

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

LARISSA MENEGHINI

**TRIAGEM CONFIRMATÓRIA DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM
MEL MEDIANTE O USO DO SISTEMA LC-QTOF MS**

Porto Alegre, 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

LARISSA MENEGHINI

**TRIAGEM CONFIRMATÓRIA DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM
MEL MEDIANTE O USO DO SISTEMA LC-QTOF MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Química Industrial.

Orientador: Dr. Alessandro Dallegre

Coorientadora: Profa. Dra. Carla Sirtori

Porto Alegre, 2024.

CIP - Catalogação na Publicação

Meneghini, Larissa
TRIAGEM CONFIRMATÓRIA DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM
MEL MEDIANTE O USO DO SISTEMA LC-QTOF MS / Larissa
Meneghini. -- 2024.
56 f.
Orientador: Alessandro Dallegrave.

Coorientadora: Carla Sirtori.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Curso de Química Industrial, Porto Alegre,
BR-RS, 2024.

1. LC-QTOF MS; . 2. triagem; . 3. resíduos de
agrotóxicos; . 4. abelha; . 5. mel. I. Dallegrave,
Alessandro, orient. II. Sirtori, Carla, coorient.
III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Larissa Meneghini

Triagem confirmatória de resíduos de agrotóxicos em mel mediante o uso do sistema LC-QTOF MS

Projeto Tecnológico apresentado como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Química Industrial do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Dr. Alessandro Dallegrave

Coorientadora: Profa. Dra. Carla Sirtori

Aprovada em: Porto Alegre, 16 de dezembro de 2024.

BANCA EXAMINADORA:

Dr Alessandro Dallegrave
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Carla Sirtori
Universidade Federal de Santa Maria

Dra Marcela Boroski
Universidade Federal da Integração Latina Americana

Dra Jessie Sobieski
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr Fabiano Severo Rodembusch
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedico esta conquista aos meus pais, que sempre me apoiaram e deram todo suporte para que eu pudesse chegar até aqui. A realização deste sonho é graças a vocês. Com todo meu amor, obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. A meus pais Olides e Bernardete que com amor e dedicação me guiaram pelos melhores caminhos. Vocês são meu alicerce e a principal razão pela qual estou me formando em uma das melhores universidades do país.

Aos meus irmãos Jonas e Taciane, que sempre foram referência de pessoas de bem e forneceram todo incentivo para que este sonho se tornasse realidade.

Meu muito obrigada ao meu amor Bruno, por estar do meu lado dia a dia, sendo sempre paciente, gentil e incondicionalmente apoiador. Obrigada por me ensinar o equilíbrio entre estudar e viver.

Agradeço a todos que fazem ou já fizeram parte do GMAPS e em especial a professora Dra. Carla Sirtori que me acolheu no grupo e dividiu seus conhecimentos comigo, tornando-se um exemplo de dedicação, comprometimento e empenho com a profissão e com as pessoas ao seu redor.

Minha eterna gratidão ao meu orientador Dr. Alessandro Dallegrave, que sempre disposto a tirar minhas dúvidas e fortalecer meus conhecimentos, tornou-se essencial para que eu concluísse este trabalho com êxito

A todos que estiveram comigo durante esses anos, fora e dentro da universidade. Obrigada por enriquecerem minha experiência e me fazerem ser uma pessoa melhor.

Este é um ciclo que com muito orgulho eu encerro. Sou grata por ter a companhia de cada um de vocês, essa conquista é nossa.

RESUMO

O declínio da população de abelhas vem sendo amplamente discutido por meio de estudos que relacionam este fenômeno ao indiscriminado uso de agrotóxicos, sejam eles aplicados nas proximidades das colmeias ou pela contaminação indireta das abelhas. O reflexo dessa diminuição é significativo e preocupante devido ao papel essencial que desempenham na polinização de muitas plantas, incluindo diferentes culturas agrícolas. Sem a polinização das abelhas, a produção de alimentos seria severamente afetada, levando a uma redução na variedade e na quantidade de alimentos disponíveis. Os agrotóxicos contribuem expressivamente na contaminação das flores que são visitadas pelas abelhas durante a floração das culturas e, com isso, levam à contaminação do mel por resíduos de agrotóxicos, além de contaminarem todos os compartimentos ambientais e seres vivos que formam parte deste sistema complexo e dinâmico. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método para determinação qualitativa de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel, utilizando a cromatográfica líquida acoplada com espectrometria de massas (LC-QTOF MS). Deste modo, foram analisadas 44 amostras coletadas em 15 apiários na região Oeste do Paraná em três períodos no ano de 2022. O estudo realizou a análise de um mix de padrões contendo 200 compostos. A aplicação da metodologia proposta permitiu evidenciar a presença de seis compostos como confirmados, em modo de ionização positivo pertencentes a três diferentes classes em cinco amostras. Um procedimento operacional digital foi utilizado com a finalidade de auxiliar o tratamento de dados mediante o uso do sistema LC-QTOF MS.

Palavras-chave: LC-QTOF MS; triagem; resíduos de agrotóxicos; abelha; mel.

ABSTRACT

The decline in the bee population is widely discussed through studies that relate this issue to the use of pesticides, whether applied near the hives or through indirect contamination of bees. The impact of this decrease is significant and worrying due to the essential role that pesticides play in the pollination of many plants, including different agricultural crops. Without bee pollination, food production would be severely affected, causing a reduction in the variety and quantity of available food. Pesticides are significantly responsible for the contamination of flowers that are visited by bees during the membrane of crops and, therefore, lead to the contamination of honey by pesticide residues, in addition to contaminating all environmental compartments and living beings that are part of this complex and musical system. Thus, the present work aimed to develop a method for the qualitative determination of pesticide residues in honey samples, using a liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-QTOF MS). Thus, 44 samples collected from 15 apiaries in the western region of Paraná in three periods in 2022 were tested. The study analyzed a mix of standards containing 200 compounds. The application of the proposed methodology allowed the presence of six compounds to be confirmed, in positive ionization mode, belonging to three different classes in five samples. A digital operating procedure was used to assist data processing using the LC-QTOF MS system.

Keywords: LC-QTOF MS; screening; pesticide residues; bee; honey.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tabela do processamento pelo *software TargetAnalysis*.

Figura 2 - Processamento através do *software DataAnalysis*: Tendo A: cromatograma; B: Espectro MS e C: *bbCID* MS/MS.

Figura 3 - *Workflow* representativo da triagem dos agrotóxicos.

Figura 4 - Ilustração dos casos suspeitos avaliados pelo *software TargetAnalysis* na AMOSTRA C_1_13.

Figura 5 - Identificação das imagens para o composto Etiofencarbe: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 6 - Identificação das imagens para o composto Metiocarbe: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 7 - Identificação das imagens para o composto Acefato: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 8 - Identificação das imagens para o composto Flutriafol: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 9 - Identificação das imagens para o composto Melationa: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 10 - Identificação das imagens para o composto Molinato: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Figura 11 - Cromatograma do íon fórmula do Disulfotom amostra C_3_5 (m/z 275.0358) seguido pelos cromatogramas de íons extraídos dos fragmentos mais intensos (m/z 89.2700 e m/z 61.2800).

Figura 12 - Cromatograma do íon fórmula do Disulfotom amostra C_3_5 (m/z 275.0358) seguido pelos cromatogramas de íons extraídos dos fragmentos mais intensos (m/z 89.2700 e m/z 61.2800).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos rótulos por cor de agrotóxicos de acordo com a toxicidade.

Tabela 2 - Lista dos 10 ingredientes ativos mais vendidos no ano de 2022.

Tabela 3 - Relação dos agrotóxicos confirmados em cada amostra de mel.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
bbCID	<i>Broadband collision induced dissociation</i>
CID	<i>Collision Induced Ionization</i>
ESI	Ionização por eletronebulização (do inglês <i>Electrospray Ionization</i>)
HRMS	Espectrometria de massa de alta resolução (do inglês <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA	Ingestão diária aceitável
LC	Cromatografia a Líquido (do inglês, <i>Liquid Chromatography</i>)
LMRs	Limites Máximos de Resíduos
m/z	razão Massa/Carga
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Espectrometria de Massas (do inglês, <i>Mass Spectrometry</i>)
ppm	partes por milhão
QqQ	Triplo quadrupolo (do inglês, Triple Quadrupole)
QTOF	Quadrupolo – Tempo de Voo (do inglês, Quadrupole – Time Of Flight)
QuEChERS	Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto e Seguro (do inglês, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)
TOF	Tempo de Voo (do inglês, Time Of Flight)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 ABELHAS.....	17
3.2 MEL.....	17
3.3 APICULTURA.....	18
3.4 AGROTÓXICOS.....	19
3.5 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS EM MEL.....	22
3.6 LC-QTOF-MS	23
3.7 MÉTODO DE TRIAGEM (SCREENING)	24
4 METODOLOGIA	26
4.1 INFORMAÇÕES GERAIS DAS AMOSTRAS.....	26
4.2 PREPARO DE AMOSTRA.....	26
4.3 MÉTODO EMPREGADO NO SISTEMA LC - QTOF MS.....	27
4.4 BASE DE DADOS.....	27
4.5 ATIVIDADE EXTENSIONISTA.....	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 WORKFLOW	31
5.2 ALICAÇÃO DA BASE DE DADOS ESPECIALMENTE CONSTRUÍDA	31
5.3 TRIAGEM DOS COMPOSTOS CONFIRMADOS.....	33
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
APÊNDICE A - ESQUEMA DO PREPARO DE AMOSTRA PELA EQUIPE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA, EM FOZ DE IGUAÇU, UTILIZANDO A METODOLOGIA QuEChERS	50

APÊNDICE B – BASE DE DADOS COM AS PRINCIPAIS INFORMAÇÕES DOS 75 ANALITOS SUSPEITOS.....	51
APÊNDICE C - VENDAS DE AGROTÓXICOS NO ANO DE 2022 POR REGIÃO.....	54
APÊNDICE D - FRAGMENTOS RETIRADOS DO MASSBANK PARA OS SEIS COMPOSTOS CONFIRMADOS.....	56
ANEXO 1: DECLARAÇÃO DE INTERESSE NOS RESULTADOS OBTIDOS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Devido à intensa ocupação do ambiente pela espécie humana e as consequências das atividades humanas, as abelhas são um grupo de organismos muito suscetível à perda de seus habitats e estão sujeitas à ação de agrotóxicos. Além de altas concentrações de agrotóxicos que ocasionam a morte das abelhas, baixas concentrações destes contaminantes podem causar alterações comportamentais que afetam todo o funcionamento da colméia e, conseqüentemente, seus serviços aos ecossistemas e às culturas agrícolas. Em razão do exposto, viu-se a necessidade do monitoramento de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel e, valendo-se de técnicas instrumentais apropriadas, desenvolveu-se o presente trabalho.

Nesse cenário de ecossistemas e recursos naturais, a apicultura, criação racional de abelhas do gênero *apis*, é uma das atividades agropecuárias com grande potencial de gerar impactos sociais, econômicos e ecológicos, essencialmente em razão de representar uma atividade desenvolvida principalmente por pequenos produtores. Além disso, os produtos da apicultura — mel, geleia real, própolis, pólen, cera e apitoxina — podem alcançar valores superiores aos da maioria dos produtos agrícolas.

No cenário atual, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em mel requer a utilização de métodos analíticos sensíveis e confiáveis, de forma a garantir a identificação e a quantificação destes resíduos. A técnica instrumental de cromatografia em fase líquido acoplada a espectrômetro de massas híbrido quadrupolo-tempo de voo (do inglês, LC-QTOF MS) é uma das ferramentas mais modernas e indicadas para viabilizar a identificação confirmatória de agrotóxicos e por intermédio de triagem, em amostras complexas como o mel.

O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia - alta seletividade e eficiência de separação - com as vantagens da espectrometria de massas - obtenção de informação estrutural, massa exata e especificidade.

Por meio do estudo e tratamento dos resultados obtidos com o auxílio de bases de dados (comerciais ou especialmente construídas) e *softwares* específicos é, possível obter informações extremamente relevantes. A estratégia que envolve o uso de bases de dados se vale de uma coleção organizada de informações estruturadas sobre uma ampla variedade de compostos químicos, normalmente armazenadas eletronicamente em um sistema de computador. O acesso a uma base de dados extensa e abrangente, que pode ser comercial ou construída pelo próprio analista com dados da literatura e de plataformas públicas (por exemplo *mass bank*, *mzCloud*, etc.), tornou-se uma metodologia eficiente e segura a qual possibilita identificar uma vasta gama de compostos presentes nas amostras analisadas.

Dentre os softwares utilizados, fez-se o uso do *TargetAnalysis*. Este *software* compara os dados obtidos experimentalmente (tempo de retenção, massa exata do íon molecular, adutos e fragmentos) com a base de dados previamente construída e utilizada como referência (“*input data*”).

