

PARTIÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE DIURON EM SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS FORMADOS POR TETRAHIDROFURANO E CARBOIDRATOS

K. M. SOUSA¹, G. E. L. O. MACIEL¹, M. N. MARQUES¹, E. B. CAVALCANTI¹, C. M. F. SOARES¹ e A. S. LIMA

¹ Universidade Tiradentes, Instituto de Tecnologia e Pesquisa
E-mail para contato: kmarcatti@gmail.com

RESUMO – Diuron é uma das substâncias presentes em água contaminada, devido à sua utilização na formulação de diversos defensivos agrícolas. Desta forma, pode ser encontrada nas águas de captação para consumo humano. Portanto sua detecção nestas águas é necessária. Este trabalho tem como objetivo averiguar a partição e concentração de Diuron utilizando sistemas aquosos bifásicos (SAB) formados por tetrahidrofurano (THF) e carboidratos (glicose, frutose, manose, galactose, xilose, D-arabinose, L-arabinose, sacarose, maltose) à temperatura de 25°C e pressão atmosférica, e assim melhorar a eficiência de detecção deste composto. As curvas binodais foram determinadas pelo método do ponto de turvação e as linhas de amarração ajustadas pelo modelo de Merchuck e colaboradores. A partição do Diuron foi acompanhada pela determinação do coeficiente de partição (K_{DIU}) e da eficiência de extração (EE). Em todos os sistemas o THF encontra-se na fase de topo e os carboidratos na fase de fundo. Os monossacarídeos formam SAB mais facilmente que os dissacarídeos. O diuron particiona-se preferencialmente para a fase rica em THF (topo) com $K_{DIU} > 1,0$ e $EE > 70\%$.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da atividade agrícola desenvolvida em áreas de mananciais tem causado preocupação quanto ao potencial de contaminação decorrente da aplicação de herbicidas. Sabe-se que a agricultura é uma das possíveis fontes de contaminação ambiental, geralmente apontada como importante contribuinte de poluentes (BRITO et al., 2001 e GRÜTZMACHER et al., 2008).

O diuron é um herbicida e por ser utilizado na formulação de vários agrotóxicos, pode estar presente em água contaminada, inclusive podendo ser encontrado nas águas captadas para uso humano. Sua detecção é importante, por ser uma substância de moderada toxicidade. Uma alternativa para a detecção de diuron é uso de novas tecnologias, como por exemplo, sistemas aquosos bifásicos (SAB) formados por diferentes constituintes e que até o momento ainda não foi descrito na literatura.

Os sistemas aquosos bifásicos (SAB) são sistemas compostos por duas fases líquidas aquosas macroscópicas imiscíveis em concentrações críticas de cada um dos componentes quando estes se

encontram dissolvidos em água. Este fenômeno foi observado pela primeira vez por Beijerinck em 1896, no entanto, só foi utilizado a partir 1956, como uma técnica de separação em biotecnologia (ALBERTSSON, 1956).

A versatilidade, alta eficiência, alto rendimento, seletividade, baixo custo e simplicidade tecnológica, bem como um melhor grau de purificação (CLÁUDIO, A.F.M. et al. (2010) e MALPIEDI, L.P. et al (2009)). Originalmente esses sistemas são formados por misturas aquosas de dois polímeros compatíveis, como polietileno glicol (PEG), dextrana e maltodextrina (AZEVEDO, A.M., 2000) e SILVA, L.H.M., 2009). O SAB estudado neste trabalho é inovador, pois não se encontra na literatura referências sobre a sua utilização até o momento. É formado por tetrahidrofurano e diversos carboidratos.

O tetrahidrofurano, C_4H_8O , também denominado de óxido de butileno, óxido de dietileno, oxaciclopentano e 1,4-epoxibutano é um solvente orgânico aprótico, moderadamente polar, líquido, incolor, volátil e inflamável, que é completamente miscível em água a temperatura ambiente. O composto é solúvel em água (logKow é 0,46) (TAJIMA et al., 2012 e HELLWIG et al., 2002). O tetrahidrofurano é amplamente utilizado como resinas e plásticos, corantes, solventes, tintas, vernizes, adesivos e revestimentos, e na indústria de alimentos para a fabricação de embalagens de alimentos.

