

4

METODOLOGIA

Neste capítulo serão descritos os procedimentos adotados na execução dos ensaios de batelada e do de coluna (ADS) para as determinações dos parâmetros de transporte como também a metodologia de quantificação do Paraquat.

Os ensaios de batelada foram realizados para as três áreas estudadas. Os ensaios de coluna só foram realizados para a Área 3.

4.1.

METODOLOGIA DO ENSAIO DE BATELADA

Os ensaios de batelada foram divididos em duas etapas: a primeira para determinação do tempo de equilíbrio para adsorção do Paraquat às partículas do solo estudado e a segunda onde foram realizados ensaios para determinar as isotermas de adsorção com diferentes concentrações do pesticida.

Não foi efetuado ensaio para encontrar a razão de solo-solução, sendo adotada a razão de 1:10 que corresponde a 1 grama de solo para 10 mL de solução.

4.1.1.

Preparo para Ensaio de Batelada

O procedimento usado consiste em colocar 2 gramas de solo seco ao ar, passado em peneira de malha de 2 mm, em tubo tipo “falcon” de 50 mL e adicionar 20 mL de solução do pesticida em diferentes concentrações (cuja concentração da solução é definida nos itens 4.1.2 e 4.1.3). A temperatura do ensaio permaneceu a temperatura ambiente, variando de 21 a 25 °C. O pH da solução não foi ajustado para nenhum valor específico, assumindo que, em condições naturais, ou seja, a condição de campo, o pH só é alterado pelas condições ambientais, as quais não podem ser controladas.

O tubo com este material é incubado em agitador orbital a 125 rpm por tempo determinado. Em seguida o tubo é centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. O modelo da centrífuga utilizada foi CT-5000, da marca Cientec. O procedimento de centrifugação separa a fase sólida no fundo do tubo (precipitando), ficando sobre essa, a fase líquida (sobrenadante). Este sobrenadante é vertido através de um funil com papel filtro qualitativo, faixa azul, de 80 g/m², para um vidro âmbar e reservado para análise química por espectrofotometria conforme descrito no item 4.3.

4.1.2.

Determinação do Tempo de Equilíbrio

Este ensaio consiste em agitar uma solução para diferentes tempos de agitação. O conjunto solo+solução foi agitado por diferentes períodos: 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas. Para duas das três áreas foram utilizados também períodos de incubação inferiores à 12 horas para definir melhor a forma da curva gerada. A concentração de Paraquat utilizada para este ensaio foi a de campo, de 300 mg de Paraquat/L.

Os gráficos de tempo de equilíbrio foram plotados em função da concentração do soluto sorvida no solo, realizados de 2 a 3 repetições, como mostram os gráficos abaixo. Para a determinação dessa concentração tomando-se a subtração da concentração inicial do soluto na fase líquida (C_0), pela concentração do soluto na fase líquida após período determinado (C_{liq}), ou seja, o sobrenadante após o processo de centrifugação. Assim,

$$C_s = C_0 - C_{liq} \quad \text{Equação 4.1}$$

A concentração na fase líquida foi obtida pela análise espectrofotométrica, descrita no item 4.3.

Os resultados do tempo de equilíbrio para as amostras de solo são apresentados no capítulo 5.

4.1.3.

Isotermas de Adsorção por Ensaio de Adsorção em Batelada

As isotermas de adsorção se baseiam na incubação de diferentes concentrações do pesticida durante um período determinado, igual ou superior ao tempo de equilíbrio. Para esse tempo, assegura-se que ocorrerá o equilíbrio químico entre a fase líquida e sólida, portanto, a concentração é a concentração no equilíbrio. Foram utilizadas as concentrações de 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg de Paraquat/L, e o tempo de agitação foi de 116 horas (apresentado no capítulo 5).

Conforme já citado, a isoterma de adsorção é obtida pelo aumento da troca de adsorção do soluto pelo solo em resposta do aumento da concentração do soluto na solução. O gráfico de isoterma de adsorção pode ser plotado em função da concentração do constituinte químico na fase sólida no equilíbrio (ou quantidade de constituinte químico sorvido por grama de solo) pela concentração do constituinte químico na fase líquida no equilíbrio.

Para a quantidade de constituinte químico sorvido por grama de solo (q), tem-se:

$$q = \frac{(C_0 - C_{\text{elq}}) * V}{P_{\text{solo}}} \quad \text{Equação 4.2}$$

onde V é o volume da solução (litros), P_{solo} é a massa de solo seca ao ar (gramas), C_{elq} é a concentração do soluto na fase líquida no equilíbrio e q é a quantidade de Paraquat adsorvido por grama de solo (mg adsorvida / g de solo).

