

## MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA MONITORAMENTO DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL DE PESTICIDAS NA REGIÃO DE BAURU (SP) USANDO MEL COMO BIO-INDICADOR

Sandra Regina Rissato\* e Mário Sérgio Galhiane

Departamento de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 473, 17033-360 Bauru - SP, Brasil

Fátima do Rosário Naschenveng Knoll

Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista, 17033-360 Bauru - SP, Brasil

Rita Mickaela Barros de Andrade

Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, 60040-531 Fortaleza - CE, Brasil

Marcos Vinícius de Almeida

Departamento de Bioengenharia, Universidade de São Paulo, 13566-590 São Carlos - SP, Brasil

Recebido em 9/6/05; aceito em 2/12/05; publicado na web em 14/6/06

MULTIRESIDUE METHOD FOR MONITORING ENVIRONMENTAL CONTAMINATION BY PESTICIDES IN THE BAURU REGION (SP) USING HONEY AS BIOINDICATOR. The presence of residues of the major groups of pesticides (organohalogen, organophosphorous, pyrethroids and organonitrogen) in representative samples of honey produced in Bauru (state of São Paulo, Brazil) was investigated from 1999 through 2004. A multiresidue method was applied to honey samples to determine 48 pesticides with recoveries ranging from 76 to 95%. The limits of detection found were lower than 10 µg/kg for GC-MS-SIM. The results indicated that most pesticides found in the samples belonged to the organohalogen and organonitrogen groups. Residues of malathion were detected in almost all of the samples in high concentration.

Keywords: multiresidue pesticide; honey; environmental contamination.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, segundo dados da APACAME (Associação Paulista de Apicultores, Criadores de Abelhas Melíficas Europeias) as estatísticas sobre a cadeia apícola revelam que, em 2003, existiam 80.000 apicultores, dos quais 85% eram considerados pequenos (10 a 20 colméias) e praticavam a apicultura fixa e os 15% restantes eram considerados apicultores profissionais (média de 400 colméias) e praticavam a apicultura migratória. As 1.600.000 colméias habitadas pelas abelhas africanizadas produzem 35.000 t de mel/ano; no entanto, o potencial de produção é estimado em 200.000 t de mel/ano. Atualmente, as exportações brasileiras de mel triplicaram e o mercado atual dos produtos apícolas no país é de US\$ 360 milhões, valor muito aquém do potencial, avaliado em US\$ 1 bilhão<sup>1,2</sup>.

As abelhas domésticas (*Apis mellifera*) executam a tarefa vital de polinização das colheitas agrícolas e das espécies nativas, e são importantes para a produção comercial do mel e de produtos apícolas. A cada dia, de 10.000 a 25.000 abelhas operárias fazem uma média de 10 viagens para explorar aproximadamente 7 km<sup>2</sup> nas áreas que cercam seu habitat, recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores. Durante este processo, diversos microorganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados por estas trabalhadoras e ficam retidos nos pelos superficiais de seu corpo ou são inalados e unidos em seu aparelho respiratório. Devido a estes fatores, as abelhas podem ser usadas como bio-indicadores para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos, tais como parasitas, contaminações industriais ou pesticidas<sup>3,4</sup>. Além disso, quase todos os

setores ambientais (solo, vegetação, água, ar) são explorados pelas abelhas produtoras de mel, fornecendo numerosos indicadores para cada estação<sup>3</sup> (Figura 1).

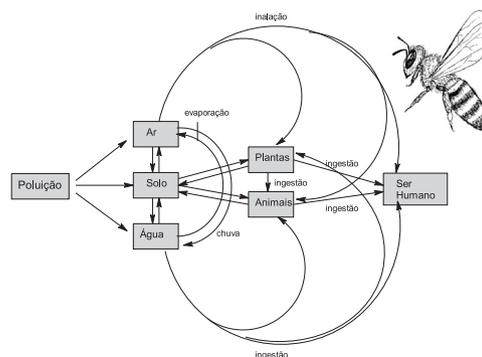


Figura 1. Representação da difusão de substâncias poluentes no ambiente

A produção de mel oriundo de floradas silvestres está se tornando cada vez mais escassa no Brasil e no mundo. Por esse motivo, atualmente o desenvolvimento da apicultura está cada vez mais dependente das culturas agrícolas e florestais nas quais, em alguns casos, são utilizados pesticidas de maneira inadequada<sup>4</sup>.

