



# Análise da sorção de fipronil e 2,4-D em Polietileno de Baixa Densidade e Polipropileno

**Palavras-Chave:** Fipronil, 2,4-D, Polietileno de baixa densidade (PEBD), Polipropileno (PP), mesocosmos

**Autores(as):**

**Gabriel Simon Lopes Pereira, IQ**

**Profa. Dra. Cassiana Carolina Montagner (orientadora), IQ**

## INTRODUÇÃO:

Os agrotóxicos são compostos químicos com uma enorme quantidade de estudos realizados para se saber quais são seus efeitos na natureza e saúde humana. Dois destes compostos (fipronil e 2,4-D) foram tema de estudo da tese de doutorado intitulada “DESTINO E TRANSPORTE DE FIPRONIL E 2,4-D NO AMBIENTE DURANTE O MANEJO DE CANA-DE-AÇÚCAR E PASTAGENS”, pela doutoranda, Bianca Veloso Goulart do Instituto de Química - UNICAMP. No estudo, a degradação dos agrotóxicos foi estudada empregando mesocosmos, que são sistemas aquáticos artificiais simuladores dos efeitos ambientais de estressores na estrutura e função do ambiente, fornecendo resultados de exposição para biota e comportamento ambiental dos contaminantes (Bejarano et al., 2005; Finnegan et al., 2018), reduzindo a incerteza na extrapolação e oferecendo resultados mais realistas (Beuter et al., 2019; Finnegan et al., 2018). Os mesocosmos foram construídos utilizando tanques com composição de polipropileno (PP), um tipo de plástico classificado como termoplástico, com alta estabilidade dimensional, altamente leve, muito adequado para enchimento, reforço e mistura (Ochiai et al., 1971). No entanto, há a dúvida se uma parcela dos agrotóxicos poderia ter ficado sorvida ao plástico usado na montagem dos mesocosmos. Assim, esse trabalho de IC visa avaliar a capacidade de sorção do fipronil e do 2,4-D em plásticos de PP e de polietileno de baixa densidade (PEBD) comumente empregados na construção de sistemas de mesocosmos, a fim de elucidar se esta, é uma influência importante para os resultados obtidos.

PP e PEBD são materiais com propriedades físicas semelhantes (Primeplas et al., 2020). Na primeira fase do projeto, que se iniciou em fevereiro/2023, foi estudado o PP e, em seguida o PEBD será avaliado nas mesmas condições, a fim de se conhecer o potencial de sorção destes agrotóxicos de interesse do grupo de pesquisa, nos sistemas de mesocosmos.

## METODOLOGIA:

Para satisfazer o objetivo do projeto, diversos experimentos semelhantes foram realizados. Cinco ensaios foram feitos com fipronil, enquanto um foi feito para 2,4-D. Ambos experimentos foram realizados apenas para o PEBD. Todos seguiram os mesmos passos:

### • Preparação dos pedaços de plástico:

Para os experimentos com fipronil foram cortados 12 pedaços (1º e 2º ensaios), 36 pedaços (3º ensaio), 45 pedaços (4º ensaio), 60 pedaços (5º ensaio), em formato quadrado, da tampa da caixa d'água de PEBD, usada para a montagem de mesocosmos, sendo a dimensão de suas superfícies quadradas 1cm x 1cm (aproximadamente). Já para o experimento com 2,4-D foram cortados 60 pedaços do mesmo plástico.

### • Preparação das soluções de Fipronil:

Para cada experimento foi preparada uma solução padrão de Fipronil de 250 mL de 200 µg/L a partir do pesticida Fipronil BASFI 800 WG. Dessa solução, 30 mL foram transferidos para cada frasco de vidro âmbar de 100 mL. Em três desses frascos foram adicionados o número de pedaços de plástico (em quadrado) no interior divididos igualmente conforme o experimento (por exemplo, no primeiro experimento os 12 pedaços foram divididos entre os 3 frascos), e os outros 3 continham apenas a solução de Fipronil. Os frascos com apenas a solução foram numerados de 1 a 3, e os outros 3 frascos com os plásticos também foram numerados da mesma maneira.