A concentração na fase líquida no equilíbrio foi analisada através da quantificação do Paraquat por espectrofotometria.

Os ensaios foram conduzidos em duplicata, mas para a Área 1 e 2 houve a necessidade de repetir o ensaio, estes resultados podem ser vistos no capítulo 5.

4.1.4.

Ensaio de Dessorção

A finalidade deste ensaio é observar a dessorção do Paraquat das partículas sólidas. Esta hipótese está baseada na sua alta solubilidade em solução aquosa,

podendo a solubilidade ser tão elevada a ponto de vencer a ligação estabelecida entre o Paraquat e o solo.

A suposição de que o Paraquat sofre dessorção das partículas de solo surgiu a partir de observações de Tsai, Lai & Hsien (2003 b e c) na Tailândia. Esses autores relatam em seu estudo que o Paraquat foi encontrado nos recursos hídricos. Como este produto é altamente adsorvido no solo, não estaria chegando à água subterrânea pela percolação no solo. Então, a forma deste composto chegar à água superficial poderia ser pelo carreamento de partículas sólidas associado à solubilidade, tornando-se disponível à ingestão para a população. Assumindo isto, supõe-se que este pesticida pode estar de alguma forma sendo dessorvido do solo e com isto chegando à água superficial.

Partindo desta suposição é que foram propostos os ensaios de dessorção. O procedimento descrito é baseado no ensaio de batelada, como descrito no item 4.2.1, utilizando a concentração inicial de 300 mg de Paraquat/L e o tempo de equilíbrio de 168 horas. Ao final deste tempo, os tubos foram centrifugados, o sobrenadante reservado para quantificação do Paraquat por espectrofotometria. Ao precipitado foram adicionados mais 20 mL de água destilada e esta mistura (solo contaminado+água) foi novamente incubada à temperatura ambiente por 24 horas em agitador orbital a 150 rpm. Após este período os tubos foram novamente centrifugados e o sobrenadante filtrado em filtro qualitativo e reservado para análise por espectrofotometria conforme descrito no item 4.3. Este último processo de adicionar 20 mL de água ao solo contaminado, ou repetido por mais duas vezes.

O cálculo da quantidade de Paraquat retida no solo após as primeiras 168 horas foi feito a partir da diferença entre a concentração inicial no sobrenadante e a concentração no sobrenadante após o período de incubação, igualmente efetuado para o ensaio de batelada.

O cálculo para o conjunto de solo contaminado mais água, partiu do pressuposto que ao adicionar água destilada a concentração de Paraquat aplicada seria de 0 mg/L. Assim, após 24 horas de agitação a concentração na fase líquida será a representada pela dessorção do mesmo do solo. Portanto, para encontrar a massa dessorvida do solo em cada etapa, tomou-se a concentração na fase líquida, que é uma relação entre massa e volume, em 20 ml de solução, ou seja, o volume

de água adicionado. Para uma concentração de z mg/L, sendo z conhecido, pela regra de três, tem-se o valor de x .

$$\begin{array}{l} z \text{ mg} \text{ ————— } 1000 \text{ ml} \\ x \text{ mg} \text{ ————— } 20 \text{ ml} \end{array}$$

Pela subtração da massa adsorvida na fase anterior, pelo valor de x desejado, tem-se a massa dessorvida, ou dessorvido na etapa atual, os resultados são apresentados no capítulo 5.

4.2. METODOLOGIA DO ENSAIO DE ADVECÇÃO-DISPERSÃO-SORÇÃO

O ensaio de coluna, ou ensaio Advecção-Dispersão-Sorção (ADS) foi realizado no equipamento desenvolvido por Borges (1996) no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente, da PUC-Rio, e desde seu desenvolvimento, vem sendo utilizado em diversos trabalhos (MATOS, 2000; OLIVEIRA, 2002; e NASCENTES et al., 2003).

O equipamento ADS permite ensaiar quatro colunas ao mesmo tempo, determinando os parâmetros de transporte, tais como: difusão molecular, dispersão mecânica e fator de retardamento.

O ensaio ADS é semelhante ao ensaio de permeabilidade em célula triaxial. Consistiu na aplicação da tensão efetiva, em impor um gradiente de percolação, na determinação da saturação da amostra, no controle do volume de afluente e efluente pela amostra de solo, na determinação da velocidade de percolação e da permeabilidade da mesma.

