nagaraj et al.¹⁴ onde em meios tamponados na faixa de pH 9.26-11.45 são obtidos máximos de coloração. Além disso, são observados que a reação é mais sensível e com limites de tolerância de outros íons mais altos em meio tamponado.

Em valores de pH's maiores que 12,00, não foi possível o preparo dos

tubos, pois houve uma pequena precipitação do sal nas soluções estoque de sulfato de lítio.

3.6. Estudo dos parâmetros analíticos

A faixa linear é a habilidade em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito nas amostras, em uma dada faixa de concentração dos padrões, denominada faixa de trabalho³⁵. A linearidade de resposta do detector foi verificada pela curva analítica preparada, conforme descrito no item 2.5, em que padrões de fenol em soluções estoque dos respectivos sais estudados foram preparados nas concentrações de 0 a 3,3 mg kg⁻¹. Os valores dos coeficientes de correlação (R) encontrados na Figura 4 estão de acordo com as normas estabelecidas pela ANVISA que recomenda valores superiores a 0,99, indicando que existe uma resposta linear do detector por ultravioleta-visível na faixa de concentração trabalhada para o fenol³⁶. A melhor curva analítica obtida foi utilizando o SAB L35/Li₂SO₄ na 1° CLA, cuja equação $A = -0,005384 + 0,414828[\text{Fenol}]$, que apresentou uma correlação linear entre a absorbância e a concentração de fenol $R^2 > 0,99948$ (n=5) na faixa de 0,2500 a 2,0000 mg kg⁻¹.

O limite de detecção (LD) corresponde a menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada como um valor exato. O limite de quantificação (LQ) corresponde a menor concentração da substância de interesse que pode ser quantificada com exatidão²¹. Os limites de detecção e o de quantificação obtidos para o SAB L35/Li₂SO₄ (1° CLA) foram iguais a 0,0426 mg kg⁻¹ e 0,141 mg kg⁻¹ respectivamente. Resultado semelhante foi obtido por Kang et al. (2000)¹³, em que o menor limite de concentração detectável foi 0,05 mg L⁻¹. Os valores obtidos para o método proposto não cobrem o limite estabelecido para fenol em águas potáveis (0,001 mg L⁻¹), mas é aceito pra determinações de fenóis totais em amostras de qualquer tipo de efluentes, cujo limite de lançamento é 0,5 mg L⁻¹.

A repetitividade do método foi determinada realizando-se a determinação do fenol em SAB preparado em amostras de água destilada, em sete repetições, para o cálculo da estimativa do desvio padrão relativo, conforme recomendações do INMETRO (2003)²¹. O coeficiente de variação (CV) para concentração de fenol igual a 0,5000 mg kg⁻¹ foi igual a 0,113 %. Em análise de amostras complexas considera-se que o método é preciso quando os coeficientes de variação apresentam-se menores que 20%³⁷, portanto, os pequenos valores de CV(%), demonstraram que o método estudado apresentou uma boa repetitividade.

A porcentagem de recuperação (R) para cada amostra é mostrada na Tabelas 4. As porcentagens de recuperação obtidas neste estudo estão entre 98 e 143%, observando um efeito negativo na recuperação para as amostras de urina.

Além destes parâmetros, as melhores condições experimentais obtidas são: leitura a 715 nm, onde mais alta razão sinal ruído foi obtida; agitação manual por cinco minutos, por proporcionar maior contato entre as fases, e conseqüentemente uma maior transferência de massa, fazendo com que os reagentes possam entrar em contato e reagirem mais facilmente. A concentração de nitroprussiato de sódio escolhida foi a 1669 mg kg⁻¹ e hidrocloreto de hidroxilamina igual a 177,2 mg kg⁻¹, em que se obteve maior absorvidade do composto decacianodiferrato na fase superior do SAB. O SAB utilizado para a determinação de fenol nas amostras foi o SAB constituído pelo copolímero L35 e o sulfato de lítio, por obter uma maior eficiência na determinação de fenol, além de um coeficiente de correlação igual a 0,99948 para uma faixa de concentração de 0,2500 a 2,000 mg kg⁻¹.