### • Preparação das soluções de 2,4-D:

Para cada experimento foi preparada uma solução padrão de 2,4-D de 250 mL de 200 µg/L a partir do herbicida 2,4-D Corteva DMA 806 BR, com concentração inicial de 806 g/L. Dessa solução, 30 mL foram transferidos para cada frasco de vidro âmbar de 100 mL. Em três desses frascos foram adicionados 20 pedaços de plástico (em quadrado) no interior, e os outros 3 continham apenas a solução de 2,4-D. Os frascos com apenas a solução foram numerados de 1 a 3, e os outros 3 frascos com os plásticos também foram numerados da mesma maneira.

### • Determinação das concentrações de fipronil e 2,4-D por LC-MS/MS:

Após o determinado tempo de exposição de cada experimento, foram retiradas, de cada frasco, uma amostra de 1 mL, a qual foi armazenada em vial de vidro de 2 mL a cada dia de coleta (os tempos são indicados nas tabelas 2-6). A amostra foi diluída mantendo uma fração 0,3 mL de metanol e 0,7 mL da solução em água do respectivo frasco. Os vials foram armazenados no freezer do laboratório até serem analisados por LC-MS/MS. A determinação das concentrações de fipronil e 2,4-D foram realizadas em um cromatógrafo líquido Agilent 1200 acoplado a um espectrômetro de massa Agilent 6410B (Agilent Technologies – Santa Clara, EUA). O sistema HPLC consistia em uma bomba binária, amostrador automático e compartimento de coluna termostática. O sistema MS era um espectrômetro de massa quadrupolo triplo (QqQ) com

uma fonte de ionização por eletropulverização. A separação cromatográfica foi realizada usando uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1 × 30 mm, tamanho de partícula de 3,5 µm) também da Agilent Technologies. O compartimento da coluna foi ajustado para 30 °C, o volume de injeção foi de 10 µL, a taxa de fluxo foi ajustada para 0,3 mL min<sup>-1</sup> e a fase móvel foi hidróxido de amônio 0,01% aquoso (solvente A) e metanol (solvente B). O gradiente de eluição em função de B foi definido da seguinte forma: aumento linear de B de 30 para 80% em 5 min, manutenção em 80% B por 1 min e retorno a 30% B em 6 min, com tempo pós-corrída de 5 min para o equilíbrio da coluna. O tempo total de análise foi de 16 minutos. O nitrogênio 5.0 foi utilizado como gás de secagem e gás de nebulização. Todas as medições foram realizadas no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) com polaridade de íons negativos. As condições otimizadas de MS foram definidas da seguinte forma: vazão do gás de secagem, 10 L min<sup>-1</sup>; temperatura do gás de secagem, 350 °C; pressão do gás de nebulização, 50 psi; tensão capilar, 3000 V. O método MRM dos analitos incluiu 13 pares de íons. Todas as transições MRM com seus respectivos valores para energia de colisão e tensão do fragmentador são apresentadas na Tabela:

Tabela 1: Parâmetros do LC-MS/MS usados para a quantificação do fipronil e 2,4-D

Composto	t <sub>R</sub> (min)	Precursor Ion (m/z)	Fragmentor V. (V)	Product Ion (m/z)	Collision E. (V)
2,4-D	0.39	218.9	70	161.0	14
		218.9	X	125.0	18
		220.9	100	163.0	12
Fipronil	7.41	434.9	135	330.0	10
		434.9	X	250.0	15
		434.9	X	183.0	30

As injeções no LC-MS/MS foram realizadas em duplicata. No dia do preparo do experimento, as amostras T0 são reservadas para servirem como referência às demais que foram coletadas ao longo dos dias.

● **Frequência de coleta de amostras:**

- **1º, 2º e 3º experimentos:** As amostras de Fipronil e Fipronil + PEBD foram coletadas a cada 24 horas (aproximadamente), durante 3 dias.
- **4º experimento:** As amostras de Fipronil e Fipronil + PEBD foram coletadas a cada 48 horas (aproximadamente), durante 12 dias.
- **5º experimento:** As amostras de Fipronil e Fipronil + PEBD, 2,4-D e 2,4-D + PEBD foram coletadas 11 dias após a montagem dos experimentos.