4.2.1. Montagem das Colunas

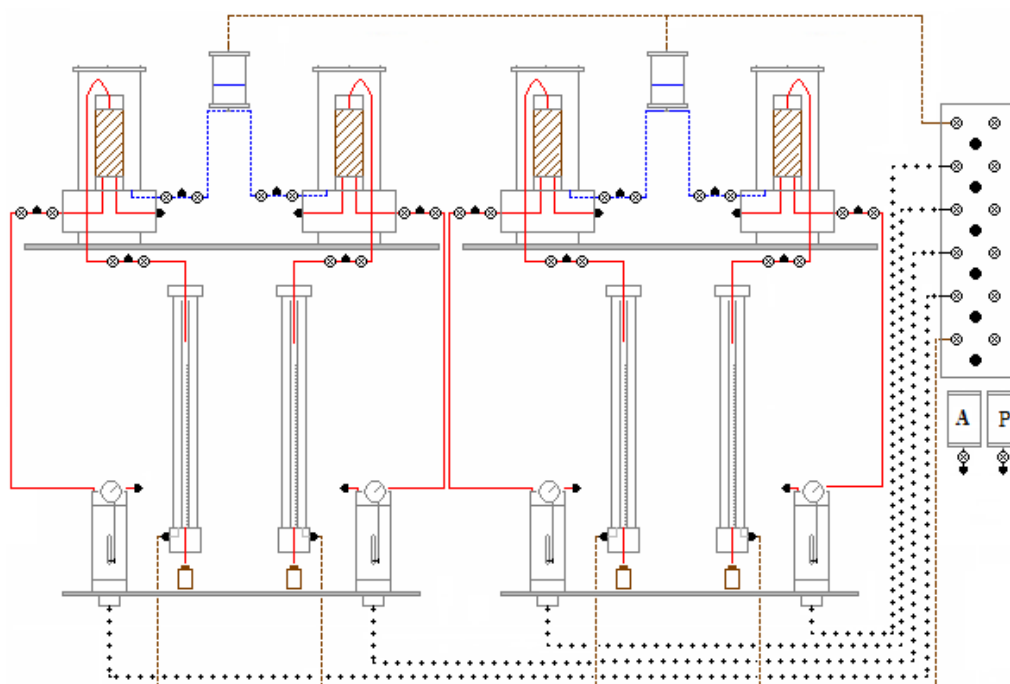
O corpo de prova foi moldado com diâmetro de 3,8 cm e alturas (h) variadas que permitem, juntamente com as pressões de topo e base, modificar o gradiente hidráulico, a Tabela 4.6 apresenta as características dos corpos de prova. Cada coluna foi intitulada como P1, P2, P3 e P4.

Tabela 4.1 – Características dos corpos de prova.

Coluna	P1	P2	P3	P4
h (cm)	12	5,7	10	5
Volume (cm ³)	136,1	64,1	113,4	56,7
W (%)	16,2	18	15,9	15,8
γ_{nat} (g/cm ³)	1,77	1,8	1,94	1,77
S (%)	55,7	63,5	68,9	58,7
e	0,79	0,77	0,63	0,77

O gradiente hidráulico foi ajustado tanto pela altura das amostras como pela pressão aplicada na base, já que a pressão de topo é mantida igual para todas as colunas. As diferenças entre as pressões de topo e de base, ainda que pequenas, deveriam estar dentro do limite de ajuste da válvula para que o fluxo não fosse comprometido. A poro-pressão foi assumida como sendo a média da pressão de topo e base (HEAD, 1988).

A tensão de câmara e pressão de topo é a mesma para as quatro câmaras, sendo, a pressão de base e o gradiente hidráulico, mantidos diferentes para cada amostra. A Figura 4.1 ilustra o esquema do equipamento ADS.

Figura 4.1 – Esquema do ensaio ADS.

A percolação de água (na saturação) ou da solução com contaminante é indicada pelas linhas de cor vermelha. As linhas de cor preta (linha em cruz) representam as pressões de base aplicada por linhas de ar e exerce pressões pela interface ar-fluido (água ou contaminante). A pressão de câmara é exercida pela pressão na interface ar-água indicada pela linha superior de cor marrom e as linhas de cor azul (ambas, linhas tracejadas), respectivamente. A linha de cor marrom inferior (linha tracejada) indica a pressão de topo nos corpos de prova.