Assim, este trabalho teve como objetivo a otimização e execução de um método de análise qualitativa de resíduos de 75 agrotóxicos, mediante o uso de cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS). O método proposto foi aplicado à 44 amostras de mel oriundas da região oeste do estado do Paraná.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a triagem confirmatória de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel provenientes de uma região de agricultura intensiva mediante o uso do sistema LC-QTOF MS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A partir do objetivo geral descrito anteriormente surgem os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolver um método analítico instrumental para adquirir os dados referentes ao tempo de retenção e o perfil de fragmentação típico de cada agrotóxico em estudo;
- Otimizar uma base de dados especialmente construída contendo uma ampla gama de agrotóxicos a partir de informações extraídas e organizadas de forma sistemática da literatura científica;
- Aplicar a base de dados especialmente construída na triagem de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel;
- Identificar os compostos presentes através do uso de triagem confirmatória (mediante o uso do tempo de retenção, presença de fragmentos característicos, exatidão de massa e perfil isotópico);
- Otimizar um procedimento operacional desenvolvido em trabalhos anteriores¹ fazendo uso de *softwares* como *DataAnalysis*, *TargetAnalysis* da Bruker Daltonics, com vista a viabilizar um protocolo orientativo de processamento de dados que facilite análises qualitativas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ABELHAS

A importância das abelhas e os desafios para a conservação da sua biodiversidade estão sendo cada vez mais discutidos. As abelhas prestam um significativo serviço ambiental, com a polinização, na manutenção de ecossistemas naturais e ecossistemas agrícolas, conseqüentemente, impactando na produção de alimentos.²

O faturamento obtido somente com a comercialização de mel no ano de 2019 foi de R\$ 493 milhões. Notoriamente, em todo o mundo, a população de abelhas está desaparecendo e conseqüentemente há uma redução na produção de seus produtos. Não existe um único fator responsável, mas, sim, a interação de vários fatores, entre eles o uso indiscriminado de agrotóxicos, que envenena e extermina as colmeias, com práticas que não Contribuem com a ideia de sustentabilidade³.

De fato, é necessário que entendamos os impactos extremamente negativos que o uso de agrotóxicos gera ao meio ambiente e seres vivos e, conseqüentemente, no caso do nosso foco de estudo, na qualidade do mel e na mortandade de grandes quantidades de abelhas.

3.2 MEL

O mel possui diferentes propriedades físicas e químicas por ser produzido a partir do néctar das plantas e por isso a sua produção depende da abundância e da qualidade das flores existentes no raio de ação das abelhas. Conforme a flor da qual o néctar é extraído pelas abelhas, bem como de sua localização geográfica, o mel resultante terá características diferentes, principalmente quanto à cor, sabor e perfume.⁴

Segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, entende-se por mel,

o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas (Apis melífera), a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre

*partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colmeia.*⁵

A classificação é feita de acordo com sua origem, o procedimento de obtenção do mel do favo e a apresentação e/ou processamento. O mel é constituído de diferentes açúcares, predominando a glicose e frutose. Apresenta também teores de proteínas, vitaminas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, minerais, água, pólen, sacarose, maltose e outros oligossacarídeos, além de pequenas concentrações de fungos, algas, leveduras e outras partículas sólidas resultantes do processo de obtenção do mel.⁶

3.3 APICULTURA

A apicultura no Brasil vem crescendo significativamente em função de sua diversidade de flora, extensão territorial e a variabilidade climática, possibilitando assim produzir mel o ano todo, o que o diferencia dos demais países.⁷ No Brasil, a cadeia produtiva da apicultura é composta por mais de 300 mil apicultores e centenas de unidades de processamento de mel, juntos empregam cerca de 500 mil pessoas.⁸

O agronegócio apícola vem se destacando nacionalmente, desde os anos oitenta do século passado, com o movimento naturalista, quando começou a utilização de alimentos mais saudáveis, bem como, a busca pela qualidade de vida. Proporcionando uma maior procura pelos produtos da colmeia e, por consequência, sua valorização.⁹

O Brasil registrou, em 2021, um recorde na produção de mel. De acordo com dados da Pesquisa Pecuária Municipal, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram 55,8 mil toneladas, aumento de 6,4% na comparação com 2020. O valor de produção chegou a R\$ 854,4 milhões, um aumento de 34,8% sobre 2020. O preço médio do alimento foi de R\$ 12,07, para R\$ 15,30/kg.¹⁰

Infelizmente, as mudanças climáticas que vem ocorrendo no mundo e no Brasil, em especial na última década, observada pelos períodos longos de estiagem e/ou enchentes jamais vistas, têm contribuído negativamente para a atividade apícola, a qual é extremamente vulnerável a alterações climáticas. Estes fenômenos

meteorológicos recentes influenciam direta e negativamente essa atividade produtiva, uma vez que favorecem a redução das florações e, conseqüentemente, limitam ou impedem a produção de mel. Porém, mesmo com esta problemática a produção vem crescendo nos últimos anos.

3.4 AGROTÓXICOS

A Lei Federal nº 14.785, de 27 de dezembro de 2023, revogou as Leis nºs 7.802, de 11 de julho de 1989, e 9.974, de 6 de junho de 2000, e partes de anexos das Leis nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, e 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Essa nova legislação, dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem, a rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e das embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, de produtos de controle ambiental, de seus produtos técnicos e afins. Nela, a definição de agrotóxicos é a seguinte:

*produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens ou na proteção de florestas plantadas, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.*¹¹

Essa nova legislação é fruto da ação articulada da bancada do agronegócio no Congresso e Senado Federais. Importante diferir a agricultura como ação humana histórico-social e culturalmente constituída pela humanidade para a produção de alimentos, da produção agrícola única e exclusivamente focada na produção de *commodities*. Parte das diferentes culturas produzidas e exploradas economicamente como *commodities* não acabam nos nossos pratos, muito pelo contrário, são exportadas e empregadas em diferentes produtos/processos tais como biocombustíveis, ração animal etc. Nesse contexto, o projeto de lei do qual essa nova legislação se deriva, foi apelidado por ambientalistas, durante sua apreciação nas casas legislativas, como “PL do veneno”.¹²

De acordo com sua função os agrotóxicos podem ser classificados de diferentes

formas, pela sua estrutura química, entre outros, sendo a sua finalidade de uso talvez a forma de agrupamento mais comum. De acordo com esse critério de classificação podemos definir as seguintes classes:

- Inseticidas: controlam insetos;
- Fungicidas: destroem ou inibem fungos;
- Herbicidas: combatem plantas “invasoras”;
- Desfolhantes: eliminam folhas indesejadas;
- Fumigantes: combatem bactérias do solo;
- Raticidas: combatem ratos e outros roedores;
- Moluscocidas: combatem moluscos;
- Nematicidas: combatem nematoides;
- Acaricidas: utilizados no combate de ácaros.

Com a mudança na Lei Federal nº 14.785, de 27 de dezembro de 2023, a responsabilidade exclusiva pelo registro e fiscalização de agrotóxicos bem como o estabelecimento dos limites máximos de resíduos (LMRs) recai totalmente sobre o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), sem o envolvimento do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os LMRs são definidos como:

*a quantidade máxima de resíduo de agrotóxicos ou afins oficialmente aceita no alimento, em decorrência de aplicação adequada em fases específicas, desde a sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do ingrediente ativo do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes (em peso) de alimento (ppm ou mg/kg).*¹³

Convencionalmente, os LMRs são definidos para cada cultura e levam em consideração a ingestão diária aceitável (IDA), que é a quantidade máxima de uma substância, que se ingerida diariamente durante toda a vida não oferece risco à saúde.¹⁴

A legislação brasileira obriga as formulações de agrotóxicos apresentarem no rótulo a cor correspondente à classe de sua toxicidade, para alertar sobre o perigo desta formulação.¹⁴ De acordo com a Tabela 1, a identificação dos rótulos desses

produtos é feita por meio de faixas coloridas.

Tabela 1 - Classificação dos rótulos por cor de agrotóxicos de acordo com a toxicidade.

Classe	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	Extremamente tóxico	Vermelho
II	Altamente tóxico	Amarelo
III	Mediamente tóxico	Azul
IV	Pouco tóxico	Verde

Fonte: ANVISA (2005).

A rotulagem dos produtos possibilita separá-los em classes. No APÊNDICE C é apresentada a quantidade, em toneladas, de agrotóxicos vendidos no ano de 2022 por classe de toxicidade para cada região do país.

De acordo com informações recentes, as regiões Centro-Oeste e Sul lideram as vendas e o consumo de agrotóxicos em razão da alta produção de soja e milho no país. A pulverização destes atinge não somente as lavouras, mas também se espalha pelo ar e água, atingindo demais espécies da fauna e flora. Cerca de 78% do território paranaense é ocupado por atividades relacionadas à pecuária e agricultura,¹⁵ isso posiciona o estado entre a marca de segundo e terceiro maior consumidor do país, atrás apenas de Mato Grosso e em disputa com São Paulo.¹⁶

É visto que o estado do Paraná ainda carece de uma legislação de desestímulo ao consumo de agrotóxicos, contudo, diversos projetos têm sido apresentados à Assembleia Legislativa do Paraná (Alep). O destaque é para o Projeto de Lei nº429/2022 que propõe que o Governo do Estado institua a Política Estadual de Redução de Agrotóxicos (PERA) e crie a Comissão Estadual de Agroecologia e Produção Orgânica (CEAPO).¹⁷ A proposta tem como objetivo principal:

*reduzir, gradual e continuamente o acesso e o uso de agrotóxicos, ampliando a disponibilidade e uso de produtos de origem biológica sem perigo e risco para a saúde e meio ambiente.*¹⁸

Os projetos ainda estão em tramitação, porém enfrentam resistência na Assembleia Legislativa e estão parados na Comissão de Constituição e Justiça (CCJ). Tal situação reflete, em parte, a pressão e influência que o agronegócio possui em ambientes de tomada de decisões.¹⁹

3.5 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS EM MEL

O mel é uma matriz complexa e a presença de agrotóxicos se dá em níveis de traços a ultra traços. Para contornar estas adversidades se faz necessário um preparo de amostras eficiente e uma técnica analítica apurada capaz de identificar de forma específica estes agrotóxicos.

Os dez ingredientes ativos mais comercializados no país, em toneladas, no ano de 2022 segundo o boletim de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil²⁰ podem ser vistos na Tabela 2:

Tabela 2: Lista dos 10 ingredientes ativos mais vendidos no ano de 2022.

Ingrediente Ativo	Vendas (t. ingrediente ativo)	Ranking	Classificação agrônômica	Toxicidade
Glifosato e seus sais	266.088,12	1º	Herbicida	Pouco tóxico
2,4-d	65.356,52	2º	Herbicida	Altamente tóxico
Atrazina	47.663,24	3º	Herbicida	Mediamente tóxica
Mancozebe	41.747,84	4º	Fungicida	Altamente tóxico
Clorotalonil	36.845,33	5º	Fungicida	Mediamente tóxico
Acefato	32.897,56	6º	Inseticida/Acaricida	Mediamente tóxico
Dibrometo de diquate	23.822,62	7º	Herbicida	Altamente tóxico
Clorpirifós	17.679,34	8º	Inseticida	Altamente tóxico

Ingrediente Ativo	Vendas (ton. IA)	Ranking	Classificação agrônômica	Toxicidade
Metomil	16,554.03	9º	Inseticida	Mediamente tóxico
Malationa	13,682.61	10º	Inseticida	Pouco tóxico

Fonte: IBAMA (2022).

De fato, todos os agrotóxicos apresentam, uns em maior grau e outros em menor, grau de toxicidade e riscos ambientais inerentes ao seu uso. Tal fato evidencia a necessidade de buscar outras formas de controle alternativo a fim de diminuir os impactos e preservar os recursos naturais como mananciais de água, solo, ar e os animais.²¹

3.6 LC-QTOF MS

A cromatografia a líquido é uma técnica utilizado para separar os componentes de uma amostra com base na polaridade de cada composto e sua afinidade com a fase estacionária, que consiste em uma fase fixa sólida ou líquida polar ou apolar ligada a partículas empacotadas em uma coluna, e uma fase móvel, que é bombeada constantemente através da coluna cromatográfica.²² Esses componentes são retidos pelas partículas sorventes da fase estacionária e movem-se lentamente com o fluxo da fase móvel.²³

A técnica de cromatografia a líquido tornou-se uma ferramenta de grande importância para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, como o mel, podendo ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tal qual a espectrometria de massas (MS) que possibilita um aumento na sensibilidade e especificidade na análise. Existem diferentes analisadores de massa, que são sistemas capazes de separar e calcular a relação m/z dos íons formados a partir analitos presentes na amostra. Dessa forma, a espectrometria de massas de alta resolução (HRMS, do inglês *high resolution mass spectrometry*) tem desempenho único e configura importante papel na identificação de compostos desconhecidos uma vez que permite o registro de cromatogramas no modo de varredura completa (*full-scan*) com alta exatidão em massa, tornando possível a procura seletiva baseada na

massa exata. Compreende-se nessa classe o analisador do tipo híbrido: quadrupolo — tempo de voo (QTOF),²⁴ além do analisador por tempo de voo (TOF) e orbitrap.