O monitoramento de resíduos de pesticidas no mel auxilia na avaliação do potencial de risco destes produtos à saúde do consumidor e fornece informações sobre o uso de pesticidas nos campos de colheita e em suas vizinhanças.

A concentração máxima de resíduos de pesticidas permitida legalmente no mel, LMR, foi estabelecida por regulamentos de diferentes países. Alemanha, Itália, e Suíça ajustaram o LMR para

\*e-mail: srissato@fc.unesp.br

amitraz, bromopropilato, coumafós, ciamizol, flumetrina e fluvalinato, que oscilaram entre 0,01 e 0,1 mg/kg na Alemanha, 5 e 500 mg/kg na Suíça, e 10 mg/kg na Itália<sup>5</sup>. Até agora, os limites máximos de resíduos de pesticidas no mel não foram incluídos no Codex Alimentarius<sup>6</sup>. A legislação da união européia (EU) regulou o LMR para três acaricidas, amitraz, coumafós e ciamizol, em 0,2, 0,1, e 1 mg/kg, respectivamente<sup>7</sup>, e a agência de proteção ambiental dos EUA<sup>8</sup> estabeleceu LMR para amitraz (1 mg/kg), coumafós (0,1 mg/kg) e fluvalinato (0,05 mg/kg).

Os programas de determinação de resíduos dos pesticidas para monitoramento de mel são concentrados na determinação dos resíduos de acaricidas que são usados para controlar o *Varroa jacobsoni*, um ácaro parasítico que afeta as colônias da abelha doméstica<sup>9-11</sup>. Somente alguns estudos foram focalizados nos pesticidas usados para a proteção de plantações e introduzidos em colméias pelas abelhas e por cera contaminada<sup>12-14</sup>.

Um método multirresíduo capaz de detectar e quantificar os pesticidas, em um período de tempo relativamente curto, compreendendo etapas mínimas de extração e de clean-up é crucial para um programa de monitoramento eficiente<sup>15</sup>.

Os pesticidas no mel são geralmente extraídos com um solvente orgânico<sup>16,17</sup>, ou em fase-sólida pela passagem através de cartuchos de octadecilsilano<sup>18,19</sup>, após a diluição da amostra do mel em água. O clean-up é necessário na pré-concentração da amostra, o qual reduz o limite de quantificação do método e/ou evita interferências da matriz. O clean-up extensivo dos extratos pode resultar na perda parcial de alguns compostos e aumentar as demandas de trabalho e de custo. O clean-up inadequado pode conduzir aos efeitos adversos relacionados à qualidade dos dados gerados, tais como co-eluição de componentes da matriz com picos do analito de interesse, ocorrência de picos falsos e quantificação incorreta. Os interferentes mais comuns que atualmente estão presentes em extratos apícolas são lipídios, pigmentos e carboidratos. As técnicas de clean-up da amostra mais convenientes para o processo incluem cromatografia de permeação em gel<sup>20</sup>, partição líquido-líquido<sup>21</sup>, extração em fase-sólida (SPE)<sup>22,23</sup> e cromatografia de adsorção (usando sílica, florisil, carvão ativo, alumina, sílica gel/carvão ativo)<sup>24</sup>.