O canto direito inferior da Figura 4.1 indica os recipientes P e A como sendo aqueles que irão completar o conteúdo líquido do medidor de variação de volume. Assim, durante a percolação com o contaminante, conforme o medidor de variação de volume esgota, seu volume é conectado ao recipiente P (Paraquat) a fim de completá-lo com a solução, dando continuidade ao processo de percolação. Caso o processo de percolação seja com água, a conexão era feita ao recipiente A (água destilada).

Portanto, durante todo o ensaio de percolação, o ensaio é rotineiramente interrompido para completar o medidor de variação de volume com o fluido correspondente ao processo em execução. Existe outro caso em que o ensaio pode ser interrompido, isto devido à falta de operador em período integral (ex. período noturno). As curvas de calibração dos medidores de variação de volume estão apresentadas no apêndice A, juntamente com a calibração do transdutor de pressão.

4.2.2. Procedimento de Saturação das Colunas

O procedimento de saturação de um corpo de prova é exatamente igual aos ensaios tradicionais. Inicia-se com a definição do gradiente hidráulico e da tensão efetiva. Em seguida calcula-se o valor das pressões de topo e base a fim de estabelecer um fluxo que seja ascendente na amostra. Ao permitir a percolação do fluido pelo corpo de prova, anota-se o valor de volume do afluente e efluente no tempo, com a finalidade de determinar a condutividade hidráulica. O fluido utilizado na percolação para a saturação do corpo de prova foi a água destilada.

Inicialmente o corpo de prova encontra-se não saturado, e para que este esteja saturado existem, normalmente, duas exigências: a de percolar água em um

volume de pelo menos 5 volumes de vazios ou por contra-pressão com a determinação do valor do parâmetro B. Neste ensaio, a saturação compreendeu as duas maneiras apresentadas. Para garantir que a primeira delas estivesse válida, foram percolados volumes de vazios suficientes para a saturação por percolação sendo superior a 10. Para a validação da segunda, diversos incrementos de tensão confinante foram impostos na obtenção de incrementos de poro-pressão para com isto determinar o valor de B, sendo este, o mais próximo do valor unitário.

Os Gráficos 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 mostram a variação da condutividade hidráulica para os quatro corpos de prova. A pressão inicial no processo de saturação foi de 100 kPa, com incrementos de 50 kPa, até atingir 400 kPa.

Gráfico 4.1 – Condutividade hidráulica para câmara P1.

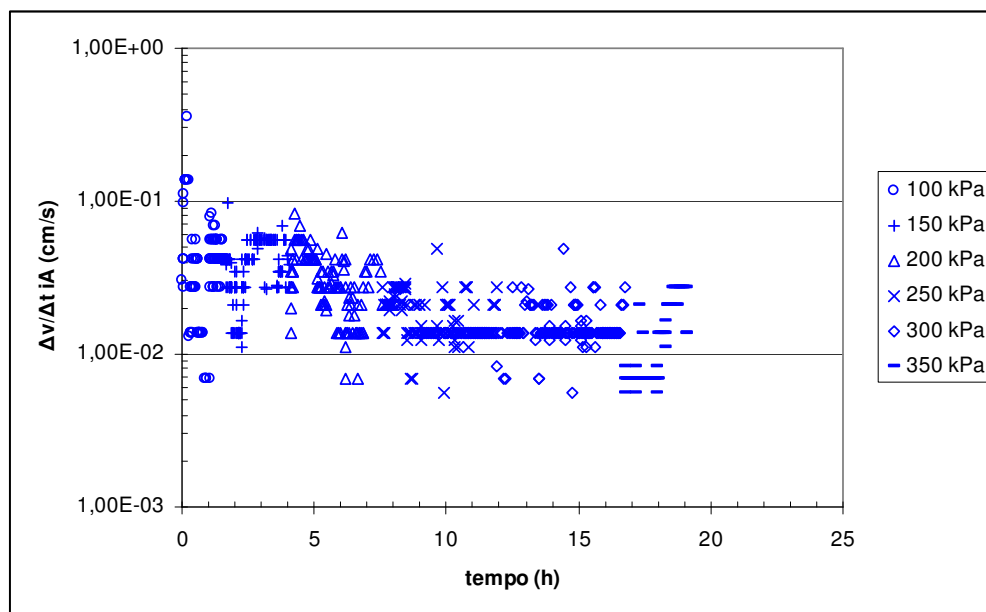


Gráfico 4.2 – Condutividade hidráulica para câmara P2.