O analisador de massa do tipo QTOF pode ser descrito, simplificadamente, como um instrumento em que o terceiro quadrupolo do analisador do tipo triplo quadrupolo (QqQ) é substituído por um analisador do tipo tempo de voo (TOF, do inglês *time of flight*). Por esse motivo, o analisador QTOF tem capacidade de realizar análises no modo MS e no modo MS/MS, combinando, em ambos os modos, o alto desempenho de análise. No modo MS, os íons que se encontram dentro de uma determinada faixa de m/z , selecionados no primeiro quadrupolo, são encaminhados, através de uma diferença de potencial (ddp), para o TOF, o qual separa os íons de acordo com a relação m/z . No modo MS/MS, o íon precursor ou uma determinada faixa de m/z , selecionada no primeiro quadrupolo, é fragmentada na célula de colisão, utilizando altas energias (CID, do inglês *collision induced ionization*). Em seguida, os íons gerados são encaminhados e separados, através da razão m/z , pelo TOF.²⁵

Os sistemas de ionização mais difundidos na espectrometria de massas são a ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*) e a ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *electrospray ionization*), as quais são escolhidas de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos como a polaridade e acidez, além do modo de ionização desses analitos. A ESI é a configuração de ionização mais utilizada na análise de compostos com média e alta polaridade, com baixa e elevada massa molecular e com menos estabilidade térmica.²⁵ Assim, é a opção mais frequentemente selecionada para a análise de resíduos de agrotóxicos que foram previamente separados com o uso da cromatografia a líquido.

3.7 MÉTODO DE TRIAGEM (*SCREENING*)

O emprego de triagem ao qual amostras complexas, como o mel, podem ser analisadas, baseia-se na análise qualitativa de uma série de compostos que podem estar presentes na amostra. A triagem de confirmados quando dispomos de padrões analíticos e triagem de suspeitos quando não dispomos de padrões, porém avaliamos a exatidão de massa do íon molecular e fragmentos, além do perfil isotópico. Para

tanto, essa estratégia de análise qualitativa se dá mediante o uso de uma base de dados contendo, nome, fórmula molecular, massa exata desses compostos e seus fragmentos. Além disso, o tempo de retenção, se houver padrão analítico disponível (triagem de confirmados), se torna um parâmetro extremamente útil na confirmação inequívoca dos compostos.²⁶

Um ponto muito importante e de grande relevância na realização de análises de triagem para analitos suspeitos, é a possibilidade da inserção de analitos ou análise retrospectiva dos dados nas amostras analisadas após a aquisição de dados ou após um período da realização da análise. Para o uso de bases de dados, softwares especializados extraem todas as respostas positivas, baseadas nos parâmetros elencados anteriormente, na forma de cromatogramas de íons extraídos (EIC). Nos casos em que os padrões analíticos não estão disponíveis, ou seja, para os compostos suspeitos estes podem ser comparados com dados espectrais que formam parte da base de dados (íon molecular, íons fragmento) com suas respectivas massas exatas e sempre que os erros de massa forem menores que 5 ppm.²⁶

Adicionalmente, a adequação do perfil isotópico pode ser usada para obter maior especificidade na potencial identificação (caso de suspeitos) ou confirmar o analito (caso de confirmados). As fragmentações dos compostos podem ser pesquisadas na literatura ou em bases de dados públicas de espectrometria de massa. Assim, quando os padrões analíticos não estiverem disponíveis, muitas vezes devido aos seus altos custos, a confiabilidade na identificação tentativa desses compostos pode ser ampliada com o uso dessa estratégia.²⁶

4 METODOLOGIA

4.1 INFORMAÇÕES GERAIS DAS AMOSTRAS

Foram analisadas 44 amostras coletadas em 15 apiários na região oeste do Paraná em três períodos no ano de 2022, sendo estas:

- coleta 1 (janeiro/2022) após a florada da soja safra 2021/2022 (nomenclatura c1.1 até c1.15);
- coleta 2 (maio/2022) após a safra de milho (nomenclatura c2.1 até c2.15);
- coleta 3 (dezembro/2022) após a safra silvestre até depois do plantio da soja safra 2022/2023 (nomenclatura c3.1 até c3.15 com exceção da amostra c3.11, isto porque o apiário 11 não produziu mel suficiente neste período para ser retirado, visto que naquele período houve uma escassez de água e recursos florais na região na qual está localizado.

A área de estudo e os pontos amostrais foram nos municípios de Foz Do Iguaçu, Santa Terezinha De Itaipu, São Miguel Do Oeste, São Pedro Do Iguaçu e Matelândia. A coleta amostral foi realizada pelos apicultores de modo que um mesmo apiário amostral possuía várias colmeias, assim os méis de cada colmeia em cada ponto individual eram retirados, centrifugados e 500 gramas foram envasados em frascos de plástico, sendo destinados este para análise. Após foram transportados para o Laboratório De Estudos Interdisciplinar em Meio Ambiente e Alimentos (LEIMAA) da Universidade Federal Da Integração Latino-Americana (UNILA), onde foram armazenados em temperatura ambiente e no escuro até o preparo de amostra.

4.2 PREPARO DE AMOSTRA

O preparo de amostra foi realizado utilizando a metodologia QuEChERS para extração e limpeza, seguindo a metodologia de viera et al., (2017) com pequenas adaptações realizadas pela equipe da UNILA (Universidade Federal Da Integração Latino-Americana), em Foz De Iguaçu, antes do envio à UFRGS. O esquema de preparo de amostra pode ser visualizado com detalhes no APÊNDICE A. As amostras secas foram enviadas até a UFRGS para facilitar o transporte. Antes de ser analisadas, as amostras foram ressuspendidas na mesma condição que foi utilizada no início do método cromatográfico.

4.3 MÉTODO EMPREGADO NO SISTEMA LC-QTOF MS

Neste trabalho fez-se uso de um cromatógrafo a líquido do modelo Nexera 2 da Shimadzu acoplado a analisador de massa híbrido: quadrupolo e tempo de voo da Bruker Daltonics, modelo Impact II, disponível no Laboratório de Técnicas Cromatográficas acopladas a Espectrometria de Massa da Central Analítica do IQ — UFRGS.

A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna analítica Hypersil GOLD (100 mm x 2,1 mm x 1,9 μm) com a temperatura da coluna ajustada para 35°C e volume de injeção de 10 μL . A fase móvel (Fase A) foi Metanol 5 mM formiato de amônio — 0,1% ácido fórmico e (Fase B) Água 5 mM formiato de amônio— 0,1% ácido fórmico a uma taxa de fluxo de 0,3 mL min^{-1} . O programa de eluição gradiente foi: 0 min, 95%B; 1 minuto, 95% B; 16 min, 5% B; 18 min, 5% B; 20 min, 95% B; 22 min, 95% B.

As condições do QTOF foram: para o método do modo de ionização positiva, voltagem capilar, 4000 V; deslocamento da placa final, 500 V; pressão do nebulizador, 4 bar (N_2); gás de secagem, 9 L min^{-1} (N_2) e temperatura, 200 °C. Para o método do modo de ionização negativa as condições foram: voltagem capilar, 2500 V; deslocamento da placa final, 500 V; pressão do nebulizador, 3 bar (N_2); gás de secagem, 9 L min^{-1} (N_2) e temperatura 200 °C. O espectrômetro de massa operou no modo de aquisição broadband collision induced ionization (*bbCID*) e registrou espectros na faixa de razão *m/z* de 50 - 1200 a uma taxa de varredura de 2Hz em ambos os modos. As energias de colisão foram de 4 eV para aquisição dos espectros de MS e, uma rampa de 4 eV a 25 eV, para obtenção dos espectros de MS/MS. Além disso, a calibração do espectrômetro de massa foi realizada injetando uma solução de formiato de sódio 10 mM no início de cada análise cromatográfica.

4.4 BASE DE DADOS

O conhecimento sobre as informações de tempo de retenção e perfil de fragmentação característico dos agrotóxicos permite a confirmação da presença desses nas amostras estudadas, assim, o método mais utilizado para obter essas informações faz uso de padrões analíticos. Inicialmente um mix de padrões 1 ppm

foram diluídos cinco vezes como descrito no APÊNDICE A. Subsequente foram analisadas por LC-QTOF MS nas mesmas condições em que ocorreram as análises das amostras.

Para a automação da triagem de agrotóxicos nas amostras de mel fez-se necessário o desenvolvimento de duas bases de dados: uma no modo positivo de ionização contendo 196 agrotóxicos e outra no modo negativo contendo 4 agrotóxicos. A construção das bases de dados foi realizada a partir da reunião de informações referentes aos agrotóxicos presentes no mix de padrões, fórmulas moleculares e perfis de fragmentação obtidos através de artigos científicos e bancos de dados gratuitos (*Mass Bank*). Essas bases de dados foram especialmente construídas para este trabalho. Softwares como o *TargetAnalysis* e *DataAnalysis* auxiliaram o processamento da base de dados já existente e permitiram a inclusão dos tempos de retenção.

A representação do processamento no software pode ser visualizada na Figura 1. A identificação dos agrotóxicos baseia-se em parâmetros como massa exata, mSigma (perfil isotópico), tempo de retenção e perfil de fragmentação característico. Os casos afirmativos quando os parâmetros anteriormente estabelecidos são detectados são representados pela tonalidade de verde-escuro, ao passo que, os casos em que estes parâmetros não são detectados são apresentados por uma coloração verde-claro-amarelo.

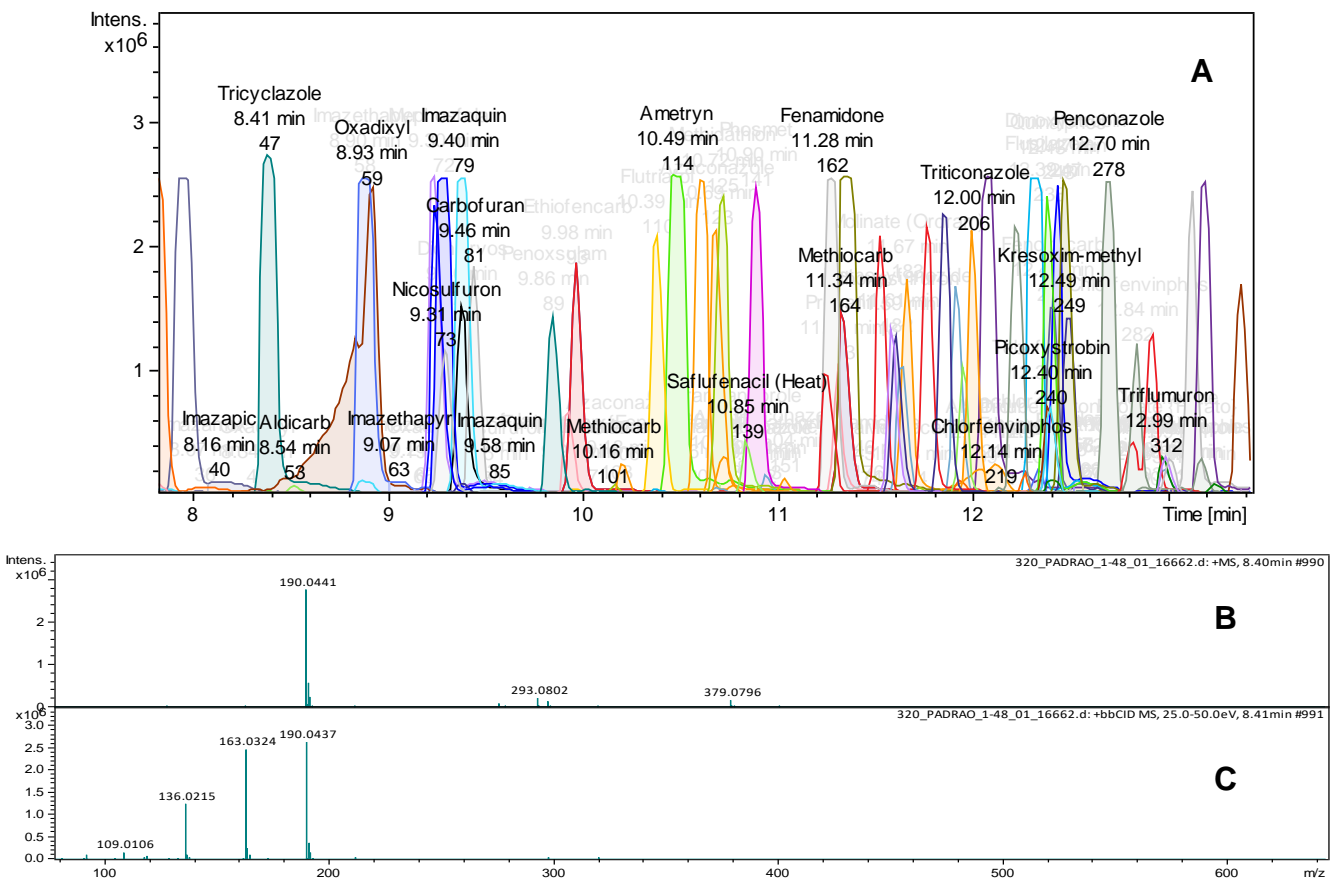
Figura 1 – Tabela do processamento pelo software *TargetAnalysis*.

