

UNIVERSIDADE TIRADENTES – UNIT

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS - PEP

**APLICAÇÃO DE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS BASEADOS EM
TETRAHIDROFURANO NO PARTICIONAMENTO E
CONCENTRAÇÃO DOS HERBICIDAS DIURON E ATRAZINA**

Autor: Filipe Smith Buarque

Orientadores: Dr. Álvaro Silva Lima

Dr. Ranyere Lucena de Souza

ARACAJU, SE - BRASIL

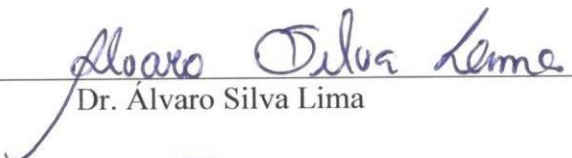
FEVEREIRO DE 2017

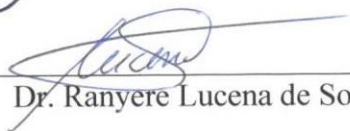
APLICAÇÃO DE SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS BASEADOS EM
TETRAHIDROFURANO NO PARTICIONAMENTO E CONCENTRAÇÃO DOS
HERBICIDAS DIURON E ATRAZINA

Filipe Smith Buarque

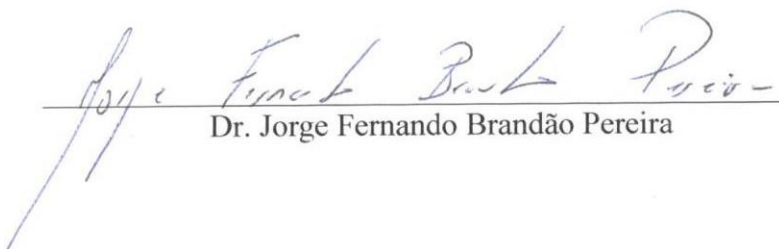
SEMINÁRIO DA DISSERTAÇÃO SUBMETIDO AO PROGRAMA DE POSGRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DA UNIVERSIDADE TIRADENTES COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
ENGENHARIA DE PROCESSOS

Aprovada por:


Dr. Álvaro Silva Lima


Dr. Ranyere Lucena de Souza


Dra. Eliane Bezerra Cavalcanti


Dr. Jorge Fernando Brandão Pereira

ARACAJU. SE - BRASIL

FEVEREIRO DE 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Buarque, Filipe Smith

B917a Aplicação de sistemas aquosos bifásicos baseados em tetrahidrofurano no particionamento e concentração dos herbicidas diuron e atrazina / Filipe Smith Buarque; orientação [de] Profº. Drº Álvaro Silva Lima, Profª. Drª. Ranyere Lucena de Souza – Aracaju: UNIT, 2017.

107 f. il.: 30cm

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade Tiradentes, 2017
Inclui bibliografia.

1. Sistema aquoso bifásico. 2. Concentração. 3. diuron e atrazina. I. Buarque, Filipe Smith. II. Lima, Alvaro Silva. (orient.). III. Souza, Ranyere Lucena de. (orient.) IV. Universidade Tiradentes. V. Título.

CDU: 661.162.2

“Faça as coisas o mais simples que você puder,
porém não se restrinja às mais simples”
(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente aos meus orientadores Prof. Dr. Álvaro Silva Lima e Prof. Dr. Ranyere Lucena de Souza, pela orientação dedicada neste trabalho, por acreditarem em mim, pelas contribuições para o meu crescimento profissional, e ainda, pelo que vou aprender sou muito grato a vocês.

A todos meus familiares, carinho e apoio, em especial aos meus pais Waldir Buarque Junior, Isabel Smith pelo estímulo e encorajamento ocorrido durante o curso, pois sem isto jamais teria concluído. As minhas avós que tanto contribuíram para minha formação pessoal, e ao meu avô Waldir Buarque que daí de cima, deve estar muito feliz por essa conquista.

Aos meus irmãos Beatriz Smith, Fernando Buarque e Larissa Buarque, pelo companheirismo e compreensão durante todos os momentos difíceis. Não poderia deixar de fora de Denise Smith e Itanamara Buarque que sempre me apoiaram em todas minhas escolhas.

As Dr^a Cleide Soares, Dr^a Eliane Cavalcanti, Dr^a Maria Nogueira e Dr^a Rita Miranda por colaborarem no desenvolvimento deste trabalho.

A família que ganhei do colégio Amadeus, pela amizade além de colégio e que até hoje fazem parte da minha história. Agradeço a Laís Oliveira e Allana Amel, pois foram de fundamental importância e essenciais para essa conquista. Agradeço também a Mariana Borges e Rafaela Loeser por todo o apoio dado.

Aos amigos que ganhei no mestrado e que fizeram parte do meu dia a dia, Andrea, Ricardo, Anderson, Dany, Lays, Silvia, , Regina, Gilderlan, Isabela, Roneval, Paloma, entre outros. Não posso esquecer-me de agradecer aos professores e funcionários da UNIT e ITP, que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho. A todas as demais pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

À Universidade Tiradentes, pela concessão da bolsa de estudo. Agradeço também o apoio financeiro da Financiadora de Estudos e Projeto - FINEP e da Fundação de Amparo em Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe – FAPITEC.

Resumo do Seminário da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos da Universidade Tiradentes como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Processos.

Aplicação de sistemas aquosos bifásicos baseados em tetrahidrofurano no particionamento e concentração dos herbicidas diuron e atrazina

Filipe Smith Buarque

O uso prologando destes agrotóxicos é de grande preocupação, já que os resíduos que não sofrem degradação permanecem em águas superficiais e subterrâneas em um limite que não é aceitável para um ambiente saudável. O diuron e atrazina são herbicidas amplamente utilizados na agricultura para controlar uma variedade de ervas daninhas. São frequentemente detectado em águas subterrâneas e superficiais. No entanto, os seus baixos níveis na água tornam inviável sua identificação e quantificação, o que significa um grande inconveniente na avaliação de suas persistências e impacto ambiental. Neste contexto, propõe-se um método de concentração para estes herbicidas em águas superficiais, com base no sistema aquoso bifásico (SAB) composto por tetrahidrofurano (THF) e frutose comercial (para concentração de diuron) e SAB formado por THF e glicerol (para concentração da atrazina). Os diagramas de fases dos sistemas já foram relatados por nosso grupo. As TL foram determinadas e, subsequentemente, a recuperação do diuron (fase de topo) foi otimizada de 60,05 para 97,26%, já a recuperação da atrazina (fase de topo) foi otimizada de 70,90 para 96,46%. Além disso, o fator de concentração do diuron atingiu 200 vezes com o sistema otimizado do diuron (12,5% em massa de frutose comercial + 60% em massa de THF, correspondendo a TLL de 66,27) e a atrazina atingiu 250 vezes da atrazina (30% em massa de glicerol + 50% em massa de THF, correspondendo a TLL de 93.90). O método mostrou uma resposta linear do diuron entre 0.01–2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com um coeficiente de correlação de 0,999 e um limite de detecção de 25 ng.L^{-1} . Na atrazina o método apresentou uma linearidade entre 0.01–2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com um coeficiente de correlação de 0,999 e um limite de detecção de 50 ng.L^{-1} . Essa concentração permitiu a identificação e quantificação de diuron e atrazina em amostras reais de água coletada na bacia hidrográfica do rio Japarutuba previamente diagnosticada como isenta deste composto, com valores de diuron entre 150 - 1900 ng.L^{-1} e de 95 - 2400 ng.L^{-1} para atrazina em águas superficiais.

Palavras-chave: Sistema aquoso bifásico, concentração, particionamento, diuron e atrazina.

Abstract of Dissertation presented to the Process Engineering Graduate Program of University Tiradentes as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

Application of aqueous two-phase systems based tetrahydrofuran in the participation and concentration of pesticides diuron and atrazine

Filipe Smith Buarque

Prolonged use of pesticides is of great concern, since waste that does not undergo degradation remains in surface and groundwater at a limit that is not acceptable for a healthy environment. Diuron and atrazine are herbicides widely used in agriculture to control a variety of weeds. They are often detected in groundwater and surface waters. However, their low levels in water make their identification and quantification impracticable, which means a major drawback in assessing their persistence and environmental impact. In this context, a concentration method is proposed for these pesticides in surface water based on ATPS composed of tetrahydrofuran (THF) and commercial fructose (for concentration of diuron) and an ATPS formed by THF and glycerol (for concentration of atrazine). The phase diagrams of the systems have already been reported by our group. TL were determined and, subsequently, recovery of diuron (top phase) was optimized from 60.05 to 97.26%, while atrazine recovery (top phase) was optimized from 70.90 to 96.46%. Moreover, the diuron concentration factor reached 200-fold with the optimized diuron system (12.5 wt% commercial fructose + 60 wt% THF, corresponding to TLL of 66.27) and atrazine reached 250-fold of atrazine (30% wt% glycerol + 50% wt% THF, corresponding to TLL of 93.90). The method showed a linear diuron response between 0.01-2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.999 and a detection limit of 25 ng.L^{-1} . In atrazine the method presented a linearity between 0.01-2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.999 and a detection limit of 50 ng.L^{-1} . This concentration allowed the identification and quantification of diuron and atrazine in real samples of water collected in the Japaratuba river basin previously diagnosed as free of this compound, with diuron values between 150 - 1900 ng.L^{-1} and 95 - 2400 ng.L^{-1} to atrazine in surface water.

Key-words: Aqueous two-phase system, concentration, participation, diuron, atrazine

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Pesticidas	3
2.1.1. Inseticidas	3
2.1.2. Herbicidas	4
2.2 Diuron	8
2.3 Atrazina.....	11
2.4 Sistema aquoso bifásico - SAB.....	14
2.5 Constituintes do Sistema Aquoso Bifásico	18
2.5.1 Tetrahydrofurano	18
2.5.2 Frutose	19
2.5.3 Glicerol	20
2.6 Fatores que influenciam a partição dos SAB.....	21
2.6.1 Efeito da TLL.....	21
2.6.2 Temperatura	21
2.6.3 Hidrofobicidade	22
3. OBJETIVOS	23
3.1. Objetivo geral	23
3.2. Objetivos específicos	23
4. INTRODUÇÃO AOS CAPÍTULOS 5 E 6	24
5. IMPROVEMENT OF DIURON DETECTION IN WATER USING AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM BASED ON TETRAHYDROFURAN AND FRUCTOSE.....	25
6. AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM BASED ON TETRAHYDROFURAN AND GLYCEROL: AN IMPROVE OF ATRAZINE DETECTION WATER SAMPLE	58
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
8. TRABALHOS PUBLICADOS.....	82
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	83

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 2

Figura 1: Estrutura química do herbicida diuron.....	8
Figura 2: Principais produtos da degradação natural do diuron.....	10
Figura 3: Estrutura química do herbicida atrazina.....	12
Figura 4: Principais produtos da degradação da atrazina.....	13
Figura 5: Diagrama de fases genérico, expresso em coordenadas cartesianas.....	16
Figura 6: Estrutura molecular do tetrahidrofurano.....	18
Figura 7: Representação da estrutura da D-frutose.....	20
Figura 8: Representação da estrutura do glicerol.....	20

CAPITULO 5

Figure 1. Main products of environmental degradation of diuron.....	28
Figure 2. Phases diagram for ternary systems constituted of tetrahydrofuran + carbohydrates + water, tie-lines, mixture point (●, ●, ●, ●, ●, ●, ●, ●, ●), critical point (●), at 298 K and 0.10 MPa. (a) fructose; (b) commercial fructose.....	34
Figure 3. Experimental density ($\rho/\text{g.cm}^{-3}$) as a function of temperature for different aqueous two-phase system composed to commercial fructose + THF + water (system 1): ● TLL (38.41), ● TLL (54.75), ● TLL (66.27), ● TLL (77.62), ● TLL (85.27), ● TLL (98.53). For fructose + THF + water (system 2): ● TLL (39.84), ● TLL (67.31), ● TLL (92.80), ● TLL (118.47), at 298 K and 0.10 MPa.....	35
Figure 4. Experimental viscosity ($\eta/\text{mPa.s}$) as a function of temperature for different aqueous two-phase system composed to commercial fructose + THF + water (system 1): ● TLL (38.41), ● TLL (54.75), ● TLL (66.27), ● TLL (77.62), ● TLL (85.27), ● TLL (98.53). For fructose + THF + water (system 2): ● TLL (39.84), ● TLL (67.31), ● TLL (92.80), ● TLL (118.47), at 298 K and 0.10 MPa.....	36
Figure 5. Tie Line length effect in the top recovery (green bar) and diuron partition coefficient ($\square$) in aqueous two-phases system based in tetrahydrofuran and commercial fructose, at 298 K and 0.10 MPa.....	38
Figure 6: Concentration process the diuron in the THF-rich phase, through the variation of the initial mixture composition along the same TL (60 wt% of THF + 12.5 wt% commercial fructose), at 298 K and 0.10 MPa.....	39

Figure 7. Plot of the observed concentration (represented by data points) versus expected concentration of diuron (represented by the line).....	40
Figure 8. LC-TOF chromatograms of water samples from the hydrographic basin of the Japaratuba River in August without previous treatment (a) and after ATPS (THF + commercial fructose) concentration of diuron and byproducts (b).....	42
Figure 9. Monitoring the diuron and products degradation after 200-fold concentration in water samples expressed in ng.L^{-1} . ■ Diuron, ■ 3,4-dichloroaniline, ■ 3,4-dichlorophenylurea.	43

CAPITULO 6

Figure 1 Phases diagram for ternary systems constituted of tetrahydrofuran + glycerol + water, tie-lines, mixture point (●, ●, ●, ●), critical point (●), at 298 K and 0.10 MPa.....	65
Figure 2 Tie Line length effect in the top recovery (blue bar) and atrazine partition coefficient (□) in aqueous two-phases system based in tetrahydrofuran and glycerol, at 298 K and 0.10 MPa.....	67
Figure 3 Concentration process the atrazine in the THF-rich phase, through the variation of the initial mixture composition along the same TL (60 wt% of THF + 38 wt% of glycerol), at 298 K and 0.10 MPa.....	68
Figure 4 Plot of the observed concentration (represented by data points) versus concentrations expected atrazine (represented by line).....	69
Figure 5 LC-TOF chromatograms of water samples from the hydrographic basin of the Japaratuba River in August/2016 without previous treatment (a) and after ATPS (THF + glycerol) concentration of atrazine (b).....	71
Figure 6 Monitoring the atrazine after 250-fold concentration in water samples expressed in ng.L^{-1}	72

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1: Classe toxicológica e cor da faixa no rótulo de produtos agrotóxicos.....	5
--	---

CAPITULO 5

Table S1. Weight fraction composition for TLs and their respective TLLs of the ATPS formed by fructose (Y) and tetrahydrofuran (X) at the top phase (T) (THF-rich phase) and bottom phase (B) (fructose rich-phase), initial of the mixture composition (M) at 298K and 0.10MPa.....	51
Table S2. Parameter values of fitting parameters of Othmer-Tobias e Bancroft equation for the ternary system composed of fructose + tetrahydrofuran + water, correlation coefficients (R^2) and at 298 K and 0.10 MPa.....	51
Table S3. Critical point of system composed of fructose + tetrahydrofuran + water and commercial fructose + tetrahydrofuran + water, at 298 K and atmospheric pressure (0.10 MPa).....	52
Table S4. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + fructose + water.....	53
Table S5. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + commercial fructose + water.....	54
Table S6. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + commercial fructose + water.....	55
Table S7. Validation parameters of the proposed method.....	56
Table S8. Concentration of diuron in surface water samples expressed as ng.L^{-1}	57

CAPITULO 6

Table 1 Weight fraction composition for TLs and their respective TLLs of the ATPS formed by glycerol (Y) and tetrahydrofuran (X) at the top phase (T) (tetrahydrofuran rich phase) and bottom phase (B) (glycerol rich phase), initial of the mixture composition (M) at 298 K and 0.10 MPa.....	60
Table S1 Parameter values of fitting parameters of Othmer-Tobias e Bancroft equation for the ternary system composed of tetrahydrofuran + glycerol + water, correlation coefficients (R^2) and at 298 K and 0.10 MPa.....	78

Table S2 Critical point of system composed THF + glycerol + water, at 298 K and 0.10 MPa.....	78
Table S3 Validation parameters of the proposed method.....	78
Table S4 Concentration of atrazine in surface water samples expressed as ng.L ⁻¹	79

LISTA DE SIGLAS

SAB: Sistema aquoso bifásico
ATPS: aqueous two-phase system
SPE: Solid phase extraction
 K_{ow} : Coeficiente de partição octanol-água
THF: Tetrahidrofurano
TL: Linha de amarração
TLL: Comprimento de linha de amarração
DIU: Diuron
A, B, C: Constante de correlação das equações empíricas
ATZ: Atrazina
FRU: Frutose
GLY: Glicerol
K: Coeficiente de partição
 C_T ou C_F : Concentração na fase de topo ou fundo
 R_T : Recuperação de topo
 V_T ou V_F : Volume na fase de topo ou fundo
GC-MS: cromatografia gasosa-espectroscopia de massa
LC-MS: cromatografia líquida-espectroscopia de massa
CF: Concentration factor
UFLC: ultra-fast liquid chromatography

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento social e econômico de qualquer região está fundamentado na disponibilidade de água de boa qualidade e na capacidade de conservação e proteção dos recursos hídricos desse local. Atualmente a preocupação com a conservação desses recursos tem aumentado como resultado da conscientização em relação à má distribuição e à escassez de reservas de água de boa qualidade. No mundo 70% da água doce mundial é utilizada para irrigação, este panorama não é diferente para o Brasil que é um país agrícola e, portanto, destaca-se no cenário internacional como o maior consumidor mundial de agrotóxicos. Enquanto que nos últimos dez anos o mercado mundial desse setor cresceu 93%, no Brasil, esse crescimento foi de 190% (PELAEZ *et al.*, 2013).

Apesar dos grandes números, sabe-se que, em geral, os sistemas agrícolas têm sua produção limitada por ervas daninhas que atacam as lavouras tais como fungos, bactérias e ervas daninhas. Portanto, faz-se necessário o cuidadoso manejo das plantações de forma que as grandes safras sejam mantidas. É neste contexto que a indústria química auxilia a engenharia agrônoma com a fabricação de pesticidas capazes de proteger a lavoura das pragas, promovendo a otimização e a boa manutenção da produção (NOUGADÈRE *et al.*, 2011). Apesar de trazerem benefícios à produção agrícola, o uso exagerado de agrotóxicos pode proporcionar danos tanto no meio ambiente quanto ao próprio homem (BOMBARDI, 2011).

Uma das principais fontes de poluição dos recursos hídricos tem sido a agricultura, que ao longo dos anos cresceu em produtividade e área cultivada, acompanhada pelo uso intenso de agrotóxicos. Muitos agrotóxicos novos surgiram, com características físico-químicas que propiciam funcionalidades diferenciadas e comportamentos distintos no meio ambiente. A contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos está relacionada com os mecanismos que influenciam na persistência e na mobilidade dos compostos, entre eles a degradação, a dispersão atmosférica, o escoamento superficial, a infiltração, a absorção pelas plantas e os organismos, além das condições ambientais como clima, solo, relevo, entre outros e propriedades químicas do composto (ALI *et al.*, 2014).

O uso prologando dos herbicidas diuron e atrazina é de grande preocupação, já que os resíduos que não sofrem degradação permanecem em águas superficiais e subterrâneas em um limite que não é aceitável para um ambiente saudável (SHARMA *et al.*, 2011). Um dos principais problemas com a utilização destes compostos é que, como eles não são totalmente seletivos, podem causar efeitos tóxicos em organismos não-alvo, o que representa uma ameaça

para a ecossistemas terrestres e aquáticos (MANSANO *et al.*, 2016). Estes compostos apresentam efeitos toxicológicos, afetando assim, a saúde humana (SHARMA *et al.*, 2011). No entanto, em várias regiões do Brasil a contaminação das águas superficiais e das águas subterrâneas por estes pesticidas já foram relatados (DANTAS *et al.*, 2011; BRITTO *et al.*, 2012).

Seguindo a tendência nacional, no estado de Sergipe, ao longo dos anos, o uso de herbicidas, ganhou tanta expressão que motivou estudos sobre os riscos de contaminação dos recursos hídricos da Sub-bacia hidrográfica do Rio Poxim quanto as concentrações de diuron, atrazina e de mais 11 princípios ativos (metribuzim; ametrina; glifosato; paraquat; hexazinona; trifloxissulfurom; halossulfurom; oxifluorfem; 2,4-D; picloram; e imazapir) comumente utilizados comercialmente, formulados isoladamente ou em misturas e aplicados nas áreas cultivadas as margens do Rio Poxim (BRITTO *et al.*, 2012).

Devido à ocorrência de herbicidas em baixos níveis de concentração nas águas, torna muito difícil sua quantificação, o que requer além de uma extração eficiente, também uma etapa de pré-concentração. A busca por esses limites de quantificação cada vez mais baixos conduziu a um crescente desenvolvimento de técnicas de pré-concentração de pesticidas, cada vez mais eficientes, visando alcançar os limites impostos pela legislação.

Neste contexto, este trabalho utiliza o sistema aquoso bifásico (SAB), formados por tetrahidrofurano + frutose e tetrahidrofurano + glicerol, como uma estratégia para concentração de herbicidas, visando sua identificação e quantificação em águas superficiais. Vale ressaltar o baixo teor de herbicidas nas águas superficiais e subterrâneas torna inviável sua identificação e quantificação, o que constitui uma grande desvantagem na avaliação de sua persistência e seu impacto ambiental. Portanto, requerem uma metodologia de concentração, que normalmente é utilizado a extração em fase sólida (SPE), porém esta metodologia possui um alto valor se comparado com os SABs propostos neste trabalho, como uma alternativa a concentração de herbicidas. Importante ressaltar, o caráter inovador dos dados apresentados, os quais não se encontram na literatura referências sobre a sua utilização até o presente momento.

Capítulo 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta revisão bibliográfica será dado um breve enfoque aos principais temas relacionados ao trabalho desenvolvido nesta dissertação, iniciando-se pelos pesticidas e enfatizando os herbicidas diuron e atrazina. Em seguida, será apresentada a problemática de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas. Finalmente, será apresentado o estado da arte para concentração do diuron e atrazina destacando os métodos empregados para este fim e a aplicação de sistemas aquosos bifásicos no processo de particionamento e concentração destes herbicidas.

2.1. Pesticidas

Os pesticidas, também conhecidos como agrotóxicos ou praguicidas, são substâncias químicas ou biológicas que desempenham a função de prevenir, destruir, repelir ou inibir a ocorrência ou efeito de organismos vivos, no combate de pragas e doenças que afetam à agricultura. A Lei Federal n.º 7802, de 11/07/89, regulamentada pelo Decreto n.º 98816, no seu artigo 2, inciso I, define o termo “pesticida” da seguinte forma: “Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento”. Essa definição exclui fertilizantes e compostos químicos (BRASIL, 2004).

Estas substâncias são principalmente compostos orgânicos sintéticos, mas também podem ser compostos naturais que derivam de plantas ou minerais (RIVEROS, 2012). Desta forma, classificam-se em: inseticidas - que eliminam insetos, fungicidas – que eliminam fungo, antiparasitário – eliminam parasitas e herbicidas – que combatem ervas daninhas (TIXIER *et al.*, 2002).

A classificação química destes compostos e onde são empregados é organizada por meio de grupos, como os inseticidas e herbicidas.

2.1.1. Inseticidas

Os inseticidas representam um grupo de praguicidas que são tradicionalmente utilizados em grande quantidade contra uma ampla variedade insetos. A atividade biológica dos

praguicidas implica que eles podem, se a dose for suficientemente alta e se houver exposição suficiente, exercer efeitos tóxicos sobre o homem (TIXIER *et al.*, 2002). Algumas subclasses dos inseticidas:

- Organoclorados: composto por átomos de carbono, hidrogênio e cloro, com baixa solubilidade em água, elevada solubilidade em solventes orgânicos, baixa volatilidade e elevada estabilidade química. A maioria são poluentes orgânicos persistentes que se caracterizam por longos ciclos de vida no ambiente e por serem transportados a longas distâncias. Exemplos dessa classe temos, aldrim e heptacloro (SÁ *et al.*, 2012).
- Organofosforados: apresentam principalmente átomos de cloro e fosforo em sua estrutura consistindo em uma importante classe inseticidas, normalmente derivados dos ácidos fosfóricos, ditiofosfórico e tiofosfórico. São compostos que contém ligações carbono-fosforo, com alta solubilidade em solventes orgânicos. Apesar de ser bastante perigosos para o operador, devido à sua toxicidade aguda, são pouco persistentes no meio ambiente. Exemplo desta classe são os diazinon e dissultofon (SAVOY, 2011).
- Carbamatos: São compostos derivados ácido carbâmico, contendo um grupo funcional - NH(CO)O -, estão intimamente relacionados com os inseticidas organofosforados quanto a ação biológica e não são persistentes no meio ambiente. Os carbamatos são frequentemente utilizados no controle de insetos que, por alguma razão, são resistentes a compostos organofosforados. Estes compostos são considerados de toxicidade aguda media e são rapidamente degradados. Como exemplo, têm-se o carbofuran e carbaril (BRAIBANTE *et al.*, 2012).

2.1.2. Herbicidas

- Feniluréias: têm relativamente alta solubilidade em água e baixa tendência para adsorção no solo, tornando-as móveis no solo. Vários herbicidas dessa classe e seus compostos de degradação foram detectados como contaminantes de águas subterrâneas, rios, córregos, lagos e água do mar. O uso prolongado pode causar efeitos toxicológicos no ambiente e riscos graves para saúde humana por meio da acumulação na cadeia alimentar. Usado no tratamento pré e pós-emergente na agricultura, atuando como inibidor nas plantas do processo fotossintético. Exemplos dessa classe são o diuron e linuron (SORENSEN *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2012; MEHTA *et al.*, 2015).
- Fenilpirazóis: são aminas aromáticas e heterocíclicas, de desenvolvimento recente, e atuam como venenos axônicos. Sofrem degradação lenta em água e sedimentos em condições anaeróbias, com tempo de meia-vida variando entre 116 e 130 dias. O fipronil

é o principal produto utilizado no Brasil sendo empregado para combater formigas cortadeiras e carrapatos. (PICANÇO, 2010).

- Organossulfurados: são compostos que possuem o enxofre centralmente à molécula. São acaricidas específicos bem eficientes que agem sobre todas as fases de desenvolvimento de ácaros. (MOSTAFALOU & ABDOLLAHI, 2013).
- Triazinas: São derivados nitrogenados heterocíclicos, em que o anel é composto de átomos de N e C alternados no anel. Estes compostos inibem o início da via fotossintética, impedindo assim o desenvolvimento das plantas. As Triazinas são bastante tóxicas e persistentes no ambiente, principalmente em leitos ou corpos d'água. Exemplos dessa classe são a atrazina e ametrina (PATUSSI & BÜNDCHEN, 2013).
- Ácidos fenoxialquílicos: estes herbicidas normalmente apresentam longo tempo de atividade residual em solos e águas persistindo por vários meses. Entretanto, alguns herbicidas da classe dos ácidos fenóxidos com baixa persistência permanecem no solo por, aproximadamente, 2 semanas após a aplicação, pois degradam-se facilmente em água, por ação da luz solar e de microorganismos. O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), membro desta classe, é altamente seletivo, sistêmico e pós-emergente (SANTOS & ROCHA, 2000).

