



## **DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO DO PESTICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOFENOXIACÉTICO E SEU METABÓLITO 2,4-DICLOROFENOL DE *Drosophila melanogaster***

Maria Elizabeth Gomes Paz<sup>1</sup>, Murilo Ricardo Sigal Carriço<sup>1</sup>, Bruna Piaia Ramborger<sup>1</sup>, Elton Luis Gasparotto Denardin<sup>2</sup>, Rafael Roehrs<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

<sup>2</sup> Docente, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

<sup>3</sup> Docente, Universidade Federal do Pampa, Campus Bagé

e-mail primeiro autor- mariapaz.aluno@unipampa.edu.br

O pesticida 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é um herbicida da classe dos desfolhantes, pertencente a família dos organoclorados. O 2,4-D possui classificação de toxicidade III, sendo moderadamente tóxico por via inalatória, oral ou dérmica, e toxicidade I, sendo altamente tóxico por via ocular. A fabricação deste herbicida se dá através do seu subproduto 2,4-DCP (2,4-diclorofenol), que também é um dos produtos de degradação do 2,4-D, e pode ser encontrado nas fabricações comerciais do herbicida. Além disso, o 2,4-DCP já foi reportado como sendo genotóxico e hepatotóxico. Considerando a toxicidade do 2,4-D e seu metabólito, um dos problemas decorrentes de sua aplicação inadequada é o processo de deriva, que no ano de 2019 ganhou repercussão no Rio Grande do Sul, por ter trazido prejuízo às culturas de uva, oliva, maçã, entre outros. Diante deste cenário de má aplicação do produto, torna-se importante analisar a contaminação de organismos não alvo. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver um método de extração do pesticida 2,4-D e seu metabólito 2,4-D em *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca da fruta, e importante modelo no estudo de monitoramento de contaminação e toxicidade. Para a extração dos compostos de interesse de *D. melanogaster*, foi desenvolvido e otimizado um método QuEChERS. Foram pesados 0,5 g de moscas congeladas em tubos do tipo falcon (15 mL) e foi adicionado 5 mL de água ultrapura fortificada com 250 µL da solução de trabalho de 100 mg.L<sup>-1</sup> da mistura dos padrões dos dois compostos. Os tubos foram levados à agitação em vórtex por 1 minuto, e foram testadas 6 fases extratoras diferentes, sendo elas: 5 mL de MeCN e 5 mL de MeCN com diferentes porcentagens de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1, 2, 3, 5 e 10%). Os tubos foram então levados à agitação novamente e à banho de ultrassom por 1 minuto. Para a etapa de *salting-out* foram adicionados 2 g de MgSO<sub>4</sub> e 0,5 g de NaCl com posterior agitação por vórtex e centrifugação por 5 minutos a 7000 RPM. A limpeza da amostra foi realizada coletando 1 mL do sobrenadante da etapa anterior com 150 mg de MgSO<sub>4</sub> e 50 mg de octadecilsilano (C18). Após a limpeza as amostras foram novamente centrifugadas e filtradas em filtro de seringa de PTFE hidrofóbico (0,22 µm). Os testes foram feitos em triplicata e as amostras foram analisadas por CLAE-DAD com as seguintes condições: cromatógrafo Young Lin (YL 9100, Anyang, KOR), equipado com uma bomba quaternária (YL 9110) conectadas a um degaseificador (YL 9101), amostrador automático (YL 9150) e acoplado a um detector de arranjo de diodos (YL 9160). A coluna cromatográfica utilizada foi a Inertsil ODS-3 de

fase reversa (GL Sciences, Tóquio, JP). A fase móvel utilizada foi acetonitrila/água ultrapura acidificada com ácido fosfórico à pH 3 (87,5:12,5 v/v) a um fluxo de 0,8 mL.min<sup>-1</sup> em um sistema isocrático com 16 minutos de análise e injeção de 20 µL de amostra. A detecção do 2,4-D foi realizada em 230 nm e o 2,4-DCP em 220 nm. Após as análises, para a fase extratora contendo somente MeCN foi observada uma recuperação de 92,28% do 2,4-DCP, entretanto o 2,4-D não foi recuperado, o mesmo ocorreu com a fase extratora contendo 5 mL de MeCN + 1% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, em que se observou uma recuperação de 114,7% para o 2,4-DCP e 0% para o 2,4-D. A partir disso, foi considerada a maior acidificação da amostra com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (2, 3, 5 e 10%), pois devido à característica de ácido forte do 2,4-D, a acidificação da amostra é utilizada para diminuir a dissociação do composto em meio aquoso, evitando a interação com interferentes da matriz e aumentando sua extração para o solvente orgânico. As médias de recuperação entre 70 e 120% com desvio padrão relativo (RSD) < 20% foram consideradas aceitáveis para a determinação da fase extratora. Dentre os resultados obtidos, a fase extratora que correspondeu melhor a estes critérios foi de MeCN + 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, onde se obteve, para o composto 2,4-DCP, uma recuperação de 103,6% e RSD de 8,85%, e para o composto 2,4-D, a recuperação foi de 104,8% e RSD de 9,9%. Outro aspecto que pôde ser considerado para a escolha da fase extratora foi a extração de interferentes da amostra, pois observou-se que ao aumentar a proporção de ácido na extração, houve uma diminuição proporcional na extração dos interferentes. Os resultados apresentados demonstram que o método desenvolvido permitiu a extração do herbicida 2,4-D e seu metabólito 2,4-DCP em amostras de *Drosophila melanogaster*, podendo ser utilizado como forma de monitorar a contaminação deste organismo não alvo.

**Agradecimentos:** CAPES, CNPq, UNIPAMPA.

**Palavras-chave:** 2,4-D; 2,4-DCP; Contaminação; *Drosophila melanogaster*; Herbicida.