3.7. Determinação de fenol em amostras aquosas

O método proposto foi aplicado à determinação de fenol em amostras de água e urina. As amostras foram dopadas com 2,000 mg kg⁻¹ de fenol. Os valores de recuperação obtidos são mostrados na Tabela 4. A Tabela 4 mostra que as

recuperações foram quantitativas (98 a 107 %) quando as amostras de água destilada, deionizada e da lagoa foram analisadas. As recuperações para as amostras residuais de celulose/papel e café variaram entre 108 e 143 %, indicando que o método sofre interferência da matriz. O mesmo ocorreu para as amostras de urina, porém neste caso a interferência foi negativa (<63,9 %).

A presença de interferentes de matriz nas amostras dos efluentes gerados na indústria de celulose e papel, podem ser originado das características destes efluentes, uma vez que são misturas complexas, consistindo de materiais extraídos da madeira (ligninas, carboidratos e extrativos) durante a produção da polpa, e após principalmente o branqueamento, onde surge uma variedade de subprodutos clorados, inclusive compostos fenólicos clorados que podem reagir e estimar os valores de recuperação³⁸.

Efeito semelhante, obtendo-se altos valores de recuperação foi observado para as amostras obtidas da extração do fruto do café, onde estão presentes um grande número de compostos tais como carboidratos e açúcares, proteínas, corantes naturais e principalmente compostos fenólicos tais como os polifenóis (ácidos clorogênico e caféico, taninos e cafeína)³⁹.

A importância em se querer determinar fenol em amostras biológicas, se deve ao fato de que segundo a NR-7, o fenol urinário é considerado indicador biológico de exposição ao fenol. Embora, o fenol seja encontrado na urina, oriundo do metabolismo de componentes alimentares ou de exposições a compostos cujos metabólitos finais são o fenol, este é aplicado no monitoramento biológico com valor de referência conhecido e é considerado na correta avaliação da exposição ocupacional³⁶.

A técnica de espectrofotometria UV-VIS tem sido relatada na literatura científica, como método de determinação de fenol em amostras biológicas, baseada na extração líquido - líquido, utilizando para isto o éter etílico. Sendo assim, buscando eliminar o uso de solventes tóxicos, avaliou-se a aplicabilidade dos SAB na determinação de fenol em urina. Os resultados de recuperação obtidos demonstraram alta perda do analito frente às condições propostas, valores

estes inferiores a 63,9 %. Este efeito de matriz observado pode ter sido proveniente da coleta, armazenagem ou até no preparo das soluções.

Estudos relatam que as amostras biológicas precisam ser coletadas em frascos âmbar, previamente descontaminados com hipoclorito de sódio e água deionizada, além de serem acondicionadas em caixa de isopor com gelo seco e conservadas a 4 °C até o momento da análise para evitar e eliminar os possíveis interferentes. Outra forma de diminuir estes efeitos de matriz é a utilização de padrão interno, utilizando, por exemplo, uma solução de nitrobenzeno.

Observa-se através dos resultados apresentados que a quantificação do fenol pode ser afetada pela presença de compostos co-extraídos da matriz. Sendo assim, a exata avaliação do efeito de matriz pode evitar estimativas errôneas dos teores do analito, além de tornar a técnica mais confiável. Para redução do efeito de matriz, é recomendável o uso da curva de calibração preparada na matriz, isenta de fenol²², ou a utilização de substâncias protetoras nos padrões preparados em solvente puro⁴⁰. Ou ainda submeter às amostras a um processo de *clean up*.

Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos na aplicação do método proposto na determinação de fenol em diferentes amostras.