Este trabalho apresenta um rápido e simples método multirresíduo para determinar e confirmar simultaneamente 48 pesticidas de diferentes classes: organoclorados, organofosforados, organonitrogenados e piretróides em amostras de mel. O apiário produtor do mel em estudo está localizado em reserva ecológica na cidade de Bauru (estado de São Paulo, Brasil), a qual é circundada por intensa área de agricultura. Pelo programa de monitoramento executado, observou-se a tendência temporal da contaminação por pesticidas em amostras de mel. Abelhas domésticas (*Apis mellifera*) foram utilizadas como indicadores da contaminação ambiental ocorrida durante 6 anos (período de 1999/2004).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reagentes

Todos os solventes utilizados foram Mallinkrodt (Merck) grau pesticida. A água deionizada foi de grau Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, USA), produzida a 18,5 MΩ cm<sup>-1</sup>.

As soluções estoque foram preparadas a partir dos padrões de referência certificados (pureza ≥ 98%, todos Dr. Ehrenstorfer, Alemanha) dissolvidos em acetona na concentração de 1 mg/L e as soluções de trabalho foram obtidas a partir da diluição da solução estoque para os estudos de fortificação das amostras.

Para a extração em fase sólida (SPE) foram utilizados cartuchos Florisil 500 mg (J. T. Baker).

### Amostras

Uma amostra não contaminada de mel foi selecionada para utilização nos experimentos de validação. As amostras de mel foram coletadas em um apiário em Bauru durante a safra (setembro e dezembro) de 1999 a 2004.

As amostras de mel, de 500 a 1000 g, foram coletadas em frascos de vidro, estocadas em geladeira a 10 °C e armazenadas até o momento da extração.

### Extração

Em trabalho prévio, um método multirresíduo para análise de pesticidas em mel foi desenvolvido e mostrou boa eficiência na separação de 32 compostos de diferentes classes<sup>25</sup>. No presente trabalho, este método foi ampliado com a inserção de mais 15 compostos, visando expandir o intervalo de aplicabilidade ou "screening" multirresíduo em amostras de mel.

A extração dos pesticidas de diferentes classes foi realizada a partir de uma porção de 10 g de mel, a qual foi fortificada nos estudos de recuperação pipetando-se volumes apropriados da solução de trabalho contendo 48 pesticidas estudados, para atingir a concentração final de 100 µg/kg. A amostra de mel foi misturada e homogeneizada com 5 mL de água, com o objetivo de diminuir sua viscosidade e facilitar o manuseio. Em seguida, 50 mL de acetato de etila foram adicionados à amostra e a mistura foi submetida à agitação constante, por 20 min. A fase orgânica foi separada por centrifugação a 2500 rpm, por 10 min, e então coletada. A amostra foi re-extraída com 40 mL de acetato de etila e o procedimento foi repetido.

Os extratos obtidos foram combinados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a 60 °C sendo, em seguida, o solvente remanescente evaporado sob fluxo de nitrogênio. O resíduo obtido foi solubilizado em 5 mL de acetato de etila, filtrado em PTFE 0,50 µm e submetido à etapa de limpeza.

### Limpeza

A limpeza das amostras foi realizada em um sistema Supelco usando cartuchos de Florisil, os quais foram condicionados com aproximadamente 5 mL de acetona. A eluição dos 48 pesticidas de diferentes classes foi realizada por gravidade com duas porções de 10 mL de hexano/acetato de etila (50:50, v/v). O extrato obtido foi submetido à concentração sob fluxo de nitrogênio, o resíduo solubilizado em 1 mL de acetato de etila e submetido à análise por GC/MS.

### GC/MS

Os extratos obtidos foram submetidos à análise por cromatografia à gás em Cromatógrafo HP 5890 Series II equipado com um detector seletivo de massas (quadropolo) HP 5972, operado em modo íon seletivo (SIM). A coluna utilizada para as análises foi a LM-5 (sílica fundida) metil silicone com 5% de grupos fenila (35 m x 0,25 mm d.i., espessura do filme 0,25 µm) e o gás de arraste foi He, com vazão constante de 1,0 mL/min. A programação de temperatura do forno foi 60 °C (1 min), 25 °C/min, 150 °C, 3 °C/min, 200 °C, 8 °C/min, 290 °C (8 min), temperatura do detector 300 °C, temperatura do injetor 250 °C, operado no modo "splitless" e volume de injeção de 1 µL. Os parâmetros de espectrometria de massa foram impacto de elétrons a 70 eV, temperatura da fonte 250 °C, linha de transferência 290 °C, eletromultiplicador a 1200 V, velocidade de varredura 1,5 scan/s, no intervalo de massa 40-600 m/z.