Cmpd.Name	Formula	PMI	Err [ppm]	mSigma	RT meas. [min]	m/z meas.	m/z calc.	# Exp. Qualifiers	# Found Qualifiers
Dicrctophos	C 8 H 16 N 1 O 5 P 1	[M+H] ⁺	0.6	28.0	9.03	238.0838	238.0839	3	2
Hexythiazox	C 17 H 21 Cl 1 N 2 O 2 S 1	[M+H] ⁺	-4.4	77.0	9.04	353.1070	353.1085	3	2
Imazethapyr	C 15 H 19 N 3 O 3	[M+H] ⁺	0.2	3.7	9.07	290.1500	290.1499	3	2
Robenidine hydrochloride	C 15 H 14 Cl 3 N 5	[M+H] ⁺	0.7	236.7	9.15	370.0385	370.0388	2	2
Oxadixyl	C 14 H 18 N 2 O 4	[M+H] ⁺	-0.2	6.9	9.19	279.1340	279.1339	3	3
Thiabendazole	C 10 H 7 N 3 S 1	[M+H] ⁺	0.6	162.9	9.20	202.0432	202.0433	3	2
Imazethapyr	C 15 H 19 N 3 O 3	[M+H] ⁺	-0.9	4.4	9.21	290.1502	290.1499	3	2
Trichlorfon	C 4 H 8 Cl 3 O 4 P 1	[M+H] ⁺	-1.4	77.8	9.26	256.9295	256.9299	3	3
Carbendazim	C 9 H 9 N 3 O 2	[M+H] ⁺	0.2	44.1	9.27	192.0768	192.0768	3	2
Prothiofos	C 11 H 15 Cl 2 O 2 P 1 S 2	[M+H] ⁺	-2.3	130.5	9.29	344.9693	344.9701	3	3
Disulfoton	C 8 H 19 O 2 P 1 S 3	[M+H] ⁺	-3.8	n.a.	9.30	275.0347	275.0358	2	2
Mephosfolan	C 8 H 16 N 1 O 3 P 1 S 2	[M+H] ⁺	2.7	30.3	9.30	270.0389	270.0382	3	3
Nicosulfuron	C 15 H 18 N 6 O 6 S 1	[M+H] ⁺	-0.7	8.7	9.31	411.1084	411.1081	3	2
Imazethapyr	C 15 H 19 N 3 O 3	[M+H] ⁺	-0.3	4.3	9.34	290.1498	290.1499	3	2
Simazine	C 7 H 12 Cl 1 N 5	[M+H] ⁺	-3.2	145.6	9.34	202.0860	202.0854	3	3
Carbaryl	C 12 H 11 N 1 O 2	[M+H] ⁺	-1.2	9.4	9.34	202.0860	202.0863	3	2
Oxadixyl	C 14 H 18 N 2 O 4	[M+H] ⁺	1.3	13.9	9.34	279.1336	279.1339	3	3
Dichlorvos	C 4 H 7 Cl 2 O 4 P 1	[M+H] ⁺	0.1	5.9	9.40	220.9532	220.9532	3	3
Imazaquin	C 17 H 17 N 3 O 3	[M+H] ⁺	1.5	28.6	9.40	312.1347	312.1343	3	2
Parathion-methyl	C 8 H 10 N 1 O 5 P 1 S 1	[M+H] ⁺	-1.2	4.8	9.45	264.0093	264.0090	3	3
Carbofuran	C 12 H 15 N 1 O 3	[M+H] ⁺	-0.6	1.5	9.46	222.1126	222.1125	3	3

Fonte: Autoria própria (2024).

Após o processamento no *software Target Analysis*, análise mais criteriosa no *software Data Analysis* foi realizada para todos os padrões a fim de obter o tempo de retenção de cada composto. Para isso, inicialmente analisou-se a área de cada pico do cromatograma, visto que áreas maiores geram sinais mais intensos, e a seleção individual de cada um forneceu o espectro de massa e *bbCID* (MS/MS). A exatidão de massa do íon molecular e dos fragmentos permite a confirmação do tempo de retenção para cada composto presente no mix de padrões. A representação da procura pelo tempo de retenção pode ser vista na Figura 2 para o composto Triciclazol. A análise possibilitou a obtenção do tempo de retenção de 75 agrotóxicos. Assim, apenas os compostos com tempo de retenção conhecido passaram a compor a base de dados e a mesma pode ser visualizada no APÊNDICE B.

Figura 2 - Processamento através do *software DataAnalysis* para o composto Triciclazol: Tendo A: cromatograma; B: Espectro MS e C: *bbCID* MS/MS.



Fonte: Autoria própria (2024).

O trabalho relatado até este ponto, foi fundamental para a montagem da base de dados para a triagem de confirmados. Como os padrões não foram analisados de forma individual, se fez necessário esta forma de procedimento para confirmar os parâmetros e principalmente definir o tempo de retenção.

4.5 ATIVIDADE EXTENSIONISTA

Este projeto também se propôs a promover caráter extensionista, com a finalidade de contribuir para a análise qualitativa de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel coletadas por apicultores no estado do Paraná. No APÊNDICE E, encontra-se a declaração de interesse elaborada gentilmente pelo Sr. Cristian Acker Godoy, apicultor local, que expressa de forma clara seu interesse pelos resultados gerados a partir da execução deste projeto.

O desenvolvimento do protocolo de análise e do método cromatográfico para a triagem foi realizado ao longo de 20 horas, com o objetivo de estabelecer uma abordagem eficiente e confiável. A proposta é disponibilizar esse método no portfólio da Central Analítica da UFRGS, permitindo que outras pessoas, interessadas em realizar esse tipo de análise, tenham acesso ao mesmo. As análises poderão ser conduzidas diretamente no Instituto de Química, e o custo, assim como os resultados obtidos, serão repassados para aqueles que solicitarem a realização das análises. Essa iniciativa visa promover o uso colaborativo e o acesso a recursos analíticos de alta qualidade na instituição.

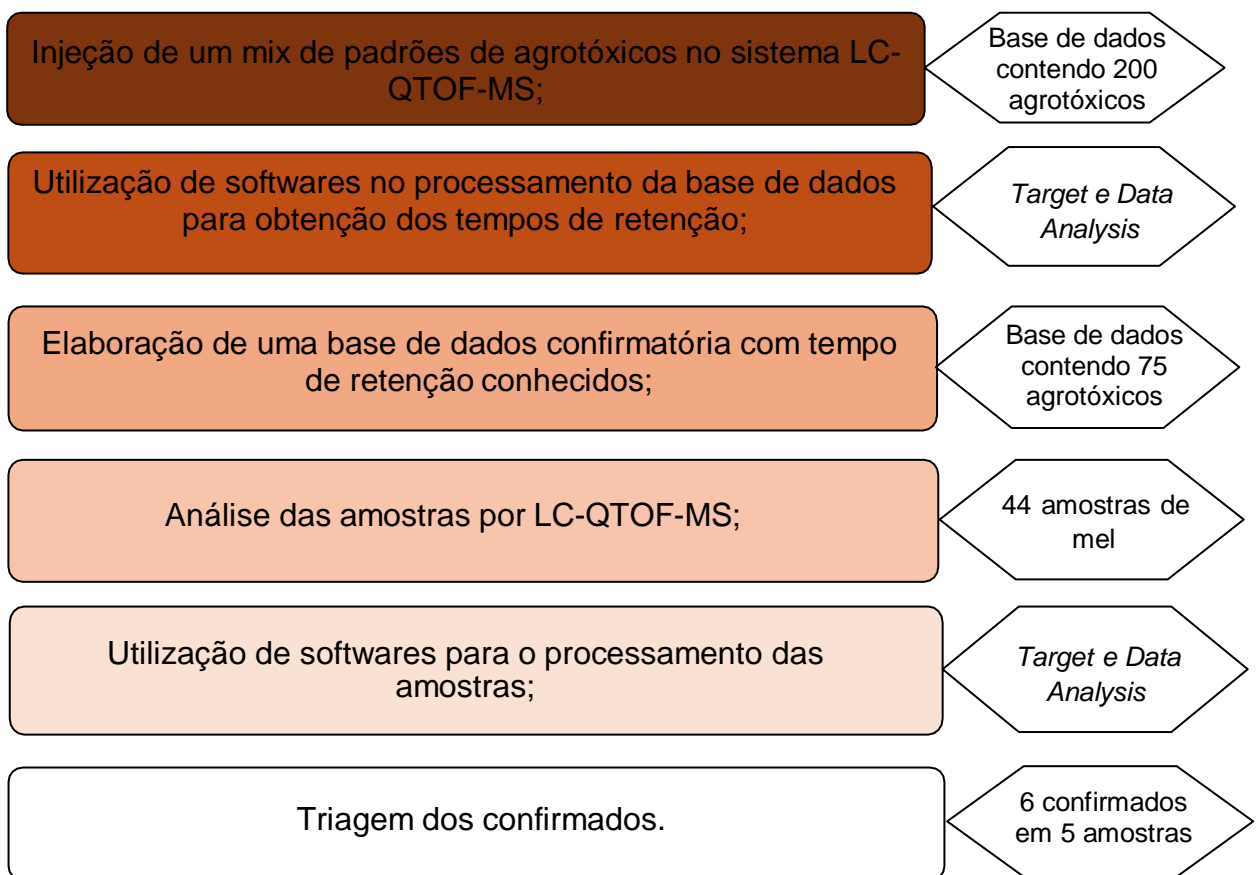
Os resultados da triagem de agrotóxicos e a criação de um protocolo de análise específico são essenciais para que os apicultores obtenham informações precisas sobre os agrotóxicos presentes no mel produzido em suas propriedades, especialmente com vistas à possível comercialização desse mel. Esse processo não só contribuirá para a saúde e segurança alimentar, mas também proporcionará maior transparência e confiança no produto final.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 WORKFLOW

Para apresentar o processo de triagem dos agrotóxicos nas amostras de mel de forma clara e organizada, fez-se a criação de um *workflow* que represente visualmente as etapas envolvidas:

Figura 3 - Workflow representativo da triagem dos agrotóxicos.



Fonte: Autoria própria (2024).

5.2 ALICAÇÃO DA BASE DE DADOS ESPECIALMENTE CONSTRUÍDA

As amostras em estudo foram analisadas por LC-QTOF MS com descrito na seção 4.2. Por meio das informações contidas na base de dados especialmente construída, um método de processamento em modo positivo [M+H] no software

TargetAnalysis foi realizado.

A estratégia de identificação dos agrotóxicos através do software está baseada em parâmetros como massa exata, mSigma (perfil isotópico), tempo de retenção e perfil de fragmentação característico. Assim, a partir de um score, o software sinaliza, com o símbolo de positivo (+), a quantidade de informações encontradas. No caso de um score registrando dois positivos (++) apenas duas informações foram encontradas. De forma análoga, verificam-se compostos identificados com um score de três e quatro positivos (+++ e ++++), os quais três e quatro parâmetros foram identificados, respectivamente. A Figura 4 ilustra a análise para a amostra C_1_13.

Assim, a confirmação dos compostos deu-se através da verificação de todos esses parâmetros, analisando todos compostos para as 44 amostras através do software *DataAnalysis*.

Figura 4 - Ilustração dos casos suspeitos avaliados pelo software *TargetAnalysis* na AMOSTRA C_1_13.