Os agrotóxicos podem ser classificados de outras maneiras, como a classificação toxicológica, que indica que o agrotóxico é de maior ou menor periculosidade (SILVA *et al.*, 2014). A Tabela 1 apresenta essa classificação.

Tabela 1: Classe toxicológica e cor da faixa no rótulo de produtos agrotóxicos

Classe Toxicológica	Toxicidade do Produto	Faixa Indicativa de Cor
I	Extremamente tóxico	Vermelha
II	Altamente tóxico	Amarela
III	Mediamente tóxico	Azul
IV	Pouco tóxico	Verde

Fonte: SILVA *et al.*, 2014.

De acordo com a classificação toxicológica, quanto menor a classe maior será o perigo de dano ao meio ambiente, e com isso a cor da faixa apresentada nos rótulos varia de vermelha a verde, por exemplo: a Classe I apresenta maior perigo e é caracterizada pela faixa vermelha (SILVA *et al.*, 2014).

Entre os vários tipos de pesticidas no mercado, os herbicidas são os mais utilizados, sendo comercializados uma quantidade recorde de 902.408 toneladas no ano de 2013 (acréscimo de 9,6% em relação a 2012). Desde 2008 o Brasil passou a ser o maior consumidor de pesticidas do mundo, movimentando um mercado de mais de 7,1 bilhões de reais por ano. Devido ao modelo atual de produção, o crescimento das áreas cultivadas no país, a utilização de pesticidas no Brasil cresce a uma taxa de aproximadamente 0,79% ao ano (EMBRAPA, 2014).

A expectativa para a produção de grãos de 2015/2016 para o Brasil, é que atinja 215,3 milhões de toneladas, 15,3% acima da safra anterior (187,7 milhões de toneladas), e tendo como projeção para o ano de 2023 de um acréscimo de 25,7% na sua produção (CONAB, 2016). A cana-de-açúcar é responsável por cerca de 70% de todo o açúcar produzido no mundo tendo o Brasil como o seu maior produtor mundial. Seguindo a tendência nacional, o censo sergipano registrou a ocupação de 1.702,6 mil hectares de terras nas atividades de produção de grãos (cana-de-açúcar, café, laranja) no estado, o qual corresponde 0,5% do valor da produção agrícola brasileira na base de 2012. Em Sergipe o principal produto é a cana de açúcar que no ano de 2012 apresentou um percentual de produção de 22,3% do valor da produção agrícola do Estado. Já a laranja teve uma participação de 13,6% no total da produção agrícola em Sergipe (BRITTO *et al.*, 2012).

A intensa utilização de herbicidas deve-se a expansão das áreas cultivadas e ao fato de as culturas agrícolas serem suscetíveis à interferência imposta pelas plantas daninhas (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 1994). Ao longo das últimas décadas, com o aumento do uso de agrotóxicos, intensificou-se a preocupação com o destino destes no ambiente. Os mananciais hídricos, tanto superficiais quanto subterrâneos, estão expostos aos agrotóxicos aplicados em áreas agrícolas (SILVA, 2011). Os corpos d'água sofrem todos os impactos das atividades antropogênicas ao longo da bacia, da qual recebem materiais, sedimento e poluentes, refletindo os usos e ocupação do solo nas áreas vizinhas (DELLAMATRICE & MONTEIRO, 2014). A utilização inadequada desses herbicidas vem causando sérios problemas para o ambiente. Sabe-se ainda que a maioria dos herbicidas destinados para essa cultura tem um efeito residual prolongado. Os fatores que afetam o destino dos agrotóxicos no meio ambiente são a forma de uso dos pesticidas, características ambientais e propriedades físico-químicas do princípio ativo (LAABS *et al.*, 2002; INOUE *et al.*, 2000).

Quando aplicados diretamente no solo, os herbicidas podem ser degradados por vias químicas ou pela ação de micro-organismos. Entretanto, estes compostos com alta persistência (baixa taxa de degradação), como os compostos organoclorados, podem permanecer no

ambiente sem sofrer qualquer alteração. Estas moléculas podem ser adsorvidas nas partículas do solo e carregadas pelas águas superficiais (SMALLING *et al.*, 2015).

Os pesticidas podem alcançar os ambientes aquáticos por meio da aplicação intencional, lixiviação e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorreram as aplicações (DORES & DE-LAMONICA-FREIRE, 2001; MEHTA *et al.*, 2015). A presença de agrotóxicos nos mananciais pode trazer dificuldades para o tratamento da água em virtude da eventual necessidade de tecnologias mais complexas (SMALLING *et al.*, 2015).

O uso de agrotóxicos é um dos mais graves fatores de degradação da qualidade dos recursos hídricos. A presença de agrotóxicos no meio ambiente é uma questão de especial preocupação para a conservação dos ecossistemas e à proteção da saúde humana (MEIRA *et al.*, 2014). Apesar de muitas vezes o valor da concentração encontrada ser baixo, vários desses agrotóxicos têm a capacidade de bioacumulação, ou seja, possuem afinidade com tecidos lipofílicos e por isso se acumulam no organismo (MEHTA *et al.*, 2016). Mesmo em concentrações baixas, os pesticidas representam riscos para algumas espécies de organismos aquáticos que podem concentrar estes produtos até 1000 vezes, portanto, não existe nível seguro previsível para pesticidas em água quando pode ocorrer bioacumulação (ARMAS *et al.*, 2007).

A aplicação desses pesticidas gera, comumente, grandes problemas: eles muitas vezes são tóxicos, podendo ser cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos e mimetizadores de hormônios; são aplicados em grande quantidade, em áreas bastante extensas e, geralmente, possuem grande persistência no meio ambiente, além de gerar sérios problemas de qualidade das águas superficiais e subterrâneas (MOSTAFALOU & ABDOLLAHI, 2013). Portanto, os efeitos sobre a saúde humana são determinantes de intoxicação aguda, subaguda ou crônica. Os efeitos agudos, ou seja, aqueles que resultam da exposição a concentrações de um ou mais agentes tóxicos, capazes de causar dano efetivo aparente em um período de 24 horas. Os efeitos crônicos resultam de uma exposição continuada a doses relativamente baixas de um ou mais produtos (PELAEZ *et al.*, 2013; ARAÚJO & OLIVEIRA, 2016).

Para avaliar a contaminação de águas subterrâneas por resíduos de pesticidas, geralmente são empregados métodos cromatográficos de análise, como a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida. Atualmente, tem sido desenvolvida técnicas de análise cada vez mais precisas, seletivas e sensíveis, pois há a necessidade de se detectar simultaneamente vários compostos em concentrações a nível de traço, o que requer também uma etapa de pré-concentração, geralmente utilizado a extração em fase sólida (do inglês – *solid phase extraction* - SPE) (DUARTE *et al.*, 2016).

A partir de dezembro de 2011, a Portaria MS nº 2914 de 12/12/2011 atualiza a disposição sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de portabilidade. Esta nova portaria é a quinta versão da norma brasileira de qualidade de água para consumo que, desde 1977, vem passando por revisões periódicas. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Ao longo das últimas décadas, muitos herbicidas tem sido utilizados, como por exemplo, atrazina (6-cloro-N2-etil-N4-isopropil-1,3,5-triazina-2,4 -diamine), ametrina (2-etilamino-4-isopropilamino-6-metilmercapto-s-triazina), diuron ((3- (3,4-diclorofenil) -1,1-dimetil-ureia), Irgarol 1051 (2-metiltio-4-terc-butilamino-6-ciclopropilamino-s-triazina) e glifosato (N- (fosfonometil) glicina). Entre os herbicidas citados o diuron e atrazina são amplamente utilizado na agricultura para o controle de ervas daninhas (GRÉGOIRE *et al.*, 2011).

2.2 Diuron

O Diuron, 3(3,4-diclorofenil) 1,1, dimetil uréia (CAS number: 330-54-1), pertence ao grupo químico das feniluréia, como observado na Figura 1 (GIACOMAZZ & COCHET, 2004; WONG & SOTOMAYOR, 2014). Segundo a EPA “*Environmental Protection Agency*”, características físico-químicas dos agrotóxicos como solubilidade em água, tempo de meia vida, coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) e constante da Lei Henry (K_H) são parâmetros que inferem sobre o potencial de transporte e risco desses compostos no ambiente (COHEN *et al.*, 1995; PESSOA *et al.*, 2004). A partir disso, temos que o diuron é um composto não-iônico com solubilidade em água moderada, cerca de 42 mg/L a 25 ° C. Mantém-se no estado sólido à temperatura ambiente com um ponto de fusão a 159 ° C com uma pressão de vapor é de $1,1 \times 10^{-3}$ MPa a 25 °C e a constante da lei de Henry calculado é 0,0012 Pa.m³/mol, sugerindo que diuron não é composto volátil em água ou solo, apresentando um coeficiente de partição octanol-água - log K_{ow} de 2,60. (GIACOMAZZ & COCHET, 2004; CABRERA *et al.*, 2010).

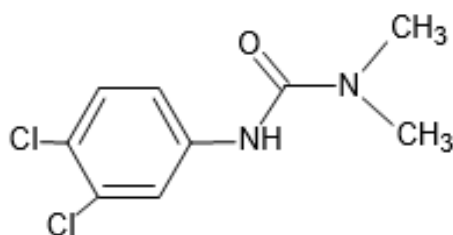


Figura 1: Estrutura química do herbicida diuron.

Este composto é amplamente utilizado em culturas agrícolas como cana-de-açúcar, café, citros, soja e alfafa para o controle de plantas daninhas de folha larga, gramíneas anuais, perenes e também musgos (SALEH *et al.*, 2014). É um dos herbicidas mais utilizados no Brasil, como também um dos mais comercializados em todo o mundo, pois pode ser utilizado tanto na agricultura quanto em jardinagem, calçadas, margens de ferrovias ou rodovias (ROCHA, 2013).

Devido à sua elevada persistência (1 mês a 1 ano), a contaminação das águas subterrâneas tornou-se um problema grave (HUOVINEN *et al.*, 2015; MANSANO *et al.*, 2016). Este herbicida atua como inibidor da fotossistema II e sua atividade afeta plantas, algas e cianobactérias, inibindo o transporte de elétrons nas membranas fotossintéticas, competindo com a plastoquinona (QB) pelo sítio de ligação à proteína D1 do fotossistema II interrompendo o fluxo normal dos elétrons e, como consequência, não ocorre a síntese de ATP pelas células (CABRERA *et al.*, 2010; CIOU & SU, 2016).

É importante salientar que os pesticidas, ao serem expostos a radiação ultravioleta, podem sofrer fotólise, gerando pelo menos um subproduto com toxicidade mais elevada do que o composto original, como a 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA) (Figura 2) (GOODDY *et al.*, 2002). Assim, a poluição da água e do solo por diuron tornou-se um problema mais grave, devido à formação da 3,4-dicloroanilina (BELLIDO *et al.*, 2015; CASTANÓN-GONZÁLEZ *et al.*, 2016). Esta característica é particularmente importante em países tropicais, onde os níveis de radiação ultravioleta são elevados durante o ano inteiro (BERNARDES *et al.*, 2011).

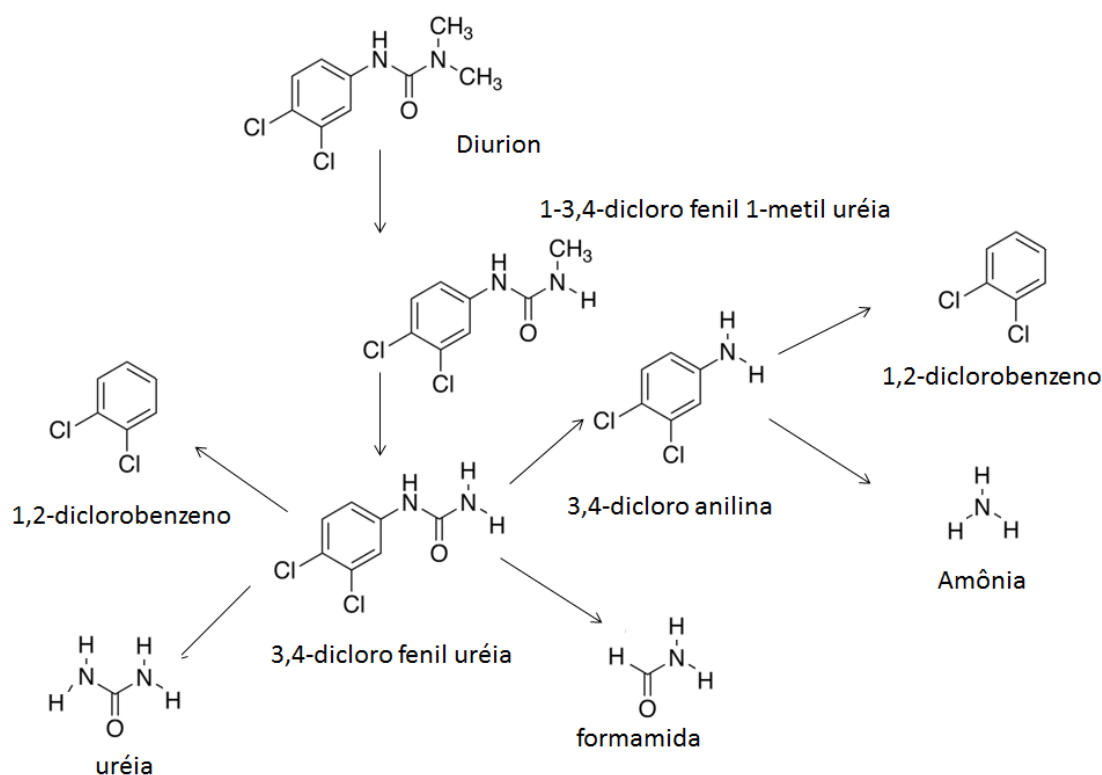


Figura 2: Principais produtos da degradação natural do diuron.

A aplicação indiscriminada do diuron tem efeitos graves para o ambiente, uma vez que têm como principal propriedade a degradação e uma elevada afinidade de adsorção as partículas orgânicas do solo (HUOVINEN *et al.*, 2015), estes podem permanecer no ambiente sem sofrer qualquer alteração ou serem transportados até as águas (córregos, reservatórios, águas superficiais e subterrâneas) (MANSANO *et al.*, 2016), cruzam vários níveis tróficos através da cadeia alimentar e causam efeitos cumulativos em várias espécies, incluindo os seres humanos (RIVEROS, 2012). É frequentemente detectado em águas subterrâneas e superficiais, devido à sua utilização em todo o mundo (DAGES, *et al.*, 2015; HUOVINEN *et al.*, 2015; CASTANÓN-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com a toxicidade, que indica que estes agrotóxicos se enquadra nos níveis de maior toxicidade (I) ou de menor toxicidade (IV). Outra maneira é a classificação de periculosidade ao meio ambiente, quanto menor a classe maior será o perigo de dano ao ecossistema. A classificação toxicológica do diuron se enquadra nos níveis III (moderadamente tóxico) e a ambiental na classe II (produto muito perigoso). A toxicidade documentada de diuron para os organismos aquáticos levou à sua inscrição na lista de substâncias prioritárias do Quadro da Água (STACHOWSKI-HABERKORN *et al.*, 2013), podendo causar impacto ambiental, afetando algas, fungos, plantas e mamíferos. Nos seres humanos, a exposição aos resultados diuron na formação de

meta-hemoglobina no sangue, bem como anormalidades no fígado e baço (WONG & SOTOMAYOR, 2014).

Para controlar a contaminação de diuron nas água de superfície e subterrânea, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA) estabeleceu níveis máximos de contaminação para diuron de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ (US-EPA, 2005). A legislação europeia é mais restritiva e considera que a concentração máxima admissível de pesticidas na água é de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, sem, no entanto, exceder $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ considerando a soma de todos os pesticidas (COMUNIDADE EUROPEIA, 2011). No Brasil, o Ministério da Saúde nº 2914, de 12/12/2011, atualiza sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. Especificamente, sobre o diuron, afirma que a água potável contém um valor máximo permitido de $90 \mu\text{g.L}^{-1}$ (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). No entanto, a legislação brasileira, por meio do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), não contempla níveis máximos permitidos de diuron nas águas superficiais e subterrâneas.

O estado de Sergipe corrobora com a tendência nacional e identifica que o aumento da atividade agrícola desenvolvida em áreas de mananciais tem causado preocupação quanto ao potencial de contaminação decorrente da aplicação de herbicidas, entre eles, o diuron. (BRITO *et al.*, 2001; GRÜTZMACHER *et al.*, 2008). Por meio do estudo de Britto *et al.* (2012) ao avaliarem os riscos de contaminação dos recursos hídricos da Sub-bacia hidrográfica do Rio Poxim, que tem como afluentes os rios Poxim-Mirim e Poxim-Açu, foram encontrados valores para diuron nos meses de julho de 2009, maio e julho de 2010 no Rio Poxim-Mirim, que fica localizado na cidade de Aracaju/SE, em concentrações de 0,2; 0,9 e $0,2 \mu\text{g/L}$, respectivamente. Esses valores são preocupantes quando comparados com padrões da Comunidade Europeia. A simples detecção de resíduos de herbicida é preocupante, pois em termos ecológicos o efeito crônico (ao longo do tempo) da contaminação, mesmo sob concentrações baixas (sub-letais), pode originar alterações imperceptíveis a longo prazo, com a diminuição do potencial biológico de espécies tanto animais quanto vegetais (HUOVINEN *et al.*, 2015).

2.3 Atrazina

A atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) é um dos herbicidas mais utilizados mundialmente (HOU *et al.*, 2017). Pertence ao grupo químico das triazinas, é formada por um anel heterocíclico clorado e N-alquilado que confere a molécula uma grande resistência a degradação biológica (GUPTA *et al.*, 2015), a estrutura da molécula de atrazina está ilustrada na Figura 3. Mantém-se no estado sólido à temperatura ambiente com um ponto de fusão a 176°C com uma pressão de vapor é de $4 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ a 20°C e a constante da lei de Henry calculado é $0,045 \text{ Pa.m}^3/\text{mol}$, sugerindo que a atrazina é composto pouco volátil em água ou solo, apresentando um coeficiente de partição octanol-água - $\log K_{ow}$

de 2,34. Apresenta uma solubilidade em água de aproximadamente 33 mg/L a 25 °C e densidade de 1,3 g/cm³ e uma meia-vida no solo entre 15 e 100 dias (SANTOS *et al.*, 2015; STIPIČEVIĆ *et al.*, 2015).

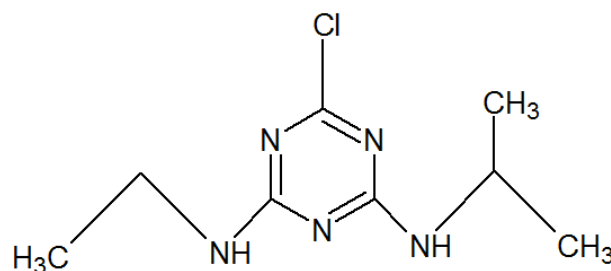


Figura 3: Estrutura química do herbicida atrazina.

A atrazina é utilizada no controle em pré e pós-emergência das plantas daninhas de folha larga em plantações de cana-de-açúcar, milho, soja, trigo, feijão, laranja (BARCHANSKA *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2015). Atua como um inibidor da fotossistema e a aplicação é realizada de forma convencional, estima-se que cerca de 90% dos agroquímicos aplicados convencionalmente nunca atinge seu alvo, nas quantidades precisas. Isto acontece porque ocorrem perdas tais como degradação, lixiviação, volatilização e adsorção do herbicida. O resultado da tentativa de compensar estas perdas é a utilização de quantidades excessivas destes agrotóxicos. Devido ao excesso de ingrediente ativo inicialmente aplicado, tem ocorrido um aumento na poluição ambiental e problemas ecológicos. Assim, devido à sua ampla utilização e persistência no ambiente, a atrazina e seus metabólitos tem sido frequentemente encontrado em águas superficiais e subterrâneas detectadas em concentrações acima do limite máximo permitido, apresentando riscos potenciais para a saúde da população (VIEIRA *et al.*, 2014, STAYNER *et al.*, 2017).

Uma vez no ambiente, a atrazina podem se distribuir, degradar ou acumular no meio ambiente e nos seres vivos, pois uma vez detectados no solo podem ser também encontrados nos lençóis freáticos, águas superficiais e em áreas agrícolas. O excessivo uso desse herbicida causa a translocação do nitrogênio para os ambientes aquáticos, que serão gradativamente eutroficados e empobrecem a quantidade de oxigênio disponível para a vida animal (CAMILO *et al.*, 2016; STAYNER *et al.*, 2017).

A atrazina pode se degradar em vários metabólitos, que variam em persistência no ambiente e em toxicidade. Os metabólitos mais comuns são a hidroxiatrazina (HA), desetilatrastina (DEA) e desisopropilatrastina (DIA) (Figura 4), tem merecido destaque, tanto por serem frequentemente detectados em corpos d'água como pelo seu potencial de contaminação, o qual é fortemente influenciado pela sua persistência e efeitos toxicológicos

sobre a saúde humana. A DEA é encontrada em maiores concentrações e apresentando toxicidade semelhante à atrazina. Por sua vez, a DIA é de 3 a 4 vezes menos tóxica, enquanto que a HA é resultante de outras reações químicas no solo, sobretudo em pH inferiores a 6. (ROUSTAN *et al.*, 2014 KUKLENYIK *et al.*, 2012).

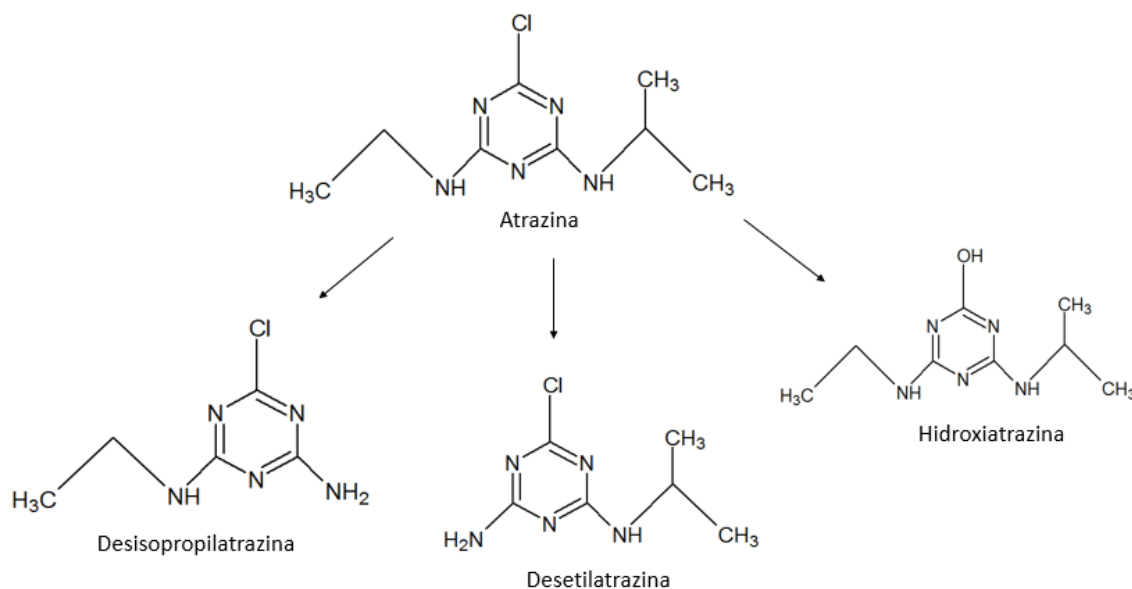


Figura 4: Principais produtos da degradação da atrazina.

A contaminação dos recursos hídricos pela atrazina pode ter consequências graves para o meio ambiente e para a saúde humana. A US-EPA classifica a atrazina como possível agente cancerígeno humano (ROUSTAN *et al.*, 2014, AMARAL *et al.*, 2014). O arraste deste herbicida que permanece durante longo tempo no ecossistema aquático e acaba contaminando a cadeia alimentar é ainda mais grave (QU *et al.*, 2016). Sua classificação toxicológica se enquadra nos níveis III (moderadamente tóxico) e a ambiental no nível II (produto muito perigoso) (DALTON *et al.*, 2014). O uso da atrazina foi restrito nos Estados Unidos, devido ao risco da contaminação de águas destinadas para consumo humano (SHAMSIPUR *et al.*, 2012). Na Europa, houve uma baixa comercialização de atrazina devido às restrições de uso, à contaminação de águas superficiais e subterrâneas e à comprovação que esse herbicida provoca distúrbios endócrinos em peixes e aves. Contudo, em países produtores de grãos como o Brasil, seu uso continua ocorrendo, sendo detectadas elevadas concentrações tanto em águas superficiais como subterrâneas. (STIPIČEVIĆ *et al.*, 2015 VONBERG *et al.*, 2014)

Para monitorar a presença de atrazina na água superficial, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA) estabeleceu níveis máximos para a presença de atrazina de $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (US-EPA, 2005). A legislação europeia estabelece que a concentração máxima admissível de pesticidas na água é de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (COMUNIDADE EUROPEIA, 2011).

No Brasil, segundo a resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) n ° 357 de Março de 2005, o limite máximo permitido de atrazina em águas superficiais e subterrâneas é de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (CONAMA, 2008).

Por meio do estudo de Vasco *et al.* (2016) foi detectado por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e extração em fase sólida como etapa de concentração, o herbicida atrazina no mês de dezembro de 2014 numa concentração de 0,03 $\mu\text{g.L}^{-1}$ na bacia do rio São Francisco, localizado no estado de Sergipe. Portanto, a contaminação dos corpos hídricos por diuron e atrazina tem motivado pesquisas sobre a detecção e quantificação desses poluentes orgânicos, pois mesmo com baixa solubilidade na água pode causar sérios problemas para o meio aquático e os seres humanos (BRITTO *et al.*, 2012).

Várias técnicas analíticas foram utilizadas para a determinação de herbicidas sendo baseadas em cromatografia gasosa-espectroscopia de massa (GC-MS) (ZHAO *et al.*, 2013; SAPOZHNIKOVA, 2014), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (GATIDOU *et al.* 2005), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a massa (LC-MS / MS) (SANCHES *et al.*, 2013; LUCCI & NÚNEZ, 2014; GOLGE & KABAK, 2015, GUI *et al.*, 2016, MUNZ *et al.*, 2016). Vale ressaltar o baixo teor de herbicidas nas águas superficiais e subterrâneas torna inviável sua identificação e quantificação, o que constitui uma grande desvantagem na avaliação de sua persistência e seu impacto ambiental. Portanto, requerem uma metodologia de concentração, que normalmente utiliza-se as membranas (MEHTA *et al.*, 2015) e extração em fase sólida (LOOS *et al.*, 2013; LUCCI & NÚNEZ, 2014; MUNZ *et al.*, 2016). Assim, uma alternativa à recuperação e concentração de diuron e atrazina é o uso de sistemas aquosos bifásicos (SAB) (PASSOS *et al.*, 2012; DINIS *et al.*, 2015).