Amostra	Recuperação±dp*	R ²	Abs = A + B (conc)
AD	98,1±0,8	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
AMQ	104,7±6,1	0,9985	Abs=0,048100+0,32676conc
AM	112,9±0,8	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
AT	106,5±9,5	0,9985	Abs=0,048100+0,32676conc
AL	113,1±3,2	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
ECEL S/D	108,4±15,3	0,9997	Abs=-0,028478+0,38051conc
ECEL d/5x	111,7±0,9	0,9997	Abs=-0,028478+0,38051conc
ECEL d10x	128,0±3,8	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
ARC1	120,8±5,0	0,9997	Abs=-0,028478+0,38051conc
ARC2	123,8±7,5	0,9997	Abs=-0,028478+0,38051conc
ARC3	143,7±3,6	0,9997	Abs=-0,028478+0,38051conc
Urina s/d	19,4±0,4	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
Urina d/10x	63,9±4,7	0,9993	Abs=-0,046525+0,40597conc
Urina d/20x	60,1±4,1	0,9997	Abs= -0,028478+0,38051conc

*dp: estimativa do desvio padrão (n=3)

4. Conclusão

O método desenvolvido para determinação de fenol em água utilizando um sistema aquoso bifásico formado por copolímero tribloco L35 e Li₂SO₄, se mostrou eficiente para a faixa de concentração estudada, obtendo um R²> 0,999 e boa precisão (em média 2 %). Para a maioria das amostras de água estudadas obteve ótimos resultados de recuperação que variaram de 98 a 113%. Os limites de detecção e o de quantificação foram iguais a 0,0426 mg kg⁻¹ e 0,141 mg kg⁻¹ respectivamente.

Os resultados mostrados neste trabalho comprovam a aplicabilidade da utilização de sistemas macromoleculares para a determinação de fenol, oferecendo como vantagens quando comparado ao método descrito por Nagaraj

et al. e Kang et al.^{13,14} o fato de não sofrer com efeitos de altas concentrações de íons, não necessitar de um passo de pré-destilação das amostras, ser uma técnica de pré-concentração do analito, além de ser ambientalmente segura, simples, rápida, de baixo custo e sensível.

Referências

- [1] Lupetti, K.O.; Rocha, F. R. R.; Fatibello - Filho, O.; *Talanta* 62 **2004**, 463–467.
- [2] Rosatto S. S.; Freire, R. S.; Duran, N. Kubota L. T.; *Quim. Nova*, Vol.24, **2001**, 77-86
- [3] Svitel, J.; Miertus, S.; *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 828
- [4] <http://www.mma.gov.br>, 22 de abril de **2008**.
- [5] Barták, P., Frnková, P., Cáp, L.; *J. Chromatogr. A* **2000**, 867, 281. 287
- [6] European Standard, **1998**. EN12673:1998, Water Quality. Gas Chromatographic Determination of Some Selected Chlorophenols in Water.
- [7] Kovacs, A.; Kende, A.; Mortl, M.; Volk, G. Rikker, T.; Torkos, K. *J. Chromatogr. A* 1194, **2008**, 139-142.
- [8] Saitoh, T.; Nakayama, Y.; Hiraide, M.; *J. Chromato. A*, 972, **2002**, 205-209.
- [9] Penãlver A.; Pocurull, E.; Borrul, F.; Marcé, R. M.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 953, 79-87.
- [10] Wada, M.; Kinoshita, S.; Itayama, Y.; Kuroda, N.; Nakashima, K.; *J. Chromatogr. B* 721 **1999** 179
- [11] Puig, D.; Barcelo', D.; *Trends Anal. Chem.* 15 **1996**, 362