Score	Cmpd.Name	Formula	PMI	deltaRT [min]	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	RT meas. [min]	RT exp. [min]	m/z meas.	m/z calc.	# Exp. Qualifiers	# Found Qualifiers
+	Atrazine	C 8 H 14 Cl 1 N 5	[M++]+	-9.0	-1.4	-6.3	627.7	11228	9.0	0.0	216.1024	216.1...	3	2
++	Aldicarb	C 7 H 14 N 2 O 2 S 1	[M++]+	-0.0	4.2	22.0	51.6	2682	8.6	8.5	191.0891	191.0...	3	2
++	Carbofuran	C 12 H 15 N 1 O 3	[M++]+	-0.3	-3.7	-16.7	n.a.	2844	9.7	9.5	222.1088	222.1...	3	2
++	Ethiofencarb	C 11 H 15 N 1 O 2 S 1	[M++]+	0.0	3.8	16.8	n.a.	20782	10.0	10.0	226.0858	226.0...	3	3
++	Ethiofencarb	C 11 H 15 N 1 O 2 S 1	[M++]+	0.3	-3.4	-14.9	29.7	52013	9.7	10.0	226.0863	226.0...	3	3
++	Flutriafol	C 16 H 13 F 2 N 3 O 1	[M++]+	0.5	-0.6	-1.9	25.4	114242	9.9	10.4	302.1105	302.1...	3	2
++	Imazaquin	C 17 H 17 N 3 O 3	[M++]+	0.4	-4.0	-12.7	n.a.	5995	9.0	9.4	312.1303	312.1...	3	2
++	Methiocarb	C 11 H 15 N 1 O 2 S 1	[M++]+	-0.5	1.5	6.5	n.a.	3661	11.8	11.3	226.0911	226.0...	3	2
++	Methomyl	C 5 H 10 N 2 O 2 S 1	[M++]+	0.1	4.0	24.5	372.3	4486	5.4	5.5	163.0576	163.0...	3	2
++	Methomyl	C 5 H 10 N 2 O 2 S 1	[M++]+	-0.3	3.9	24.0	29.6	25470	5.8	5.5	163.0497	163.0...	3	2
++	Molinate (Ordr...	C 9 H 17 N 1 O 1 S 1	[M++]+	0.1	-4.4	-23.2	28.8	19209	11.6	11.7	188.1147	188.1...	3	3
++	Tebufenozide	C 22 H 28 N 2 O 2	[M++]+	0.7	4.1	11.6	n.a.	2835	11.7	12.4	353.2183	353.2...	3	3
+++	Carbofuran	C 12 H 15 N 1 O 3	[M++]+	0.2	-1.3	-5.7	606.4	1237	9.3	9.5	222.1137	222.1...	3	2
+++	Carbofuran	C 12 H 15 N 1 O 3	[M++]+	-0.2	0.7	3.0	756.4	8630	9.6	9.5	222.1118	222.1...	3	3
+++	Carbofuran	C 12 H 15 N 1 O 3	[M++]+	-0.1	0.0	0.1	n.a.	41212	9.6	9.5	222.1125	222.1...	3	3
+++	Imazaquin	C 17 H 17 N 3 O 3	[M++]+	0.0	-0.9	-2.9	n.a.	1054	9.4	9.4	312.1352	312.1...	3	2
+++	Methomyl	C 5 H 10 N 2 O 2 S 1	[M++]+	0.0	-1.3	-8.1	377.7	14192	5.4	5.5	163.0522	163.0...	3	2
+++	Methoxyfeno...	C 22 H 28 N 2 O 3	[M++]+	0.2	0.3	0.7	192.0	1157	11.4	11.6	369.2175	369.2...	3	2
+++	Pyrazosulfuro...	C 14 H 18 N 6 O 7 S 1	[M++]+	-0.0	0.5	1.2	n.a.	1875	12.1	12.1	415.1026	415.1...	3	2
++++	Flutriafol	C 16 H 13 F 2 N 3 O 1	[M++]+	-0.3	1.7	5.6	19.7	34899	10.7	10.4	302.1116	302.1...	3	2

Fonte: Autoria própria (2024).

Mesmo com a utilização de ferramentas que fazem a automação do processamento de dados, se faz necessário uma análise detalhada e criteriosa. No exemplo apresentado acima para a o composto Etiofencarbe. Foram excluídos 25 dos picos que estavam presentes inicialmente como “potencialmente” positivos, para a mesma amostra. A eliminação destes dados se deu através da verificação do tempo de retenção suspeito do analito no método cromatográfico e a exatidão de massa do

íon molecular no espectro de massa. A triagem dos compostos será detalhada na seção 5.3. Automatizar a análise das amostras torna mais fácil identificar se um determinado composto está presente ou não em cada uma delas. Esse atributo é fundamental em métodos que visam a triagem de diversos analitos como é o caso deste trabalho.

5.3 TRIAGEM DOS COMPOSTOS CONFIRMADOS

A triagem dos agrotóxicos, ou seja, a busca por estes compostos foi realizada no *software TargetAnalysis* e no *software DataAnalysis* como mencionado anteriormente. Através destes softwares são gerados os EICs, por intermédio do uso da fórmula molecular correspondente a cada composto, a qual é usada pelo software para calcular massa exata dos íons nos diferentes modos de ionização, sendo eles positivos ou negativos. Para cada amostra analisada, foram observados: tempo de retenção, massa exata do íon molecular em modo MS que corresponde a baixa energia na célula de colisão, e massa exata dos fragmentos identificados no *bbCID*, estes gerados quando a célula de colisão operou em alta energia e o perfil isotópico. Para a veracidade dos parâmetros acima, se fez a calibração das massas para cada amostra, através do calibrante formiato de sódio.

Foram desconsiderados como suspeitos todos os compostos que apresentaram erros na exatidão de massa acima de 5 ppm, diferentes tempos de retenção entre as amostras, fragmentos com erro de massa acima de 5 ppm. Vale ressaltar que a etapa de processamento de dados é uma etapa que requer muita atenção e tempo, por se tratar de um processo complexo. Logo, a partir metodologia descrita foram investigados 75 compostos, confirmando a presença de 6 agrotóxicos, sendo eles: Etiofencarbe, Metiocarbe, Acefato, Flutriafol, Melationa, Molinato, presentes em 5 amostras diferentes. Os compostos são distinguidos pelo seu grau de toxicidade e para que tipo de cultura é utilizado.

O Etiofencarbe está na lista de ingredientes ativos banidos no Brasil²⁷ e pela União Europeia.²⁸ Trata-se de um inseticida carbamato utilizado especialmente no controle de pragas como pulgões. Sua principal aplicação é em frutas e vegetais, tabaco e em

plantas ornamentais. É um composto altamente solúvel em água e baixa volatilidade. Dependendo das condições locais, pode ser moderadamente persistente no solo, mas não se espera que seja persistente em sistemas aquáticos. É altamente tóxico para abelhas por via oral, mas moderadamente tóxico para a maioria das outras biodiversidades.²⁹

Metiocarbe é um ingrediente ativo de uso autorizado no Brasil,²⁷ porém não autorizado na União Europeia.²⁸ É um agrotóxico carbamato de baixa solubilidade aquosa e baixa volatilidade, altamente tóxico para a maioria da fauna e flora, incluindo abelhas. Seu uso está relacionado ao controle de uma variedade de pragas de plantas como lesmas e caracóis, pássaros, moscas-das-frutas, cigarrinhas e pulgões em diversas culturas agrícolas, incluindo milho, leguminosas, raízes e tubérculos, alface, frutas, incluindo cerejas, mirtilos e pêssegos.²⁹

Acefato é um inseticida organofosforado de uso legalizado no Brasil²⁷ e restrito na União Europeia²⁹ muito usado para controlar pragas sugadoras e mastigadoras. É altamente solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos. Apresenta toxicidade moderada para mamíferos e toxicidade moderada a baixa para pássaros, abelhas, minhocas e a maioria dos organismos aquáticos. Esse inseticida é usado normalmente como um spray foliar para controlar insetos mastigadores e sugadores e apresenta grande aplicação em frutas e vegetais, videiras, arroz, lúpulo, culturas de estufa, incluindo pimentas e pepinos.²⁹

O Flutriafol é um fungicida, pertencente ao grupo dos triazóis, tem seu uso legalizado no Brasil²⁷ e banido na União Europeia.²⁸ Trata-se de um agrotóxico moderadamente solúvel em água que tende a ser persistente em sistemas de solo e frequentemente estável em sistemas aquáticos. É moderadamente tóxico para a maioria da biodiversidade, incluindo abelhas e minhocas. Este composto é muito usado para controlar doenças de folhas e espigas, geralmente em cereais incluindo milho, soja e maçãs.²⁹

Melationa é um inseticida que pertence ao grupo dos organofosforados, amplamente utilizado no controle de pragas em várias culturas agrícolas. Tem seu uso legalizado no Brasil²⁷, todavia na União Europeia²⁸ seu uso está sujeito a certas condições e aplicações específicas para minimizar riscos. É conhecido por apresentar

alta toxicidade para as abelhas e outros polinizadores. Sua principal utilização é no controle de pragas em culturas agrícolas como vegetais, frutas e grãos.²⁹

Molinato é um herbicida tiocarbamato, altamente solúvel e persistente em água. Moderadamente tóxico para humanos e para a maioria da fauna e flora. Tem sua aplicação aprovada no Brasil²⁷ mas restrita na União Européia.²⁸ É usado para controlar ervas daninhas de folhas largas e gramíneas em germinação em campos de arroz e em algumas outras culturas como beterraba.²⁹

A seguir serão apresentados, Figura 5 a Figura 10, em detalhes, os cromatogramas dos íons extraídos para cada íon molecular e fragmentos, o espectro de massas e *bbCID* e sua fórmula estrutural. No apêndice D é possível visualizar a lista com os fragmentos para cada composto encontrados no *Mass Bank*.

Figura 5 - Identificação das imagens para o composto Etiofencarbe: A: cromatograma; B: fragmetos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural

Amostra: C_1_13 Modo positivo tr: 10.0

Composto: Etiofencarbe Fórmula: $C_{11}H_{15}NO_2S$ m/z: 226.0896

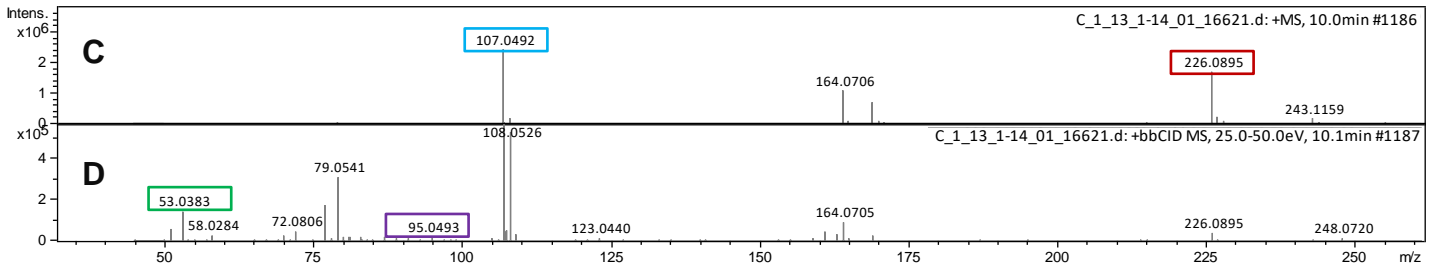
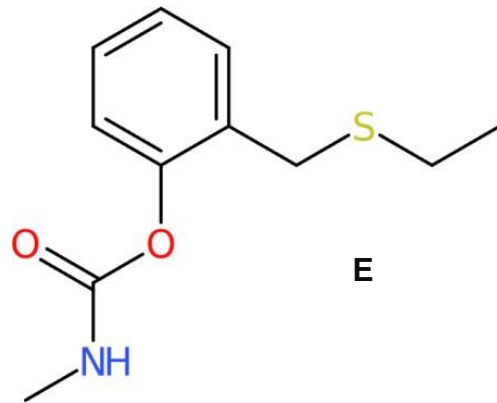
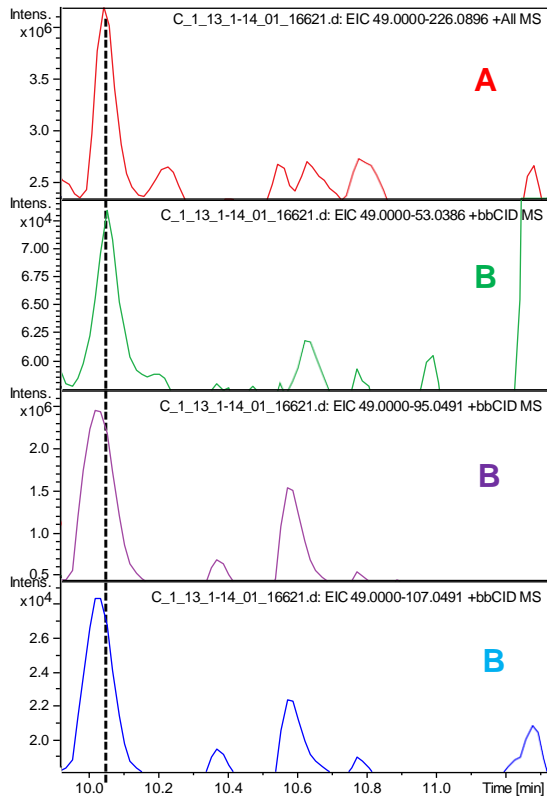


Figura 6 - Identificação das imagens para o composto Metiocarbe: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural

Amostra: C_3_3 Modo positivo tr: 11.4

Composto: Metiocarbe Fórmula: $C_{11}H_{15}NO_2S$ m/z : 226.0896

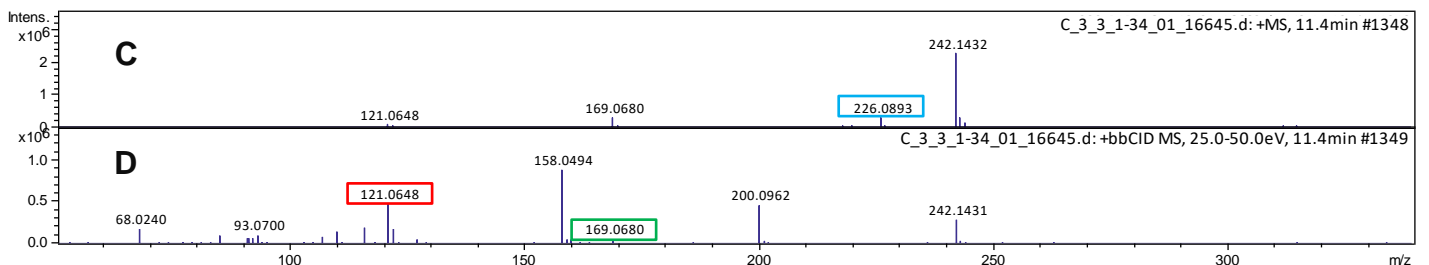
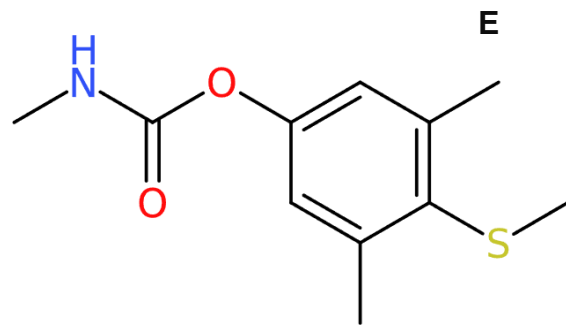
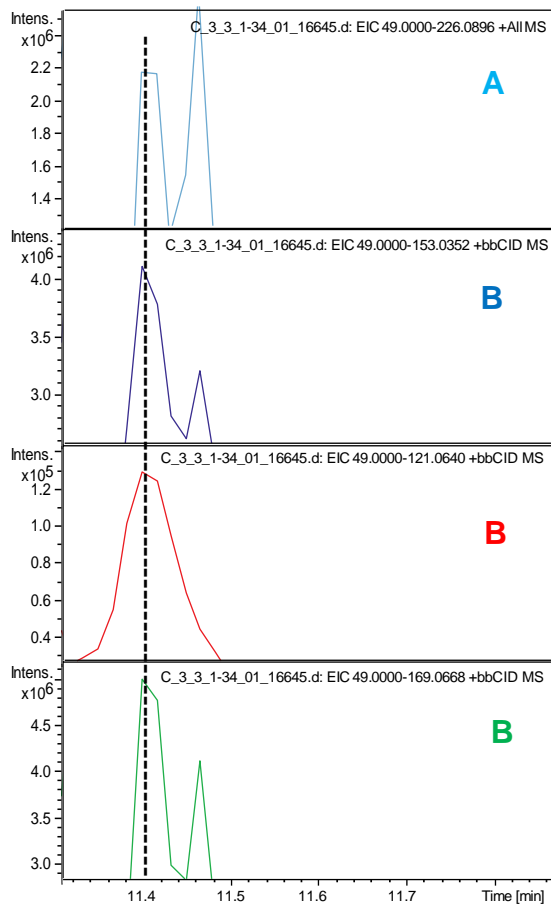


Figura 7 - Identificação das imagens para o composto Acefato: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural

Amostra: C_2_15 Modo positivo tr: 3.21

Composto: Acefato Fórmula: $C_4H_{10}NO_3PS$ m/z : 184.0192

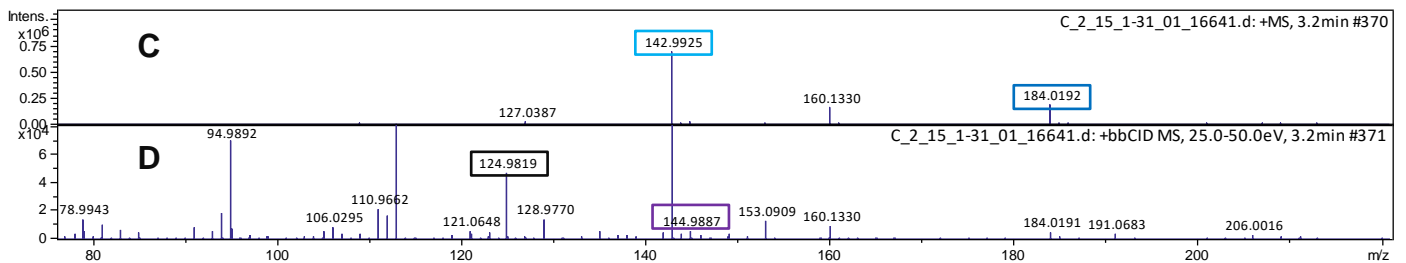
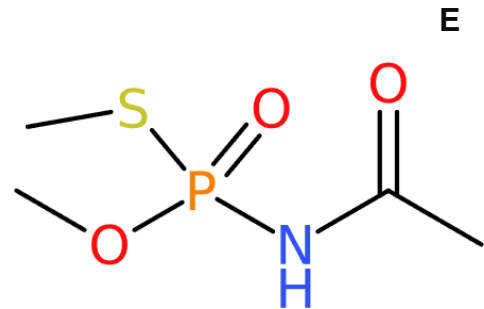
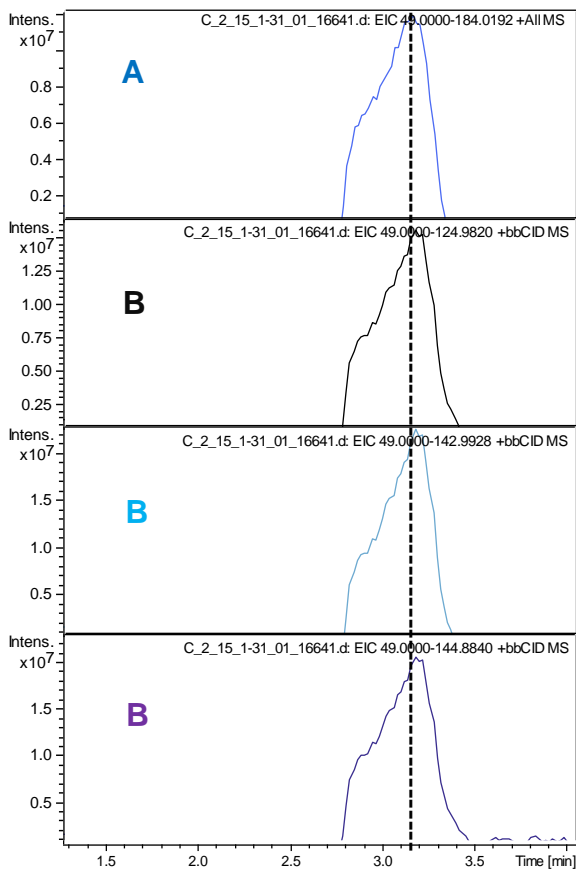


Figura 8 - Identificação das imagens para o composto Flutriafol: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Amostra: C_1_9 Modo positivo tr: 10.39
 Composto: Flutriafol Fórmula: C₁₆H₁₃F₂N₃O m/z: 302.1099

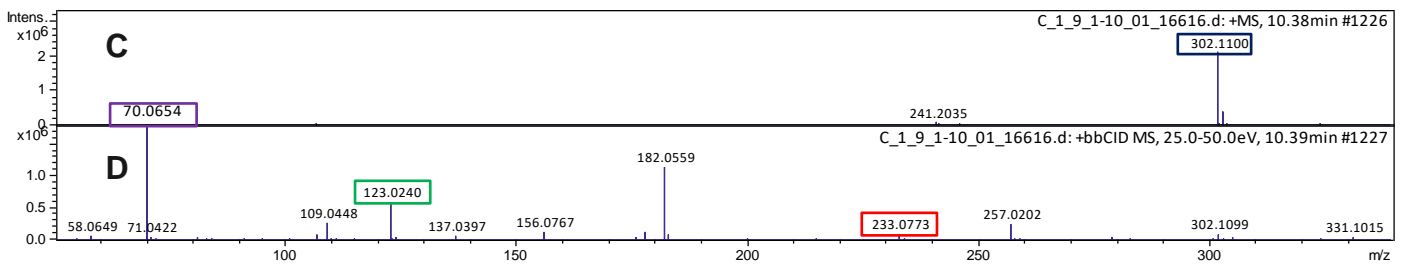
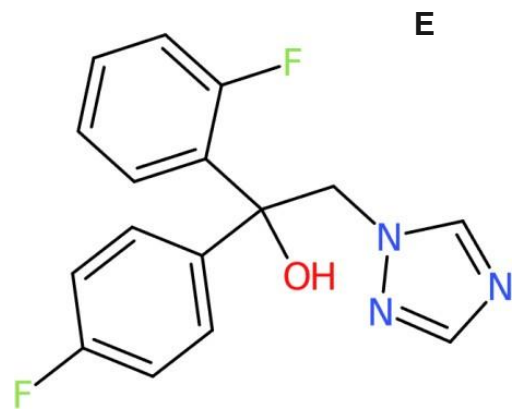
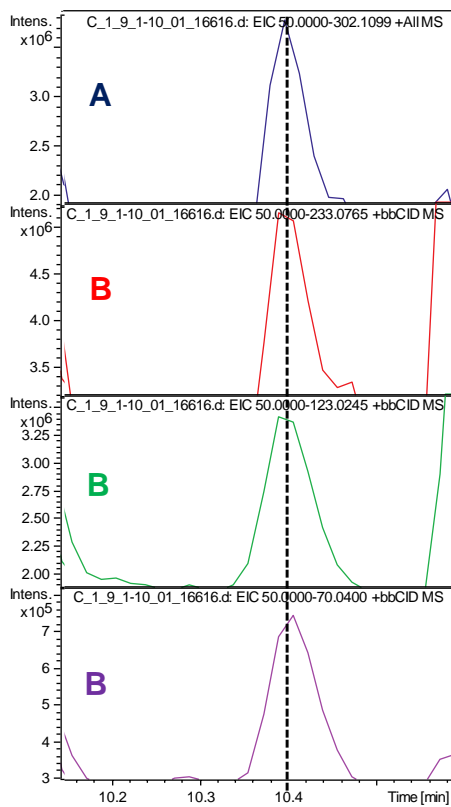


Figura 9 - Identificação das imagens para o composto Melationa: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Amostra: C_3_3 Modo positivo tr: 6.86

Composto: Malationa Fórmula: $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ m/z : 331.0433

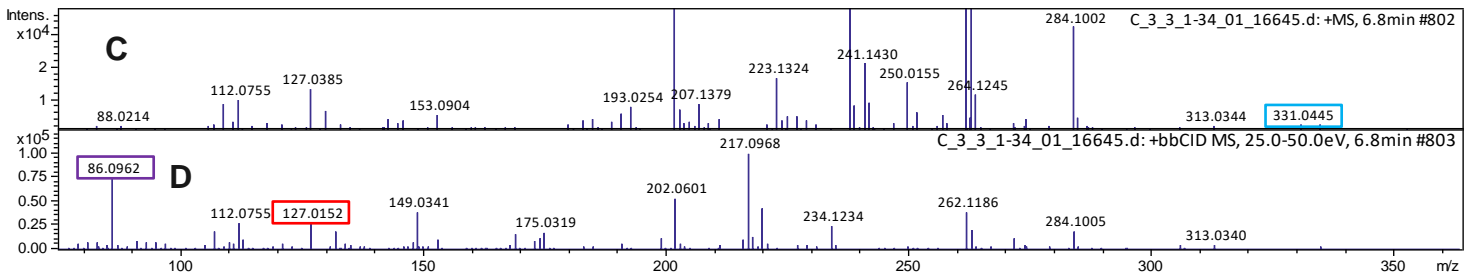
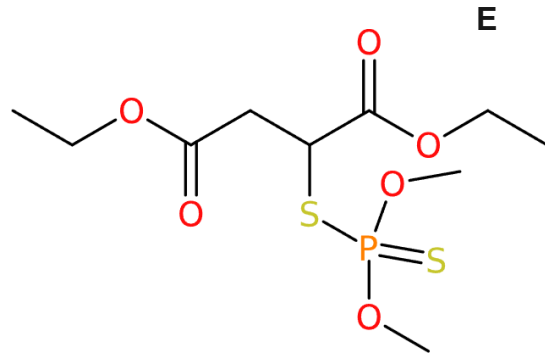
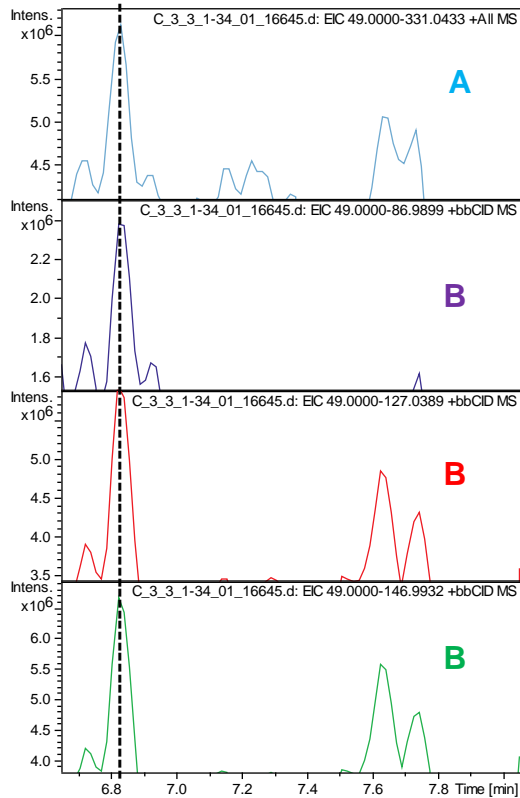
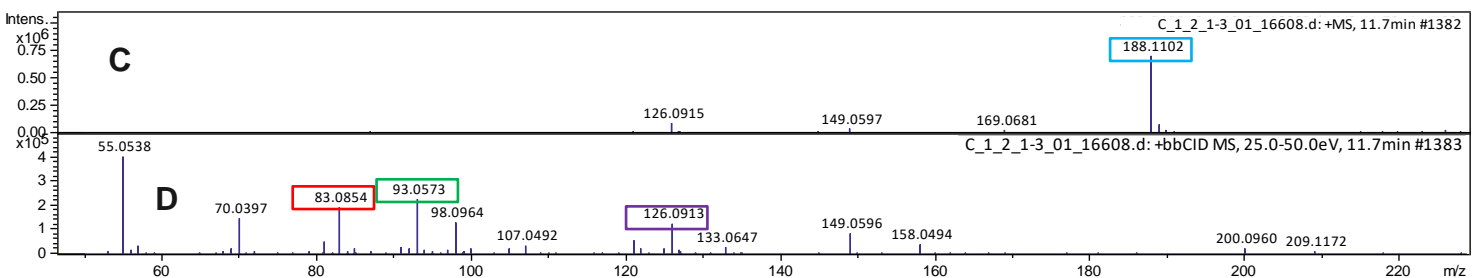
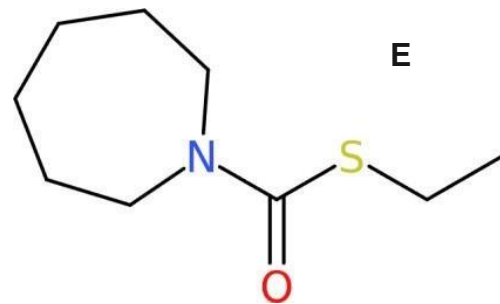
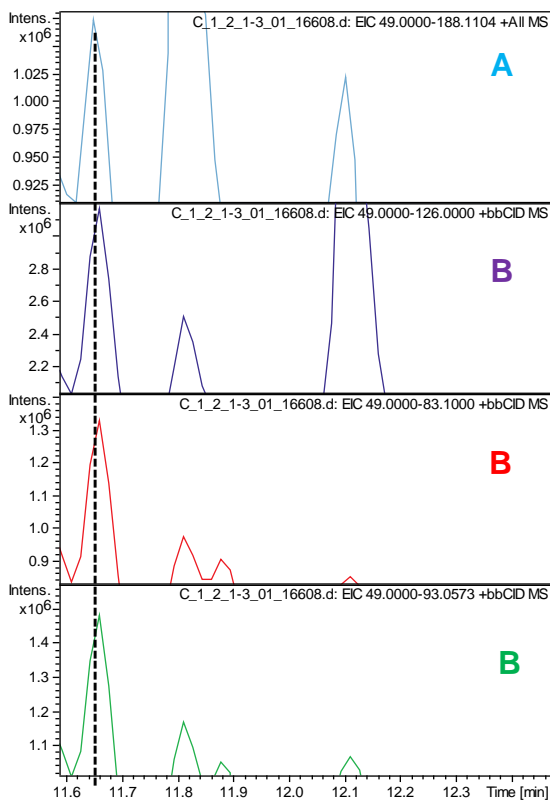