Os carboidratos, com fórmula geral $(CH_2O)_x$, são um grupo grande e diverso de compostos orgânicos, incluindo açúcares, celulose e amido. Estas moléculas são não-carregadas, biodegradáveis, não tóxicas e constituem uma matéria-prima renovável. Eles são classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos (união de 2 – 10 moléculas de monossacarídeos) e polissacarídeos (união de >10 moléculas de monossacarídeos) (SOLOMONS, T.W.G., 2009). Carboidratos são aldeídos ou cetonas polidroxílicos com elevada afinidade com água, devido seus vários grupos – OH. Portanto, os carboidratos são potenciais substitutos para os sais convencionais utilizados na formação de SAB, com a vantagem de baixar os custos e criar processos ambientalmente amigáveis.

Desta forma, este trabalho é focado no desenvolvimento de SAB formados a partir de tetrahidrofurano (THF) e vários carboidratos, a saber, monossacarídeos (glicose, manose, galactose, xilose, arabinose e frutose) e dissacarídeos (sacarose e maltose) para averiguar a partição e concentração da molécula de diuron. Os diagramas de fase serão determinados a 25°C.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material

Os SAB estudados neste trabalho foram formados por vários carboidratos e tetrahidrofurano. Os carboidratos usados foram), D-(+)-sacarose (> 99,5% em peso puro da Synth), D-(+)-maltose (pureza de 98% em peso da Vetec), D-(+)-glicose (> 95% em peso puro da Vetec), D-(+)-manose (> 99% em peso puro da Vetec), D-(+)-galactose (> 98% em peso puro da Vetec), D-(+)-xilose (pureza de 99% em peso da Vetec), L-(+)-arabinose (> 99% em peso puro da Vetec), D-(+)-arabinose (> 99% em peso puro da Sigma), D-(+)-frutose (pureza de > 98% em peso da Vetec). O tetrahidrofurano, qualidade

para HPLC com pureza de 99,9% em peso, usado foi da Sigma-Aldrich. O diuron (> 98% em peso puro) usado foi da Aldrich. Água destilada ou deionizada foi usada em todos os experimentos.

2.2. Diagrama de fases e linhas de amarração (tie-lines)

O estudo dos sistemas constituído por tetrahidrofurano e diferentes carboidratos, que podem se divididos entre monossacarídeos (D-(+)-glicose, D-(+)-manose, D-(+)-galactose, D-(+)-xilose, L-(+)-arabinose e D-(+)-frutose) e dissacarídeos (D-(+)-sacarose e D-(+)-maltose). Os sistemas foram construídos à temperatura de 25°C e pressão atmosférica, pela aplicação do método de turvação (cloud point) (ALBERTSSON, 1986, PEREIRA et al., 2010). As soluções estoque de carboidratos ($\approx 40 - 70\%$ em peso, dependendo a solubilidade do carboidrato em água) e o tetrahidrofurano ($\approx 80\%$ em peso), foram previamente preparados e utilizados para determinação dos diagramas de fase. A Adição gota a gota da solução de tetrahidrofurano à solução aquosa dos diversos carboidratos, separadamente, foi realizada até que a detecção de uma solução turva, seguido pela adição gota a gota de água ultrapura, até à detecção de uma região monofásica (solução transparente e límpida). Estas adições foram efetuadas sob agitação contínua, e as curvas de saturação foram determinadas pelo método gravimétrico dentro $\pm 10^{-5}$ g.

As linhas de amarração (tie-lines - TL) foram determinadas pelo método gravimétrico originalmente aplicado por Merchuck et al. (1998). Para a determinação das TL uma mistura na região bifásica foi preparada agitada vigorosamente, centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos, respectivamente e deixada em repouso para atingir o equilíbrio e separar as fases (por no mínimo 18 h e à 25°C). Após atingir o equilíbrio, as fases de topo e fundo serão separadas e pesadas. Cada individual TL será determinada pela aplicação de regra da alavanca na relação entre a composição mássica da fase de topo e do sistema global. Para efeito de determinação das curvas binodais, foi utilizada a equação:

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

Onde Y e X são o tetrahidrofurano e os carboidratos em peso percentual, respectivamente, e A, B e C são parâmetros constantes obtidos pela regressão.