2.4 Sistema aquoso bifásico - SAB

A formação dos sistemas aquosos bifásicos (SAB) é conhecida desde o final do século XIX, e de forma cronológica o progresso da aplicação dos SAB é apresentada a seguir.

Em 1896 Beijerinck (1896) observou a formação de duas fases líquidas após misturar soluções aquosas de gelatina e ágar. Posteriormente Ostwald & Hertel (1929), continuaram os estudos sobre esses sistemas e verificaram que amidos produziam diferentes diagramas de fase. Com o intuito de constatar uma possível generalidade do fenômeno de separação de fase em sistemas contendo macromoléculas (Dobry e Boyer-Kawenoki, 1947) estudaram a miscibilidade de pares de polímeros solúveis em água ou em solventes orgânicos, e a ocorrência ou não de separação de fases. Porém, foi apenas com os trabalhos de Per-Åke Albertsson (1958) que ficou evidente para comunidade científica o grande potencial que esse sistema possuía para partição/purificação de materiais biológicos.

Ryden & Albertsson (1971) fizeram a primeira publicação descrevendo resultados de tensão interfacial de SABs em sistemas formados por PEG. Em 1998, Silva e Loh, descobriram que a adição de CH_2Cl_2 a um sistema aquoso bifásico formado por $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{PEO}/\text{H}_2\text{O}$ resultava em um sistema trifásico (SILVA & LOH, 2006).

Gutowski *et al.* (2003) foram os primeiros a mostrar que as soluções aquosas de líquidos iônicos à base de imidazólio podem formar SAB em presença de soluções aquosas de certos sais inorgânicos, como por exemplo K_3PO_4 . Alguns autores estudaram a partição de biomoléculas em sistemas acetonitrila e água à baixa temperatura (GU & ZHANG, 2007). No ano de 2010, Pereira *et al.* (2010) utilizaram líquidos iônicos como adjuvantes na formação de sistemas bifásicos formados por PEG/sulfato e sua aplicação na partição de aminoácidos. Recentemente, o solvente tetrahidrofurano (THF) foi mostrado capaz de formar SABs com adição do tampão biológico HEPES (TAHA *et al.*, 2012), cabe ressaltar que esta foi a primeira vez que o THF foi utilizado para formar SAB

A formação dos SAB ocorre quando dois compostos solúveis em água são misturados acima das concentrações críticas de cada um desses componentes, resultando em duas fases imiscíveis (fase de topo e fase de fundo). Cada fase do sistema torna-se enriquecido com um dos compostos, originando duas fases aquosas de natureza química e física diferentes, que propicia a migração das biomoléculas para uma das fases (DINIS *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015). Estes sistemas são descritos por diagramas de fases, os quais são compostos por um conjunto de dados, que uma vez unidos formem a curva binodal, linha de amarração (usualmente referido como TL, do inglês *Tie Line*), comprimento dessa TL (usualmente referido como TLL, do inglês *Tie Line Length*) e o seu ponto crítico (Pc).

O diagrama de fases (Figura 5), é dividido em duas regiões por uma linha curva chamada binodal ou curva de equilíbrio. Sistemas cuja composição se situa acima da binodal formam duas fases homogêneas, enquanto que sistemas cuja composição fica abaixo da binodal formam uma única fase (ALBERTSSON, 1986).

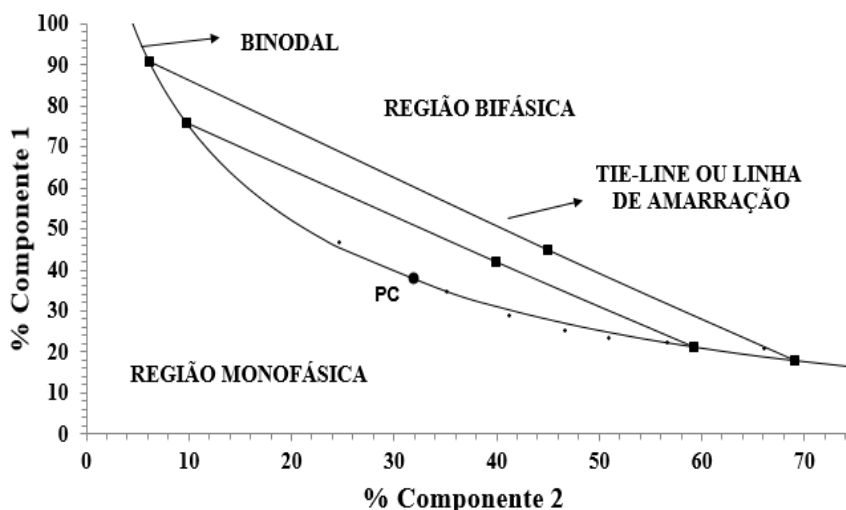


Figura 5: Diagrama de fases genérico, expresso em coordenadas cartesianas.

As curvas binodais podem ser construídas por meio da determinação da concentração dos componentes por diferentes métodos. A utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o método mais preciso para a determinação da composição das fases que formam o SAB (ALBERTSSON, 1986; PLANAS *et al.*, 1997). Por outro lado, um método bastante utilizado devido à simplicidade e rapidez baseia-se em um processo de titulação entre os componentes que formam os sistemas, porém o método baseia-se na observação visual de mudança das fases, o que pode aumentar o grau de incerteza da determinação. Este método é extensivamente o mais utilizado e comumente chamado “*cloud-point*” (GLYK *et al.*, 2014).

Para correlacionar os pontos experimentais que descrevem os sistemas, Merchuk *et al.*, (1998) propôs um modelo matemático com três parâmetros ajustáveis (Equação 1).

$$Y = A \times \exp[(BX^{0,5}) - (CX^3)] \quad (1)$$

onde: Y e X são as percentagens em fração de massa do componente 1 e do componente 2, respectivamente. Os parâmetros de ajuste A, B, C são obtidos pela regressão dos mínimos quadrados.

Neste mesmo diagrama também estão representadas as linhas de amarração ou do inglês *Tie-Lines* (TL), que são retas que ligam os pontos no diagrama que representam a composição das duas fases em equilíbrio. Qualquer ponto sobre essa mesma linha fornecerá fases de topo e fundo com composição final iguais, porém com diferentes relações de volumes entre as fases. O comprimento da linha de amarração (usualmente referido como TLL, do inglês *Tie Line Length*), é um parâmetro termodinâmico importante geralmente utilizado como variável determinante dos processos de partição. A TLL pode ser calculada a partir das

diferenças nas concentrações dos componentes de cada fase, por meio da Equação (2) (SILVA e LOH, 2006):

$$TLL = \sqrt{(X_T - X_B)^2 + (Y_T - Y_B)^2} \quad (2)$$

Outra particularidade dos diagramas de fases é o ponto crítico (Pc), no qual as propriedades físico-químicas como, composição e volume, são iguais. Desta forma, se a composição do sistema se aproxima do Pc, menor é a diferença entre as fases, ou seja, no Pc, o coeficiente de partição é igual a 1 (um). Este ponto pode ser obtido pela intersecção de uma linha que passa pelo ponto médio de várias TL, com a binodal (ALBERTSSON, 1986; GLYK, *et al.*, 2014). A determinação do ponto crítico (Pc) para sistemas ternários é estimada aplicada a equação 3 (FREIRE *et al.*, 2012).

$$Y = f + gX \quad (3)$$

onde f e g são parâmetros de ajuste.

O coeficiente de partição (K) é uma grandeza adimensional que descreve a migração das moléculas entre as fases coexistentes de um SAB. É definido como a razão entre a concentração de uma molécula nas fases de topo e de fundo. As moléculas, aplicadas nos SAB para extração distribuem-se entre as duas fases aquosas, podendo ser definido um coeficiente de partição desta molécula, pela utilização da equação (4) (MAGESTE, *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2011; PRINZ *et al.*, 2014).

$$K = \frac{C_T}{C_B} \quad (4)$$

onde, C_T e C_F são as concentrações do soluto nas fases de Topo e Fundo.

Essa distribuição depende tanto das características da molécula que se distribui (massa molar, carga, hidrofobicidade superficial, etc.), quanto da natureza dos constituintes do SAB utilizado (massa molar, concentração, pH, força iônica, etc.). Embora a manipulação das propriedades do sistema possa controlar a partição das moléculas no sistema, controlar esse mecanismo ainda é uma tarefa complicada, pois cada molécula reage de forma singular, considerando as suas características e as características do SAB (CHAIWUT *et al.*, 2010)

Para promover a formação de SAB, vários compostos podem ser utilizados, tais como sistemas polímero – polímero (GUNDUZ e KORKMAZ, 2000; MADEIRA *et al.*, 2011), polímero – sais inorgânicos (SILVA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2010), solvente orgânicos –

sais inorgânicos (OOI *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2011), líquidos iônicos – carboidratos (FREIRE *et al.*, 2011).

Os sistemas aquosos bifásicos formados por solventes orgânicos foram também utilizados na separação de moléculas devido à sua elevada polaridade, seletividade adequada e devido à fácil recuperação de solventes (ZHANG *et al.*, 2013), por exemplo álcool + sal (REIS *et al.*, 2012), acetonitrila + carboidratos (CARDOSO *et al.*, 2013), acetonitrila + polióis (CARDOSO *et al.*, 2014). Recentemente SOUSA *et al.*, (2016) avaliou a capacidade do THF em induzir SAB com polióis e com carboidratos (SOUSA *et al.*, 2017).

2.5 Constituintes do Sistema Aquoso Bifásico

Uma diversidade de constituintes para SAB vem sendo descritos na literatura, sendo relacionados abaixo os compostos utilizados como formadores dos sistemas desenvolvidos neste trabalho.

2.5.1 Tetrahidrofurano

O tetrahidrofurano (Figura 6) (THF; C₄H₈O; CAS No. 109-99-9), óxido de tetrametileno ou óxido de butileno, é uma molécula orgânica no qual tem sido largamente estudada, tanto teórica quanto experimentalmente, devido à sua excelente potencialidade como solvente orgânico (COLYER *et al.*, 2007).

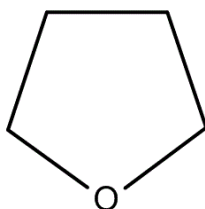


Figura 6: Estrutura molecular do tetrahidrofurano

O tetrahidrofurano, é um solvente orgânico aprótico, moderadamente polar, incolor, apresentando odor e sabor picante, volátil (pressão de vapor de 17,5 kPa à 20 °C), altamente inflamável (ponto fulgor 40° C), possui baixa viscosidade (0,48 cP a 25 °C), densidade de 0,89 g/cm³ a 20 °C, tem ponto de fusão de -108,5 °C e ponto de ebulição de 66 °C (HAN, 2015). O composto é solúvel em água e solventes orgânicos (log K_{ow} é 0,53). A toxicidade oral aguda de tetrahidrofurano é relativamente baixo (HELLWIG *et al.*, 2002). Uma desvantagem de THF é a sua tendência para formar peróxido durante o armazenamento (BANKOVIĆ-ILIĆ *et al.*, 2015).

O THF é um éter cíclico que apresenta excelente poder de solvatação para numerosas substâncias orgânicas (KARAMODDIN & VARAMINIAN, 2014), também é utilizado para a extração de biocompostos hortícolas, incluindo os carotenoides (SU *et al.*, 2002). Possui prótons aceptores de oxigênio que formam pontes de hidrogênio com água, como resultado, este composto é completamente miscível em água a qualquer composição (PURKAYASTHA *et al.*, 2013). Este solvente representa a estrutura mais simples da família de éteres cíclicos saturados (VERDICHIO *et al.*, 2015), sendo também, um importante produto químico em várias indústrias de polímeros.

O THF é atualmente produzido por meio de várias rotas industriais tais como hidrogenação oxidativa de anidrido maléico, desidratação catalisada por ácido de 1,4-butanodiol (BDO), aliada a hidroformilação de álcool, e oxidação de butadieno (BD) (ZHANG *et al.*, 2013). Todas estas matérias-primas são produtos químicos à base de petroquímica, produção de THF a partir destes produtos químicos pode levar a vários problemas, tais como preço instável e poluição ambiental. (HONG *et al.*, 2014).

O THF pode ser convertido no éter de politetrametileno-glicol (PTMEG), poliésteres termoplásticos, elastômeros de poliuretano e também é largamente utilizado como um solvente na fabricação de cloreto de polivinila (PVC) (ROCCO *et al.*, 2012), como solvente para reação de Grignard (RAVENZWAAY & KAUFMANN, 2003), usados industrialmente como um solvente para o fabricação de plásticos (HELLWIG *et al.*, 2002; RAVENZWAAY & KAUFMANN, 2003), na extração de biocompostos (SU *et al.*, 2002), extração de metais (HIRAYAMA *et al.*, 2014), para purificação de lipase (SOUZA *et al.*, 2015), partição do herbicida diuron (SOUZA *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2017). A síntese do ácido adípico e a produção de borrachas sintéticas são exemplos de aplicações em grande escala de THF. A demanda de THF vem crescendo anualmente e no mercado global está projetada para exceder os 800 mil toneladas em 2017 (URTIAGA *et al.*, 2014).

2.5.2 Frutose

A frutose ($C_6H_{12}O_6$), como visto na Figura 7, faz parte do grupo dos carboidratos conhecidos como açúcares simples ou monossacarídeos, sendo a principal açúcar das frutas. Na frutose consiste somente de uma unidade de poliidroxicetonas, as quais podem ter de três a sete átomos de carbono. Devido à alta polaridade, é solido cristalino em temperaturas ambiente (FRANCISCO JUNIOR, 2008), alta solubilidade em água ($\log K_{ow} = -1,46$) e insolúveis em solventes não polares, possui um ponto de ebulição de 60°C (CHEMICAL SPIDER). A sua estrutura é configurada por uma cadeia carbônica cíclica, não ramificada, na qual um dos

átomos é o de oxigênio, constituindo assim um grupo carbonila. O restante dos átomos de carbono possui um grupo hidroxila. Quando o grupo carbonila está na extremidade da cadeia, o monossacarídeo é uma aldose, caso o grupo carbonila esteja em outra posição, o monossacarídeo é uma cetose.

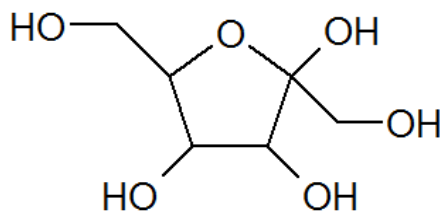


Figura 7: Representação da estrutura da D-frutose.

2.5.3 Glicerol

Esta molécula é biodegradável, não tóxica e constitui uma matéria-prima renovável e é um subproduto da indústria do biodiesel. Portanto, o glicerol (Figura 8) é considerado como alto potencial substituto para os sais convencionais utilizados na formação de SAB, com a vantagem de minimizar os custos. O Propanotriol ou como mais comumente é chamado, Glicerol ou Glicerina, de fórmula estrutural apresentada na Figura 8 (RODRIGUES *et al.*, 2017).

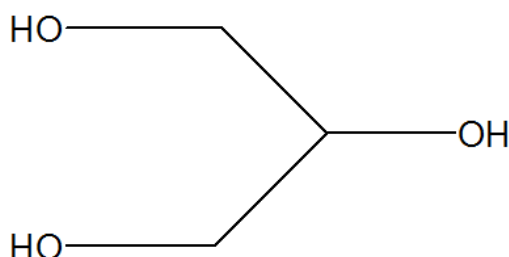


Figura 8: Representação da estrutura do Glicerol.

O glicerol, é um composto orgânico, pertencente à família dos álcoois. É líquido a temperatura ambiente, inodoro, possui viscosidade média (1,5 Pa.s a 25 °C), densidade de 1,26 g.cm⁻³ a 20 °C, tem ponto de fusão de 18,2 °C, ponto de ebulição de 290 °C e alta solubilidade em água (log K_{ow} = -2,32). A presença de três grupos hidroxila na estrutura do glicerol é responsável pela solubilidade em água e sua natureza higroscópica. É uma molécula altamente flexível formando ligações de hidrogênio tanto intra como intermoleculares. Na fase aquosa, a molécula de glicerol é estabilizada por uma combinação de ligações de hidrogênios intra-moleculares e solvatação intermolecular das hidroxilas (BEATRIZ *et al.*, 2011).

O glicerol é produzido via química ou fermentativa. Ele é uma substância química que apresenta uma infinidade de aplicações, sendo utilizado na indústria cosmética, farmacêutica, alimentícia e química. Os processos de fabricação de glicerol são de baixa complexidade tecnológica facilitando seu uso. O crescente aumento na produção mundial de biodiesel (ésteres alquílicos derivados de matérias graxas de ocorrência natural, como óleos vegetais e gordura animal) gera, concomitantemente, um aumento considerável na disponibilidade da glicerina, podendo esta ser purificada e utilizada pelos diferentes segmentos da indústria. Naturalmente, a forte expansão que hoje se verifica na indústria de biodiesel causará uma eventual redução no valor comercial da glicerina que, mais barata, poderá ser absorvida pelo mercado como insumo para uma variedade de aplicações até hoje não exploradas por razões fundamentalmente econômicas (HOLMIERE *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2017).

2.6 Fatores que influenciam a partição dos SAB

Existem muitas variáveis que influenciam na formação de SAB e na partição de moléculas. Contudo, ao se fazer um estudo da partição de moléculas é necessário conhecer os dados de equilíbrio para todos os sistemas. Para cada sistema existe um diagrama de fases que define as proporções entre os componentes formadores das fases. Alguns desses diagramas estão disponíveis na literatura, porém é importante conhecer as condições operacionais (efeito da TLL, temperatura, hidrofobicidade) (ALBERTSSON, 1986; ZASLAVSKY, 1995).

2.6.1 Efeito da TLL

Segundo Malpiedi *et al.* (2009), o aumento da TLL ocasiona uma diminuição do volume livre na fase de fundo do sistema. À medida que o valor do TLL aumenta, torna-se maior a diferença de composição entre as fases, podendo elevar, a eficiência na extração e/ou partição da molécula de interesse (PEI *et al.*, 2012).

2.6.2 Temperatura

A influência da temperatura é complexa devido ao seu efeito na composição das fases em equilíbrio, assim como na alteração da estrutura da biomolécula e desnaturação. Na maioria das vezes, para baixas temperaturas (menores que 20 °C) a curva binodal desloca-se em direção às baixas concentrações dos componentes que formam as fases, resultando no aumento do comprimento das linhas de amarração. Os sistemas próximos do ponto crítico podem ser mais influenciados pela mudança de temperatura devido à sua instabilidade, quando a curva binodal

é deslocada, podendo assim o sistema passar facilmente para a região monofásica (SARUBBO, 2000).

2.6.3 Hidrofobicidade

O efeito hidrofóbico das fases está diretamente relacionado com a identidade química dos componentes do sistema, bem como as suas concentrações. Embora, a princípio, ambas as fases do sistema são hidrofílicas devido à grande quantidade de água, a fase rica em solvente orgânico é geralmente mais hidrofóbica. A influência desta característica favorece a separação das moléculas hidrofóbicas para esta fase em particular (PRINZ *et al.*, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Aplicar o sistema aquoso bifásico baseado em tetrahidrofurano + frutose comercial como uma estratégia para concentração de herbicidas, visando sua identificação e quantificação em águas superficiais.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar as *tie-lines* nos sistemas formados por THF + frutose, THF + frutose comercial e THF + glicerol;
- Determinar os coeficientes de partição e eficiência de extração do diuron e atrazina nos SABs propostos;
- Avaliar o fator de concentração dos herbicidas diuron e atrazina no sistema aquoso bifásico;
- Avaliar a precisão do método de concentração proposto através cromatografia líquida acoplada a espectroscopia de massa tipo TOF do diuron e atrazina, como também a avaliação do limite de detecção e reprodutibilidade;
- Avaliar a aplicação da concentração na detecção e quantificação dos herbicidas diuron e atrazina em águas superficiais.

Capítulo 4

4. INTRODUÇÃO AOS CAPÍTULOS 5 E 6

Os capítulos 4 e 5 serão apresentados em forma de artigos científicos, e estão organizados conforme as normas propostas pelo periódico a que será submetido a sua publicação. Estes capítulos são compostos por pequenas introduções, os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento de cada artigo, os resultados obtidos e suas discussões, bem como as conclusões observadas.

Capítulo 4 (Artigo 1 – **“Improvement of diuron detection in water using aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and fructose”**), was studied the method concentration of diuron in aqueous two-phase system, for detection and quantification in surface water. Artigo submetido no periódico *“Sustainable Chemistry and Engineering”*.

Capítulo 5 (Artigo 2 – **“Aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and glycerol: an improve of atrazine detection water sample”**), was studied the method concentration of atrazine in aqueous two-phase system, for detection and quantification in surface water. Artigo a ser submetido ao periódico *“Water Science and Technology”*.

5. Improvement of diuron detection in water using aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and fructose

Filipe Smith Buarque^a, Cleide Mara Faria Soares^{a,b}, Maria Nogueira Marques^{a,b}, Rita de Cássia Mendonça de Miranda^c, Eliane Bezerra Cavalcanti^{a,b}, Ranyere Lucena de Souza^{a,b},
Álvaro Silva Lima^{a,b,*}

^aUniversidade Tiradentes. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^bInstituto de Tecnologia e Pesquisa. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^cUniversidade Ceuma. Rua Josué Montello, 1. CEP: 65075-120, São Luís – MA, Brazil

*To whom correspondence should be addressed: e-mail: alvaro_lima@unit.br. Phone: +55 7932182115. Fax: +55 7932182190.

Abstract

Diuron is a pesticide widely used in agriculture to control a variety of weeds, and therefore it is often detected in groundwater and surface water. However, the low solubility of diuron in water makes its identification and quantification unfeasible, causing great inconvenience in the evaluation of its persistence. In this context, this work proposes a method of concentrating diuron in water based on an aqueous two-phase system (ATPS) composed of tetrahydrofuran (THF) and pure or commercial fructose. The phase diagrams were determined, and subsequently the recovery of the diuron in THF-rich phase was optimized from 60.05 to 97.26%. In addition, the concentration factor of diuron reached 200-fold in a composition system (12.49 wt% commercial fructose + 60.02 wt% THF, corresponding to tie-line length = 66.27). The method showed a linear response to diuron concentration between 0.01 and 2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.999 and a detection limit of 25 ng.L^{-1} . This method allowed the identification and quantification of diuron in real samples of water collected in the hydrographic basin of the Japaratuba River, in the state of Sergipe, Brazil, which was previously diagnosed as being free of this compound, with values of 75–1900 ng.L^{-1} in surface water.

Key-words: aqueous two-phase system, concentration, diuron, detection

1. Introduction

Since 2008, Brazil has become the largest consumer of pesticides in the world, managing a market of over US\$ 2.09 billion a year, and the use of pesticides in the country is increasing at a rate of approximately 0.79% a year¹, which represents a potential risk to water quality standards. Due to the high consumption of pesticides, contamination of groundwater, surface water, and abstraction, even at low levels, can cause problems in humans such as the formation of meta-hemoglobin in the blood, deformations in the liver and spleen, genetic malformations, neurodevelopmental disorders, and damage to the immune system².

Diuron, 3(3,4-diclorofenil) 1,1, dimethyl urea, belongs to the group of phenylureas, is a compound that is widely used on agricultural crops such as sugar cane, coffee, citrus, soybean, and alfalfa for the control of weeds. This pesticide has non-ionic characteristics and low water solubility (42 mg.L^{-1} at 298 K)³. Diuron suffers from environmental degradation (Figure 1), mainly leading to the formation to 3,4-dichloroaniline (DCA) and 3,4-dichlorophenylurea (DCFU), which are intermediate compounds are more toxic than Diuron. Moreover, they are highly persistence (1 and 12 months), becoming a serious environmental and human health problem due to possibility of water contamination⁴⁻⁶.

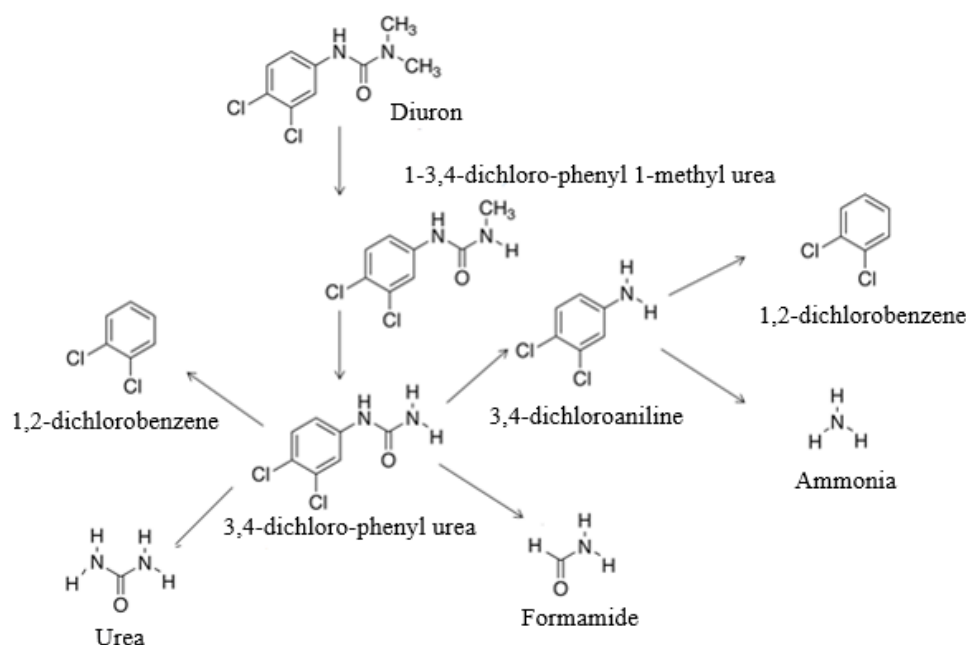


Fig 1: Reactions of the diuron degradation process.

The agrochemicals can remain in the environment without undergoing any alteration, can be transported by waters (streams, reservoirs, surface water, and groundwater), can cross several trophic levels through the food chain, and can cause cumulative effects in several species⁵.

In order to control diuron pollution in surface water, the United States Environmental Protection Agency⁷ has established maximum contamination levels for diuron of $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. On the other hand, the European legislation is more restrictive and considers that the maximum permissible pesticide concentration in water is $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$, while the sum of all pesticides⁸ should not exceed $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$. In Brazil, the Health Ministry Procedure no. 2914 of 12 December 2011 updates the provision on the procedures for control and surveillance of water quality for human consumption. Specifically, with regard to diuron, it states that drinking water should contain a maximum allowable value⁹ of $90 \mu\text{g.L}^{-1}$. However, the Brazilian legislation, through the National Environmental Council (CONAMA) Resolution 357/05, does not specify maximum permitted levels of diuron in surface water and groundwater. Therefore, the contamination of water bodies by diuron has motivated research on the detection and quantification of these

organic pollutants¹⁰.

The main analytical techniques used for the determination of diuron are based on gas chromatography–mass spectroscopy (GC-MS)¹¹, high-performance liquid chromatography (HPLC)^{12,13}, HPLC coupled with tandem mass spectroscopy (LC-MS/MS)¹⁴⁻¹⁶. It is worth highlighting tandem mass spectrometry that the low content of diuron in surface water and abstraction makes its identification and quantification unviable, which is a great disadvantage in assessing its persistence and environmental impact. Therefore, a concentration methodology, which normally uses membranes, is required², together with solid phase extraction^{17, 16}. Thus, an alternative method for the recovery and concentration of compounds is the use of aqueous two-phase systems (ATPSs)^{18,19}.