- [12] Eaton, A. D.; Clesceri, L.S.; Greenberg, A. E.; *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th ed., American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation: Washington, **1995**.
- [13] Kang, C.; Wang, Y.; Li, R.; Du, Y.; Li, J.; Zhang, B.; Zhou, L.; Du, Yuzhong. *J. Microchemical* **64** **2000**, 161-171.
- [14] Nagaraj, P.; Bhandari, J. M.; Achar, B. N.; *Indian J. Chem.* **32 A 7** **1993**, 641-643.
- [15] da Silva, M. C. H.; da Silva L. H. M.; Paggioli, F. J.; *Anal. Sci.* **2005**, **21**, 933.
- [16] Chouyyok, W.; Wongmongkol, N.; Siwarungson, P.; Seeroong, N.; *Proc. Biochem.* **2005**, **40**, 3514.
- [17] da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M.; Paggioli, F. J.; Coimbra, J, S, R.; Minim, L, A.; *Quim. Nova* **2006**, **29**, 1332.
- [18] da Silva L.H.M., W. Loh, *J. Phys. Chem. B* **104**, **2000**, 10069
- [19] da Silva, M. C. H.; da Silva, L. H. M; Amim Junior, J.; Guimarães, R. O.; Martins, J. P.; *J. Chem. Eng. Data* **2006**, **51**, 2260.
- [20] da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Mesquita, A. F.; Nascimento, K.S.; Coimbra, J. S. R.; Minim, L. A.; *J. Chem. Eng. Data* **2005**, **50**, 1457-1461.
- [21] INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade

Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, **2003**.

[22] Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quím. Nova*, 27(5): 771-780, **2004**.

[23] Lanças, F. M. Validação de métodos cromatográficos de análise – Métodos Cromatográficos de Análise 6. Editora Rima, São Carlos, SP, **2004**.

[24] Rodrigues, G.D.; da Silva, M.C.H. da Silva L.H.M.; Souza F.L.; Resumos do 14º Encontro Nacional de Química Analítica - ENQA, João Pessoa – Brasil, **2007**.

[25] da Silva, L. H. M.; da Silva, M. C. H.; Aquino, R. A. N.; Francisco, K. R.; Cardoso, M. V. C.; Minim, L. A.; Coimbra, J. S. R.; *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 23540.

[26] de Brito, G. M.; Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2007**.

[27] B.Y. Zaslavsky, Aqueous Two Phase Partitioning: physical chemistry and bioanalytical applications, Marcel Dekker, New York, **1995**.

[28] Platis, D.; Labrou, N. E.; *J. Chromatog. A* **2006**, 1128, 114.

[29] Benavides, J.; Mena, J. A.; Cisneros-Ruiz, M.; Ramírez, O. T.; Palomares, L. A.; Rito-Palomares, M.; *J. Chromatog B*. **2006**, 842, 48.

[30] Li, S.; He, C.; Gao, F.; Li, D.; Chen, Z.; Liu, H.; Li, K.; Liu, F.; *Talanta* **2007**, 71, 784.

- [31] Florin, E.; *Macromol.* **1985**, *18*, 360.
- [32] Moody, G. J.; Sad, B. B.; Tomas, J. D. R.; Kohnke, F. H.; Stodar, J. F.; *Analyst* **1988**, *113*, 1295.
- [33] Ferreira, B. A.; Santos, H. F.; Bernardes, A. T.; Silva, G. G.; Almeida, W. B.; *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *307*, 95.
- [34] Nakamoto, K.; *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*; John Wiley & Sons, 5th edition, **1922**.
- [35] Imoto, M. N.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, **2004**.
- [36] <http://www.anvisa.gov.br> ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. julho de **2008**
- [37] Brito, N. M.; Amarante Jr., O. P. de; Polese, L.; Santos, T. C. R.; Ribeiro, M. L. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de agrotóxicos mediante ensaios de recuperação. *Agrotóxicos: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente*, v. 12, p. 155-168, **2002**.
- [38] Moraes, A. A.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2006**.
- [39] Luiz, F. A. R.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, **2007**.
- [40] Sanchez - Brunete, C.; Alberio, B.; Martín, G.; Tadeo, J. L.; *Analytical Sciences*, 21: 1291-1296, **2005**.