Com o objetivo de determinar a sensibilidade da técnica e sua conveniência para o estudo de monitoramento de poluição ambiental, os limites de detecção (LD) das análises GC-MS e os limites de quantificação (LQ) foram calculados para os pesticidas estudados em amostras de mel fortificadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Validação do método

Os resultados obtidos para os estudos de recuperação estão relacionados na Tabela 1. A precisão do método foi avaliada com relação à repetibilidade pela determinação do desvio padrão relativo (DPR), mediante o estudo das amostras fortificadas em quintuplicata. Os resultados de recuperação mostraram valores que variaram de 76 a 95% e DPR menores que 7% para os 48 pesticidas estudados.

Os limites de detecção e de quantificação determinados para os pesticidas estudados no método proposto encontram-se relacionados na Tabela 1. O LD foi calculado como o menor nível de concentração no qual o pesticida foi consistentemente identificado com uma razão sinal-ruído ( $S/N$ ) $\geq 3,5$ . O LQ foi calculado como o menor nível de concentração onde os compostos estudados foram quantificados com grande margem de confiabilidade e razão sinal/ruído ( $S/N$ ) $\geq 10$ , sendo o coeficiente de variação  $\leq 10\%$  ( $n=5$ ). Todos os resultados foram calculados baseados em determinações realizadas através da resposta do detector e pelo monitoramento dos respectivos fragmentos iônicos de cada composto ( $m/z$ ) no modo SIM (Tabela 1).

O LQ apresentou resultados entre 0,8 e 8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para a maioria dos pesticidas estudados, exceto para alacloro, atrazina, metolacoloro, prometrina, pirimifós-metilico e pirazofós, onde os valores variaram de 12 a 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Visando estudar o efeito de matriz frente aos pesticidas avaliados, foi realizada uma comparação entre curvas de calibração obtidas em solvente e pela adição do padrão à matriz solubilizada em acetato de etila. Os resultados mostraram que a resposta relativa para a curva de calibração obtida na presença da matriz e somente com solvente foi significativamente maior, provavelmente devido à presença de traços de açúcares e/ou outros interferentes provenientes da amostra.

A quantificação dos pesticidas foi realizada pelo método do padrão externo, sendo que a resposta do detector foi linear no intervalo estudado, apresentando coeficiente de correlação maior que 0,997 para todos os compostos (Tabela 1). Novas curvas de calibração foram criadas antes de cada evento de análise do mel, assim como amostras do branco fortificadas no nível 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  foram analisadas simultaneamente, visando verificar a eficiência e a repetibilidade dos processos de extração. Com o objetivo de verificar a calibração geral dos equipamentos e possíveis contaminações, um branco do solvente e uma solução padrão contendo todos os pesticidas estudados foram submetidos a todo o procedimento analítico no início de cada estudo.

### Aplicação do método desenvolvido em amostras reais

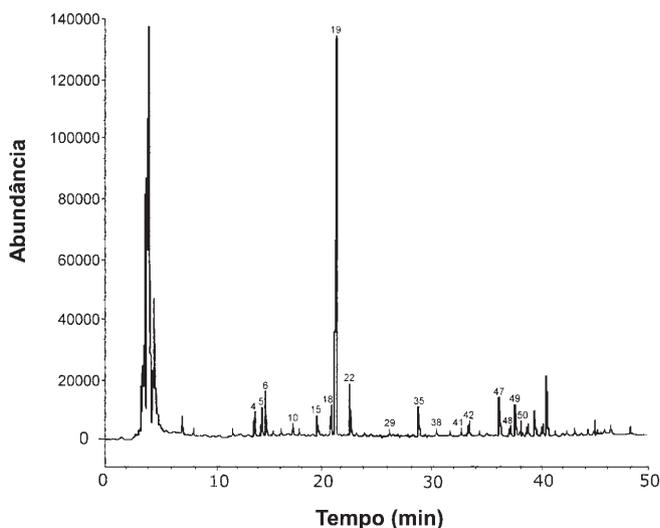
A aplicação do método desenvolvido foi realizada em amostras de mel, provenientes de uma reserva ecológica próxima a uma extensa área de horticultura em Bauru.