ATPSs are composed of two immiscible aqueous liquid phases that are macroscopic in concentrations higher than the critical concentration of each component. Each phase of the system becomes enriched with one of the compounds, resulting in two aqueous phases of different chemical and physical nature, leading to migration of molecules to one of the phases^{20, 19}. The firsts ATPSs consisted of two aqueous polymer–polymer or polymer–salt mixtures²¹. However, the applicability of these systems is restricted due to the limited range of polarities, leading to the development of new ATPSs formed of different constituents such as ionic liquids²² and deep eutectic solvent²³.

ATPSs based on organic solvents were also used in the separation of molecules due to their high polarity, adequate selectivity, and easy recyclability of solvents²⁴, for example acetonitrile + carbohydrates²⁵, tetrahydrofuran + carbohydrates²⁶, and tetrahydrofuran + polyols²⁷.

Therefore, this study evaluates the application of ATPS based on tetrahydrofuran (THF) and commercial fructose as a strategy for concentrating diuron from surface water. For this purpose, a comparison of the similarity of the systems formed by pure and commercial fructose was initially carried out. After that, the partition coefficient and recovery were determined,

which posteriorly yielded the concentration factor of the diuron in a single step, followed by the detection limit of proposed method. After this evaluation, the proposed method was applied to samples of real water for the detection and quantification of diuron.

Materials and methods

Reagents. The ATPS was formed using D-(-)-fructose (> 98% purity) and THF (99.9% purity) acquired from Sigma-Aldrich. Diuron (> 98% purity), 3,4-dichlorophenylurea, and 3,4-dichloroaniline were also purchased from Sigma-Aldrich. Commercial fructose of food quality was acquired from the local market of Aracaju, SE, Brazil. Water was distilled and further treated with Milli-Q Plus 185 water purification equipment.

Water sample collection. The water sample from the hydrographic basin of the Japarutuba River, located in the state of Sergipe, Brazil, was collected at a water catchment point, with geographic coordinates of a latitude of 10° 42' 13.2" south and longitude of 36° 59' 32.0" west, and the collected water was used as the water supply. Water samples were collected between December 2015 and 2016 and stored in amber vials. After arrival at the laboratory, the samples were filtered through a 0.45- μ m membrane and stored at 253 K until analysis.

Tie-line. The equilibrium data of the ATPSs used in this work, formed of THF + D-(-)-fructose and THF + commercial fructose, were described by Sousa et al. (2017)²⁶. The tie-lines (TLs) of each ATPS, depicting points of the biphasic region of the ternary system, were determined by a gravimetric method. The ATPSs were prepared, stirred vigorously, and centrifuged at 4000 rpm for 10 min. The tubes were brought to equilibrium in a thermostatic bath at 298 K for at least 4 h. The tubes were closed during this period to avoid vaporization of the THF. After that, the top and bottom phases were carefully separated and weighed and their volume was determined. Individually, each TL was determined by mass balance using a relation to describe the weight of the top phase and the total weight of the system²⁸.

The length of the TL was determined by applying Equation (1):

$$TLL = \sqrt{([THF]_T - [THF]_B)^2 + ([FRU]_T - [FRU]_B)^2} \quad (1)$$

The critical point of the ternary phase system was determined by extrapolating the TLs of individual systems by applying Equation (2)²².

$$[FRU] = f + g[THF] \quad (2)$$

where f and g are setting parameters.

The consistencies of the measured TLs of the pure and commercial fructose were measured using the Othmer–Tobias equation (3) and the Bancroft equation (4):

$$\left(\frac{100 - [THF]_T}{[THF]_T} \right) = k_1 \left(\frac{100 - [FRU]_B}{[FRU]_B} \right)^n \quad (3)$$

$$\left(\frac{100 - [THF]_T - [FRU]_T}{[THF]_T} \right) = k_2 \left(\frac{100 - [THF]_B - [FRU]_B}{[FRU]_B} \right)^r \quad (4)$$

where k_1 , n , k_2 , and r are the fitting parameters. Linear dependence of $\log((100 - [THF]_T)/[THF]_T)$ on $\log((100 - [FRU]_B)/[FRU]_B)$ and $\log((100 - [THF]_T - [FRU]_T)/[THF]_T)$ on $\log((100 - [THF]_B - [FRU]_B)/[FRU]_B)$ indicates the consistency of the results.

Diuron partitioning in ATPS. The systems were prepared in 15-mL graduated tubes for different mixture points, containing the appropriate amounts of THF, commercial fructose, and an aqueous solution of diuron with a concentration of 42 mg.L⁻¹ (maximum compound solubility). Then, the system constituents were vigorously stirred, centrifuged (Hettich Universal 320R) at 4000 rpm for 10 min, and finally placed at room temperature (4 h) using a thermostatic bath (Marconi MA-127) to reach equilibrium. The vials were sealed to avoid THF vaporization. The two phases were carefully separated and their volume and weight were evaluated²⁵. The diuron concentrations in the top and bottom phases were determined by spectroscopy using a UV-Vis spectrophotometer (Varian Cary 50 Bio UV/Vis) at a wavelength of 250 nm in triplicate to obtain the final average concentration with the related standard

deviation. The calibration curve previously was established using diuron at different concentrations (0.02, 0.2, 1, 2, 4, 6, and 8 mg.L⁻¹) as a standard and either water (calibration curve) or the corresponding phase in the analysis (partitioning process) as a blank was used. The diuron partition coefficient is the ration between the top (THF-rich) and bottom (fructose-rich) concentration.

The recovery in the top phase was determined by the solute in the top phase (R_T), which was evaluated by Equation (5).

$$R_T(\%) = \frac{100}{1 + \left(\frac{1}{R_v \times K_{DIU}} \right)} \quad (5)$$

where R_v is the volume ratio between the top (V_T) and the bottom (V_B) volume of the phase. The values of K_{DIU} and R_T were investigated by varying the values of tie-line length (TLL), thus acquiring maximum values of K_{DIU} and R_T .

Density and viscosity. The density and viscosity of the THF-rich and fructose-rich phases were determined at different temperatures (298–328 K) using an automated SVM 3000 Anton Paar rotational Stabinger viscosimeter-densimeter. The density had an absolute uncertainty of 5×10^{-4} g.cm⁻³, while the relative uncertainty of dynamic viscosity is 0.35%. The viscosimeter-densimeter was calibrated using a standard solution composed of mineral oils with different viscosities and densities.

Diuron concentration factor. The concentration process aimed to explore the maximum diuron concentration factor in the same TL that obtained the best recovery, which is measured by the weight of water added to the system *per* weight of the THF-rich phase and determined through the lever rule, and several extractions were performed in different weight ratios. The systems of the same TLL (66.27) were prepared using graduated centrifuge tubes (50 mL) containing THF (5.5–2.2 wt%), fructose (76.3–83.7 wt%) and water (18.2–14.1 wt%), and a total weight of approximately 50 g. It should be noted that along the same TL, the composition of each phase, the partition coefficient and recovery in the top phase are maintained, while only

the volume or weight ratio of the phases is varied. A decrease in the volume ratio of these phases increases the diuron concentration factor¹⁹.

In order to test the applicability of the proposed method, standard solutions of diuron (initial concentration of 5–0.25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) were inserted into the ATPS at a concentration factor of 200 fold and the THF-rich phase was analyzed by ultra-fast liquid chromatography (UFLC) coupled with a time of flight mass spectrometer (LC-TOF system).

Diuron quantification in water surface. The diuron was quantified using chromatography on a Shimadzu UFLC instrument coupled with a LC-TOF system. The mobile phase consisted in a water:acetonitrile mixture (52:48, v/v) with 0.1% formic acid and had a total execution time of 10 min with a C-18 column (100 mm $\times$ 2 mm) at a flow rate of 0.7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ with an injection volume of 5 μL . The detection/quantification of diuron was performed at a wavelength of 250 nm. The oven temperature was 313 K, the ion polarity was positive, and the mass load range was 50–1000 (m/z). It should be noted that the analytical standards used in the calibration curve have a purity higher than 99.8%. For the creation of the linear equation, 10 points (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) of the standard diuron solution were used.

Results and Discussion

Tie-lines (TLs), tie-line length (TLL), and critical point (CP). The equilibrium data for the ATPS in this work were reported by Sousa et al. (2017) based on the binodal curve compositions for THF + fructose and THF + commercial fructose. The number of TLs was expanded and the value of the critical point (CP) was determined. The regression parameters (A, B, and C), standard deviations (σ), and correlation coefficients (R^2) were as follows: for the THF + fructose system, $A = 131.04 \pm 5.64$, $B = -0.33 \pm 0.01$, $C = 1.39 \times 10^{-6} \pm 2.59 \times 10^{-7}$, and $R^2 = 0.998$, and for the THF + commercial fructose system, $A = 154.35 \pm 3.69 \pm 5.64$, $B = -0.35 \pm 0.01$, $C = 1.92 \times 10^{-6} \pm 2.55 \times 10^{-7}$, and $R^2 = 0.999$ ²⁶.

The phase compositions expressed as weight percentages (wt%) for the ATPSs formed by the mixtures of THF + fructose and THF + commercial fructose are shown in Figure 2. From the experimental TLs, the respective TLLs, and the compositions of the studied systems (Table S.1), it is observed that the THF concentration in the ATPS bottom phase (fructose-rich) is very low. Besides that, the CPs were estimated for extrapolation of TL compositions by applying Equation (6) (Table S.2).

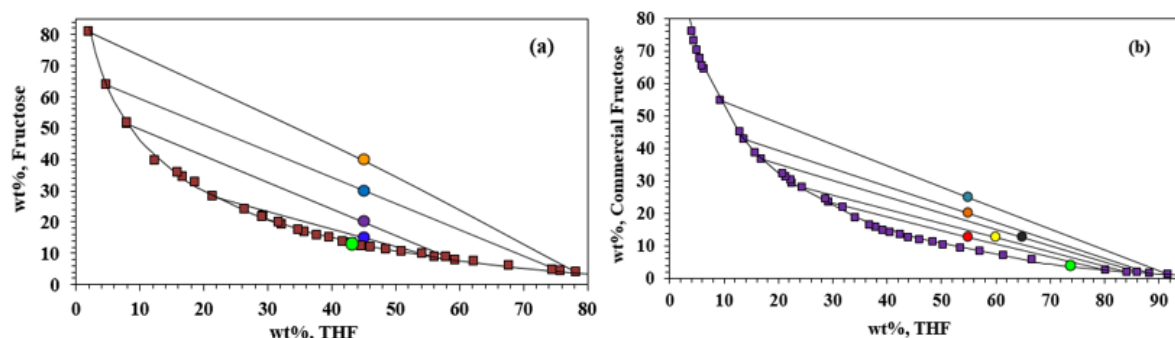


Figure 2. Phase diagrams for ternary systems constituted of THF + carbohydrates + water, with TLs and CPs (●) at 298 K and 0.10 MPa: (a) fructose: ● TLL (39.84), ● TLL (67.31), ● TLL (92.80), ● TLL (118.47); (b) commercial fructose: ● TLL (38.41), ● TLL (54.75), ● TLL (66.27), ● TLL (77.62), ● TLL (85.27), ● TLL (98.53).

The precision of the TLs for the system was verified by applying the Othmer–Tobias and Bancroft equations (7) and (8), and the respective fitting parameters and correlation coefficients (R^2) are shown in Table S.3. The parameters of the systems using pure fructose and commercial fructose differ due to the difference in the slopes of the TLs for these carbohydrates. However, the TL data are reliable because the correlation coefficients are bigger than 0.984, showing a good degree of consistency in the experimental data.

The densities and viscosities in the temperature range between 298.15 and 328.15 K were determined for several ternary compositions of each ATPS studied (see Table S.1, with the respective TL data). The characterization of the top and bottom phases in the different ternary systems, at different compositions and temperatures, is important for the design and scaling up

of the extraction processes. Differences in density between the two phases allowed faster and easier phase separation²⁹. For the systems studied, the THF-rich phases were less dense than the corresponding fructose-rich phases.

A comparison between pure fructose and commercial fructose shows little difference between these systems. The density of the bottom phase (fructose-rich) ranged from 0.937 g.cm⁻³ for commercial fructose (TLL = 38.41) to 0.934 g.cm⁻³ for pure fructose (TLL = 39.84) at 298.15 K. This demonstrates a similarity between pure and commercial fructose (Figure 3 and Tables S.4-S.6). An ATPS based on IL and K₃PO₄ (15 wt% K₃PO₄ + 25 wt% IL) presented densities of 1.037 g.cm⁻³ ([C₄mim][N(CN)₂]) in the IL-rich phase and 1.2291 g.cm⁻³ (K₃PO₄) in the bottom phase²⁹. However, ATPSs formed from THF and fructose are easier and faster to separate than those based on IL + K₃PO₄.

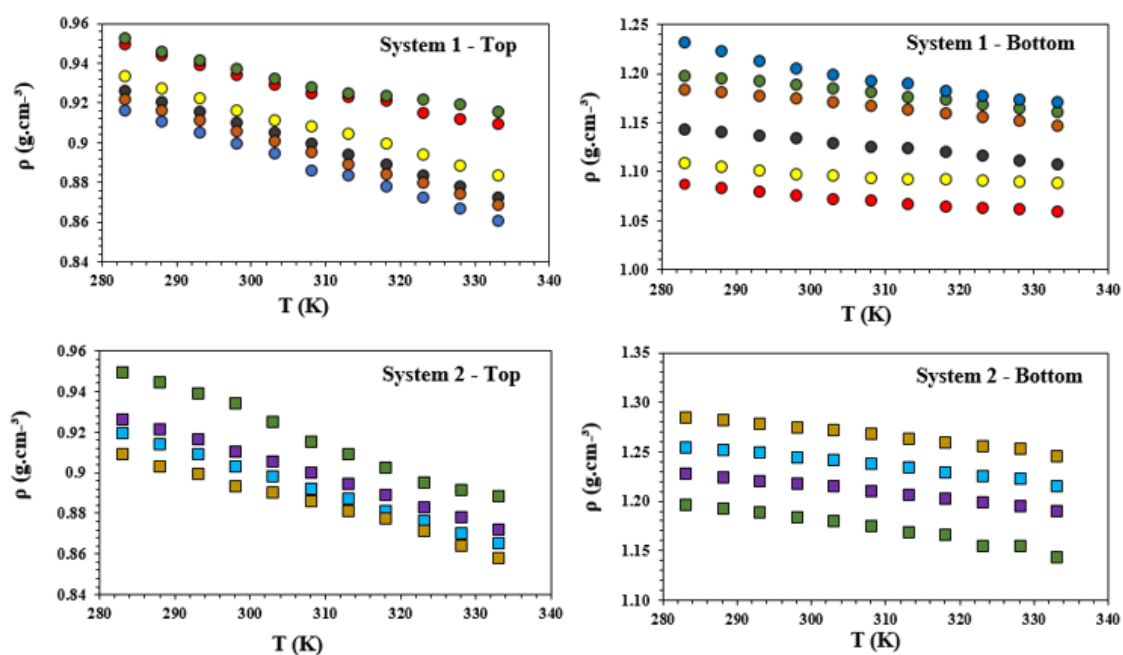


Figure 3. Experimental density (ρ /g.cm⁻³) as a function of temperature for different ATPSs composed of commercial fructose + THF + water (system 1): ● TLL (38.41), ● TLL (54.75), ● TLL (66.27), ● TLL (77.62), ● TLL (85.27), ● TLL (98.53) and pure fructose + THF + water (system 2): ■ TLL (39.84), ■ TLL (67.31), ■ TLL (92.80), ■ TLL (118.47), at 298 K and 0.10 MPa.

The differences in density between the commercial fructose-rich phase and the THF-rich phase K ranged from 0.935 to 1.075 g.cm⁻³ (TLL = 54.75) at 298.15 K (Figure 3 and Table S.4-S.6).

Figure 4 depicts the decrease in viscosity with increasing temperature. This decrease is mainly dependent on the intra- and intermolecular interactions, of which H-bonding is the most important for the systems under study³⁰. The THF-rich phase was shown to be less viscous than the corresponding fructose-rich phase for all systems investigated. The viscosity data for pure fructose and commercial fructose agreed with those reported by Sousa et al. (2017)²⁶. Differences in the viscosities between the THF-rich phase and commercial fructose-rich phase for the system with TLL = 98.53 ranged between 14.623 mPa.s (commercial fructose-rich) and 0.640 mPa.s (THF-rich phase) at 298.15 K (Figure 4 and Tables S.4-S.6).

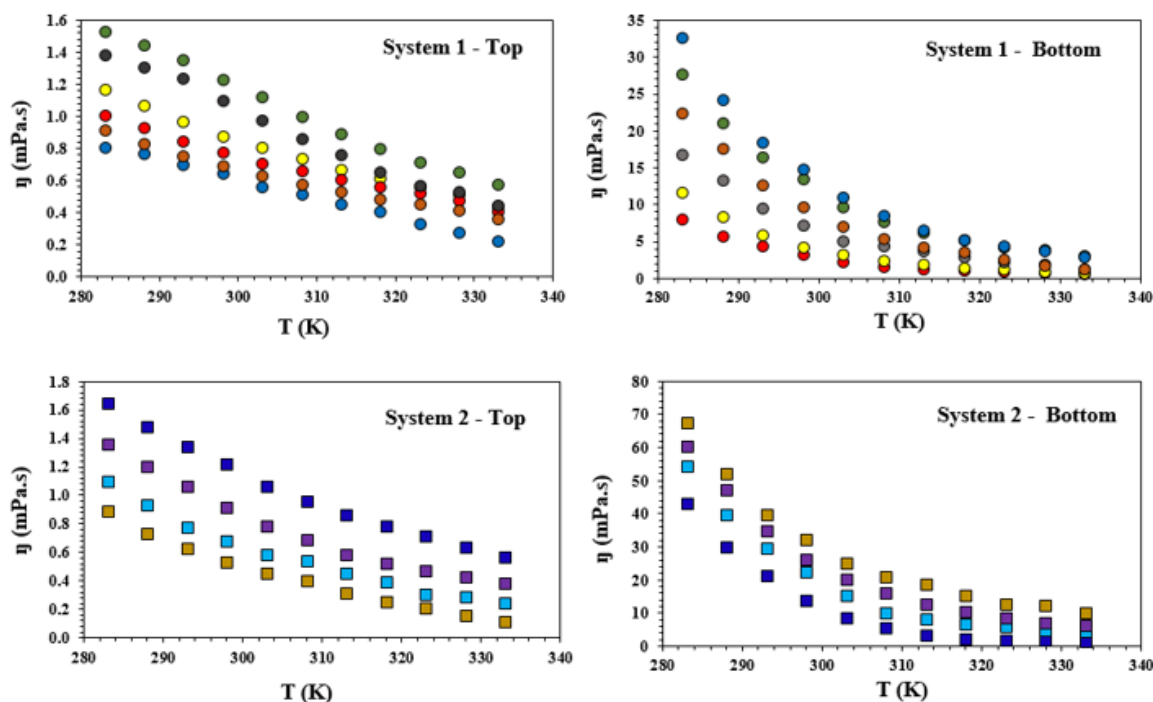


Figure 4. Experimental viscosity (η /mPa.s) as a function of temperature for different ATPSs composed of commercial fructose + THF + water (system 1): ● TLL (38.41), ● TLL (54.75), ● TLL (66.27), ● TLL (77.62), ● TLL (85.27), ● TLL (98.53) and pure fructose + THF + water (system 2): ■ TLL (39.84), ■ TLL (67.31), ■ TLL (92.80), ■ TLL (118.47) at 298 K and 0.10 MPa.

The viscosities of the top phase (THF-rich) were in the range of 1.209 mPa.s for the system with TLL = 39.84 and 1.226 mPa.s for the system with TLL = 38.41 at 298.15 K. A comparison between pure fructose and commercial fructose shows little difference between them, with the viscosity of the fructose-rich phase ranging from 13.331 mPa.s (TLL = 38.41) to 13.733 mPa.s (TLL = 39.84) at 298.15 K. ATPSs based on PEG and MgSO₄ (50 wt% PEG + 20 wt% MgSO₄) present viscosities of 325.5 mPa.s (PEG-8000), 76.5 mPa.s (PEG-3350), and 24.3 mPa.s (PEG-1000) at 298 K³¹; at this temperature the viscosity in the fructose rich-phase ranged from 3.021 mPa.s (TLL = 54.75) to 14.623 mPa.s (TLL = 98.53) for system 1 and from 13.733 mPa.s (TLL = 39.84) to 31.905 mPa.s (TLL = 118.47) for system 2. Therefore, an ATPS based on fructose can be formed and separated more easily than one based on PEG. The abovementioned data indicate similarities in density and viscosity in the systems containing pure and commercial fructose. However, commercial fructose was selected due to its low cost compared with pure fructose. This result corroborates that found by Sousa et al. (2017)²⁶, who compared the similarity of pure and commercial carbohydrates.

Effect of TLL on diuron partition. Diuron shows affinity for the THF-rich phase, because the partition coefficient is always higher than 1 ($1.33 < K_{DIU} < 19.74$). This tendency occurs because the octanol-water partition coefficient ($\log K_{ow}$) of diuron is 2.6, that of THF is 0.53, and that of fructose is -1.46³². Thus, diuron migrates to the more hydrophobic phase (THF-rich phase). Although the diuron has a hydrophobic character, this compound is water soluble (42 mg.L⁻¹), and in this case it can be separated and/or concentrated using ATPSs. This same tendency was observed by Sousa et al. (2016)²⁷ when partitioning diuron in an ATPS based on THF + polyols and by Sousa et al. (2017)²⁶ when partitioning diuron in an ATPS based on THF + carbohydrate.

Figure 5 depicts the impact of TLL on the recovery of diuron (top phase) and partition coefficient. The results show that that an increase in TLL (from 38.41 to 66.27) occurred between the recovery in the top phase and the partition coefficient of diuron. However, the yield

from the top phase exhibited a decrease from the system TLL of 66.27. This decrease may be attributed to the fact that the free volume of the top phase is totally occupied by the partitioned diuron (caused by the increased TLL) and once phase saturation is achieved, the migration of diuron to the bottom phase occurs. This explanation can be confirmed by the fact that the concentration of diuron is increased in the bottom phase³³ above the TLL of 66.27.

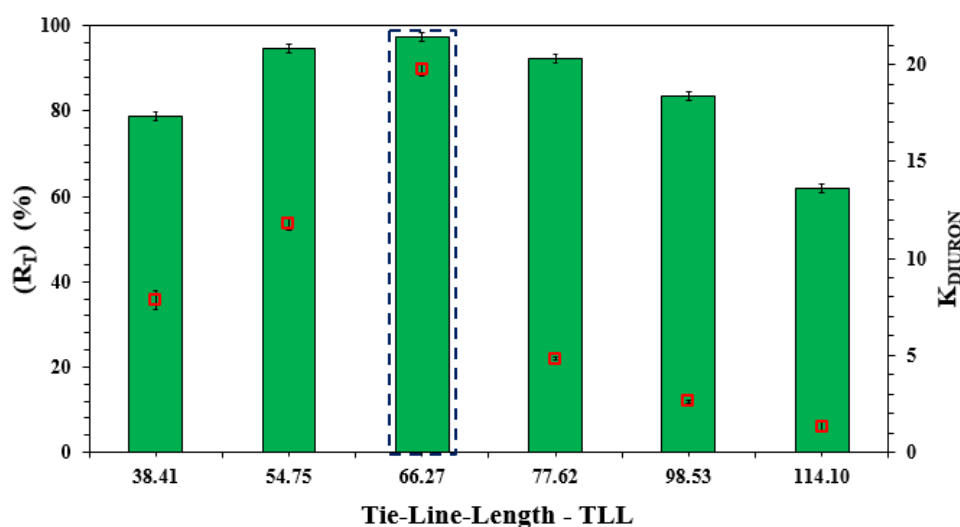


Figure 5. Effect of TLL on the recovery in the top phase (green bar) and diuron partition coefficient ($\square$) in an ATPS based on THF and commercial fructose at 298 K and 0.10 MPa.

Based on the partition of diuron in the THF-rich phase and the volume of each system phase, an attempt was made to optimize the recovery of the diuron to reach 100%. However the maximum percentage obtained was $97.26 \pm 0.6\%$ (ATPS composition of 60 wt% THF and 12.5 wt% commercial fructose, with TLL = 66.27) and was found to be always above $60.05 \pm 1.8\%$, as shown in Figure 5. Thus, the chosen mixture point for the study concentration process was TLL = 66.27, $K_{DIU} = 19.74 \pm 0.3$, and $R_T = 97.3 \pm 0.6\%$.

Diuron concentration factor. The procedure used for the concentration factor analysis of an ATPS consists in screening the compositions of an initial mixture and then gradually decreasing the volume or weight of the phase in which the solute is being extracted, in this case, the THF-

rich phase. For that purpose, a successive decrease of the amount of THF accompanied by an increase of the amount of fructose must be carried out (Figure 6). Thus, is possible to control the volume ratio at the same TLL (66.27) while keeping the same values of the partition coefficient and recovery in the top phase of diuron.

In this context, using the ratio between weigh of water (solution diuron) added to the system *per* weight of THF-rich phase, it was possible to obtain a concentration factor of 200 fold^{19, 34}, as seen in Figure 6. The mixture point necessary to create this condition is 2.24 wt% THF + 83.7% wt% commercial fructose. This result corroborates that found by Passos et al. (2012), who obtained a concentration factor of 100-fold for bisphenol using an ATPS (mixture composition: 2.5 wt% IL + 45 wt% K₃PO₄). In fact, this ability to increase the diuron concentration by a factor of 200-fold can overcome the main problem in its detection, which is the low concentration in surface water, allowing its proper identification and quantification. The economic and sustainable viability of the method to detect diuron in surface water is also ensured. The amount of THF used to form the ATPS is inversely proportional to the concentration factor. For example, for an ATPS with a total weight of 50 g, only 2.24 wt% THF is needed to obtain a concentration factor of 200-fold.

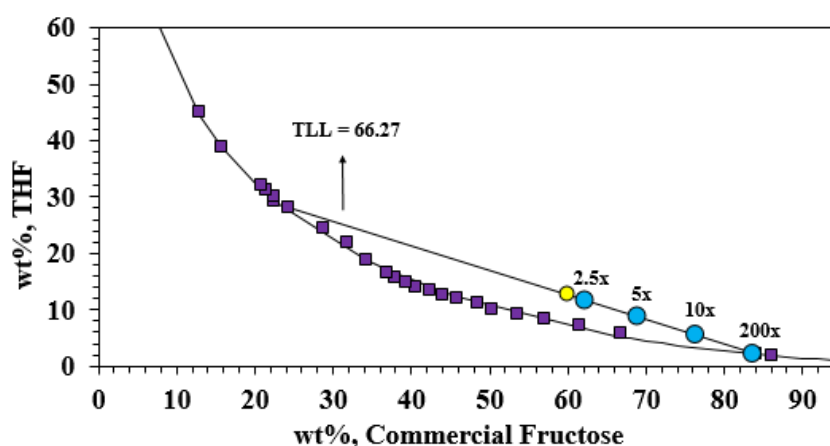


Figure 6. Process of concentration of diuron in the THF-rich phase through the variation of the initial mixture composition along the same TL (60 wt% THF + 12.5 wt% commercial fructose) at 298 K and 0.10 MPa.