Com os dados descritos nas tabelas, foi possível construir os gráficos de Tempo x Concentração, com a finalidade de se usar esses resultados para que as curvas cinéticas fossem construídas e assim calculadas as taxas de sorção do fipronil e do 2,4-D no PEBD.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

As tabelas a seguir apresentam as concentrações de cada frasco âmbar. As injeções no LC-MS/MS foram feitas em duplicata, por isso cada frasco numerado possui duas concentrações indicadas na tabela. Cada experimento possui um número de lotes de amostra específico, e cada lote se diferencia pelo intervalo de tempo em que as amostras foram coletadas dos frascos e armazenadas nos vials. A partir das concentrações indicadas depois do tratamento dos dados, as médias e os desvios padrão são calculados, para que as curvas analíticas sejam construídas com base nesses dados, e assim as taxas de sorção determinadas.

Tabela 2: Dados do experimento 1.

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	186	191	179	177	206	206	189	12
t1	24	171	167	170	174	166	164	167	3
t2	48	154	159	146	146	159	157	156	5
t3	72	137	132	146	144	146	140	142	5

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	186	191	179	177	206	206	189	12
t1	24	175	177	168	168	159	161	168	7
t2	48	163	158	151	150	160	160	159	5
t3	72	143	142	146	143	143	142	143	1

Tabela 3: Dados do experimento 2.

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	144	142	117	117	124	125	125	11
t1	24	125	122	125	120	124	125	124	2
t2	48	133	133	123	118	125	134	129	6
t3	72	134	131	138	142	132	133	134	4

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	144	142	117	117	124	125	125	11
t1	24	124	118	126	132	137	131	129	6
t2	48	128	125	123	123	131	129	127	3
t3	72	130	139	140	137	134	141	138	4

Tabela 4: Dados do experimento 3.

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	1412	1393	1365	1338	1373	1338	1369	27
t1	24	1336	1310	1319	1367	1360	1342	1339	22
t2	48	1444	1433	1419	1406	1480	1485	1439	29
t3	72	1496	1509	1570	1610	1520	1543	1531	39

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil -Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	1412	1393	1365	1338	1373	1338	1369	27
t1	24	1479	1391	1522	1524	1798	1800	1523	157
t2	48	1448	1460	1594	1570	1479	1473	1476	56
t3	72	1466	1469	1571	1580	1513	1551	1532	46

Tabela 5: Dados do experimento 4

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	167	160	167	160	175	177	167	7
t1	48	169	171	150	149	164	162	163	8
t2	96	171	170	166	170	188	187	171	9
t3	142	177	172	162	168	180	182	175	7
t4	190	169	175	171	174	177	182	175	4
t5	238	176	169	170	166	179	179	173	5
t6	286	175	171	171	164	176	184	173	6

Lote da Amostra	Tempo (h)	Fipronil -Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t0	0	167	160	167	160	175	177	167	7
t1	48	169	171	150	149	164	162	163	8
t2	96	171	170	166	170	188	187	171	9
t3	142	177	172	162	168	180	182	175	7
t4	190	169	175	171	174	177	182	175	4
t5	238	176	169	170	166	179	179	173	5
t6	286	175	171	171	164	176	184	173	6

Tabela 6: Dados do experimento 5.

Lote da Amostra	Tempo (dias)	Fipronil -Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t único	11	162	160	160	159	157	154	159	2

Lote da Amostra	Tempo (dias)	Fipronil + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t único	11	157	155	149	150	158	158	156	4

Lote da Amostra	Tempo (dias)	2,4-D - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t único	11	1317	1309	1323	1342	1316	1319	1318	10

Lote da Amostra	Tempo (dias)	2,4-D + PEBD - Concentração (µg/L)						Média	Desvio padrão
		3	3	2	2	1	1		
t único	11	1226	1244	1288	1268	1252	1249	1250	19