Toda a metodologia, desde a obtenção da colméia, manutenção da saúde bioquímica da mesma e eliminação de interferentes naturais (fungos, bactérias e insetos), foi realizada por uma equipe especializada de biólogos. O controle das condições das colméias foi de grande importância no programa de monitoramento do uso de

pesticidas por pequenos e médios agricultores e horticultores da região, por um período de 6 anos, compreendido entre 1999 a 2004, para que o mel coletado das colméias pudesse ser utilizado como bio-indicador.

A maior parte das amostras estudadas apresentou resíduos de organoalogenados (endossulfan sulfato, hexaclorobenzeno e tetradifom) e organonitrogenados (atrazina, simazina e tebuconazol), sendo que as maiores concentrações destes pesticidas foram encontradas em amostras coletadas nos anos de 2003 e 2004 (Tabela 2).

A presença de resíduos de alguns desses compostos pode ser atribuída a aplicações arbitrárias em áreas de intensa agricultura, que se localizam nas proximidades do apiário. A Figura 2 apresenta o cromatograma obtido de uma amostra de mel coletada no apiário, em 2004.



**Figura 2.** Cromatograma GC-MS-SIM de uma amostra de mel coletada no apiário localizado na reserva ecológica em Bauru, em 2004 (ver condições na parte experimental): 1- diclorvos; 2- linuron; 3- trifluralina; 4- hexaclorobenzeno; 5- simazina; 6- atrazina; 7- lindano; 8- terbutilazina; 9- diazinona; 10- clorotalonil; 11- metribuzina; 12- paration metílico; 13- alacloro; 14- prometrina; 15- dicofol; 16- fenitrotion; 17- pirimifós-metilico; 18- aldrin; 19- malation; 20- metolacoloro; 21- fention; 22- clorpirifós; 23- triadimefon; 24- imazalil; 25- pendimatalina; 26- fentoato; 27- procimidona; 28- metidation; 29- endossulfan alfa; 30- profenofós; 31- ciproconazol; 32- endossulfan beta; 33- etion; 34- benalaxil; 35- endossulfan sulfato; 36- hexazinona; 37- bromopropilato; 38- propiconazol; 39-  $\gamma$ -cialotrina; 40- pirazofós; 41- tebuconazol; 42- procloraz; 43, 44, 45- ciflutrina; 46- metoxicloro; 47- tetradifom; 48, 49, 50- cipermetrina; 51, 52- fluvalinato

Apesar do uso intensivo de organofosforados na agricultura, resíduos dessa classe não foram encontrados nas amostras estudadas. Entretanto, altas concentrações de malation foram detectadas em amostras de mel, a partir de 2001. Este fato pode estar relacionado à intensa aplicação deste pesticida em aplicações que ocorreram, durante o período estudado, para controle do mosquito transmissor da dengue (*Aedes aegypti*).

Pelos resultados obtidos foi possível constatar que a contaminação das áreas vizinhas ao apiário, as quais distam cerca de 3 km, determinaram o tipo e a concentração de pesticidas encontrados nas amostras do mel estudado. Esse trabalho mostra o potencial do mel como bio-indicador, podendo o presente estudo ser aplicado a qualquer outra região e fontes de poluição.