Figura 10 - Identificação das imagens para o composto Molinato: A: cromatograma; B: fragmentos retirados do *mass bank*; C: espectro de massas em baixa energia; D: *bbCID* e E: fórmula estrutural.

Amostra: C_1_2 Modo positivo tr: 11.67

Composto: Molinato Fórmula: C₉H₁₇NOS m/z: 188.1104



De modo geral, foram selecionados de dois a três fragmentos mais intensos para cada analito, para que eles fossem buscados nos espectros de massas do *bbCID*

através do software. Esses fragmentos devem, necessariamente, ter o mesmo tempo de retenção e perfil de pico do íon molecular ao qual são derivados.

Assim, sendo feita a análise do tempo de retenção dos fragmentos em relação ao íon fórmula do composto, sendo esses compatíveis com os do banco de espectros de massa e tendo a disposição os padrões analíticos com seus respectivos tempos de retenção podemos confirmar a presença do analito na amostra.

Utilizando o método descrito acima verificou-se que dos 75 compostos presentes no mix de padrão, seis deles, pertencentes as classes de carbamatos, organofosforados e triazóis encontram-se presentes em cinco amostras de mel estudadas. A Tabela 3 apresenta a relação entre cada um dos seis compostos confirmados nas amostras.

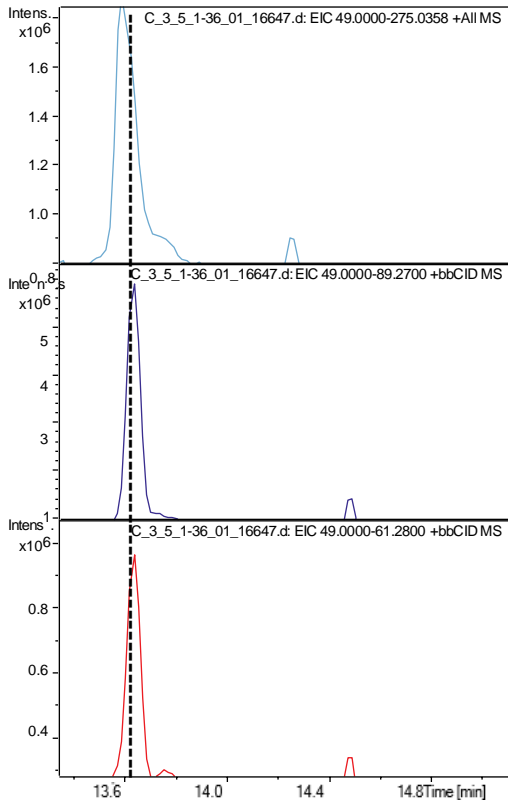
Tabela 3 - Relação dos agrotóxicos confirmados em cada amostra de mel.

<i>Número da amostra</i>	Etiofencarbe	Flutriafol	Acefato	Metiocarbe	Molinato	Malationa
<i>C_1_2</i>					✓	
<i>C_1_9</i>		✓				
<i>C_2_15</i>			✓			
<i>C_1_13</i>	✓					
<i>C_3_3</i>				✓		✓
<i>C_3_3</i>						

Fonte: Autoria própria (2024).

É importante que o analista avalie com cuidado cada um dos parâmetros para confirmar a presença de agrotóxicos, caso contrário, podemos ter um falso positivo. Um exemplo pode ser visto na Figura 11 em que em um primeiro momento podemos dar o composto como confirmado devido os picos apresentados no cromatograma do íon fórmula e íons extraídos dos fragmentos parecerem estar no mesmo tempo de retenção.

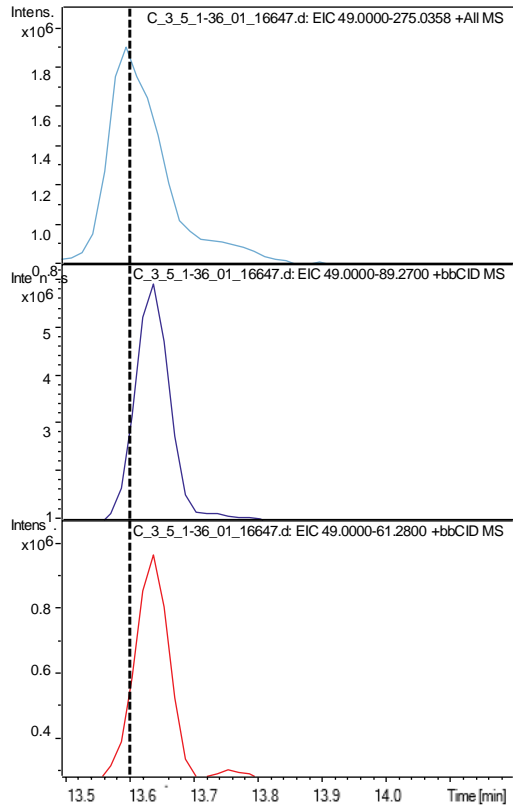
Figura 11 - Cromatograma do íon fórmula do Disulfotom amostra C_3_5 (m/z 275.0358) seguido pelos cromatogramas de íons extraídos dos fragmentos mais intensos (m/z 89.2700 e m/z 61.2800).



Fonte: Autoria própria (2024).

Todavia, fazendo uma análise mais criteriosa e ampliada, Figura 12, é possível ver que embora muito próximos os tempos de retenção do íon fórmula e seus fragmentos diferem. Além disso, comparando com o tempo obtido através dos padrões analíticos vê-se uma diferença, assim, pode-se concluir que este composto não pode ser dado como confirmado.

Figura 12 - Cromatograma do íon fórmula do Disulfotom amostra C_3_5 (m/z 275.0358) seguido pelos cromatogramas de íons extraídos dos fragmentos mais intensos (m/z 89.2700 e m/z 61.2800).



Fonte: Autoria própria (2024).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os agrotóxicos representam uma classe complexa de compostos químicos que, devido às suas características físico-química e seu amplo emprego na agricultura moderna, têm emergido como um dos principais focos de preocupação ambiental do século XXI. O uso de técnicas analíticas confirmativas representou um marco significativo na análise de compostos em matrizes complexas, com destaque para o mel, um produto natural que exige metodologias altamente específicas e sensíveis.

As informações obtidas a partir de padrões analíticos contribuíram para a obtenção de informações necessárias, como tempo de retenção e perfil de fragmentação, e foram de extrema importância na construção da base de dados com 75 agrotóxicos pertencentes a diferentes classes. A utilização de procedimentos operacionais fazendo uso de *softwares* como *DataAnalysis*, *TargetAnalysis* da Bruker Daltonics possibilitou confirmar a presença de seis agrotóxicos em cinco amostras diferentes.

Portanto, a metodologia desenvolvida demonstrou-se eficaz na identificação de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel, evidenciando a presença destes contaminantes em produtos apícolas da região estudada. Os resultados deste estudo não apenas validam a eficácia da metodologia desenvolvida, mas também alertam para a presença de agrotóxicos em produtos naturais como o mel, ressaltando a importância do monitoramento contínuo destes contaminantes. Esta constatação reforça a necessidade de ações que visem à redução do uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura moderna, considerando seus potenciais impactos sobre os polinizadores e, conseqüentemente, sobre a segurança alimentar global.

Os resultados obtidos a partir da análise serão repassados ao apicultor Sr. Cristian Acker Godoy, com o intuito de atender ao objetivo extensionista do projeto. Essa ação visa fornecer informações relevantes sobre a presença de agrotóxicos no mel produzido em sua propriedade, servindo como um alerta para possíveis contaminações e auxiliando na tomada de decisões que promovam a segurança alimentar e a qualidade do produto. A intenção é garantir que o apicultor possa adotar medidas adequadas para mitigar riscos e melhorar as práticas de manejo, contribuindo

para a sustentabilidade de sua atividade.

Além de beneficiar o apicultor Sr. Cristian Acker Godoy, o método de triagem desenvolvido será disponibilizado para outros apicultores, permitindo que eles também possam utilizar essa metodologia para detectar a presença de agrotóxicos no mel produzido em suas propriedades. Ao disponibilizar essa técnica na Central Analítica da UFRGS, o objetivo é ampliar o alcance do método e proporcionar a outros apicultores acesso a uma ferramenta útil para garantir a qualidade e segurança do mel, promovendo práticas mais sustentáveis e conscientes no setor apícola. Isso contribui tanto para a saúde dos consumidores quanto para a saúde das abelhas e o meio ambiente

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SCHWEIGERT, C. **Aplicação da espectrometria de massa de alta resolução na triagem de 2897 compostos em leite materno.** Trabalho de conclusão de curso. Porto Alegre, 2023.
2. PEREIRA, S. *et al.* **Desafios na conservação das abelhas em pequena e média propriedade de produção de mel.** Revista Alomorfia. v. 5, n. 1, 2021, p. 253-265. Presidente Prudente, 2021.
3. MAGALHÃES, R. *et al.*, **Experiências Exitosas em Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos no Brasil.** Brasília. 1ª edição, 2019.
4. Gois, G. C., de Lima, C. A. B., da Silva, L. T., & Evangelista-Rodrigues, A. **Composição do mel de *Apis mellifera*: requisitos de qualidade.** *Acta Veterinaria Brasileira*, 7(2), 137–147. Paraíba, 2013.
5. CAMPOS, H. *et al.* **Análise de sujidades e matérias estranhas em méis (*apis mellifera* L.) comercializados na cidade de Belém-PA. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Gramado, 2016.
6. NASCIMENTO SANTOS, G. **Qualidade do mel e perfil do consumidor do município de Nossa Senhora da Glória.** Monografia Bacharelado em Agroindústria. Nossa Senhora Da Glória/SE, 2020.
7. Tomazini, C. *et.al.* 2019. **A importância da apicultura para o agronegócio Brasileiro.** VI SIMTEC – *Simpósio de Tecnologia - Faculdade de Tecnologia de Taquaritinga*, 1(1), 48–61.
8. OLIVEIRA, D.S. **Apicultura: um novo ramo da agropecuária.** Escola Técnica Estadual Prof. Carmelino Corrêa Junior. Franca/SP, 2022.
9. ROSA, A. **Produção e qualidade do mel no Distrito Federal: percepção de produtores e consumidores.** Dissertação de Pós-graduação em Agronegócios. Brasília, DF. (2024)
10. BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Rebanho bovino brasileiro alcançou recorde de 234,4 milhões de animais em 2022. São Paulo, 2023.
11. BRASIL. Lei nº 14.785, de 27 de dezembro de 2023. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. Brasília.
12. ABRASCO. **Dossiê Científico e Técnico contra o PL do Veneno e a favor da Política Nacional de Redução de Agrotóxicos – PNARA.** Rio de Janeiro. (2018).