Segundo os resultados obtidos após a análise de cada experimento, as taxas de perda de fipronil em porcentagem foram calculadas, seguindo a equação  $(C/C_0) \times 100\%$ , sendo C a média da concentração do fipronil ou 2,4-D em determinado t e  $C_0$  a média da concentração do fipronil ou 2,4-D inicial do experimento, assim calculando a média aritmética das taxas de perda de fipronil calculadas em cada tempo para que se discuta a possibilidade da sorção pelo PEBD. À partir disso, no o experimento 1 (Tabela 2), para a solução com apenas fipronil, a perda de massa é de 17% e para a solução de fipronil + PEBD uma perda de massa de 18,2%, podendo essa maior porcentagem de perda ser justificada pela sorção no PEBD ou no vidro âmbar, ou também pela possível degradação do fipronil durante seu armazenamento no frasco. Já para todos os demais experimentos (Tabelas 3-5), exceto o 5, as médias da concentração do fipronil aumentam conforme o tempo de coleta das amostras, fato que não era o esperado, pois a tendência é de que haja diminuição ou mantenha uma constância nos valores de médias, já que nenhuma adição de fipronil nos frascos ocorre para que esses aumentos sejam justificados. A justificativa desses valores indicados pode ser erros no momento da injeção no LC-MS/MS, erros no próprio equipamento, ou por as amostras permanecerem imóveis sem agitação, as soluções poderiam estar não homogeneizadas, causando diferenças de concentração por toda a solução. Por conta desses resultados, suas taxas de perda de fipronil não foram calculadas, já que os dados não indicam perda. Para o experimento 5, não foi possível o cálculo da taxa de perda de fipronil, pois houve apenas uma única coleta 11 dias após a montagem do experimento.

Os gráficos a seguir mostram os pontos das médias das concentrações das soluções com fipronil e das com fipronil + PEBD em relação ao tempo em que as amostras foram coletadas:

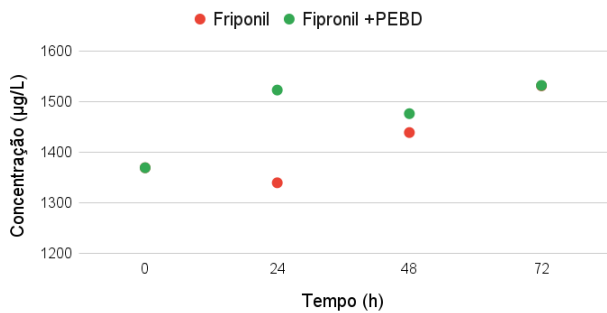


Gráfico 1: Gráfico correspondente ao experimento 1.

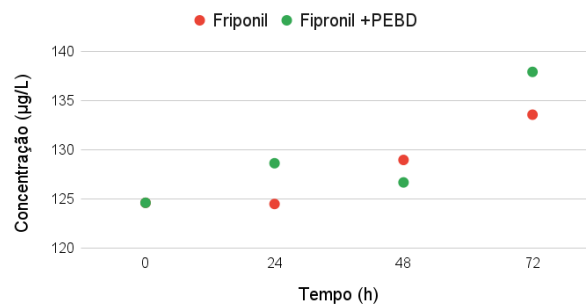


Gráfico 2: Gráfico correspondente ao experimento 2.

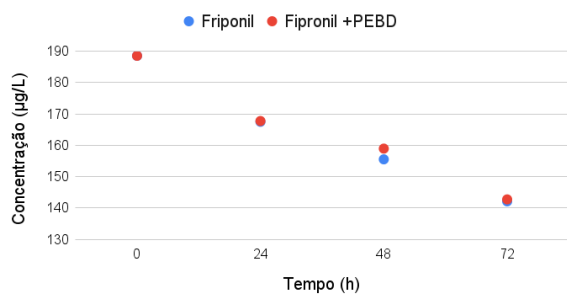


Gráfico 3: Gráfico correspondente ao experimento 3.