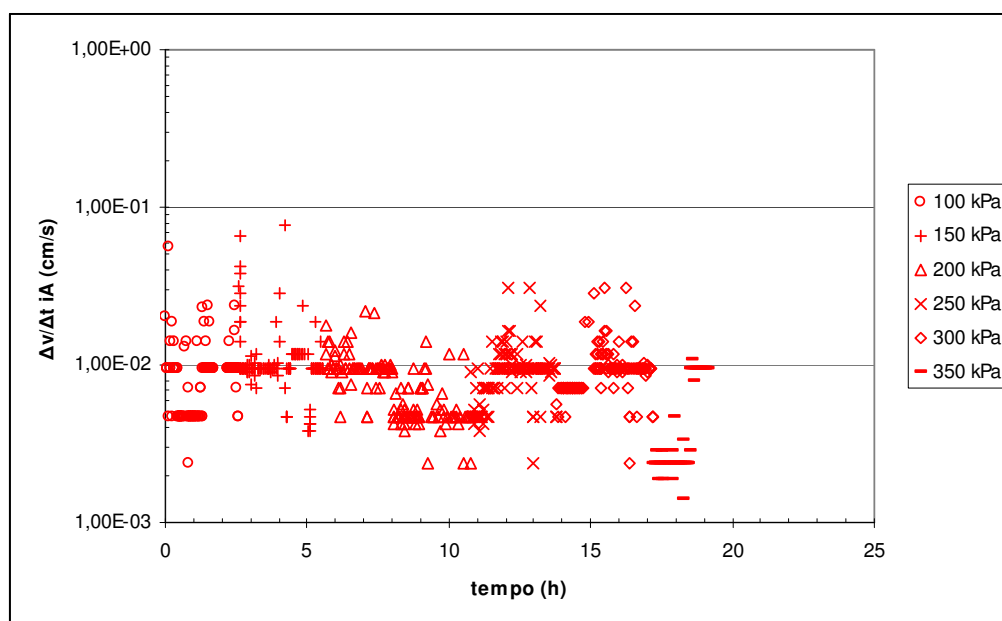


Gráfico 4.3 – Condutividade hidráulica para câmara P3.

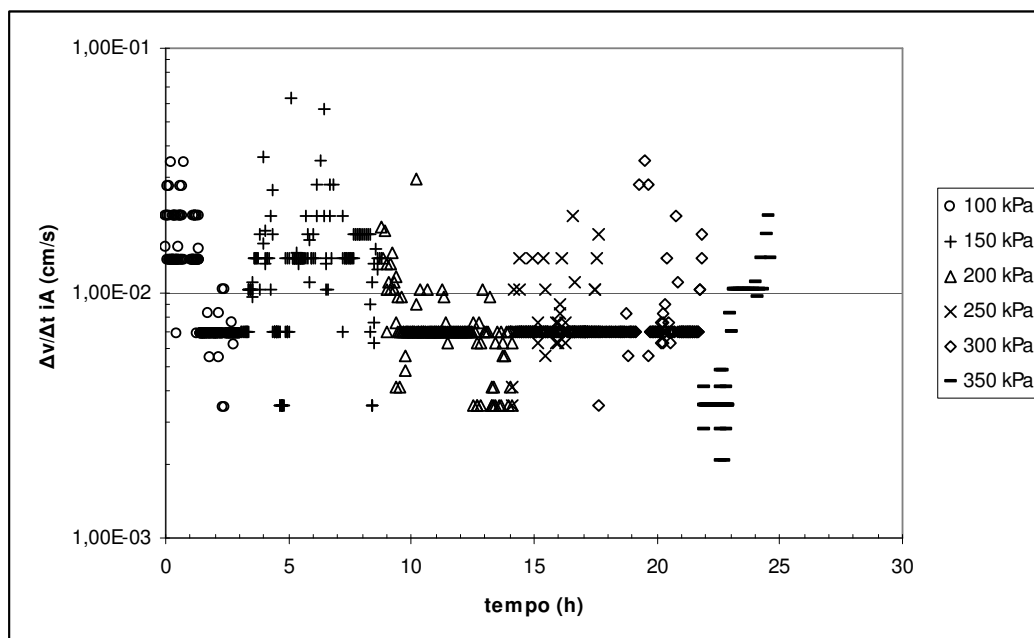
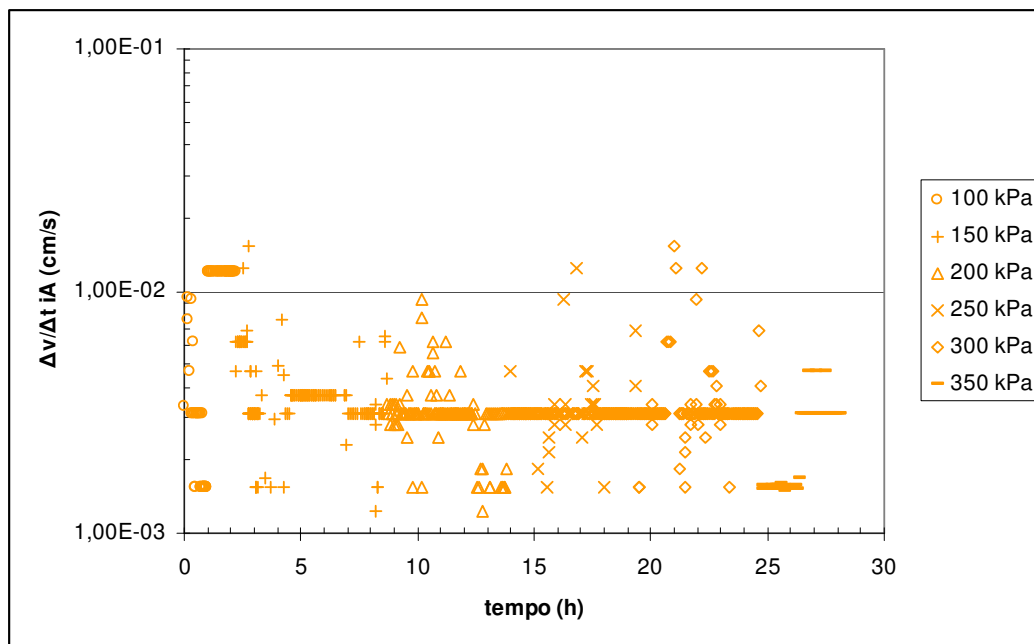