**Tabela 1.** Tempos de retenção ( $t_R$ ), limites de detecção (LD,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), limites de quantificação (LQ,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), íons monitorados ( $m/z$ ), recuperação (%) (desvio padrão relativo (%), ( $n=5$ )) e coeficientes de correlação para os pesticidas estudados

Pesticidas	$t_R$ (min)	LD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Íons monitorados ( $m/z$ )	Recuperação (%) (DPR)	Coefficiente de Correlação
<i>Organoalogenados</i>						
Aldrim	20,91	2,0	8,0	263; 293; 329	82 (6,3)	1,000
Bromopropilato	30,03	0,5	1,5	149; 167; 279	80 (4,5)	0,999
Clortalonil	17,13	1,6	5,0	263; 293; 329	91 (3,9)	0,997
Dicofol	19,63	1,0	4,0	111; 139; 251	76 (6,8)	0,999
Endosulfan Alfa	26,11	0,4	1,5	237; 265; 339	92 (4,6)	0,998
Endosulfan Beta	27,31	1,5	5,0	214; 249; 284	93 (5,2)	0,999
Endosulfan Sulfato	28,74	2,0	8,0	181; 183; 109	88 (5,8)	0,998
Hexaclorobenzeno	13,67	1,5	6,0	227; 274; 374	84 (7,0)	0,997
Lindano	15,19	1,5	5,0	159; 229; 356	90 (6,3)	0,998
Metoxicloro	35,62	1,5	6,0	263; 293; 329	77 (3,7)	1,000
Tetradifom	36,20	0,5	2,0	149; 167; 279	78 (4,4)	0,998
<i>Organonitrogenados</i>						
Alacloro	18,73	4,0	15,0	160; 188; 143	91 (6,2)	0,999
Atrazina	14,71	5,0	18,0	215; 200; 173	93 (5,8)	0,997
Benalaxil	28,35	0,2	1,0	148; 206; 91	86 (4,1)	0,997
Ciproconazol	26,96	0,2	1,0	222; 139; 73	95 (3,7)	0,999
Hexazinona	29,37	0,5	1,5	171; 128; 83	92 (6,0)	0,998
Imazalil	23,81	0,5	1,5	173; 215; 296	82 (5,5)	0,997
Linurom	9,86	0,2	10,0	61; 160; 248	94 (5,9)	0,999
Metolacoloro	21,84	5,0	18,0	162; 211; 238	89 (6,8)	0,997
Metribuzina	17,52	0,3	1,2	198; 144; 182	81 (5,7)	0,998
Pendimetalina	24,28	0,5	1,5	252; 281; 220	83 (5,3)	0,998
Procloraz	33,54	1,0	3,0	180; 266; 308	93 (5,9)	0,999
Procimidona	25,19	1,0	4,0	283; 285; 96	86 (4,7)	0,997
Prometrina	19,22	4,0	12,0	241; 184; 226	89 (3,5)	1,000
Propiconazol	30,57	0,2	1,0	173; 221; 259	79 (4,1)	0,999
Simazina	14,23	1,5	5,0	201; 186; 173	80 (5,6)	0,997
Tebuconazol	32,91	0,2	1,0	125; 250; 307	91 (4,9)	1,000
Terbutilazina	15,79	1,3	4,5	214; 229; 173	87 (3,9)	0,999
Triadimefom	23,25	0,5	2,2	57; 208; 293	85 (3,8)	0,998
Trifluralina	12,88	1,0	4,0	160; 188; 143	88 (6,2)	0,999
<i>Organofosforados</i>						
Clorpirifós	22,83	0,8	3,0	97; 197; 314	91 (6,6)	0,997
Diazinona	16,18	0,2	1,0	88; 179; 304	86 (6,2)	0,999
Diclorvos	9,02	1,0	4,0	109; 185; 220	90 (5,0)	0,998
Etion	27,93	0,2	0,8	231; 384; 153	78 (4,2)	0,999
Fenitrotrion	20,08	1,0	4,0	277; 125; 109	77 (5,9)	0,997
Fention	22,45	0,8	3,0	278; 125; 109	84 (3,6)	0,997
Malation	21,36	0,2	1,0	173; 127; 125	92 (4,7)	0,998
Metidation	25,61	0,2	0,8	145; 85; 302	93 (5,2)	1,000
Paration Metílico	18,25	1,0	3,5	263; 125; 109	86 (7,0)	0,999
Fentoato	24,72	0,6	2,5	274; 246; 125	76 (6,6)	0,998
Pirimifós Metílico	20,44	5,0	20,0	276; 305; 290	93 (4,1)	1,000
Profenofós	26,39	0,8	3,0	208; 339; 139	81 (3,8)	0,997
Pirazofós	32,46	4,0	15,0	221; 232; 373	84 (5,9)	0,998
<i>Piretróides</i>						
$\lambda$ -cialotrina	31,24	1,5	5,0	181; 197; 199	92 (4,1)	0,998
Ciflutrina	33,90	1,2	4,0	163; 206; 226	83 (5,8)	0,999
	34,25					
	34,82					
Cipermetrina	37,12	1,8	6,0	163; 181; 209	85 (4,9)	0,997
	37,53					
	38,01					
Fluvalinato	41,46	2,5	8,0	250; 181; 252	88 (6,3)	1,000
	41,98					