A determinação da TL foi então realizada através da resolução do seguinte sistema de quatro equações (Eqs. (2) - (5)) para os quatro valores desconhecidos de Y_T , Y_F , X_T e X_F ,

$$Y_T = A \times \exp(BX_T^{0,5} - CX_T^3) \quad (2)$$

$$Y_F = A \times \exp(BX_F^{0,5} - CX_F^3) \quad (3)$$

$$Y_T = (Y_M/\alpha) - ((1 - \alpha)/\alpha)Y_F \quad (4)$$

$$X_T = (X_M/\alpha) - ((1 - \alpha)/\alpha)X_F \quad (5)$$

Onde os subscritos M, T e F denotam, respectivamente, a mistura inicial, e as fases de topo e fundo. O

valor de α é a proporção entre a massa da fase de topo e a massa total da mistura. Os resultados da solução do sistema para tetrahidrofurano e as concentrações de carboidratos nas fases de topo e fundo, e, portanto, o TL pode ser simplesmente representado.

O comprimento da tie-line length TLL foi determinado através da aplicação da seguinte equação:

$$TLL = \sqrt{(X_T - X_F)^2 + (Y_T - Y_F)^2} \quad (6)$$

2.3. Partição do diuron

Os sistemas de separação para o diuron foram preparados em tubos de graduado em quantidades apropriadas de carboidratos, tetrahidrofurano e uma solução aquosa contendo diuron.

O diuron foi estava uma concentração de 0,040 mg/L na primeira solução aquosa. Depois da mistura completa de todos os componentes, cada sistema foi centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos para favorecer a fase de separação, e, em seguida, cada tubo foi colocado em um banho termostatzado a (25 °C) durante pelo menos 18 h . O volume de cada uma das fases foi medida e ambas as fases foram ainda separadas para a quantificação. Pelo menos três repetições independentes foram feitas e os coeficientes de partição médios e desvios-padrão associados foram, portanto, determinado. A concentração de diuron em cada fase aquosa foi quantificada através de espectroscopia de UV, usando um Varian Cary 50 Bio UV - Vis, e num comprimento de onda de 250 nm, utilizando uma curva de calibração previamente estabelecida.

O coeficiente de partição de diuron foi determinado considerando a concentração da molécula de interesse em cada uma das fases e de acordo com,

$$K_{DIU} = \frac{C_T}{C_F} \quad (7)$$

Onde K_{DIU} é o coeficiente de partição de diuron, e C representa a concentração de diuron, e os subscritos T e F denota as fases de topo (rica em tetrahidrofurano) e de fundo (rica em carboidratos), respectivamente.

A recuperação de diuron (R_T) na fase superior foi avaliada usando a equação abaixo,

$$R_T = \frac{C_T}{(C_T + C_F)} \times 100 \quad (8)$$

onde C e os subscritos T e F, são descritos acima.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Diagramas de fases e Linhas de amarração (tie-lines)

Os sistemas estudados neste trabalho são formados por tetrahydrofurano e uma grande variedade de carboidratos. Os diagramas de fases, experimental para cada monossacarídeo (D-(+)-glicose, D-(+)-manose, D-(+)-galactose, D-(+)-xilose, L-(+)-arabinose, e D-(+)-frutose) e dissacarídeos (D-(+)-sacarose e D-(+)-maltose), foram determinados a 25°C e à pressão atmosférica. Os diagramas de fase correspondentes são apresentados nas figuras 1-2 e permitir a análise do potencial dos carboidratos para induzir o SAB. Todas as curvas binodais são representadas em unidades de molalidade para evitar disparidades na avaliação do potencial dos carboidratos para induzir a separação líquido-líquido e que pode resultar da simples diferença dos seus pesos moleculares.