In order to test the applicability of the proposed method, standard solutions of diuron were added to the ATPS at a concentration factor of 200-fold and the THF-rich phase was analyzed by LC-TOF. Standard samples of diuron (concentration range of 5–0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$) were used to evaluate the precision method on concentration factor of 200-fold in the ATPS. The major goal is to reach a final concentration of diuron at the THF-rich phase without saturating this phase. The reproducibility study was performed for three injections. The diuron limit of detection (LOD) found was 25 ng.L^{-1} . Figure 7 shows graphically the concentration observed by chromatography (represented by the data points) and the expected concentration (represented by the line). The slope of the linear regression line is 1.0, indicating an excellent concordance between observed and expected values.

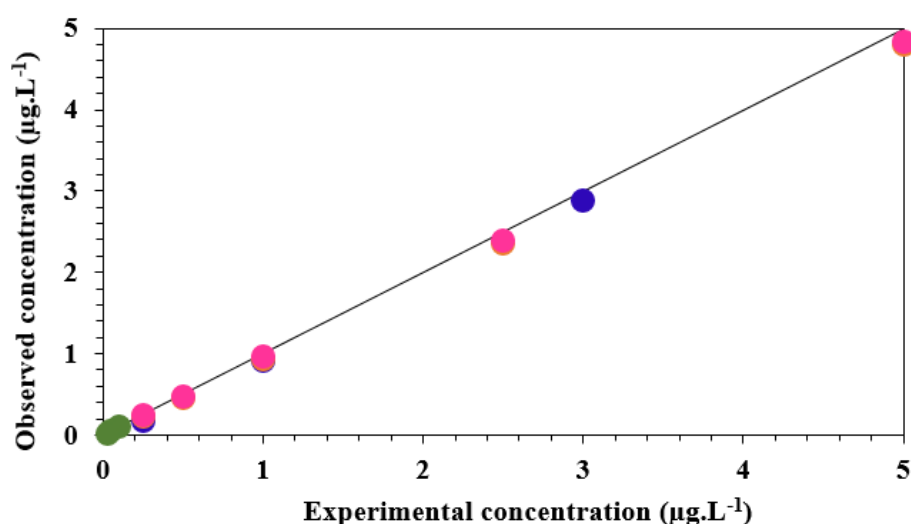


Figure 7. Plot of the observed concentration (represented by data points) versus expected concentration of diuron (represented by the line).

Validation of the proposed method was carried out to evaluate its linearity, precision, concentration factor, and limit of detection (LOD). The linearity was established in pure water in the range of 0.01–2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Table S.7), and the correlation coefficient (R^2) was always higher than 0.999.

The concentration of diuron is traditionally performed by the solid phase extraction (SPE) technique with the use of organic solvents such as acetonitrile. However, this methodology has

a higher cost than the proposed methodology. The price of the SPE technique for the concentration of a water sample was US\$ 4.68 (Discovery DSC-18, product 52603-U, Sigma-Aldrich = US\$ 4.24; acetonitrile UHPLC Plus $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich = US\$ 0.44), whereas the price of the ATPS was US\$ 0.20 (THF = US\$ 0.02; commercial fructose = US\$ 0.18). Therefore, the use of ATPS reduced the cost of the concentration process by 95.73% without affecting the diuron recovery capacity.

Diuron analyses in water sample. In order to evaluate the proposed process to concentrate diuron, real water samples from the hydrographic basin of the Japaratuba River were analyzed by LC-TOF without carrying out any type of concentration; these samples of water do not present detectable concentrations of diuron or degradation products (Figure 8). Moreover, blank control samples were analyzed, and the absence of any signal at the same selected compound retention time shows that there was no interference from the matrix or contamination that can give a false positive signal.

The water samples were inserted into ATPS with a concentration factor of 200-fold and analyzed again by chromatography. The values obtained by the equipment were divided by 200 to find the initial concentration in the samples. The diuron and degradation products presented significant signals in some months, and a concentration range of 75–1900 ng.L⁻¹ was obtained (Figure 9). The concentration of 3,4-dichloroaniline increases while the concentration of diuron decreases over the months (Figure 9), which is due to the route of natural degradation of the diuron (Figure 1). This result agrees with the work of de Britto et al., (2012)¹⁰, who detected a concentration near to 500 ng.L⁻¹ in samples from the Poxim River located in Sergipe, Brazil.

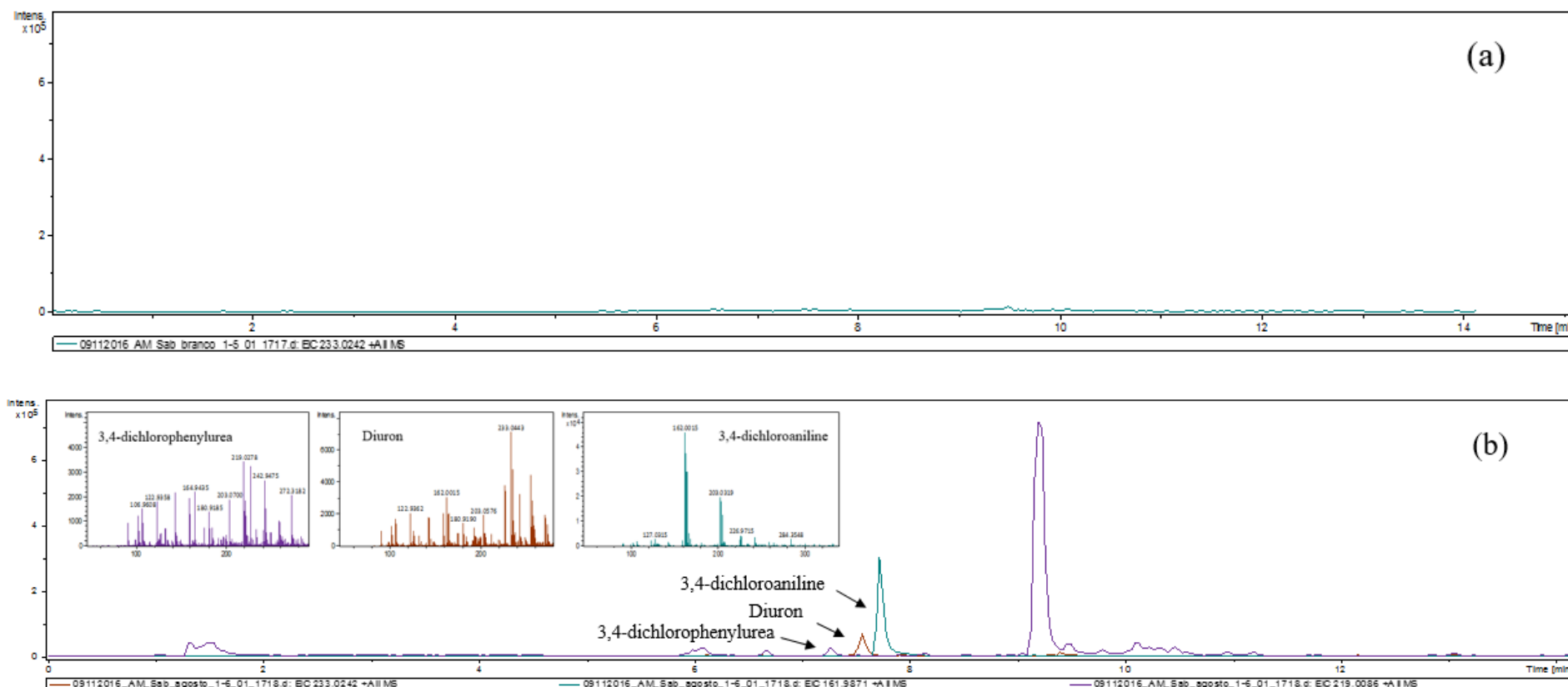


Figure 8. LC-TOF chromatograms of water samples from the hydrographic basin of the Japarutuba River in August without previous treatment (a) and after ATPS (THF + commercial fructose) concentration of diuron and byproducts (b).

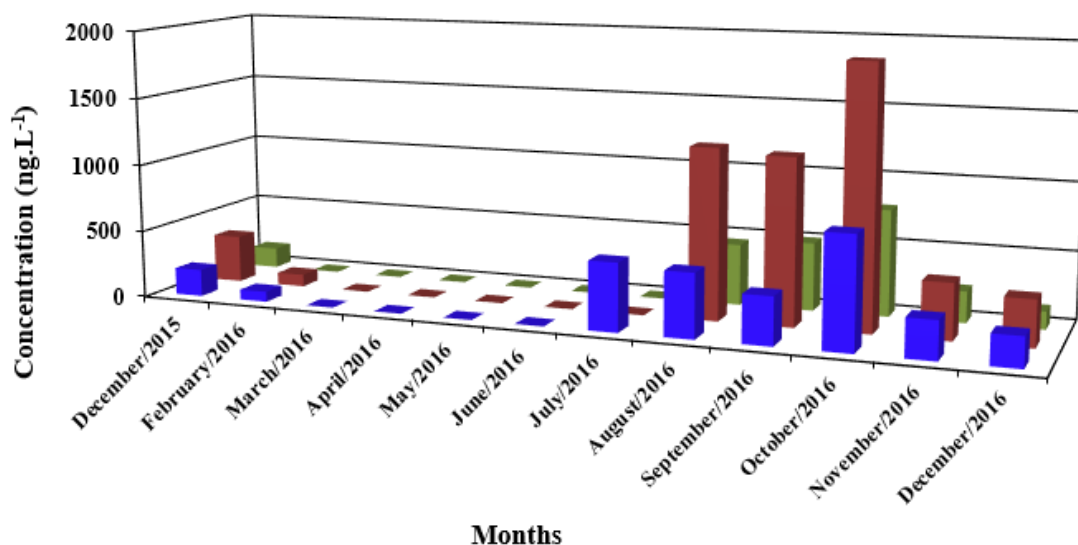


Figure 9. Monitoring of the diuron and degradation products after 200-fold concentration in water samples expressed in nanograms per liter. ■ Diuron, ■ 3,4-dichloroaniline, ■ 3,4-dichlorophenylurea.

The concentrations of diuron and degradation products in samples of real water without pretreatment do not indicate detectable signs of the herbicide diuron or degradation products, but after going through the process of concentration. The ATPS presented values above the allowed limits, because in seven of the twelve months analyzed the values obtained were found to be above the maximum permissible concentration compared with the European Community regulation, which allows a maximum concentration of any pesticide of 100 ng.L⁻¹ in water for human consumption. The concentrations of diuron found are within the American norm established by the EPA, which specifies a maximum concentration of 10 µg.L⁻¹. It is expected that access to information on the incidence of diuron in surface water will lead to changes in technical and legal procedures regarding the legislation and application of products, mainly due to the great importance of agriculture in Brazil. The simple detection of these contaminants provides a warning signal, because in ecological terms the chronic effect of contamination (over

time), even at low concentrations (sub-lethal), can become irreversible over time, even though it is difficult to observe⁴.

The hydrographic basin of the Japarutuba River, where the water samples were collected, coincides with a sugarcane production area where the herbicide diuron is usually used, and this surface water is still used as abstraction water for supply to humans. It is observed (Table S.8) that concentrations of diuron are related to the off-season of sugarcane production. The months that did not show significant signs of diuron and its degradation products coincided with the months in which there was no production of sugarcane in the region in which the water samples were collected.

It is observed that the rainy season coincided with the concentrations found for diuron and its degradation products. The pluviometry index of the region for the months of June, July, and August presented values of 272, 215, and 195 mm, respectively, and when diuron was applied in this period, leaching into water occurred. In September, the pluviometry index of the region was 206 mm, and together with the excessive application of the pesticide in this period, it contributed to increases in the concentration of diuron and its degradation products in the region in October. February, March, April, and May presented values of the pluviometry index of 47, 57, 58, and 77 mm, respectively, and concentrations of pesticide were not found in the water in this period, which indicates a relation between the rainy period of the region and the diuron concentrations found.

Conclusion

With the aim of overcoming one of the major limitations in the analysis and monitoring of surface water, a novel methodology is proposed here to concentrate diuron by the application of an ATPS based on THF + commercial fructose. Therefore, this type of system was tested to evaluate the concentration capacity of diuron in ATPS. It was found that by tuning the mixture

point composition to obtain a minimum volume of the THF-rich phase, the concentration of diuron in surface water can be increased by up to 200-fold in a single step, presenting a detection limit of 25 ng.L⁻¹. This concentration of diuron allowed the detection and quantification of the compound in waters previously diagnosed as free of this compound, and both diuron and its degradation products presented values of 75–1900 ng.L⁻¹ in surface water.

Aknowledgements

The authors are grateful financial support from Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP e da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe – FAPITEC.

References

- (1) Embrapa-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Software AGROSCRE – *Apoio à Avaliação de Tendências de Transporte de Princípios Ativos de Agrotóxicos*. ISBN: 1516–4675, **2014**.
- (2) Mehta, R., Brahmbhatt, H., Saha, N.K., Bhattacharya, A. Removal of substituted phenyl urea pesticides by reverse osmosis membranes: Laboratory scale study for field water application. *Desalination* **2015**, 358, 69–75.
- (3) Giacomazzi, S., Cochet, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* **2004**, 56, 1021–1032.
- (5) Mansano, A.S., Moreira, R.A., Pierozzi, M., Oliveira, T.M.A., Vieira, E.M., Rocha, O., Regali-Seleglim, M.H. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *paramecium caudatum*: the use of protozoan in ecotoxicology. *Environ. Pollut.* **2016**, 213, 160-172.

- (4) Huovinen, M., Loikkanen, J., Naarala, J., Vahakangas, K. Toxicity of diuron in human cancer cells. *Tox. in Vitro* **2015**, 29, 1577–1586.
- (6) Meira, J.C.R., Campos, A.B. Pereira, L.C. Vulnerabilidade natural e perigo à contaminação de zona de recarga do Aquífero Guarani. *Águas Subter.* **2014**, 28, 31–46.
- (7) US EPA, Drinking Water Contaminant Candidate List 2. 2005. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List> (accessed 30 January 2017).
- (8) European Commission, 2011. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. http://ec.europa.eu/environment/water/waterframework/pdf/4th_report/MS%20annex%20-%20Spain.pdf (accessed 30 January 2017).
- (9) Ministério da Saúde, Portaria nº 2914, http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_2914-11.pdf (accessed December 2016).
- (10) Britto, F.B., Vasco, A.N., Pereira, A.P.S., Mélio, A.V., Nogueira, L.C. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. *Rev. Ciênc. Agron.* **2012**, 43, 390–398.
- (11) Sapozhnikova, Y. Evaluation of low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry method for the analysis of >140 pesticides in fish. *J. of Agricul. and Food Chem.* **2014**, 62, 3684–3689.
- (12) Melo, A., Mansilha, C., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., 2013. Analysis of Pesticides in Tomato Combining QuEChERS and Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography. *F. Analy. Met.* **2013**, 6, 559–568.

- (13) Yang, X, Yu, R., Zhang, S., Cao, B., Liu, Z., Lei, L., Li, N., Wang, Z., Zhang, L., Zhang, H., Chen, Y. Aqueous two-phase extraction for determination of triazine herbicides in milk by high-performance liquid chromatography. *J. of Chrom. B.* **2014**, 972, 111–116.
- (14) Gui, W., Tian, C., Sun, Q., Li, S., Zhang, W., Tang, J. Zhu, G., 2016. Simultaneous Determination of Organotin Pesticides by HPLC-ICP-MS and Their Sorption, Desorption, and Transformation in Freshwater Sediments. *W. Res.* **2016**, 95, 185-194.
- (15) Moschet, C., Lew, B.M., Hasenbein, S., Anumol, T., Young, T.M. LC- and GC-QTOF-MS as Complementary Tools for a Comprehensive Micropollutant Analysis in Aquatic Systems. *Env. Sci. Tech.* **2017**, 51, 1553-1561.
- (16) Munz, N.A., Burdon, F.J., Zwart, D., Jungahans, M., Melo, L., Reyes, M., Schonenberger, U., Singer, H.P., Spycher, B., Hollender, J., Stamm, C. Pesticides drive risk of micropollutants in wastewater-impacted streams during low flow conditions. *W. Res.* **2016**, 110, 366–377.
- (17) Lucci, P., Núñez, O. On-line solid-phase extraction for liquid chromatography–mass spectrometry analysis of Pesticides. *J. of Sep. Scien.* **2014**, 37, 2929-2939
- (18) Passos, H., Sousa, A.C.A., Pastorinho, M.R., Nogueira, A.J.A., Rebelo, L.P.N., Coutinho, J.A.P., Freire, M.G. Ionic-liquid-based aqueous biphasic system for improved detection of bisphenol A in human fluids. *Anal. Metho.* **2012**, 4, 2664–2667.
- (19) Dinis, T.B.V., Passos, H., Lima, D.L.D., Esteves, V.I., Coutinho, J.A.P., Freire, M.G. One-step extraction and concentration of estrogens for an adequate monitoring of wastewaters using ionic-liquid-based aqueous biphasic system. *Green Chem.* **2015**, 17, 2570–2579.
- (20) Albertsson, P.A., Johansson, G., Tjerneld, F. Separation processes in biotechnology. Aqueous two-phase separations. *Bio. Tech.* 1990, 9, 287–327.
- (21) Zaslavsky, B.Y. Aqueous Two-Phase Partitioning – Physical Chemistry and Bioanalytical Applications, *Marcell Dekker*, New York **1995**.

- (22) Freire, M.G., Claudio, A.F.M., Araújo, J.M.M., Coutinho, J.A.P., Marrucho, I.M., Lopes, J.N.C., Rebelo, L.P.N. Aqueous biphasic system: a boost brought about by using ionic liquid. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 4966–4995.
- (23) Zeng, Q., Wang, Y., Huang, Y., Ding, X., Chen, J., Xu, K., 2014. Deep eutectic solvents as novel extraction media for protein partitioning. *Analyst* **2014**, 139, 2565–2573.
- (24) Li, Z., Teng, H., Xiu, Z. Extraction of 1,3-propanediol from glycerol-based fermentation broths with methanol/phosphate aqueous two-phase system. *Proc. Biochem.* **2011**, 46, 586–591.
- (25) Cardoso, G.B., Mourão, T., Pereira, F.M., Freire, M.G., Fricks, A.T., Soares, C.M.F., Lima, A.S. Aqueous two-phase systems based on acetonitrile and carbohydrates and their application to the extraction of vanillin. *Sep. and Purif. Tech.* **2013**, 104, 106–113.
- (26) Sousa, K.M., Maciel, G.E.L.O., Buarque, F.S., Santos, A.J., Marques, M.N., Cavalcanti, E.B., Souza, R.L., Soares, C.M.F., Lima, A.S. Novel phase diagrams of aqueous two-phase systems based on tetrahydrofuran + carbohydrates + water: Equilibrium data and partitioning experiments. *Fluid Phase Equil.* **2017**, 433, 1–9.
- (27) Sousa, K.M., Merlo, L.H.Z., Marques, M.N., Cavalcanti, E.B., Souza, R.L., Soares, C.M.F., Lima, A.S. Partitioning of diuron in a novel aqueous two-phase system based on polyols and tetrahydrofuran. *Fluid Phase Equil.* **2016**, 429, 325–330.
- (28) Merchuk, J.C., Andrews, B.A., Asenjo, J.A. Aqueous two-phase systems for protein separation studies on phase inversion. *J. of Chrom. B.* **1998**, 54, 285–293.
- (29) Cláudio, A.F.M., Freire, M.G., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Coutinho, J.A.P. Extraction of vanillin using ionic-liquid-based aqueous two-phase systems. *Sep. and Purif. Tech.* **2010**, 75, 39–47.

- (30) Quental, M.V., Passou, H., Kurnia, K.A., Coutinho, J.A.P., Freire, M.G. Aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and acetate-based salts: phase diagrams, densities, and viscosities. *J. of Chem. and Engin. Data*. **2015**, 60, 1674–1682.
- (31) González-Tello, P., Camacho, F., Blázquez, G. Density and viscosity of concentrated aqueous solutions of polyethylene glycol. *J. of Chem. and Engin. Data* **1994**, 39, 611–614.
- (32) Chemical spider, the free chemical data-base, <http://www.chemspider.com/> (accessed 25 March 2017).
- (33) Rito-Palomares, M., Hernández, M. Influence of system and process parameters on partitioning of cheese whey proteins in aqueous two-phase systems. *J. of Chrom. B* **1998**, 711, 81–90.
- (34) Marrucho, I.M., Freire, M.G. Aqueous biphasic system based on ionic liquid for extraction, concentration and purification approaches. *Springer-Verlag*; Berlin Heidelberg. **2016**, 91–119; ISBN: 978-3-662-48520-0.

SUPPORTING INFORMATION

IMPROVEMENT OF DIURON DETECTION IN WATER USING AN AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM BASED ON TETRAHYDROFURAN AND FRUCTOSE

Filipe Smith Buarque^a, Cleide Mara Faria Soares^{a,b}, Maria Nogueira Marques^{a,b}, Rita de
Cássia Mendonça de Miranda^c, Eliane Bezerra Cavalcanti^{a,b}, Ranyere Lucena de Souza^{a,b},
Álvaro Silva Lima^{a,b,*}

^a Universidade Tiradentes. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^b Instituto de Tecnologia e Pesquisa. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE,
Brazil

^c Universidade Ceuma. Rua Josué Montello, 1. CEP: 65075-120, São Luís – MA, Brazil

* Author to whom correspondence should be addressed: e-mail: alvaro_lima@itp.org.br. Tel.:
+55 7932182115. Fax: +55 7932182190.

Table of Contents:

Table S1. Weight fraction composition for TLs and their respective TLLs of the ATPS

Table S2. Critical point of system

Table S3. Values of the fitting parameters of the Othmer-Tobias and Bancroft equations

Table S4. Viscosity and density for the systems composed of THF + fructose + water

Table S5. Viscosity and density for the systems composed of THF + commercial fructose + water

Table S6. Viscosity and density for the systems composed of THF + commercial fructose + water

Table S7. Validation parameters of the proposed method

Table S8. Concentration of diuron in surface water samples expressed as ng.L^{-1}

Table S1. Weight fraction composition for TLs and their respective TLLs of the ATPS formed by fructose (Y) and tetrahydrofuran (X) at the top phase (T) (tetrahydrofuran rich phase) and bottom phase (B) (fructose rich phase), initial of the mixture composition (M) at 298 K and 0.10 MPa.

Fructose	Weight fraction composition (wt%)						TLL
	[FRU] _M	[THF] _M	[FRU] _T	[THF] _T	[FRU] _B	[THF] _B	
Pure	14.98	44.97	8.72	56.15	28.23	21.15	39.84
	20.02	44.98	7.78	59.37	51.28	8.09	67.31
	30.02	44.98	4.07	75.90	63.71	4.81	92.80
	39.82	44.99	4.02	78.36	80.89	2.13	118.47
Commercial	14.99	45.00	8.52	55.32	28.94	22.80	38.41
	12.53	54.98	2.61	80.12	23.71	29.19	54.75
	12.49	60.02	2.07	84.10	28.40	24.29	66.27
	12.55	64.97	1.82	86.19	26.85	16.93	77.62
	20.00	54.98	1.61	88.22	42.89	13.61	85.27
	25.01	54.99	1.29	91.6	54.88	9.32	98.53

Table S2. Critical point of system composed of fructose + tetrahydrofuran + water and commercial fructose + tetrahydrofuran + water, at 298 K and atmospheric pressure (0.10 MPa).

Carbohydrate	<i>f</i>	<i>g</i>	<i>R</i> ²	Critical point		
				[FRU]	[THF]	[water]
Fructose	-64.92	1.79	0.945	12.58	43.45	43.97
Commercial fructose	-203.07	2.79	0.987	3.48	74.01	22.51

Table S3. Values of the fitting parameters of the Othmer-Tobias and Bancroft equations for the ternary systems composed of fructose + THF + water and their correlation coefficients (R^2) at 298 K and 0.10 MPa.

Fructose	Othmer-Tobias			Bancroft		
	η	k_1	R^2	r	k_2	R^2
Pure	-2.210	1.951	0.993	-2.137	0.441	0.984
Commercial	1.145	2.641	0.995	-0.983	-1.047	0.993

Table S4. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + fructose + water

Fructose																
45/15					45/20				45/30				45/40			
Top		Bottom			Top		Bottom		Top		Bottom		Top		Bottom	
K	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³
283.15	1.638	0.949	42.846	1.196	1.353	0.926	53.996	1.227	1.083	0.919	59.993	1.254	0.883	0.909	66.993	1.284
288.15	1.473	0.944	29.814	1.192	1.199	0.921	39.412	1.224	0.928	0.914	46.744	1.251	0.728	0.903	51.744	1.281
293.15	1.331	0.939	20.981	1.188	1.055	0.916	29.445	1.220	0.773	0.909	34.371	1.248	0.623	0.899	39.371	1.278
298.15	1.209	0.934	13.733	1.184	0.909	0.910	22.069	1.217	0.672	0.903	25.905	1.244	0.522	0.893	31.905	1.274
303.15	1.060	0.925	8.153	1.180	0.780	0.905	14.945	1.214	0.577	0.898	19.967	1.241	0.447	0.890	24.967	1.271
308.15	0.948	0.915	5.478	1.174	0.678	0.900	9.830	1.210	0.536	0.892	15.686	1.237	0.396	0.886	20.686	1.267
313.15	0.852	0.909	3.190	1.168	0.579	0.894	7.877	1.206	0.449	0.887	12.538	1.233	0.309	0.881	18.538	1.263
318.15	0.774	0.902	1.911	1.165	0.505	0.889	6.538	1.202	0.385	0.881	10.151	1.229	0.245	0.877	15.151	1.259
323.15	0.711	0.895	1.737	1.154	0.463	0.883	5.496	1.198	0.302	0.876	8.364	1.225	0.202	0.871	12.364	1.255
328.15	0.631	0.891	1.505	1.154	0.417	0.878	4.688	1.194	0.278	0.870	6.976	0.148	0.148	0.864	11.976	1.252
333.15	0.550	0.888	1.344	1.143	0.374	0.872	4.004	1.190	0.237	0.865	5.874	1.215	0.111	0.858	9.874	1.245

Table S5. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + commercial fructose + water

	Commercial Fructose															
	45/15				55/12.5				55/20				55/25			
	Top		Bottom		Top		Bottom		Top		Bottom		Top		Bottom	
K	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³
283.15	1.522	0.952	27.585	1.197	1.375	0.949	7.859	1.087	0.906	0.922	22.358	1.183	0.799	0.916	32.459	1.232
288.15	1.437	0.945	20.925	1.194	1.298	0.944	5.565	1.083	0.824	0.916	17.407	1.180	0.763	0.910	24.130	1.222
293.15	1.345	0.942	16.396	1.192	1.229	0.939	4.275	1.079	0.749	0.911	12.568	1.177	0.694	0.905	18.371	1.212
298.15	1.226	0.937	13.331	1.188	1.091	0.934	3.021	1.075	0.683	0.906	9.487	1.174	0.640	0.900	14.623	1.205
303.15	1.116	0.932	9.499	1.185	0.968	0.929	2.141	1.071	0.625	0.900	6.930	1.170	0.559	0.894	10.838	1.198
308.15	0.990	0.928	7.583	1.180	0.857	0.925	1.514	1.070	0.571	0.895	5.241	1.167	0.507	0.886	8.385	1.192
313.15	0.885	0.924	6.084	1.176	0.756	0.923	1.141	1.067	0.522	0.889	4.119	1.163	0.451	0.883	6.386	1.189
318.15	0.793	0.923	5.085	1.172	0.648	0.921	0.890	1.064	0.479	0.884	3.392	1.159	0.399	0.878	5.038	1.182
323.15	0.710	0.921	4.086	1.168	0.562	0.915	0.719	1.063	0.446	0.88	2.416	1.155	0.328	0.872	4.190	1.177
328.15	0.645	0.919	3.801	1.165	0.527	0.912	0.659	1.061	0.409	0.874	1.657	1.151	0.272	0.866	3.638	1.172
333.15	0.569	0.916	2.880	1.161	0.442	0.909	0.467	1.059	0.357	0.868	1.193	1.147	0.216	0.861	2.784	1.170

Table S6. Viscosity and density of the top (T) and bottom phases (B) for the systems composed of THF + commercial fructose + water

Commercial Fructose								
60/12.5					65/12.5			
Top		Bottom			Top		Bottom	
K	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³	mPa.s	g.cm ⁻³
283.15	1.161	0.933	11.562	1.108	1.005	0.926	16.606	1.143
288.15	1.061	0.927	8.150	1.104	0.922	0.921	13.19	1.140
293.15	0.961	0.922	5.782	1.101	0.842	0.915	9.376	1.136
298.15	0.873	0.916	4.047	1.097	0.771	0.91	7.018	1.133
303.15	0.798	0.911	3.057	1.095	0.703	0.905	4.994	1.129
308.15	0.730	0.908	2.21	1.093	0.653	0.899	4.217	1.125
313.15	0.667	0.904	1.800	1.092	0.604	0.894	3.556	1.124
318.15	0.608	0.899	1.32	1.092	0.559	0.889	2.759	1.12
323.15	0.558	0.894	1.075	1.091	0.521	0.883	2.162	1.115
328.15	0.508	0.888	0.712	1.089	0.471	0.878	1.738	1.111
333.15	0.431	0.883	0.631	1.088	0.404	0.872	1.171	1.106

Table S7. Validation parameters of the proposed method.