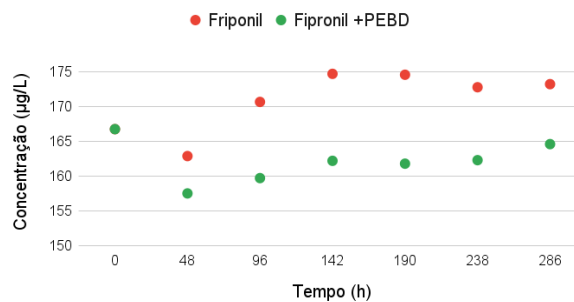


Gráfico 4: Gráfico correspondente ao experimento 4.

Como apenas um único experimento foi realizado com 2,4-D, não foi possível concluir se a sorção ocorreu de fato ou não, já que não foi possível a construção de uma curva cinética para o cálculo da taxa de sorção, pois não foram coletadas amostras o bastante.

Com base no experimento de Wenwen Gong, em 2019, no qual análises da taxa de sorção de fipronil (pureza 98,5%) em microplásticos com tamanho de 75-150 µm de PEBD e PP foram realizadas à partir de amostras contidas em recipientes de vidro de 20,0 mL, contendo 10 mg de microplásticos e solução de fipronil com concentração variando de 0 a 300 mg/L. As misturas foram agitadas durante 4 a 5 dias no escura a 25°C. Amostras foram retiradas periodicamente de cada recipiente e passadas por filtros de fibra de vidro Whatman GF/C de 0,25 mm para posterior tratamento dos dados, atingindo o equilíbrio cinético em aproximadamente 48h (Wenwen Gong et al., 2019). Como mostrado na Figura 1, a tendência é que as capacidades de sorção do fipronil no PP sejam maiores que em PEBD.

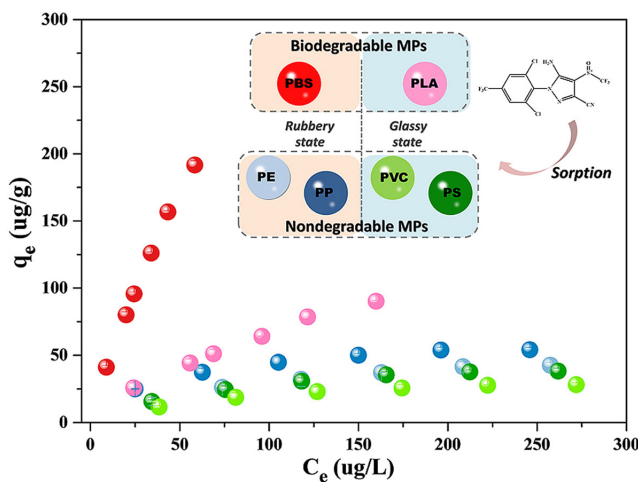


Figura 1: Gráfico apresentando a taxa de sorção do fipronil em diversos tipos de plástico, incluindo PE e PP.

Pesquisadores da Universidade de Cambridge realizaram um estudo em diversas fazendas, para se analisar se a irrigação por aspersão apresenta a capacidade de remover os herbicidas 2,4-D e dicamba da superfície da cobertura de plantações de PEBD. O estudo foi realizado aplicando ambos herbicidas diretamente sobre a cobertura plástica de canteiros de plantações usando um pulverizador. Para quantificar a remoção de 2,4-D ou dicamba com irrigação, amostras de cobertura morta foram coletadas aproximadamente 2 horas após a

aplicação do herbicida e novamente após a irrigação por aspersão, mas antes do plantio da cultura, totalizando duas amostras por parcela tratada. A irrigação por aspersão reduziu significativamente as concentrações de ambos os herbicidas para menos de 12% da concentração original. As concentrações de dicamba, mesmo aplicando metade da concentração em relação ao 2,4-D, permaneceram na cobertura morta em mais de 3,5 vezes do que o observado com 2,4-D (Hand, L. et al, 2021). Portanto, o mais esperado como resultado seria a não sorção, ou em uma mínima taxa, do composto nos pedaços de polietileno presentes nos experimentos, já que pelo estudo, o 2,4-D não se retém na superfície do PEBD de uma maneira que seja difícil de o remover.