A adição de uma solução aquosa concentrada de carboidratos em tetrahydrofurano leva a uma separação de fases: uma fase rica em tetrahydrofurano, topo e uma fase rica em carboidratos, fundo. As curvas binodais para os sistemas com tetrahydrofurano e os vários monossacarídeos, está representada na figura 2, e não mostra de fato uma tendência crescente de separação de fase proporcional à sua capacidade de hidratação: D-(+)-xilose < D-(+)-frutose < D-(+)-arabinose < D-(+)-galactose < D-(+)-manose < D-(+)-glicose < L-(+)-arabinose.

A comparação entre os isômeros D-(+)-glicose (uma aldose com um anel de 6 lados) e D-(+)-frutose (uma cetose com um anel de 5 lados) sugere que cetoses são menos eficazes na indução da formação de duas fases aquosas.

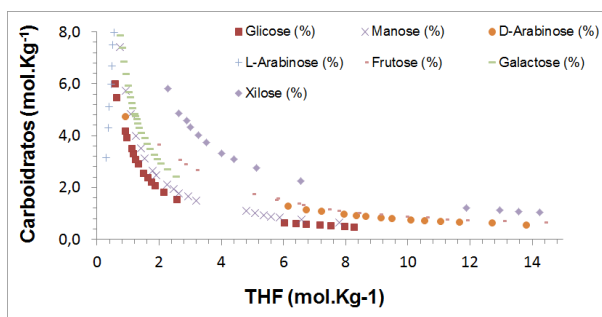
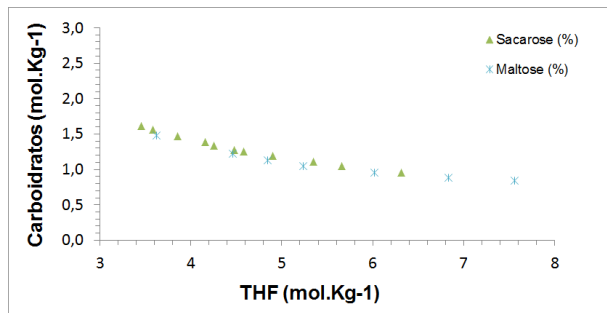
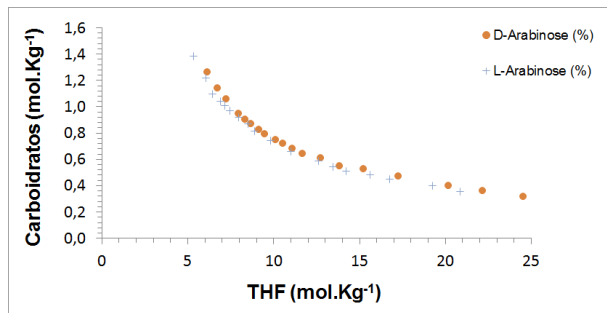


Figura 1 – Diagramas de fases formados por tetrahydrofurano + carboidratos (L-(+)-arabinose, D-(+)-glicose, D-(+)-manose, D-(+)-galactose, D-(+)-arabinose, D-(+)-frutose e D-(+)-xilose) + água a 25°C.

Os diagramas de fase apresentados na figura 2 (A) mostra o efeito dos dois dissacarídeos na formação de SAB. A sacarose é constituída por glicose e frutose ligados por uma ligação glicosídica, enquanto a maltose é formada por duas unidades de glicose. Estes dissacarídeos têm capacidades semelhantes para a formação SAB a base de tetrahydrofurano a 25°C. Os diagramas de fase apresentados na figura 2 (B) mostra o efeito da posição dos grupos hidroxilas na formação de SAB, a D-(+)-arabinose e L-(+)-arabinose, também possuem capacidade semelhante para a formação SAB a base de tetrahydrofurano a 25°C.



(A)



(B)

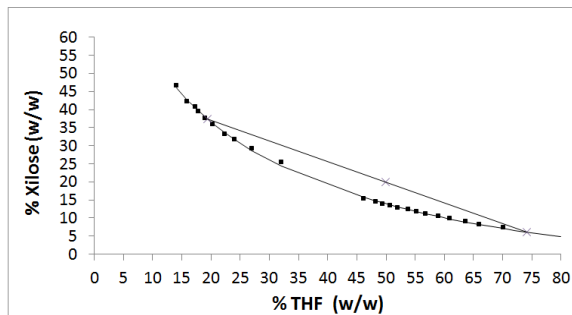
Figura 2 – (A) Diagramas de fases formados por tetrahidrofurano + carboidratos (D - (+) - sacarose, D - (+) - maltose) + água a 25°C. (B) Diagramas de fases formados por tetrahidrofurano + carboidratos (D-(+)-arabinose e L-(+)-arabinose) + água a 25°C.