Pesticides	RT (minutes)	R ²	Linear range (µg.L ⁻¹)	LOD (ng.L ⁻¹)
Diuron	7.5	0,999	0.01 – 2.5	25
3,4-dichlorophenylurea	7.3	0,996	0.01 – 2.5	75
3,4-dichloroaniline	7.6	0,995	0.01 – 2.5	75

Table S8. Concentration of diuron in surface water samples expressed as ng.L⁻¹

Month	Pesticides		
	Diuron	3,4-dichloroaniline	3,4-dichlorophenylurea
December/2015	200	350	150
February/2016	75	90	-
March/2016	-	-	-
April/2016	-	-	-
May/2016	-	-	-
June/2016	-	-	-
July/2016	500	-	-
August/2016	470	1250	450
September/2016	350	1215	500
October/2016	815	1900	780
November/2016	280	410	230
December/2016	220	340	130

- : no detected

Capítulo 6

6. Aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and glycerol: an improve of atrazine detection water sample

Filipe Smith Buarque^a, Nayara Silva Lima^a, Cleide Mara Faria Soares^{a,b}, , Eliane Bezerra Cavalcanti^{a,b}, Ranyere Lucena de Souza^{a,b}, Álvaro Silva Lima^{a,b,*}

^aUniversidade Tiradentes. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^bInstituto de Tecnologia e Pesquisa. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

*To whom correspondence should be addressed: e-mail: alvaro_lima@unit.br. Phone: +55 7932182115. Fax: +55 7932182190.

Abstract

The use of herbicides is the most serious factors of degradation in the quality of water resources. The atrazine is used in control in pre and post-emergence weeds of broad leaved in plantations of sugar cane, corn, orange. The contamination of water resources by atrazine can have serious consequences for the environment and for human health. In this context, this work proposes a method of concentration of atrazine surface water based on aqueous two-phase system (ATPS) composed of tetrahydrofuran (THF) and glycerol. The tie-lines were determined, and subsequently recovery of the atrazine in THF- rich phase was optimized from 70.90 to 96.47 wt%. In addition, the concentration factor of atrazine reached 250-fold with the optimized system (30 wt% glycerol + 50 wt% THF, corresponding to tie-line length 93.90). The method showed a linear response to atrazine between 0.05–5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ with correlation coefficient of 0.999, and a detection limit 50 ng.L^{-1} . This concentration allowed the identification and quantification of atrazine in real samples of water collected in the basin hydrographic of the Japaratuba River, in the state of Sergipe, Brazil, which was previously diagnosed as being free of this compound, with values of 95 – 2400 ng.L^{-1} in surface water.

Key-words: aqueous two-phase system, atrazine, concentration, detection

INTRODUCTION

Pesticides are substances employed used to protect agriculture against a wide range of weed, fungus and pest threats, avoiding economic losses and increasing agricultural productivity and performance. (Hurtado-Sánchez et al., 2013). Among the thousands of pesticides on the market, the herbicides are the most widely consumed, being sold a record of 902,408 tons in the year of 2013 (increase of 9.6% compared to 2012) (Embrapa, 2014).

The atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropilamino-s-triazine) is being employed pre and post-emergence weed control of broad leaf in plantations of sugar cane, corn, soybeans, wheat, beans, and orange. It belongs to the chemical group of triazines and solid at ambient temperature (melting point of 176°C), featuring a half-life in the soil between 15 and 100 days (Liu et al., 2015).

The contamination of water resources by atrazine can have serious consequences for the environment and for human health. Although, even low concentrations, this herbicide presents risks for species of aquatic organisms, which can concentrate these products up to 1000-fold. Therefore, there is no predictable safe level for atrazine in water (Armas et al., 2007). The US Environmental Protection Agency (EPA) sorts the atrazine as a possible human carcinogen agent (US-EPA, 2005).

In order to monitor the presence of atrazine in surface water, the US-EPA established maximum levels for the presence of atrazine of 3 µg.L⁻¹ (US-EPA, 2005). European legislation states that the maximum permissible concentration of pesticides in water is 0.1 µg.L⁻¹ (European Commission, 2011). In Brazil, according to the resolution of the National Environmental Council (CONAMA) No. 357 of March 2005, the maximum permitted limit of atrazine in surface and groundwater is 2 µg.L⁻¹. However, an accurate measuring of the contamination of atrazine on surface water is crucial, because even in low levels of concentration in water can cause serious problems for the aquatic environment and humans (Vasco et al., 2011).

The main analytical techniques used for the determination of atrazine are based on gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) (Bonansea et al., 2013), ultra-fast liquid chromatography (UFLC), to TOF mass spectrometer (LC-MS) (Bernardi et al., 2016). Nevertheless, the presence of unknown atrazine in low levels in matrices of water and the high detection limits of the equipment traditionally used are the major shortcomings in the atrazine identification and quantification. Therefore, it requires a methodology of concentration, which normally uses membranes (Mehta et al., 2015), and solid phase extraction (Bonansea et al., 2013; Bernardi et al., 2016). Thus, an alternative recovery and concentration is the use of aqueous two-phase systems (ATPS) (Passos et al., 2012).

Aqueous two-phase systems (ATPS) are currently recognized as efficient pre-treatment techniques for concentrating metabolites from one aqueous phase to another (Passos et al., 2012). ATPS are composed of two aqueous phases formed by the constituent's addition with concentrations higher than the critical concentration of each component (Albertsson, 1990).

Various compounds may be used to promote the formation of ATPS such as polymer-polymer systems (dextran + polyethylene glycol (PEG) and PEG + maltodextrin) (Gunduz e Korkmaz, 2000; Madeira et al., 2011), ionic liquid – inorganic salt (Ventura et al., 2012), organic solvent - inorganic salts (Souza et al., 2015) and recently, tetrahydrofuran + carbohydrates/polyols) (Sousa et al., 2016; Sousa et al., 2017).

In this sense, the tetrahydrofuran (THF) is an aprotic organic solvent, moderately polar and completely soluble in water at room temperature (Banković-Ilić et al., 2015). THF was described as able to form ATPS for lipase purification (Souza et al., 2015), partition of herbicide (Sousa et al., 2016; Sousa et al., 2017).

In this work, we propose to apply the ATPS based by THF + glycerol as a strategy to concentrate of atrazine present in water. For this, initially the partition coefficient and recovery on top phase was optimization. After these evaluation, the ability of ATPS as a alternative to

the concentration used in the in water atrazine identification and quantification was investigated, followed by the detection limit of proposed method.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

The ATPS of this work have been formed using glycerol (> 99.5% purity), tetrahydrofuran (99.9% of purity) and atrazine (> 98% purity) were acquired by Sigma-Aldrich®. Water was distilled and further treated with Milli-Q Plus 185 water purification equipment.

Water sample collection

The water samples were collected monthly during December/2015 to December/2016, as monitoring of the basin hydrographic of the *Japaratuba* River, whose geographic coordinates are 10° 42' 13.2" south latitude and 36° 59' 32.0" west longitude, located in state of Sergipe-Brazil. These samples were conditioned in amber vials and stored at 253 K until further analysis

Tie-line

The tie-lines (TLs), which are straight lines that describe the composition of the coexisting phases of a given mixture point, were determined by a gravimetric method. Different mixture points at the biphasic region were prepared, vigorously stirred at 3000 rpm for 10 min and allowed for at least 4 h at 298 K to reach equilibrium. After separation of the two phases, both the top and bottom phases were weighted. Each individual TL was determined by application of the lever-arm rule to the relationship between the top weight phase composition and the overall system composition, as describe by the equation 1-4 (Merchuk et al., 1998).

$$[\text{GLY}]_{\text{T}} = A \times \exp(B[\text{THF}]_{\text{T}}^{0.5}) - (C[\text{THF}]_{\text{T}}^3) \quad (1)$$

$$[\text{GLY}]_{\text{B}} = A \times \exp(B[\text{THF}]_{\text{B}}^{0.5}) - (C[\text{THF}]_{\text{B}}^3) \quad (2)$$

$$[\text{GLY}]_{\text{T}} = \left(\frac{[\text{GLY}]_{\text{M}}}{\alpha} \right) - \left(\frac{1-\alpha}{\alpha} \right) [\text{GLY}]_{\text{B}} \quad (3)$$

$$[\text{THF}]_T = \left(\frac{[\text{THF}]_M}{\alpha} \right) - \left(\frac{1-\alpha}{\alpha} \right) [\text{THF}]_B \quad (4)$$

where the subscribes M, T and B mean, the initial mixture, the top and bottom phase, respectively. The value of α is the proportion between the top phases mass and the total mass of the mixture.

The tie line length (TLL) denotes the distance, i.e., the differences in composition, between the glycerol-rich phase and the THF-rich phase and was calculated according to equation 5:

$$\text{TLL} = \sqrt{([\text{THF}]_T - [\text{THF}]_B)^2 + ([\text{GLY}]_T - [\text{GLY}]_B)^2} \quad (5)$$

The critical point of each ATPS was also determined by extrapolating the TLs' slopes of individual systems followed by the fitting using equation 6.

$$[\text{GLY}] = f + g[\text{THF}] \quad (6)$$

where f and g are setting parameters.

The consistency of the measured TLs was further checked using equation 7 the Othmer–Tobias:

$$\left(\frac{100 - [\text{THF}]_T}{[\text{THF}]_T} \right) = k_1 \left(\frac{100 - [\text{GLY}]_B}{[\text{GLY}]_B} \right)^\eta \quad (7)$$

and Brancroft, equation 8:

$$\left(\frac{100 - [\text{THF}]_T - [\text{FRU}]_T}{[\text{THF}]_T} \right) = k_2 \left(\frac{100 - [\text{THF}]_B - [\text{GLY}]_B}{[\text{GLY}]_B} \right)^r \quad (8)$$

where k_1 , n , k_2 and r are fitting parameters. A linear dependence of $\log ((100-[\text{THF}]_T)/[\text{THF}]_T)$ against $\log ((100-[\text{GLY}]_B)/[\text{GLY}]_B)$ and $\log ((100-[\text{THF}]_T-[\text{GLY}]_T)/[\text{THF}]_T)$ against $\log ((100-[\text{THF}]_B-[\text{GLY}]_B)/[\text{GLY}]_B)$ indicate the consistence of the results.

Atrazine Partitioning

The ternary mixtures compositions used in the partitioning experiments were chosen based on the phase diagrams determined in this work for tetrahydrofuran-glycerol-water system. Different mixture compositions were studied to evaluate the effect of the concentration of the phase-forming components through the recovery of atrazine. Atrazine at concentration of circa 33 mg.L⁻¹ were also used as the aqueous solution. Each mixture was vigorously stirred, centrifuged 4000 rpm for 10 min, and left to equilibrate for 4 h at 298 K (Marconi MA-127) to reach the atrazine complete partitioning between the coexisting phases. After, a careful separation of the phases was performed and the amount of atrazine in each phase was quantified by spectroscopy using a UV-Vis spectrophotometer (Varin Cary 50 Bio UV/Vis) at the wavelength of 222 nm. Each phase was diluted at a 1:5 (v:v) ratio in water. At least three independent ATPS were prepared and 3 samples of each phase were quantified. The diuron partition coefficient is the ration between the top (THF-rich) and bottom (glycerol-rich) concentration. The maximum value of the partition coefficient was investigated varying the values of TLL, thus acquiring a maximum value of K_{ATZ}.

The recovery on top phase was determined by the solute in the top phase (R_T), which was evaluated by the Equation 9.

$$R_T = \frac{100}{1 + \left(\frac{1}{R_v \times K_{ATZ}} \right)} \quad (9)$$

where R_V is the volume ratio between the top (V_T) and the bottom (V_B) volume of the phase.

The maximum value of the K_{ATZ} and R_T was investigated varying the values of tie-lines length (TLL).

Atrazine concentration factor

The concentration factor of atrazine along the TL was evaluated through weight of water added to the system *per* weight of THF-rich phase. The volume decreased of this phases leads to a rise of the atrazine concentration factor. It should be noted that along the same TL the composition

of each phase, the partition coefficient and recovery on top phase is maintained while varying only the volume ratio of the phases. The systems of TLL (93.90) were prepared using graduated centrifuge tubes (50 mL) content tetrahydrofuran (11.62 – 3.27 wt%) and glycerol (79.98 – 93.98 wt%), with the total weight of 50 g approximately (Marrucho & Freire 2016). In order to apply the method proposed, standard solutions of atrazine (initial concentration of 5 – 0.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$) were inserted into the ATPS at a concentration factor of 250-fold and the THF-rich phase.

Atrazine quantification in surface water

The quantification of atrazine was performed using ultra-fast liquid chromatography (UFLC), chromatography system Shimadzu coupled to TOF mass spectrometer (LC-TOF system) was used. The analysis was performed with an C-18 column (100 mm x 2 mm), at a flow rate of 0.2 mL.min^{-1} . The mobile phase consisted in a water:acetonitrile mixture with 0.1% formic acid. The elution started at 2% of eluent B (acetonitrile) during 6 min, and then it was increased to 90 % until 13 min. After that, it was returned to the initial conditions in 13.1 min, and the column was preequilibrated during 1.9 min obtaining a total run time of 15 min. The oven temperature was at 313 K, with an ion polarity being positive and mass load range of 50-1000 (m/z). The detection/quantification of atrazine (215.7 g.mol^{-1}) was performed wavelength of 222 nm.

RESULTS AND DISCUSSION

Tie-Lines (TL), Tie-Lines Length (TLL) and Critical Point (CP)

The equilibrium data for the ATPS in this work were reported by Sousa et al. (2016), based on the binodal curves compositions by THF + glycerol and in the percentage of the partition coefficient and recovery. In addition, because glycerol is low in cost and it is by-product of the biodiesel industry, glycerol has been chosen as the suitable constituent for ATPS. A series of tie-lines in the two-phase region of the binodal curve were investigated and are reported in

shown in Figure 1 and Supplementary Table S1, together with the overall composition, TLL, and critical point. The regression parameters (A, B and C), standard deviations (σ) and correlation coefficients (R^2) were for the system THF + glycerol (A: 150.59 ± 6.13 , B: -0.31 ± 0.01 , C: $1.25 \times 10^{-6} \pm 2.73 \times 10^{-7}$ and R^2 : 0.997) (Sousa et al., 2016).

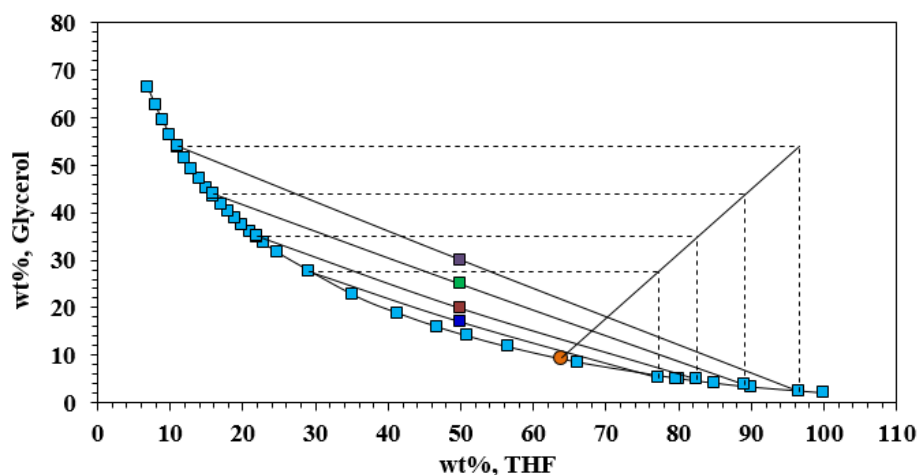


Figure 1 Phases diagram for ternary systems constituted of tetrahydrofuran + glycerol + water, tie-lines, mixture point (■, ■, ■, ■), critical point (●), at 298 K and 0.10 MPa.

The tie-lines are approximately parallel to each other, thus allowing easily to estimate the coexisting phase compositions for any system. The concentration of THF is higher in the top phase and that of glycerol in the bottom phase, this is because the TLL represents the difference between THF and glycerol concentrations in the upper and lower phases approximately (Marrucho & Freire 2016). The critical point (CP) for the studied systems was estimated by extrapolation from the TLs compositions applying Equation. (6) (Supplementary Table S2).

The consistency of the TLs was further checked using the Othmer–Tobias and Bancroft equations (Equation 7 and 8), and the respective fitting parameters and correlation coefficient (R^2) are shown in Table 1. The TL data are reliable since the obtained regression coefficients are close to 1, indicating therefore a good degree of consistency of the experimental data.

Table 1 Parameter values of fitting parameters of Othmer-Tobias e Bancroft equation for the ternary system composed of tetrahydrofuran + glycerol + water, correlation coefficients (R^2) and at 298 K and 0.10 MPa.

	Othmer-Tobias			Bancroft		
	η	k_1	R^2	r	k_2	R^2
Glycerol	0.499	1.439	0.992	-0.235	0.1816	0.985

TLL effect in atrazine partition

Atrazine has preference for more hydrophobic and organic phases ($2.84 < K_{ATZ} < 15.17$) as reflected by its octanol–water partition ($\log K_{ow}$) is 2.34. In fact, THF is more hydrophobic ($\log K_{ow} = 0.53$) than glycerol ($\log K_{ow} = -2.32$) (Chemical Spider, 2017). As shown by Yang et al. (2014) in ATPS based on acetonitrile and K_2HPO_4 in the recovery of atrazine herbicide in the milk on bottom phase (K_2HPO_4 -rich phase).

Especially about TLL, an intrinsic reduction of water content is measured when TLL is increased, making the phases more hydrophobic (with fewer hydroxyl groups available), thus, an adjusted balance of interactions between the atrazine and the phases of the system is reaching (Marrucho & Freire, 2016), which promoted the partitioning of atrazine to the top phase. The partition coefficients of atrazine increased from 2.84 ± 0.6 (TLL = 30.30) to 15.17 ± 0.3 wt% (TLL = 93.90) (Figure 2) for the glycerol + THF system (data in Table 1). Sousa et al. (2017) showed similar observations in the pesticide diuron partition (ATPS based THF + carbohydrates).

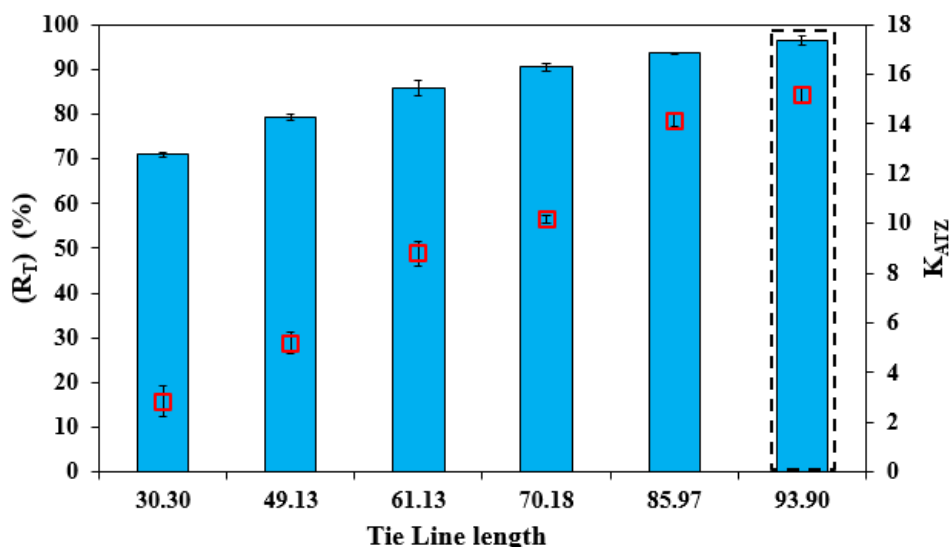


Figure 2 Tie Line length effect in the top recovery (blue bar) and atrazine partition coefficient ($\square$) in aqueous two-phases system based in tetrahydrofuran and glycerol, at 298 K and 0.10 MPa.

The best atrazine recovery values found were 96.47 ± 0.2 wt% (TLL = 93.90), was found to be always above 70.90 ± 0.4 wt%, as shown in Figure 7, these results showed that the recovery of atrazine was higher in the top phase for longer TLL. Thus, based in the recovery and atrazine partition coefficient in THF-rich phase, the chosen mixture point for the study concentration process was TLL = 93.90 (50% wt% of THF and 30% wt% of glycerol); $K_{ATZ} = 15.17 \pm 0.3$ and $R_T = 96.47 \pm 0.9\%$ wt%. The TLL values range from 30.30 to 93.90, which means that it is possible to optimize the process to be more economical and environmentally benign by decreasing the concentration of THF without losing the recovery on the top phase.

Atrazine concentration factor

The manipulation of the initial compositions along the same TL, and with a TLL value 93.90, lead to different volume ratios of the coexisting phases (THF-rich and glycerol-rich phases), while differing in the volume. Nevertheless, since the aim of this work is the concentration of an aqueous sample containing atrazine in surface water, it should be considered that the amount of the real sample added to the system will be the same amount of water required to create the

initial mixture point. Thus, in this situation, the concentration factor is the ratio between weight of water (solution atrazine) added to the system *per weight* of THF-rich phase, as describe by Marrucho & Freire (2016). In this context, was possible to obtain concentration factor of 250-fold, as seen in Figure 3. This result corroborates with by Passos et al. (2012), in which obtained a concentration factor of 100 of bisphenol using ATPS (mixture compositions: 2.5 wt% of IL + 45 wt% of K_3PO_4).

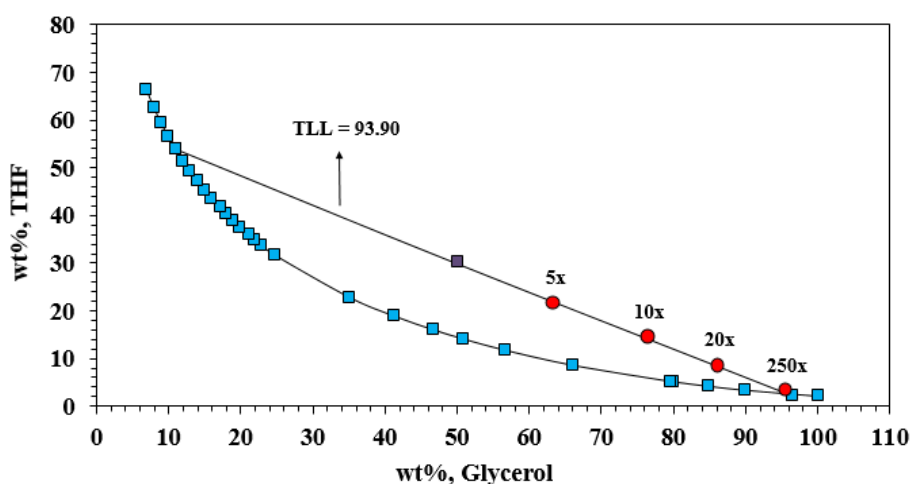


Figure 3 Concentration process the atrazine in the THF-rich phase, through the variation of the initial mixture composition along the same TL (60 wt% of THF + 38 wt% of glycerol), at 298 K and 0.10 MPa.

Concentration factor of 250 can be obtained in the TLL (93.90) of the ternary system (Figure 3). The mixture points required to create these conditions are 3.27 wt% of THF + 93.98 wt% of glycerol. Li et al. (2005), reported the pioneering application of IL-based ATPS as a pretreatment/extraction strategy in the analysis of opium alkaloids (codeine and papaverine). The ATPS investigated was composed of $[C_4mim]Cl$ and phosphate salt (K_2HPO_4).

In order to evaluate the applicability of the proposed method, standard solutions of atrazine (range concentrations of 5 - 0.05 $\mu g.L^{-1}$) were inserted into the ATPS at a concentration factor of 250-fold and the THF-rich phase were analyzed for its quantification on LC-TOF.

Therefore, the concentration of atrazine in surface water can increase at least up to 250-fold, in a single-step, without saturating the THF-rich phase. The reproducibility study was performed for three injections. The found atrazine detection limit was 50 ng.L⁻¹. Linear regression analyses were performed using the observed concentration in the chromatography versus the expected concentration, presenting a value of 1.0, indicating an excellent agreement between the observed and expected values (Figure 4).