**Tabela 2.** Resíduos dos pesticidas estudados ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) encontrados em amostras de mel da reserva ecológica de Bauru (SP) no período de 1999 a 2004

Pesticidas	Resíduo ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )					
	1999	2000	2001	2002	2003	2004
<i>Organoalogenados</i>						
Aldrim	ND	ND	ND	<8,0	ND	21,0
Bromopropilato	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Clorotalonil	ND	ND	<5,0	ND	8,0	<5,0
Dicofol	ND	ND	ND	ND	<4,0	8,0
Endosulfan Alfa	ND	ND	ND	2,0	ND	<1,5
Endosulfan Beta	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endosulfan Sulfato	ND	ND	20,0	24,0	27,0	24,0
Hexaclorobenzeno	ND	ND	ND	ND	18,0	16,0
Lindano	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Metoxicloro	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tetradifom	21,0	5,0	<2,0	20,0	8,0	12,0
<i>Organonitrogenados</i>						
Alacloro	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Atrazina	ND	ND	50,0	70,0	ND	81,0
Benalaxil	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ciproconazol	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hexazinona	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Imazalil	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Linurom	ND	<1,0	<1,0	ND	ND	ND
Metolacloro	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Metribuzina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pendimetalina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Procloraz	ND	ND	ND	ND	ND	4,0
Procimidona	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prometrina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Propiconazol	ND	ND	ND	ND	ND	<1,0
Simazina	ND	ND	ND	ND	17,0	15,0
Tebuconazol	<1,0	1,2	20,0	21,0	3,0	<1,0
Terbutilazina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Triadimefom	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Trifluralina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Organofosforados</i>						
Clorpirifós	ND	22,0	ND	11,0	12,0	15,0
Diazinona	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Diclorvos	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Etion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenitrotrion	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fention	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Malation	ND	ND	51,0	73,0	243,0	209,0
Metidation	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Paration Metílico	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fentoato	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimifós Metílico	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Profenofós	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pirazofós	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Piretróides</i>						
$\lambda$ -cialotrina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ciflutrina*	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cipermetrina*	ND	32,0	21,0	24,0	ND	92,0
Fluvalinato*	ND	ND	ND	ND	ND	ND

\*Quantificação realizada a partir da soma das áreas dos picos dos isômeros. ND - não detectado

## CONCLUSÃO

O método multirresíduo para determinação e confirmação simultânea de 48 pesticidas de diferentes classes apresentou níveis de recuperação acima de 76% para as amostras de mel e ótima repetibilidade, com resultados de coeficiente de variação menores que 7%.

As principais vantagens do método desenvolvido no presente trabalho são facilidade no tratamento da amostra, rapidez na realização das mesmas e, principalmente, a possibilidade de identificação de um grande número de moléculas de diferentes pesticidas, de maneira concomitante.