Gráfico 4.4 – Condutividade hidráulica para câmara P4.**4.2.3.****Procedimento de Percolação do Contaminante nas Colunas**

Tendo atingido as exigências para a saturação do corpo de prova, iniciou-se a fase de percolação com o contaminante.

Nesta etapa, o fluido utilizado para a saturação é trocado, de água para a solução de contaminante, neste caso o Paraquat. A concentração de Paraquat a ser percolada, estabelecida para o ensaio, foi de 300 mg/L, por ser a concentração utilizada no campo.

Na percolação do contaminante, não houve nenhuma modificação das condições utilizadas durante a percolação com água destilada, sendo mantidas todas as pressões e gradientes da utilizados no último passo de saturação, em que a pressão de câmara é de 400 kPa. Durante a percolação do fluido, os valores dos volumes de afluente e efluente são anotados no tempo.

4.2.4.**Coleta e Determinação Química do Efluente das Colunas**

Durante a percolação do fluido, tanto os volumes de afluente quanto de efluente foram medidos em diferentes intervalos de tempo. Foram feitas também

determinações de temperatura, pH em pHmetro e da condutividade elétrica no líquido percolado. Os volumes foram coletados e armazenados em frascos âmbar de 100 mL, para posterior determinação da concentração de Paraquat (item 4.3).

A partir do resultado da análise tem-se a concentração de Paraquat contida em cada alíquota coletada. Assim, pode-se plotar os resultados de concentração relativa (C/C_0) versus volume de vazios percolado (V/V_v).

4.3. QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DO PARAQUAT

Existem vários métodos químicos empregados para a determinação do Paraquat como os cromatográficos, eletrofométricos, imunológicos, colorimétricos e voltametria de onda quadrada.

Neste trabalho optou-se por um método rápido, de fácil execução, acessível economicamente para muitas amostras e possível de ser executado no Laboratório de Geotecnia e Meio Ambiente.

Foram testados a determinação de pH e condutividade elétrica para verificar se estes dois parâmetros poderiam ser um indicativo da quantidade de Paraquat no eluído da coluna. Além destes dois parâmetros a determinação da concentração de Paraquat no efluente foi determinada também através do método do ditonito espectrofotometricamente.

A princípio, a medição da condutividade elétrica mostrou-se bastante satisfatória por apresentar uma relação linear com a concentração da solução, resultado apresentado no apêndice B. Mas, foi verificada na água que percolou pela coluna uma condutividade elétrica alta (aproximadamente $80 \mu\text{S/cm}$), que ocasionou uma interferência. Portanto, tentou-se descontar o valor da condutividade elétrica encontrada, mas mesmo assim, o valor da alíquota de contaminante coletada ainda forneceu um valor muito alto na primeira alíquota (volume de 5 ml coletado), o que seria muito provavelmente irreal.