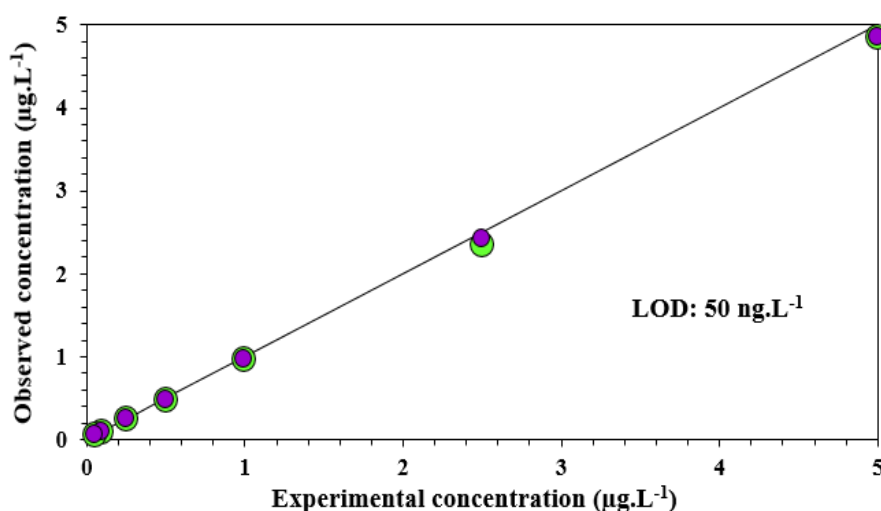


Figure 4 Plot of the observed concentration (represented by data points) versus concentrations expected atrazine (represented by line).

To validate the proposed method, standard atrazine solutions in water pure at concentrations ranged 0.05–5 µg.L⁻¹ were analyzed in LC–TOF (Supplementary Table S3).

The pre-concentration of atrazine from surface water is traditionally carried out by solid-phase extraction (SPE) techniques and involve, according to well-known protocols of SPE cartridges which are usually of US\$ 4.68 by concentrated sample (the price of the SPE (Discovery DSC-18, product 52603-U (Sigma-Aldrich®) - US\$ 4.24; acetonitrile UHPLC Plus ≥99.9% (Sigma-Aldrich®) – US\$ 0.44). The cost of the ATPS is 0.37 (THF – US\$ 0.02; glycerol - US\$ 0.35). The low of the ATPS is low is confirmed having a reduction in 92.09% on the total cost of the concentration process.

Atrazine analyses in water sample

Samples water from basin hydrographic of the *Japaratuba* River were analyzed in the LC-TOF, with no detectable signs of the herbicide atrazine (Figure 5a). The concentration process using ATPS with a concentration factor 250-fold was used to concentrate the surface water samples. Subsequently, the THF-rich top phase was subjected to LC-TOF analysis for the detection and quantification of atrazine (Figure 5b).

The atrazine presented significant signals in some months, obtaining the concentration range 95 - 2400 ng.L⁻¹ (Figure 6), the obtained values in the equipment were divided by 250-fold for initial concentration knowledge in the samples (Supplementary Table S4). This result agrees with the work de Vasco et al. (2011) where concentration 30 ng.L⁻¹ of atrazina was detected in samples of *São Francisco* River located in Sergipe-Brazil.

The concentration of atrazine present in the surface water presented values above the allowed, because was verified that nine of the twelve months analyzed were above the maximum permissible concentration in relation to the European Community, which is 100 ng.L⁻¹ for any pesticide in water. The value in October/2016 found were also higher, to the maximum limit established by the Brazilian legislation that is 2000 ng.L⁻¹ and within the American norm established the EPA, where it has a maximum concentration of 3000 ng.L⁻¹ (Figure 6). Simple detection of these contaminants causes a warning signal because in ecological terms it can cause environmental impact, affecting algae, fungi, plants and mammals. In humans, exposure to atrazine results in the formation of meta-hemoglobin in the blood as well as liver and spleen abnormalities (Wong & Sotomayor, 2014).

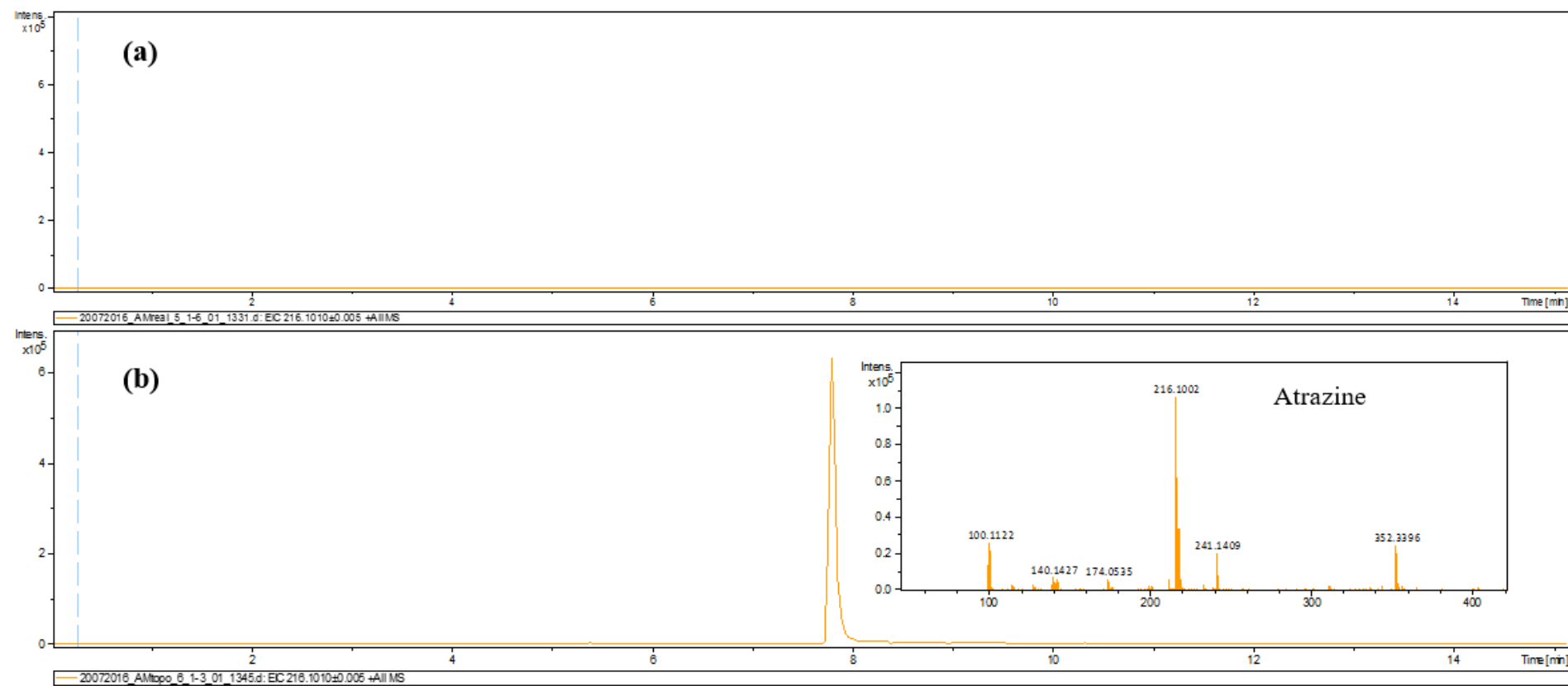


Figure 5 LC-TOF chromatograms of water samples from the hydrographic basin of the Japaratuba River in August/2016 without previous treatment (a) and after ATPS (THF + glycerol) concentration of atrazine (b).

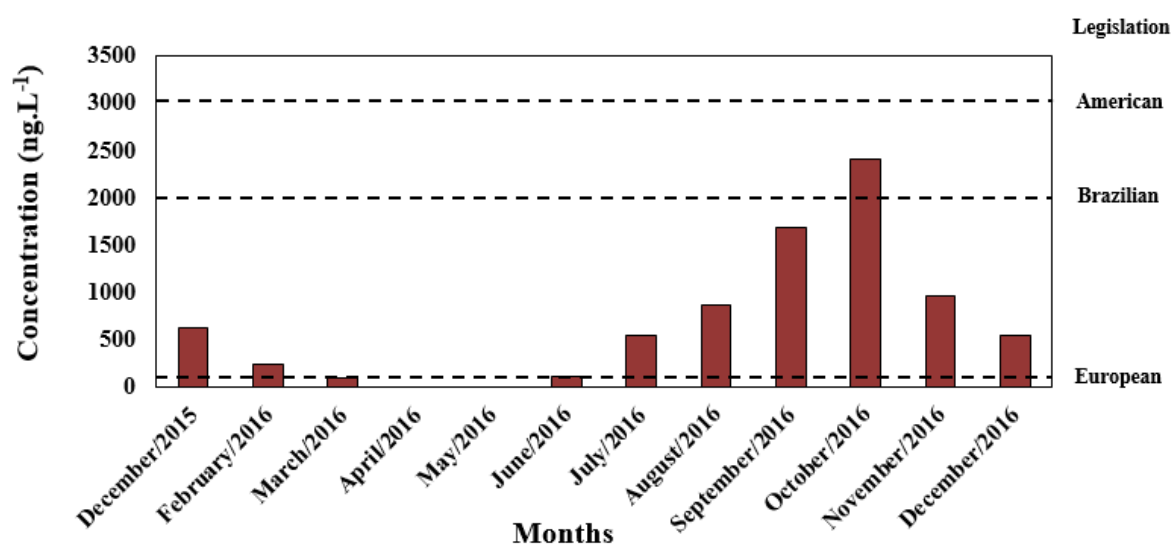


Figure 6 Monitoring the atrazine after 250-fold concentration in water samples expressed in ng.L⁻¹.

The collected surface water is used as captation water for human supply, this area coincides with an area of agricultural activity to produce sugarcane, where the herbicide atrazine is generally used to control weeds. It is possible to observe (Supplementary Table S4) that concentrations of atrazine are related to the sugar cane production period, in the months that it is not possible to detect the herbicide coincides with the off-season in the collection region of the sugarcane and the month with the highest concentration of atrazine (2400 ng.L⁻¹) coincides with the pre-harvest of the product.

The pluviometry index in the region where the water samples were collected, in months February, March, April and May were 47, 57, 58 and 77 mm, respectively, coinciding with the low concentrations of atrazine found in water during these months. However, the pluviometry index for the months of June, July and August was 272, 215 and 195 mm, respectively, which contributed to the leaching of atrazine in the soil. The herbicide concentration peak was in October, due to the large application of this pollutant because it is the pre-harvest of the

sugarcane as well as its leaching in the soil by the pluviometry index of the region in this period, which it contributed to increases in the concentration of atrazine.

CONCLUSION

ATPS based THF + glycerol was successfully applied here to partition atrazine. The recovery of atrazine in the phase THF-rich, where the percentage obtained reached 96.46 % and $K_{ATZ} = 15.17$ (ATPS composition of 50 wt% THF and 30 wt% glycerol, with TLL = 93.90), revealing the high affinity of atrazine for the more hydrophobic phase. Therefore, these types of system were tested to evaluate the concentration capacity of atrazine in ATPS. It was found that by tuning the mixture point composition for a minimum volume of the THF-rich phase, the concentration of atrazine in surface water can be increased by up to 250-fold in a single step, presenting a detection limit of 50 ng.L⁻¹. This concentration of atrazine allowed the detection and quantification of the compound in waters previously diagnosed as free of this compound, presenting values of 95–2400 ng.L⁻¹ for atrazine. In conclusion, small kits containing the optimized tetrahydrofuran and glycerol in fixed amounts, to which the surface water could be simply added, can be conceptualized as a new and commercial complement to analytical for the identification and quantification of atrazine is required.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful financial support from Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP e da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe – FAPITEC.

REFERENCES

Albertsson, P. A., Tjerneld, F. 1990 *Aqueous two-phase separations*. Separation Processes in Biotechnology. 287-327.

- Armas, E. D.; Monteiro, R. T. R.; Antunes, P. M.; Camargo, P. B. 2007 Diagnóstico Espaço-Temporal da Ocorrência de Herbicidas nas Águas Superficiais e Sedimentos do Rio Corumbataí e Principais Afluentes. *Química Nova*, **30**, 1119-1127.
- Banković-Ilić, I.B., Todorović, Z.B., Veljković, V.B. 2015 The effect of tetrahydrofuran on the base-catalyzed sunflower oil methanolysis in a continuous reciprocating plate reactor. *Fuel Processing Technology*, **137**, 339-350.
- Bernardi, G., Kemmerich, M., Ribeiro, L. C., Adaime, M. B., Zanella, R., Prestes, O.D. 2016 An effective method for pesticide residues determination in tobacco by GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS employing acetonitrile extraction with low-temperature precipitation and d-SPE clean-up. *Talanta*, **161**, 40-47.
- Bonanse, R. I., Amé, M. V., Wunderlin, D. A. 2013 Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC-MS. A case study: Suquia River basin (Argentina). *Chemosphere*, **90**, 1860-1869.
- Chemspider, the free chemical data-base, <http://chemspider.com/> (accessed 15 January 2017).
- Embrapa-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2014 Software AGROSCORE – Apoio à Avaliação de Tendências de Transporte de Princípios Ativos de Agrotóxicos. ISBN: 1516-4675.
- European Commission, 2011 Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/pdf/4th_report/MS%20annex%20-%20Spain.pdf (accessed 30 January 2017).
- Gunduz, U., Korkmaz, K. 2000 Bovine serum albumin partitioning in an aqueous two-phase system: Effect of pH and sodium chloride concentration. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **743**, 255-258.

- Hurtado-Sánchez, M. C., Romero-González, R., Rodríguez-Cáceres, M. I., Durán-Merás, I., Garrido-Frenich, A. 2013 Rapid and sensitive on-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography–electrospray-tandem mass spectrometry analysis of pesticides in surface waters. *Journal of Chromatography A*, **1305**, 193-202.
- Li, S. H., He, C. Y., Liu, H. W., Li K., Liu F. 2005 Ionic liquid-based aqueous two-phase system, a sample pretreatment procedure prior to high-performance liquid chromatography of opium alkaloids. *Journal Chromatography B*, **826**, 58–62.
- Liu, N., Charrua, A. B., Weng, C. H., Yuan, X., Ding, F. 2015 Characterization of biochars derived from agriculture wastes and their adsorptive removal of atrazine from aqueous solution: A comparative study. *Bioresource Technology*, **198**, 55-62.
- Madeira, P. P., Reis, C.A., Rodrigues, A. E., Mikheeva, L. M., Chait. A., Zaslavsky, B. Y. 2011 Solvent properties governing protein partitioning in polymer/polymer aqueous two-phase systems. *Journal of Chromatography A*, **1218**, 1379-1384.
- Marrucho, I. M., Freire, M. G. 2016 Aqueous biphasic system based on ionic liquid for extraction, concentration and purification approaches, 91-119.
- Mehta, R., Brahmabhatt, H., Saha, N. K., Bhattacharya, A. 2015 Removal of substituted phenyl urea pesticides by reverse osmosis membranes: Laboratory scale study for field water application. *Desalination*, **358**, 69-75.
- Merchuk, J. C., Andrews, B. A., Asenjo, J. A. 1998 Aqueous two-phase systems for protein separation studies on phase inversion. *Journal of Chromatography B*, **54**, 285-293.
- Passos, H., Sousa, A. C. A., Pastorinho, M. R., Nogueira, A. J. A., Rebelo, L. P. N., Coutinho, J. A. P., Freire, M. G. 2012 Ionic-liquid-based aqueous biphasic system for improved detection of bisphenol A in human fluids. *Analytical. Methods*, **4**, 2664-2667.
- Sousa, K. M., Merlo, L. H. Z., Marques, M. N., Cavalcanti, E. B., Souza, R. L., Soares, C. M. F., Lima, A. S. 2016 Partitioning of diuron in a novel aqueous two-phase system based

- on polyols and tetrahydrofuran. *Fluid Phase Equilibria*, **429**, 325-330.
- Sousa, K. M., Maciel, G. E. L. O., Buarque, F. S., Santos, A. J., Marques, M. N., Cavalcanti, E. B., Souza, R. L., Soares, C. M. F., Lima, A. S. 2017 Novel phase diagrams of aqueous two-phase systems based on tetrahydrofuran + carbohydrates + water: Equilibrium data and partitioning experiments. *Fluid Phase Equilibria*, **433**, 1-9.
- Souza, R. L., Lima R. A., Coutinho, J. A. P., Soares, C. M. F., Lima, A. S. 2015 Novel aqueous two-phase systems based on tetrahydrofuran and potassium phosphate buffer for purification of lipase. *Process Biochemistry*, **50**, 1459-1467.
- U.S. EPA, Drinking Water Contaminant Candidate List 2. 2005
<http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List> (accessed 30 January 2017).
- Vasco, A. N., Britto, F. B., Pereira, A. P. S., Mélo. A. V., Garcia, C. A. B., Nogueira, L. C. 2011 Indicadores Ambientais da Qualidade da Água em Áreas Irrigadas no Baixo São Francisco. *Revista Ambiente e Água*, **6**, 118-130.
- Ventura, S. P. M., Souza, S. G., Serafin, L. S., Lima, A. S., Freire, M. G., Coutinho, J. A. P. 2011 Ionic liquid based aqueous biphasic systems with controlled ph: the ionic liquid cation effect. *Journal of Chemical Engineering*, **56**, 4253–4260.
- Wong, A., Sotomayor, M. P. T. 2014 Determination of carbofuran and diuron in FIA system using electrochemical sensor modified with organometallic complexes and graphene oxide. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **731**, 163-171.
- Yang, X, Yu, R., Zhang, S., Cao, B., Liu, Z., Lei, L., Li, N., Wang, Z., Zhang, L., Zhang, H., Chen, Y. 2014 Aqueous two-phase extraction for determination of triazine herbicides in milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, **972**, 111-116

SUPPLEMENTARY DATA

Aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and glycerol: an improve of atrazine detection water sample

Filipe Smith Buarque^a. Cleide Mara Faria Soares^{a,b}, Maria Nogueira Marques^{a,b}, Rita de Cássia Mendonça de Miranda^c, Eliane Bezerra Cavalcanti^{a,b}, Ranyere Lucena de Souza^{a,b},
Álvaro Silva Lima^{a,b,*}

^aUniversidade Tiradentes. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^bInstituto de Tecnologia e Pesquisa. Av. Murilo Dantas, 300. CEP: 49032-490, Aracaju – SE, Brazil

^cUniversidade Ceuma. Rua Josué Montello, 1. CEP: 65075-120, São Luís – MA, Brazil

*To whom correspondence should be addressed: e-mail: alvaro_lima@unit.br. Phone: +55 7932182115. Fax: +55 7932182190.

Table S1 Weight fraction composition for TLs and their respective TLLs of the ATPS formed by glycerol (Y) and tetrahydrofuran (X) at the top phase (T) (tetrahydrofuran rich phase) and bottom phase (B) (glycerol rich phase), initial of the mixture composition (M) at 298 K and 0.10 MPa.

	Weight fraction composition (wt%)						
	[GLY] _M	[THF] _M	[GLY] _T	[THF] _T	[GLY] _B	[THF] _B	TLL
Glycerol	16.99	49.99	5.19	77.33	27.59	29.17	30.30
	19.99	44.99	4.93	82.49	35.11	21.92	49.13
	24.99	50.01	3.86	89.03	44.02	15.95	70.18
	29.99	49.98	2.18	96.60	53.94	11.09	93.90

Table S2 Critical point of system composed THF + glycerol + water, at 298 K and 0.10 MPa.

			R ²	Critical point		
				[GLY]	[THF]	[water]
Glycerol	-8.29	0.61	0.985	63.91	9.08	27.01

Table S3 Validation parameters of the proposed method.

Pesticide	RT (minutes)	R ²	Linear range (µg.L ⁻¹)	LOD (ng.L ⁻¹)
Atrazina	7.9	0,999	0.05 – 5	50

Table S4 Concentration of atrazine in surface water samples expressed as ng.L⁻¹

Month	Atrazine
December/2015	600
February/2016	230
March/2016	95
April/2016	-
May/2016	-
June/2016	100
July/2016	540
August/2016	870
September/2016	1680
October/2016	2400
November/2016	955
December/2016	570

- : no detected

Capítulo 7

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visando superar uma das principais limitações na análise e monitoramento de água de superfície, uma metodologia nova é aqui proposta para concentração dos herbicidas diuron e atrazina pela aplicação SAB com base em THF.

Os herbicidas migraram preferencialmente para a fase rica em tetrahydrofurano (fase de topo) em todos os SAB (tetrahydrofurano/frutose, tetrahydrofurano/glicerol) estudados.

A recuperação do diuron foi otimizada de 60,05 para 97,26 %, já a recuperação da atrazina foi otimizada de 70,90 para 96,46 %. Além disso, o fator de concentração do diuron atingiu 200 vezes e a atrazina atingiu 250 vezes. Essa concentração permitiu a identificação e quantificação dos herbicidas em amostras reais de água coletada na bacia hidrográfica do rio Japarutuba previamente diagnosticada como isenta deste composto, com valores de diuron entre 150-1900 ng.L⁻¹ e de 95-2400 ng.L⁻¹ para atrazina em águas superficiais.

Diante do exposto, pequenos kits contendo o THF + frutose comercial (para diuron) e THF + glicerol (para atrazina) otimizados em quantidades fixas, aos quais a água superficial poderia ser simplesmente adicionada, este método pode ser conceituado como um novo e complemento comercial para a identificação e quantificação de herbicidas.

Capítulo 8

8. TRABALHOS PUBLICADOS

1. **Buarque, F. S.;** Soares, C. M. F.; Marques, M. N.; Cavalcanti, E. B.; Souza, R. L.; Lima, A. S. Aplicação de sistemas aquosos bifásicos baseados em tetrahidrofurano e frutose no particionamento e concentração do herbicida diuron. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza.

2. **Buarque, F. S.;** Sousa, K. M.; Soares, C. M. F.; Marques, M. N.; Cavalcanti, E. B.; Miranda, R. C. M.; Souza, R. L.; Lima, A. S. Processo para concentração de agrotóxicos utilizando sistemas aquosos bifásicos baseados em solvente orgânico e carboidratos e produto obtido. Número do registro: BR1020160310490.

Capítulo 9

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ALBERTSSON, P. A. Partition of cell and macrocolecules. Ed. Jonh Wiley, p. 346. New York, 1986.
- AMARAL, B.; DE ARAUJO, J. A. PERALTA-ZAMORA, P. G.; NAGATA, N.; Simultaneous determination of atrazine and metabolites (DIA and DEA) in natural water by multivariate electronic spectroscopy. *Microchemical Journal*, v. 117, p. 262-267, 2014.
- ARAÚJO, I. M. N.; OLIVEIRA, A. G. R. C. Agronegócio e agrotóxicos: impactos à saúde dos trabalhadores agrícolas no nordeste brasileiro. *Química Nova*, 2015.
- ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; ANTUNES, P. M.; CAMARGO, P. B. Diagnóstico Espaço-Temporal da Ocorrência de Herbicidas nas Águas Superficiais e Sedimentos do Rio Corumbataí e Principais Afluentes. *Química Nova*. v. 30, p. 1119-1127, 2007.
- BANKOVIĆ-ILIĆ, I. B.; TODOROVIĆ, Z. B.; VELJKOVIĆ, V. B. The effect of tetrahydrofuran on the base-catalyzed sunflower oil methanolysis in a continuous reciprocating plate reactor. *Fuel Processing Technology*, v. 137, p. 339-350, 2015.
- BARCANSKA, H.; RUSEK, M.; SZATKOWSKA, A. New procedures for simultaneous determination of mesotrione and atrazine in water and soil. Comparison of the degradation processes of mesotrione and atrazine. *Environmental Monitoring Assess*, v. 184, p. 321-334, 2012.
- BEATRIZ, A.; ARAUJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: Um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. *Química Nova*. v. 34, p. 306-319, 2011.
- BELLIDO, M. R.; MADRID, F.; MORILLO, E.; VILLAYERDE, J. Assisted attenuation of a soil contaminated by diuron using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and organic amendments. *Science of the Total Environment*. v. 502, p. 699-705, 2015.
- BERNADES, A. A.; BULHOSA, M. C. S.; GONÇALVES, F. F.; D'OCA, M.; WOLKE, S. I. Materiais sio₂-tio₂ para a degradação fotocatalítica de diuron. *Química Nova*. v. 34. p. 1343-1348, 2011.
- BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A. A química dos agrotóxicos. *Química Nova*, v. 34, p. 10-15, 2012.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 518 de 25 de março de 2004. Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. 2004. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/portaria_518_2004.pdf>. Acesso em: 08 março. 2016.
- BRITO, N.M, AMARANTE JR, O. P., ABAKERLI, R., SANTOS, T.C.R., RIBEIRO, M.L. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 11, p. 93-104, 2001.
- BRITTO, F. B.; VASCO, A. N.; PEREIRA, A. P. S.; MÉLIO JR, A. V. NOGUEIRA, L. C. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, p. 390-398, 2012.
- CABRERA, L. C.; CALDAS, S. S.; RODRIGUES, S.; BIANCHINI, A.; DUARTE, F. A.; PRIMEL, E. G. Degradation of herbicide diuron in water employing the Fe/H₂O₂ system. *Journal Brazilian Chemistry*, v. 21, p. 2347-2352, 2010.
- CAMILO, B. K.; Bioreactor reduces atrazine and nitrate in tile drain Waters. *Ecological Engineering*, v. 86, p. 269-278, 2016.
- CASTANÓN-GONZÁLEZ, J. H.; GALÍNDEZ-MAYER, J.; RUIZ-ORDAZ, N.; ROCHA-MARTÍNEZ, L.; PEÑA-PARTIDA, J. C.; MARRÓN-MONTIEL, E.; SANTOYO-TEPOLE, F. Biodegradation of the herbicide Diuron in a packed bed channel and a double biobarrier with distribution of oxygenated liquid by airlift devices: influence of oxygen limitation. *New Biotechnology*. v. 33, p. 7-15, 2016.
- CARDOSO, G.B., MOURÃO, T., PEREIRA, F.M., FREIRE, M.G., FRICKS, A.T., SOARES, C.M.F., LIMA, A.S. Aqueous two-phase systems based on acetonitrile and carbohydrates and their application to the extraction of vanillin. *Separation and Purification Technology*, v. 104, p. 106–113, 2013.
- CARDOSO, G.B., SOUZA, I.N., MOURÃO, T., FREIRE, M.G., SOARES, C.M.F., LIMA, A.S., Novel aqueous two-phase systems composed of acetonitrile and polyols: phase diagrams and extractive performance. *Separation and Purification Technology*, v. 124, p. 54–60, 2014.