Todas as curvas binodais foram montadas utilizando a Equação (1). Os coeficientes de regressão (R^2) e os parâmetros de ajuste A, B e C, estimados por regressão de mínimos quadrados e os desvios padrão correspondentes (σ), são apresentados na Tabela 1.

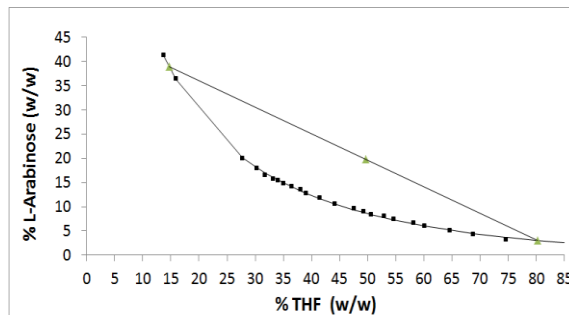
Tabela 1 – Os parâmetros obtidos a partir da regressão da equação de Merchuk ajustada para os sistemas ternários compostos de Tetrahidrofurano + carboidratos + água à 25°C e pressão atmosférica

Carboidratos	Parâmetros de Regressão			
	A $\pm \sigma$	B $\pm \sigma$	C $\pm \sigma$	R ²
Xilose	150,59 \pm 4,56	-0,31 \pm 0,01	1,25E-06 \pm 1,42E-07	0,9996
Galactose	181,24 \pm 9,50	-0,44 \pm 0,01	9,13E-07 \pm 1,15E-07	0,9997
Frutose	131,04 \pm 5,64	-0,33 \pm 0,01	1,39E-06 \pm 2,59E-07	0,9982
L-Arabinose	221,40 \pm 4,62	-0,45 \pm 0,01	4,25E-07 \pm 1,19E-07	0,9997
D-Arabinose	96,57 \pm 1,46	-0,30 \pm 0,01	2,03E-06 \pm 1,45E-07	0,9994
Maltose	101,68 \pm 9,61	-0,25 \pm 0,02	1,38E-06 \pm 3,45E-07	0,9975
Manose	160,99 \pm 2,85	-0,36 \pm 0,01	4,72E-07 \pm 7,07E-07	0,9995
Sacarose	215,51 \pm 13,60	-0,40 \pm 0,02	1,04E-16 \pm 2,08E-06	0,9984
Glicose	128,37 \pm 2,16	-0,32 \pm 0,01	6,25E-06 \pm 7,46E-07	0,9993

A Figura 4 apresenta dois exemplos da correlação dos dados para os sistemas compostos por tetrahidrofurano + carboidratos (D-(+)-xilose, D-(+)-arabinose) + água. Exemplos da representação de curvas binodais e TL.



(A)



(B)

Figura 4 – Diagrama de Fases constituído por Tetrahydrofurano + carboidratos + água à 25°C ((A) xilose, (B) L-arabinose), as curvas binodais ajustadas através Equações (2-4) e as TL.

3.2. Partição do diuron

A aplicação dos sistemas investigados como técnica alternativa para detecção foi estudada usando o particionamento de diuron, um herbicida utilizado como sistema modelo. Inicialmente o sistema, a composição investigada foi de 20% em peso de carboidratos e 50% em peso de tetrahydrofurano. Os valores das duas fases de cada SAB de pH variam entre 5,07 e 7,85.

Em todos os sistemas estudados até o momento, os coeficientes de partição do diuron são maiores que 1 e demonstram a afinidade preferencial de diuron para a fase rica em tetrahydrofurano. Esta migração preferencial está de acordo com o coeficiente de partição octanol-água de diuron ($\log K_{ow} = 2,6$), que indica a afinidade preferencial do herbicida para as fases mais hidrofóbicas. O tetrahydrofurano ($\log K_{ow} = 0,46$) é de fato mais hidrofóbico que os carboidratos ($2,30 < \log K_{ow} < 4,70$) e apoia a tendência observada.