Optou-se por um método colorimétrico, de fácil execução e determinação espectrofotométrica, como será apresentado na seção seguinte.

4.3.1. Determinação do Paraquat por Colorimetria

O procedimento de quantificação do Paraquat, pelo método colorimétrico, segue a Norma AOAC Official Method 969,09 Paraquat in Pesticide Formulations de 1969, com modificações.

O método se baseia no fato do ditionito de sódio (também conhecido como hidrosulfito de sódio, de fórmula química $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) se complexar com o Paraquat, resultando desta combinação um cor azul intensa que pode ser lida num comprimento de onda. Esta reação obedece a uma proporcionalidade que possibilita a sua avaliação colorimétrica.

A curva padrão foi feita a partir de diluições tanto do produto comercial (Gramoxone 200) quanto utilizando o padrão de Paraquat (com pureza de 99%). Para a curva de calibração a partir do produto comercial foi feita uma solução mãe contendo 1,5 mL de Gramoxone para 1 L de solução aquosa (0,3 g de sal de Paraquat/L). A partir desta solução mãe foram feitas diluições sucessivas em balões volumétricos, obtendo diferentes concentrações da solução de Gramoxone. Para a curva de calibração a partir do padrão de alta pureza também foi feita uma solução mãe de 300 mg/L do sal de Paraquat e diluições sucessivas em balões volumétricos. As concentrações avaliadas de Paraquat variaram de 7 mg/L a 300 mg/L.

A solução do reagente ditionito de sódio foi preparada em balão volumétrico de 100 mL, onde acrescentou-se 1 g de ditionito de sódio, completanto-se o volume com NaOH de 0,1 N. A solução gerada tinha somente 1 hora de duração, após a qual perdia a sua função pelo processo de oxidação durante o manuseio.

Em balões volumétricos de 50 mL foram acrescentados 2,5 mL de cada diluição (alíquota), acrescidos de 5 mL da solução com ditionito de sódio 1% em NaOH. O volume do balão é completado com água destilada. Em seguida esse balão deve ser agitado lenta e delicadamente para homogeneização da solução. Caso o balão seja agitado vigorosamente poderá ocorrer oxidação do ditionito e a cor resultante da reação com o Paraquat desaparece rapidamente.

O líquido contido no balão volumétrico é vertido em uma cubeta de quartzo e levada ao aparelho Spectronic Genesys 2 da Spectronic Instruments, no qual a faixa de comprimento de onda utilizada será de 600 nm.

A curva de calibração construída e ajustada, como visto no Gráfico 4.5, é dado segundo a equação da reta:

$$C = 263,3 \, \Omega$$

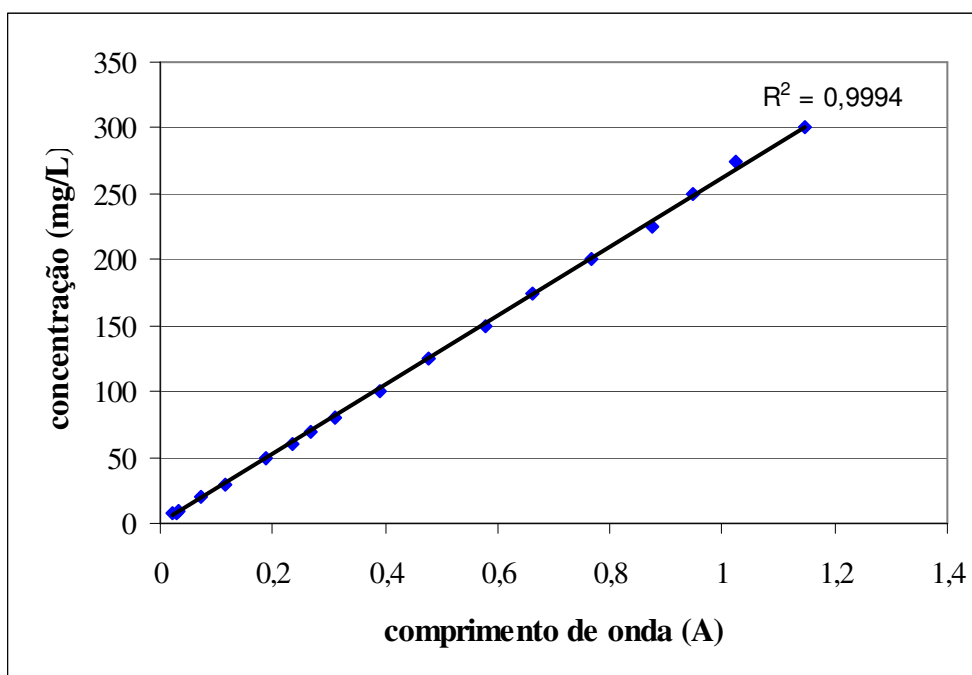
Equação 4.3

onde Ω é o comprimento de onda.

Figura 4.2 – Indicação da quantidade do Paraquat pelo método de coloração.



Gráfico 4.5 – Curva de calibração com ditionito de sódio.



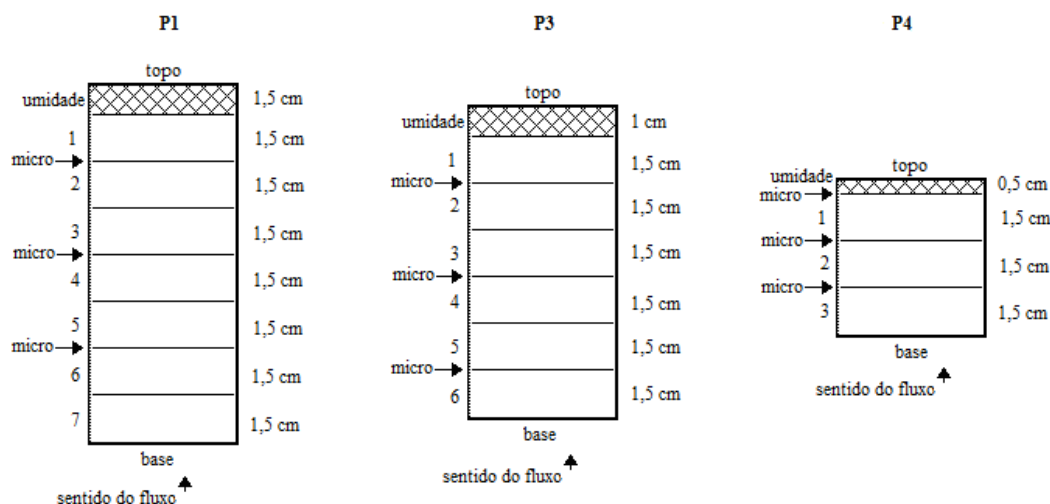
Uma alteração no método foi ocasionada por exigir uma quantidade de 5 ml de solução para a análise e como este é instável poderia ocorrer algum problema e não haver material para repetição. Visto que para o ensaio de coluna, inicialmente, foram coletadas alíquotas a cada meio volume de vazios, o que corresponderia a aproximadamente 12 ml para a amostra de altura menor, sendo possível, portanto, apenas duas repetições. Assim, procurou-se reduzir a quantidade de 5 ml para 2,5 ml de solução e conseqüentemente reduzir a quantidade de todos os outros produtos para a reação.

4.4. ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

As determinações microbiológicas foram realizadas somente no solo de três colunas do ensaio ADS da Área 1, especificamente as colunas P1, P3 e P4. Após o processo de contaminação das colunas por Paraquat e coleta das frações do líquido percolado, as colunas foram desmontadas e cortadas em fatias, três de igual largura para a determinação de UFC e FDA e a mais superficial, mais fina, somente para determinação da umidade. Este procedimento foi feito com cuidados assépticos para evitar contaminação externa.

O esquema adotado para fatiar o solo é apresentado na Figura 4.3 e nos locais indicados na figura com uma seta foi retirado material para as análises microbiológicas, correspondendo aproximadamente 10 g de solo.

Figura 4.3 – Esquema para análise microbiológica.



A primeira fatia, de todas as colunas, foi retirada para determinação da umidade. As demais fatias foram colocadas em tubos “falcon” e armazenadas sob refrigeração para posterior extração e análise do Paraquat do solo e seus subprodutos de degradação e biodegradação, em cromatografia de alta performance HPLC e assim verificar se houve degradação do produto nestas condições.

Foram feitas determinações de número de colônias de bactérias heterotróficas e fungos e quantificações da oxidação biológica do diacetato de fluoresceína, conforme descrito no item 3.3.4

Os resultados do FDA e do UFC serão apresentados no item 5.3.