## CONCLUSÃO E PRÓXIMAS ETAPAS

Com isso, a sorção do fipronil não pode ser confirmada pelos ensaios realizados até o momento, já que apenas com experimento 1 foi possível o cálculo e a comparação das médias das taxas de perda de fipronil, na solução pura e na solução com o PEBD. Além disso, não há uma confirmação de que de fato esse aumento da média de perda de fipronil para a solução de fipronil com PEBD em relação a taxa da solução pura é de fato justificável pela sorção no plástico, já que a sorção no vidro âmbar ou a degradação podem ser motivos.

Os próximos experimentos a serem realizados para elucidar esses pontos de dúvidas dos primeiros experimentos serão realizados com a presença de polipropileno, seguindo exatamente o mesmo protocolo de análise e tratamento de dados. Podendo assim, concluir se houve sorção ou não de ambos os compostos pelo material do tanque. As amostras serão analisadas da mesma maneira por LC-MS/MS, e depois comparadas com os resultados obtidos nos experimentos com PEBD.

## BIBLIOGRAFIA

Uber, Tobias H.; Hüffer, Thomas; Planitz, Sibylle; Schmidt, Torsten C. Characterization of sorption properties of high-density polyethylene using the poly-parameter linear-free-energy relationships. *Environmental Pollution*, [S. l.], v. 248, p. 312-319, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.024>

Beuter, L.-K., Dören, L., Hommen, U., Kotthoff, M., Schäfers, C., Ebke, K.P., 2019. Testing effects of pesticides on macroinvertebrate communities in outdoor stream mesocosms using carbaryl as example test item. *Environ. Sci. Eur.* 31, 5. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0185-1>

Bejarano, A.C., Pennington, P.L., DeLorenzo, M.E., Chandler, G.T., 2005. Atrazine effects on meiobenthic assemblages of a modular estuarine mesocosm. *Mar. Pollut. Bull.* 50, 1398–1404. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.012>

Finnegan, M.C., Emburey, S., Hommen, U., Baxter, L.R., Hoekstra, P.F., Hanson, M.L., Thompson, H., Hamer, M., 2018. A freshwater mesocosm study into the effects of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam at multiple trophic levels. Finnegan, M. C.; Emburey, S.; Hommen, U.; Baxter, L. R.; Hoekstra, P. F.; Hanson, M. L.; Thompson, H.; Hamer, M.; *Environ. Pollut.* 2018. *Environ. Pollut.* 242, 1444–1457. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.096>

Wenwen Gong, Mengyun Jiang, Ping Han, Gang Liang, Tingting Zhang, Guannan Liu, Comparative analysis on the sorption kinetics and isotherms of fipronil on nondegradable and biodegradable microplastics, *Environmental Pollution*, Volume 254, Part A, 2019, 112927, ISSN 0269-7491. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.095>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119305317>)

Zhiwei Zhan, Jundong Wang, Jinping Peng, Qilai Xie, Ying Huang, Yifan Gao, Sorption of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl by microplastics: A case study of polypropylene, *Marine Pollution Bulletin*, Volume 110, Issue 1, 2016, Pages 559-563, ISSN 0025-326X, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.036>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X16303381>)

Ochiai, H., Gekko, K. and Yamamura, H. (1971), Sorption properties of polypropylene. *J. Polym. Sci. A-2 Polym. Phys.*, 9: 1629-1640. <https://doi.org/10.1002/pol.1971.160090906>

Goulart, Bianca V., DESTINO E TRANSPORTE DE FIPRONIL E 2,4-D NO AMBIENTE DURANTE O MANEJO DE CANA-DE-AÇÚCAR E PASTAGENS, 2023

Primeplas, Saiba qual é a diferença entre polipropileno e polietileno, 2020, <https://primeplas.com.br/saiba-qual-e-a-diferenca-entre-polipropileno-e-polietileno/>

Hand, L., Eason, K., Randell, T., Grey, T., & Culpepper, A. (2021). 2,4-D and dicamba removal from the surface of plastic mulch using overhead irrigation: Analytical analysis and cucurbit bioassay crop response. *Weed Technology*, 35(4), 662-668. <https://doi.org/10.1017/wet.2021.48>