A metodologia analítica desenvolvida para amostras de mel pode ser largamente utilizada com diferentes objetivos como controle de qualidade do mesmo para consumo humano ou como bio-indicador de possível contaminação regional para uma área de até 30 km<sup>2</sup>.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Sommer, P. G.; *Congresso Brasileiro de Apicultura*, Campo Grande, Brasil, 2002.
- Reis, V. D. A.; *Mel Orgânico: Oportunidades e Desafios para a Apicultura no Pantanal*, Embrapa Pantanal, Corumbá, Brasil, 2003.
- Winston, M. L.; *The Biology of the Honey Bee*, Harvard University Press: Cambridge, Mass., 1987.
- European Community; Brussels (1990) EC Council Directive 90/642/EEC of November 27, 1990, *Official Journal of European Communities*, L350, 0071.
- Bogdanov, S.; *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **1999**, 90, 108.
- Codex Alimentarius; Draft revised for honey at step 6 of the Codex Procedure. CX 5/10.2, CL 1998/12-S, 1998.
- Commission Regulation (EC) No. 2377/90 of 26 June 1990; ECC N° 2034/96 (OJ L272 25.10.1996, p. 2), N°2686/98 (OJ L337 12.12.1998, p. 20) N°. 1931/99 (OJ L240 10.09.1999, p. 3), and N°. 239/99(OJ L 290 12.11.1999, p. 5).
- <http://www.cfsan.fda.gov>, acessada em Junho 2005.
- Ruffinengo, S.; Eguaras, M.; Floris, I.; Faverin, C.; Bailac, P.; Ponzi, M.; *J. Econ. Entomol.* **2005**, 98, 651.
- Menkissoglu-Spiroundi, U.; Tsigouri, A. D.; Diamantidis, G. C.; Thrasylvoulou, A. T.; *Fresenius Environ. Bull.* **2001**, 5, 445.
- Satta, A.; Floris, I.; Eguaras, M.; Cabras, P.; Garau, V.L.; Melis, M.; *J. Econ. Entomol.* **2005**, 98, 267.
- Brown, P. M.; Turnbull, G.; Charman, S.; Charlton, A. J.; Jones, A.; *J. AOAC Int.* **2005**, 88, 204.
- Herrera, A.; Perez-Arquillue, C.; Conchello, P.; Bayarri, S.; Lazaro, R.; Yague, C.; Arino, A.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 381, 695.
- Faucon, J. P.; Aurieres, C.; Drajnudel, P.; Mathieu, L.; Ribiere, M.; Martel, A. C.; Zeggane, S.; Chauzat, M. P.; Aubert, M. F.; *Pest Manage. Sci.* **2005**, 61, 111.
- Albero, B.; Sánchez-Brunete, C.; Tadeo, J. L.; *Talanta* **2005**, 66, 917.
- Martel, A.C.; Zeggane, S.; *J. Chromatogr., A* **2002**, 954, 73.
- Blasco, C.; Lino, C. M.; Picó, Y.; Pena, A.; Font, G.; Silveira, M. I. N.; *J. Chromatogr., A* **2004**, 1049, 155.
- Martel, A. C.; Zeggane, S.; *J. Chromatogr., A* **2002**, 954, 173.
- Bernal, J. L.; del Nozal, J.; Rivera, J.; Jimenez, J. J.; Atienza, J.; *J. Chromatogr., A* **1996**, 754, 507.
- Dalpero, A. P.; Rossi, S.; Ghini, S.; Colombo, R.; Sabattini, A. G.; Girotti, S.; *J. Chromatogr., A* **2001**, 905, 223.
- Martel, A.-C.; Zeggane, S.; *J. Chromatogr., A* **2002**, 954, 73.
- Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J.; *Chromatographia* **2002**, 56, 577.
- Blasco, C.; Fernández, M.; Pena, A.; Lino, C.; Silveira, M.; Font, G.; Picó, Y.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 8132.
- Fernández, M.; Picó, Y.; Mañes, J.; *J. Food Protection* **2002**, 65, 1502.
- Rissato, S. R.; Galhiane, M. S.; Knoll, F. N.; Apon, B. M.; *J. Chromatogr., A* **2004**, 1048, 153.