Carboidrato	K_{DIU}
Xilose	1,51
Sacarose	2,27
Manose	1,41
Maltose	2,25
Glicose	5,46
Galactose	2,68
Frutose	1,76
L-Arabinose	1,21
D-Arabinose	1,06

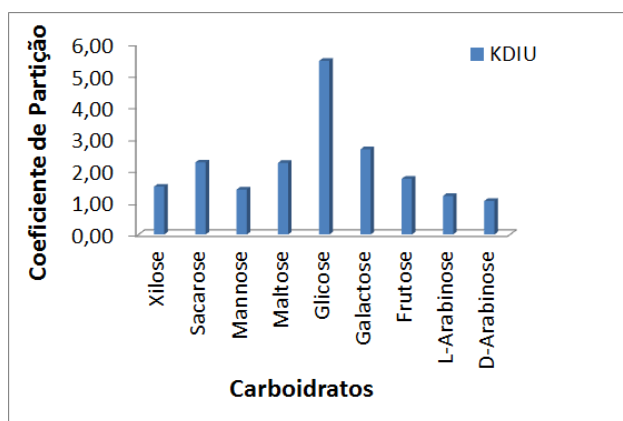


Figura 5 – Coeficiente de partição de diuron entre as fases ricas em tetrahydrofurano + carboidratos a 25°C. 50 – 20% em peso tetrahydrofurano – carboidratos

6. REFERÊNCIAS

- BRITO, N. M. et al. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 11, p. 93-104, 2001.
- GRÜTZMACHER, D. D. et al. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 12, n. 06, p. 632-637, 2008.
- 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. Purif. Technol.* 75 (2010) 39–47.
- 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, *Sep. Purif. Technol.* 65 (2009) 40–45.
- AZEVEDO, A.M., ROSA, P.A.J., FERREIRA, I.F., PISCO, A.M.M.O., VRIES, J., KORPORAAL, R., VISSER, T.J., AIRES-BARROS, M.R., Affinity-enhanced purification of human antibodies by aqueous two-phase extraction, *Sep. Purif. Technol.* 65 (2009) 31–39.
- RITO-PALOMARES, M., Practical application of aqueous two-phase partition to process development for the recovery of biological products, *J. Chromatogr. B* 807 (2004) 3–11.
- SILVA, L.H.M., MEIRELLES, A.J.A., Bovine serum albumin, alfa-lactoalbumin and beta-lactoglobulin partitioning in polyethylene glycol/maltodextrin aqueous two-phase systems, *Carbohydr. Polym.* 42 (2000) 279–282.
- Solomons, T.W.G., Fryhle, C.B., *Organic Chemistry*, second ed., John Wiley & Sons, New York, 2002.
- ALBERTSSON, P. A. *Partition of cell particles and macromolecules*. New York: Wiley; 1986.
- CARDOSO, G.B., MOURÃO, T., PEREIRA, F.M., FRICKS, A.T., FREIRE, M.G., SOARES, C.M.F., LIMA, A.S., 2013. Aqueous two-phase systems based on acetonitrile and carbohydrates and their application to the extraction of vanillin. *Sep. Purif. Technol.* 104, 106-113.
- CARDOSO, G.B., SOUZA, I.N., MOURÃO, T., FREIRE, M.G., SOARES, C.M.F., LIMA, A.S., 2014. Novel aqueous two-phase systems composed of acetonitrile and polyols: phase diagrams and extractive performance. *Sep. Purif. Technol.* In press, 2014.
- DAHMOLE, P. B., MAHAJAN, P., FENG, H. Phase separation conditions for sugaring-out in acetonitrile water systems. *J. Chem. Eng.*, v. 55, p. 3803–3806, 2010.
- FREIRE, M.G., LOUROS, C.L.S., REBELO, L.P.N., COUTINHO, J.A.P., 2011. Aqueous biphasic systems composed of a water-stable ionic liquid + carbohydrates and their applications. *Green Chem.* 13, 1536-1545.