- CHAIWUT, P.; PINTATHONG, P.; RAWDKUEN, S. Extraction and three-phase partitioning behavior of proteases from papaya peels. *Process Biochemistry*. v. 45, p. 1172-1175, 2010.
- CHEMICAL SPIDER – Disponível em: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5764.html?rid=44134020-9423-48f1-9e8c-1a543bf329e5&page_num=0> Acesso em: 12 janeiro 2017.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA, R.; SILVA, C. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. *Química Nova*, v. 12, 1994.
- COHEN, S. Z.; WAUCHOPE, R. D.; KLEIN, A. W.; EADSPORTH, C. V. GRANCY, R. Offsite transport of pesticides in water – mathematical models of pesticide leaching and runoff. *Pure and Applied Chemistry*, v. 67, p. 2109-2148, 1995.
- COLYER, C. J.; VIZCAINO, V. SULLIVAN, J. P.; BUCKMAN, S. J. Absolute elastic cross-sections for low-energy electron scattering from tetrahydrofuran. *New Journal of Physics*, v. 9, p. 41, 2007.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil 2015/2016.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, nº 393 de 3 de abril de 2008. http://mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_2008_396.pdf. (Acesso em: 30.01.2017).
- COSTA, S. A.; PESSOA JR., A.; ROBERTO, I. C. Xylanase Recovery. Effect of extraction conditions on the aqueous two-phase system using experimental desing. *Applied Biochemistry and Biotechnomlogy*, v. 629, p. 70-72, 1998.
- CIOU, J. L.; SU, C. S. Measurement of solid solubilities of diuron in supercritical carbon dioxide and analysis of recrystallization by using the rapid expansion of supercritical solutions process. *The Journal of Supercritical Fluids*. v. 107, p. 753-759, 2016.
- DAGES, C.; SAMOUELIAN, A.; NEGRO, S.; STORCH, V.; HUTTEL, O.; VOLTZ, M. Seepage patterns of diuron in a ditch bed during a sequence of flood events. *Science of the Total Environment*, v. 537, p. 120-128, 2015.
- DALTON, R. L., PICK, F. R.; BOUTIN, C.; SALEEM, A. Atrazine contamination at the watershed scale and environmental factors affecting sampling rates of the polar organic

- chemical integrative sampler (POCIS). *Environmental Pollution*, v. 189, p. 134-142, 2014.
- DANTAS, A. D. B.; PASCHOALATO, C. F.; MARTINEZ, M. S.; BALLEJO, R. R.; DI BERNARDO, L. Removal of diuron and hexazinone from Guarany aquifer groundwater. *Braz. Journal Chemical Engineering*, v. 28, p. 415-424, 2011.
- DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v.18, p. 1296–1301, 2014.
- DINIS, T. B. V.; PASSOS, H.; LIMA, D. L. D.; ESTEVES, V. I.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. One-step extraction and concentration of estrogens for an adequate monitoring of wastewaters using ionic-liquid-based aqueous biphasic system. *Green Chemistry*, v. 17, p. 2570-2579, 2015.
- DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso - análise preliminar. *Química nova*, v.24, p. 27-36, 2001.
- DUARTE, J. S.; DORES, E. F. G. C.; VILLA, R. D. Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por vortex e ultrassom aplicada à determinação de agrotóxicos triazinas, triazinonas e o triazol flutriafol em água. *Química Nova*, v. 39, p. 925-931, 2016.
- EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa Produção da Informação; Rio de Janeiro: *Embrapa Solos*, 2014.
- COMUNIDADE EUROPEIA, 2011. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. http://ec.europa.eu/environment/water/waterframework/pdf/4th_report/MS%20annex%20-%20Spain.pdf (Acesso em: 30.01.2017).
- FRANCISCO JUNIOR, W.E. Carboidratos: Estrutura, Propriedades e Funções. *Química Nova*, v. 29, p. 8-13, 2008.
- FREIRE, M. G.; LOUROS, C.L.S.; REBELO, L.P.N.; COUTINHO J. A. P. Aqueous biphasic system composed of a water-stable ionic liquid + carbohydrates and their applications. *Green Chemistry*, v. 13, p. 1536-1545, 2011.

- FREIRE, M. G.; CLÁUDIO, A. F. M.; ARAÚJO, J. M. M.; COUTINHO, J. A. P.; MARRUCHO, I. M.; LOPES, J. N. C.; REBELO, L. P. N. Aqueous biphasic system: a boost brought about by using ionic liquids. *Chemical Society Reviews*, v. 41, p. 4966-4995, 2012.
- GATIDOU, G.; KOTRIKLA, A.; THOMAIDIS, N. S.; LEKKAS, T. D. Determination of the antifouling booster biocides Irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography-diode array detector. *Analytica Chimica Acta*, v. 528, p. 89-99, 2005.
- GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere*, v. 56, p. 1021-1032, 2004.
- GLYK, A.; SCHEPER, T.; BEUTEL, S. Influence of Different Phase-Forming Parameters on the Phase Diagram of Several PEG-Salt Aqueous Two-Phase Systems. *Journal of Chemical & Engineering Data*, v. 59, p. 850-859, 2014.
- GOODDY, D.C.; CHILTON, P.J.; HARRISON, I. A field study to assess the degradation and transport of diuron and its metabolites in a calcareous soil. *Science of total environment*, v. 297, n.3, p. 67-83, 2002.
- GOLGE, O.; KABAK, B. Determination of 115 pesticide residues in oranges by high-performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry in combination with QuEChERS method. *Journal of Food Composition and Analytical*, v. 41, p. 86-97, 2015.
- GU, T.; ZHANG, L. Partition coefficients of some antibiotics, peptides and amino acids in liquid-liquid partitioning of the acetonitrile-water system at subzero temperatures. *Chemical Engineering Communications*, v. 194, p. 828-834, 2007.
- GUI, W.; TIAN, C.; SUN, Q.; LI, S.; ZHANG, W.; TANG, J.; ZHU, G. Simultaneous Determination of Organotin Pesticides by HPLC-ICP-MS and Their Sorption, Desorption, and Transformation in Freshwater Sediments. *Water Research*, v. 95, p. 185-194, 2016.
- GUNDUZ, U.; KORKMAZ, K. Bovine serum albumin partitioning in an aqueous two-phase system: Effect of pH and sodium chloride concentration. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, v. 743, p. 255-258, 2000.

- GUPTA, V. K.; YOLA, M. L.; EREN, T.; ATAR, N. Selective QCM sensor based on atrazine imprinted polymer: Its application to wastewater sample. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 218, p. 215-221, 2015.
- GUTOWSKI, K. E.; BROKER, G. A.; WILLAUER, H. D.; HUDDLESTON, J. G.; SWATLOSKI, R. P.; HOLBREY, J. D.; ROGERS, R. D. Controlling the aqueous miscibility of ionic liquids: Aqueous biphasic systems of water-miscible ionic liquids and water-structuring salts for recycle, metathesis, and separations. *Journal American Chemical Society*, v. 125, p. 6632-6633, 2003.
- GRÉGOIRE, C., MAILLARD, E., PAYRAUDEAU, S., FAIVRE, E., GANGLOFF, S., IMFELD, G. Removal of pesticide mixtures in a stormwater wetland collecting runoff from a vineyard catchment. *Science of The Total Environment*, v. 409, p. 2317-2324, 2011.
- GRÜTZMACHER, D.D., GRÜTZMACHER, A.D., AGOSTINETTO, D., LOECK, A.E., ROMAN, R., PEIXOTO, S.C., ZANELLA, R. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 12, p. 632-637, 2008.
- HAN, Y. J.; SU, W. C.; LAI, J. Y.; LIU, Y. L. Hydrophilically surface-modified and crosslinked polybenzimidazole membranes for pervaporation dehydration on tetrahydrofuran aqueous solutions. *Journal of Membrane Science*, v. 475, p. 496-506, 2015.
- HELLWIG, J.; GEMBARDT, C.; JASTI, S. Tetrahydrofuran: two-generation reproduction toxicity in Wistar rats by continuous administration in the drinking water. *Food and Chemical Toxicology*, v. 40, p. 1515-1523, 2002.
- HIRAYAMA, N.; HIGO, T.; IMURA, H. Salting-out phase separation system of water-tetrahydrofuran with co-using 1-butyl-3-methylimidazolium chloride and sodium chloride for possible extraction separation of chloro-complexes. *Solvent extraction research and development*, v. 21, p. 71-76, 2014.
- HOLMIERE, S.; VALENTIN, R.; MARECHAL, P.; MOULOUGUI, Z. Esters of oligo (glycerol carbonate-glycerol): New biobased oligomeric surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2017.
- HONG, U. G.; KIM, J. K.; LEE, J.; SONG, I. K. Hydrogenation of succinic acid to tetrahydrofuran over ruthenium-carbon composite catalyst: Effect of HCL concentration

- in preparation of the catalysts. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20, p. 3834-3840, 2014.
- HOU, X.; HUANG, X.; AI, Z.; ZHAO, J.; ZHANG, L.; Ascorbic acid induced atrazine degradation. *Journal of Hazardous Materials*, v. 327, p. 71-78, 2017.
- HUOVINEN, M.; LOIKKANEN, J.; NAARALA, J.; VAHAKANGAS, K. Toxicity of diuron in human cancer cells. *Toxicology in Vitro*. v. 29, p. 1577-1586, 2015.
- INOUE, M.H.; OLIVEIRA JR. R.S.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA, M. F. Persistencia da atividade biológica de imazaquin e imazethapyr aplicados em duas épocas do ano. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 20, p. 993-997, 2000.
- KARAMODDIN, M.; VARAMINIAN, F. Performance of hydrate inhibitors in tetrahydrofuran hydrate formation by using measurement of electrical conductivity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20, p. 3815-3820, 2014.
- KUKLENYIK, Z.; PANUWET, P.; JAYATILAKA, N. K.; PIRKLE, J. L.; CALAFAT, A. M. Two-dimensional high performance liquid chromatography separation and tandem mass spectrometry detection of atrazine and its metabolic, and hydrolysis products in urine. *Journal of Chromatography B*, v. 901, p. 1-8, 2012.
- LAABS, V.; AMELING, W.; PINTO, A. A.; WARTZEN, M.; SILVA, C. J.; ZECH, W. Pesticides insurface water, sediment, rainfall of the northeastern Pantanal Basin, Brazil. *Journal of Environmental Quality*, v.31, p.1636-1648, 2002.
- LIU, N.; CHARRUA, A. B.; WENG, C. H.; YUAN, X.; DING, F. Characterization of biochars derived from agriculture wastes and their adsorptive removal of atrazine from aqueous solution: A comparative study. *Bioresource Technology*, v. 198, p. 55-62, 2015.
- LOOS, R.; TAVAZZI, S.; PARACCHINI, B.; CANUTI, E.; WEISSTEINER, C. Analysis of polar organic contaminants in surface water of the northern Adriatic Sea by solid-phase extraction followed by ultra high pressure liquid chromatography using a hybrid tripe-quadrupole linear ion trap instrument. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 405, p. 5875-5885, 2013.
- LUCCI, P.; NÚÑEZ, O. On-line solid-phase extraction for liquid chromatography–mass spectrometry analysis of Pesticides. *Journal of Separation. Science*. 37, p. 2929-2939, 2014.

- MALPIEDI, L.P., ROMANINI, D., PICÓ, G.A., NERLI, B.B., Purification of trypsinogen from bovine pancreas by combining aqueous two-phase partitioning and precipitation with charged flexible chain polymers. *Separation. Purification. Technology*, v. 65, p. 40–45, 2009.
- MAGESTE, A. B.; LEMOS, L. R.; SILVA, M. C. H.; FERREIRA, G. M. D.; SILVA, L. H. M.; BONOMO, R. C. F.; MINIM, L. A. Aqueous two-phase systems: An efficient, environmentally safe and economically viable method for purification of natural dye carmine. *Journal Chromatography A*, v. 1216, p. 7623-7629, 2009.
- MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; PIEROZZI, M.; OLIVEIRA, T. M. A.; VIEIRA, E. M.; ROCHA, O.; REGALI-SELEGHIM, M. H. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *paramecium caudatum*: the use of protozoan in ecotoxicology. *Environmental Pollution*, v. 213, p. 160-172, 2016.
- MERCHUK, J. C., ANDREWS, B. A., ASENJO, J. A. Aqueous two-phase systems for protein separation studies on phase inversion. *Journal of Chromatography B*, v. 711, p. 285- 293, 1998.
- MEHTA, R.; BRAHMBHATT, H.; SAHA, N. K.; BHATTACHARYA, A. Removal of substituted phenyl urea pesticides by reverse osmosis membranes: Laboratory scale study for field water application. *Desalination*, v. 358, p. 69-75, 2015.
- MEHTA, R.; SAHA, N. K.; BHATTACHARYA, A. Pretreatment of agriculture field water for improving membrane flux during pesticide removal. *Applied Water Science*, 1, p. 1-10, 2016.
- MEIRA, J. C. R.; CAMPOS, A. B. de; PEREIRA, L. C. Vulnerabilidade natural e perigo à contaminação de zona de recarga do Aquífero Guarani. *Águas Subterrâneas*, v. 28, p. 31-46, 2014.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011.http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html. Acesso em: 03 de dezembro de 2015.
- MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 268, p. 157-177, 2013.

- MUNZ, N. A.; BURDON, F. J.; ZWART, D.; JUNGHAANS, M.; MELO, L.; REYES, M.; SCHONENBERGER, U.; SINGER, H. P.; SPYCHER, B.; HOLLENDER, J.; STAMM, C. Pesticides drive risk of micropollutants in wastewater-impacted streams during low flow conditions. *Water Research*, 2016. DOI: 10.1016/j.watres.2016.11.001.
- OOI, C. W.; TEY, B. T.; HII, S. L.; KAMAL, S. M. M.; LAN, J. C. W.; ARIFF, A.; LING, T. C. Purification of lipase derived from *Burkholderia pseudomallei* with alcohol/salt-based aqueous two-phase systems. *Process Biochemistry*. v. 44, p. 1083-1087, 2009.
- PASSOS, H.; SOUSA, A. C. A.; PASTORINHO, M. R.; NOGUEIRA, A. J. A.; REBELO, L. P. N.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. Ionic-liquid-based aqueous biphasic system for improved detection of bisphenol A in human fluids. *Anal. Methods*, v. 4, p. 2664-2667, 2012.
- PATUSSI, C.; BÜNDCHEN, M. Avaliação in situ da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de *Tradescantia* clone 4430. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 4, p. 1173-1178, 2013.
- PEI, Y., LI, Z., LIU, L., WANG, J. Partitioning behavior of amino acids in aqueous two- phase systems formed by imidazolium ionic liquid and dipotassium hydrogen phosphate. *Journal of Chromatography A*, v.1231, p. 2-7, 2012.
- PELAEZ, V.; SILVA, L. R.; ARAÚJO, E. B. Regulation of pesticides: A comparative analysis. *Science and Public Policy*, p. 1-13, 2013.
- PESSOA, M.C.P.Y.; FERRACINI, V. L.; CHAIM, A.; SCRAMIN, S. Software AGROSCORE - Apoio à avaliação de tendências de transporte de princípios ativos de agrotóxicos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004
- PESSOA JUNIOR, A.; KILIKIAN, B. V. Purificação de produtos biotecnológicos. *Revista Brasileira de Ciencias Farmacêuticas*, v. 41, p. 440, 2005.
- PEREIRA, J.F.B.; LIMA, A.S.; FREIRE, M.G.; COUTINHO, J.A.P. Ionic liquids as adjuvants for the tailored extraction of biomolecules in aqueous biphasic systems. *Green Chemistry*, v. 12, p. 1661-1669, 2010.
- PLANAS, J.; LEFEBVRE, D.; TJERNELD, F.; HAHN-HÄGERDAL, B. Analysis of phase composition in aqueous two-phase systems using a two-column chromatographic method: Application to lactic acid production by extractive fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 54, p. 303-311, 1997.

- PRINZ, A.; HÖNIG, J.; SCHÜTTMANN, I.; ZORN, H.; ZEINER, T. Separation and purification of laccases from two different fungi using aqueous two-phase extraction. *Process Biochemistry*, v. 49, p. 335-346, 2014.
- PURKAYASTHA, D. D.; MADHURIMA, V. Interactions in water–THF binary mixture by contact angle, FTIR and dielectric studies. *Journal of Molecular Liquids*, v. 187, p. 54-57, 2013.
- QU, M.; LI, H.; LI, N.; LIU, G.; ZHAO, J.; HUA, Y.; ZHU, D. Distribution of atrazine and its phytoremediation by submerged macrophytes in lake sediments. *Chemosphere*, v. 1, p. 1-8, 2016.
- RAVENZWAAY, B. V.; KAUFMANN, L. W. Effect of cytochrome P-450 inhibition on tetrahydrofuran-induced hepatocellular proliferation in female mice. *Organ toxicity and mechanisms*, v. 77, p. 459-464, 2003.
- REIS, I. A. O.; SANTOS, S. B.; SANTOS, L. A.; OLIVEIRA, N.; FREIRE, M.G.; PEREIRA, J. F. B.; VENTURA, S. P. M.; COUTINHO, J. A. P.; SOARES, C. M. F.; LIMA, A. S. Increased significance of food wastes: Selective recovery of added-value compounds. *Food Chemistry*, v. 135, p. 2453-2461, 2012.
- RIVEROS, A. C. G. Análise de Pesticidas por Espectrometria de Massas Acoplada a Cromatografia Gasosa (CG - EM). *Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer*, v. 8, p. 2008-2018, 2012.
- ROCCO, J. A. F. F.; LIMA, J. E. S.; LOURENÇO, V. L.; BATISTA, N. L.; BOTELHO, E. C. Dynamic mechanical properties for polyurethane elastomers applied in elastomeric mortars. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 126, p. 1461-1467, 2012.
- ROCHA, P. R. R. Half-life of diuron in soils with different physical and chemical attributes, *Química Nova*, v. 43, p.1961-1966, 2013.
- RODRIGUES, A.; WOJTUSIK, M.; MASCA, F.; SANTOS, V. E. Kinetic modeling of 1,3-propanediol production from raw glycerol by *Shimwellia blattae*: Influence of the initial substrate concentration. *Biochemical Engineering Journal*. v. 117, p. 57-65, 2017.
- ROUSTAN, A.; AYE, M.; DE MEO, M.; DI GIORGIO, C. Genotoxicity of mixtures of glyphosate and atrazine and their environmental transformation products before and after photoactivation. *Chemosphere*, v. 108, p. 93-100, 2014.
- RYDEN, J.; ALBERTSSON, P. A. Interfacial tension of dextran-polyethylene glycol-water two-phase systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 37, p. 219-222, 1971.

- SÁ, L. C.; FERNANDES, V. C.; CALHAU, C.; DOMINGUES, V. F.; MATOS, C. D. Determination of organochlorine pesticides in agricultural soils applying quechers, C-ECD and CG-MC/MS. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 35, p. 329-336, 2012.
- SALEH, A.; FUMANI, N. S.; MOLAEI, S. Microfunel-supported liquid-phase microextraction: Application to extraction and determination of Iragol 1051 and diuron in the Persian Gulf seawater samples. *Journal of Chromatography A*. v. 1356, p. 32-37, 2014.
- SANCHES, M. C. H.; GONZALES, R. R.; CACERES, M. I. R.; MERAS, I. D.; FRENICH, A. G. Rapid and sensitive on-line solid phase extraction ultra high performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis of pesticides in surface waters. *Journal of Chromatography A*, v. 1305, p. 193-202, 2013
- SANTOS, E. A.; CRUZ, C.; CARRASCHI, S. P.; SILVA, J. R. M.; BOTELHO, R. G.; VELINI, E. D.; PITELLI, R. A. Atrazine levels in the Jaboticabal water stream (São Paulo State, Brazil) and its toxicological effects on the pacu fish *Piaractus mesopotamicus*. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. v. 66, p. 73-82, 2015.
- SARUBBO, L. A.; OLIVEIRA, L. A.; PORTO, A. L. F.; DUARTE, H. S.; CARNEIRO-LEÃO, A. M. A.; LIMA-FILHO, J. L.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; TAMBOURG, E. B. New aqueous two-phase system based on cashew-nut tree gum and poly (ethylene glycol). *Journal of Chromatography B*. v. 743, p.79-84, 2000.
- SAVOY, Vera Lúcia Tedeschi. Classificação dos Agrotóxicos. Instituto Biológico, São Paulo, v. 78, n. 1, p.91-92, jun. 2011. Disponível em: Acesso em: 22 abril 2016.
- SHAMSIPUR, M.; FATTAHI, N.; PIRSAHEB, M.; SHARAFI, K. Simultaneous preconcentration and determination of 2,4-D, alachlor and atrazine in aqueous samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography ultraviolet detection. *Journal Separation Science*, v. 1, p. 1-7, 2012.
- SAPOZHNIKOVA, Y. Evaluation of Low-Pressure Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Analysis of >140 Pesticides in Fish. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v. 62, p. 3684-3689, 2014.
- SILVA, D. R. O.; AVILA, L. A.; AGOSTINETTO, D.; BUNT, A. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacente a lavouras de arroz irrigado. *Química Nova*, v. 34, p. 748-752, 2011.

- SILVA, J. N.; ANTUNES, P. A.; FAVARETO, A. P. A. O consumo crescente de agrotóxicos e suas implicações na saúde reprodutiva. *Fórum Ambiental*, v. 10, 2014.
- SILVA, L. H. M.; LOH, W. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. *Química Nova*, v. 29, p. 1345-1351, 2006.
- SMALLING, K. L.; REEVES, R.; MUTHS, E.; VANDEVER, M.; BATTAGLIN, W. A.; HLADIK, M. L.; PIERCE, C. L. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. *Science of the Total Environment*. v. 502, p. 80-90, 2015.
- SORENSE, S. R.; BENDING, G. D.; JACOBSEN, C. S.; WALKER, A.; AAMANDA, J. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. *Microbiology Ecology*, v. 45, p. 1-11, 2003.
- SOUZA, R.L.; BARBOSA, J.M.P.; ZANIN, G.M.; LOBAO, M.W.N.; SOARES, C.M.F.; LIMA, A.S. Partitioning of porcine pancreatic lipase in a two-phase systems of polyethylene glycol/potassium phosphate aqueous. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 16, p. 288-300, 2010.
- SOUZA, R. L.; LIMA R. A.; COUTINHO, J. A. P.; SOARES, C. M. F.; LIMA, A. S. Novel aqueous two-phase systems based on tetrahydrofuran and potassium phosphate buffer for purification of lipase. *Process Biochemistry*, v. 50, p. 1459-1467, 2015.
- SOUSA, K. M.; MACIEL, G. E. L. O.; BUARQUE, F. S.; SANTOS, A. J.; MARQUES, M. N.; CAVALCANTI, E. B.; SOARES, C. M. F.; LIMA. Partitioning of diuron using a novel on an aqueous two-phase system based on tetrahydrofuran and carbohydrates. *Journal of Chemical & Engineering Data*. v. 429, p. 325-330, 2016.
- SOUSA, K.M., Maciel, G.E.L.O., Buarque, F.S., Santos, A.J., Marques, M.N., Cavalcanti, E.B., Souza, R.L., Soares, C.M.F., Lima, A.S. Novel phase diagrams of aqueous two-phase systems based on tetrahydrofuran + carbohydrates + water: Equilibrium data and partitioning experiments. *Fluid Phase Equilibria*. v. 433, p. 1-9, 2017.
- SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Jaguariúna: *Embrapa Meio Ambiente*, p. 29, 2004.
- SU, Q.; ROWLEY, K. G.; BALAZS, N. D. H. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. *Journal of Chromatography B*, v. 781, p. 393-418, 2002.

- STACHOWSKI-HABERKORN, S.; JÉRÔME, M.; ROUEL, J.; KHELIFI, C.; RINCÉ, M.; BURGEOT, T. Multigenerational exposure of the microalga *Tetraselmis suecica* to diuron leads to spontaneous long-term strain adaptation. *Aquatic Toxicology*, v. 140-141, p. 280-388, 2013.
- STAYNER, L. T.; ALMBERG, K.; JONES, R.; GRABER, J.; PEDERSEND, M.; TURYK, M. Atrazine and nitrate in drinking water and the risk of preterm delivery and low birth weight in four Midwestern states. *Environmental Research*, v. 152, p. 294-303, 2017.
- STIPIČEVIĆ, S.; GALZINA, N.; UDIKOVIĆ-KOLIĆ, N.; JURINA, T.; MENDAŠ, G.; DVORŠČAK, M.; PETRIĆ, I.; BARIĆ, K.; DREVENKAR, V. Distribution of terbuthylazine and atrazine residues in crop-cultivated soil: The effect of herbicide application rate on herbicide persistence. *Geoderma*, v. 259-260, p. 300-309, 2015.
- TAHA, M.; KHOIROH, L.; LEE, M. Phase behavior and molecular dynamics simulation studies of new aqueous two-phase separation systems induced by HEPES buffer. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 117, p. 563-582, 2012.
- TIXIER C.; SANCELME, M.; WIDHEM, P. Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthrobacter* sp. N2: structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere*, v. 46, p. 519-526, 2002.
- U.S. EPA, Drinking Water Contaminant Candidate List 2. (2005). <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List> (Acesso em: 30.01.2017).
- VERDICCHIO, M.; SIRJEAN, B. BATTIN-LECLERC, F. Unimolecular decomposition of tetrahydrofuran: carbene vs. diradical pathways. *Proceedings of the combustion institute*, v. 35, p. 533-541, 2015.
- VIEIRA, E. F. S.; CESTARIA, A. R.; CHAGAS, R. A.; CORTES, G. K.R. Obtenção e caracterização de matriz apropriada para sistemas de liberação prolongada – estudos de liberação dos herbicidas atrazina e diuron. *Química Nova*, v. 37, p. 398-403, 2014.
- VONBERG, D.; VANDERBORGHT, J.; CREME, N.; PUTZ, T.; HERBST, M.; VEREECKEN, H. 20 years of long-term atrazine monitoring in a shallow aquifer in western Germany. *Water Research*, v. 50, p. 294-306, 2014.
- WANG, Y.; LIU, Y.; HAN, J.; HU, S. Application of water-miscible alcohol-based aqueous two-phase systems for extraction of dyes. *Separation Science and technology*, v. 46, p. 1283- 1288, 2011.

- WANG, Z.; PEI, Y.; ZHAO, J.; LI, Z.; CHEN, Y.; ZHUO, K. Formation of ether-functionalized ionic-liquid-based aqueous two-phase systems and their application in separation of protein and saccharides. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 119, p. 4471-4478, 2015.
- WONG, A.; SOTOMAYOR, M. P. T. Determination of carbofuran and diuron in FIA system using electrochemical sensor modified with organometallic complexes and graphene oxide. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 731, p. 163-171, 2014.
- ZASLAVSKY, B. Y. Aqueous two-phase partitioning. *New York: Marcel Decker*, 1995.
- ZHANG, J.; LIANG, Z.; LI, S.; LI, Y.; PENG, B.; ZHOU, W.; GAO, H. In-situ metathesis reaction combined with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of phenylurea pesticides in water samples. *Talanta*, v. 98, p. 145-151, 2012.
- ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; LI, H.; ZHAO, Y. Heterogeneous CaO-ZrO₂ acid–base bifunctional catalysts for vapor-phase selective dehydration of 1,4-butanediol to 3-buten-1-ol. *Applied Catalysis A: General*, v. 466, p. 233-239, 2013.
- ZHANG, D. Y.; ZU, Y. G.; FU, Y. L.; WANG, W.; ZHANG, L.; LUO, M.; MU, F. S.; YAO, X. H.; DUAN, M. H. Aqueous two-phase extraction and enrichment of two main flavonoids from pigeon pea roots and the antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, v. 102, p. 26-33, 2013.
- ZHAO, G.; SHEN, S.; LI, M.; WU, H.; CAO, T.; LI, D. The mechanism and kinetics of ultrasound-enhanced electrochemical oxidation of phenol on boron-doped diamond and Pt electrodes. *Chemosphere*, 73, p. 1407–1413, 2011.
- ZHAO, Q.; LU, Q.; YU, Q. W.; FENG, Y. Q. Dispersive Microextraction Based on “Magnetic Water” Coupled to Gas Chromatography/Mass Spectrometry for the Fast Determination of Organophosphorus Pesticides in Cold Pressed Vegetable Oils. *Journal of Agriculture and food chemistry*. 61, p. 5397-5403, 2013.