13. BRASIL. Lei nº 9.782, de 29 de julho de 2019. **Quantidade máxima estimada de resíduo de agrotóxico em alimentos ingerido per capita diariamente.** Brasília, 2019.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
15. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA. Agrotóxicos no Brasil. Brasília, DF, 2021.
16. BORGES, L. **Paraná está entre os três maiores exportadores do agronegócio do país em janeiro.** Terra de Direitos. Curitiba, PR, 2018.
17. PL 429/2022. Reduzir o uso e o acesso a agrotóxicos, além de alertar a sociedade sobre os riscos que eles representam para a saúde humana, o meio ambiente e a fauna. Paraná, 2022.
18. MENEZES, G. **Paraná precisa avançar na aprovação de políticas de redução ao uso de agrotóxicos.** Disponível em: <<https://terradedireitos.org.br/noticias/noticias/parana-precisa-avancar-na-aprovacao-de-politicas-de-reducao-ao-uso-de-agrotoxicos/24001>>. Acesso em: 12 mai 2024.
19. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos, 2022.
20. Revista GeSec São Paulo, SP, Brasil v. 14, n.6, p. 9842-9863. **Principais ingredientes ativos dos agroquímicos: comercialização e uso no Brasil**, 2023.
21. Snyder, L. R.; Kirkland, J. J. **Introduction to Modern Liquid chromatography.** 2ª edição. John Wiley & Sons, Inc, United States of America, 1979.
22. Mei, H.; Hsieh, Y.; Nardo, C.; Xu, X.; Wang, S.; Ng, K.; Korfmacher, W. A. **Investigation of matrix effects in bioanalytical high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assays: Application to drug discovery.** Rapid Commun. Mass Spectrom. 17, 97–103, 2003.
23. Noguera-Oviedo, K.; Aga, D. S. **Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment.** J. Hazard. Mater. 316, 242– 251, 2016.
24. Tuzimski, T.; Sherma, J. **High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis.** Chromatogr. Sci. Ser. 109, 141–166, 2015.
25. Barceló, D.; Petrovic, M. **Challenges and achievements of LC-MS in environmental analysis: 25 years on.** TrAC - Trends Anal. Chem. 26, 2–11, 2007.

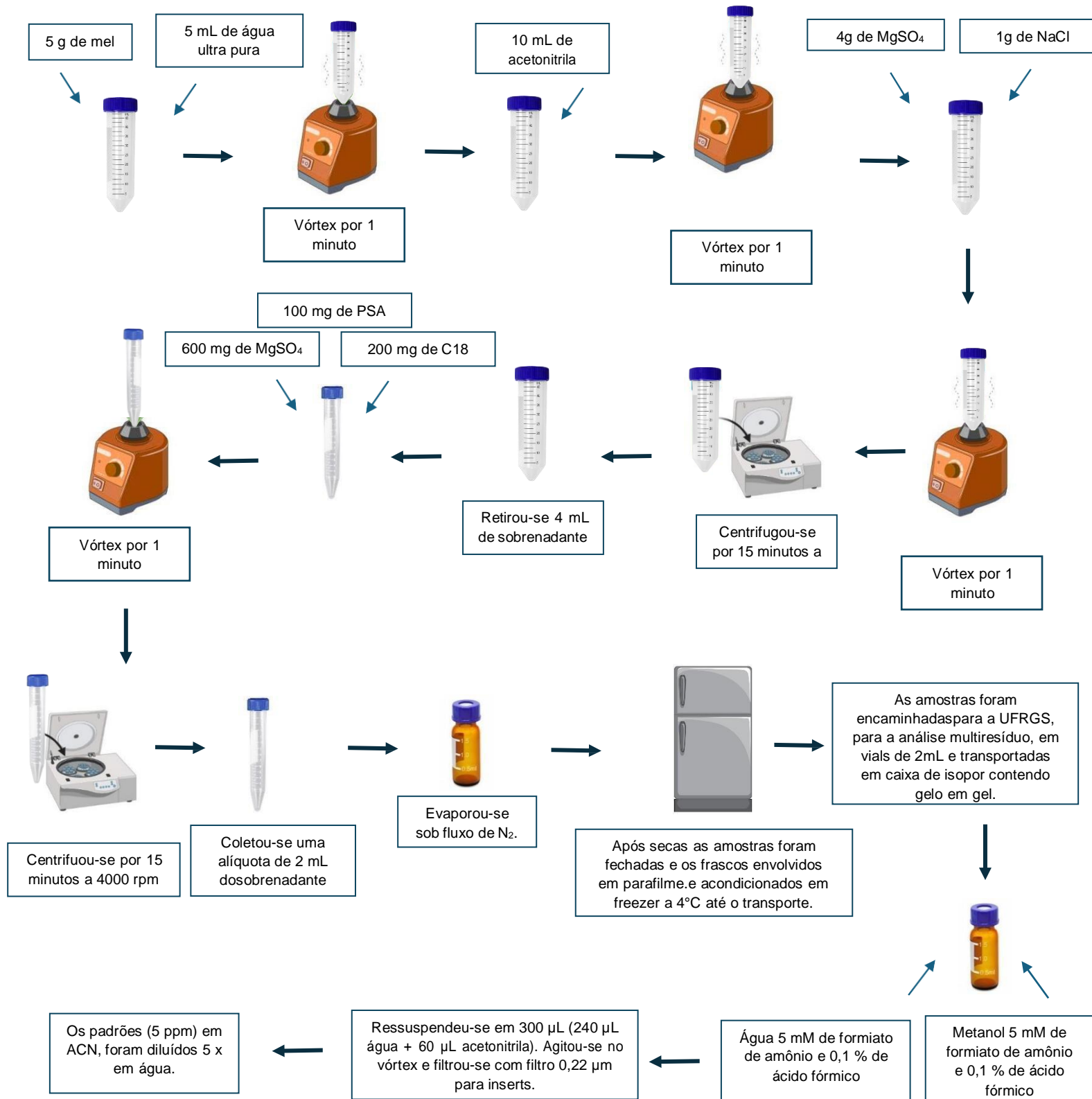
26. Bade, R. T. D. N. **Advanced analytical tools for the investigation of licit and illicit drug residues in water**. 326 f. Tese Doutorado Internacional. Universitat Jaume I, Espanha, 2016.

27. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil**, 2017.

28. EU Pesticides Database. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances>. Acesso em: 29 jun. 2024.

29. National Library of Medicine. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 30 ago.2024.

APÊNDICE A – ESQUEMA DO PREPARO DE AMOSTRA PELA EQUIPE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA, EM FOZ DE IGUAÇU UTILIZANDO A METODOLOGIA QuEChERS .



APÊNDICE B — BASE DE DADOS COM AS PRINCIPAIS INFORMAÇÕES DOS
75 ANALITOS SUSPEITOS

tR	Fórmula molecular	Composto	Classificação	Fragmentos		
3.21	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	Acefato	Organofosfado	124.9820	142.9928	144.884
12.04	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	Alacloro	Cloroacetanilida	238.093	162.127	147.102
8.54	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	Aldicarbe	Carbamato	116.054	89.0425	70.065
10.49	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	Ametrina	Triazina	186.088	158.045	138.074
10.69	C ₁₂ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O ₂	Azaconazol	Triazol	158.978	230.998	300.031
13.73	C ₂₀ H ₃₀ N ₂ O ₅ S	Benfuracarbe	Metilcarbamato de benzofuranila	195.045	252.062	158.116
5.71	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	Carbendazim	Benzimidazol	160.055	132.056	105.047
9.46	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	Carbofurano	Carbamato	165.092	137.058	123.048
7.77	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₃	Cimoxanil	Acetamida	171.053	128.044	111.019
12.98	C ₁₄ H ₈ Cl ₂ N ₄	Clofentezina	Difeniléteres	138.015	130.04	120.044
10.73	C ₁₈ H ₁₄ BrCl ₂ N ₅ O ₂	Clorantranilprole	Antranilamida	283.923	450.939	130.004
12.84	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	Clorfenvinfós	Organofosforado	204.933	155.048	127.015
6.95	C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S	Clotianidina	Neonicotinoide	169.054	131.969	113.017
12.49	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	Cresoxim metílico	Estrobilurina	267.106	222.093	116.045
5.84	C ₆ H ₁₅ O ₅ PS ₂	Demeton-S-metil-sulfona	Organofosforado	169.003	142.996	127.015
9.4	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	Diclorvós	Organofosforado	78.9948	109.009	144.985
6.71	C ₈ H ₁₆ NO ₅ P	Dicrotofos	Organofosforado	193.026	127.015	112.077
12.34	C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂	Diflubenzuron	Benzoiluréia	158.042	141.016	63.0229
12.47	C ₉ H ₂₂ N ₂ O ₃	Dimoxistrobina	Estrobilurina	238.126	205.091	116.045
13.53	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	Diniconazole	Triazol	252.009	158.973	70.044
12.84	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₃	Disulfotom	Organofosforado	89.2700	61.2800	
10.79	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	Diuron	Ureia	159.975	125.007	72.044
13.24	C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀	Espinosade (A) Espinosina D	Espinosinas	732.478	142.121	
10.0	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	Etiofencarbe	Carbamato	53.0386	107.0491	95.0491

tR	Fórmula molecular	Composto	Classificação	Fragmentos		
11.59	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₇ S	Etoxissulfurom	Sulfonilureia	279.034	261.028	236.035
11.28	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	Fenamidona	Imidazolinona	46.9958	117.047	189.012
15.37	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O	Fenazaquina	Quinazolina	57.0691	147.059	161.132
12.13	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ NO ₂	Fenehexamida	Hidroxianilida	177.981	143.012	97.101
10.18	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	Fenitrotiona	Organofosforado	248.038	184.025	142.996
12.41	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	Fenoxicarbe	Carbamato	256.098	128.062	88.039
12.39	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₃ Si	Flusilazol	Triazol	247.079	165.063	109.045
10.39	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	Flutriafol	Triazol	70.0400	123.0245	233.076
12.99	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	Forato	Organofosforado	142.935	114.963	75.0263
13.01	C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂	Fosalona	Organofosforado	182.003	114.963	75.0229
11.1	C ₁₁ H ₁₂ NO ₄ PS ₂	Fosmete	Organofosforado	160.033	133.024	105.035
14.41	C ₁₇ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ S	Hexitiazoxi	Tiazolidinacarboxamida	228.024	194.037	115.052
7.84	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄	Imazamoxi	Imidazolinona	261.124	246.083	163.052
8.16	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	Imazapique	Imidazolinona	231.118	163.052	86.096
6.8	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	Imazapir	Imidazolinona	217.092	149.035	96.044
9.4	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₃	Imazaquin	Imidazolinona	267.118	199.052	146.06
8.9	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	Imazetapir	Imidazolinona	245.125	177.068	124.075
6.87	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	Malationa	Organofosforado	86.9899	127.0389	146.993
12.19	C ₁₀ H ₂₀ NO ₅ PS ₂	Mecarbam	Organofosforado	226.996	142.935	96.950
9.3	C ₈ H ₁₆ NO ₃ PS ₂	Mefosfolan	Fosforamidato	139.951	167.984	196.012
10.72	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	Metidation	Organofosforado	145.006	85.0396	71.024
11.4	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	Metiocarbe	Carbamato	153.0352	121.0640	169.066
5.45	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	Metomil	Metilcarbamato de oxima	89.0244	106.033	79.993
11.61	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	Metoxifenzida	Diacilhidrazina	149.059	105.069	91.054
11.67	C ₉ H ₁₇ NOS	Molinato	Carbamato	126.200	83.1000	93.057
6.22	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	Monocrotofos	Organofosforado	193.026	127.015	98.060
9.31	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	Nicossulfurom	Sulfonilureia	366.053	182.056	106.027
4.03	C ₅ H ₁₂ NO ₄ PS	Ometoato	Nitenpiram	182.985	142.996	127.015

tR	Fórmula molecular	Composto	Classificação	Fragmentos		
8.93	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	Oxadixil	Fenilamida	219.118	132.088	117.053
12.44	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	Paration Etil	Forato	264.006	235.973	94.041
11.16	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	Paration metil	Organofosforado	249.992	142.996	124.981
13.42	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₂ O	Pencicurom	Fenilureia	261.079	218.071	125.013
12.7	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	Penconazol	Triazol	172.999	158.973	70.04
9.86	C ₁₆ H ₁₄ F ₅ N ₅ OS	Penoxsulam	Sulfonamida Triazol Pirimidina	444.054	195.071	164.057
12.4	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ NO ₄	Picoxistrobina	Estrobilurina	102.044	117.069	205.086
12.01	C ₁₄ H ₁₈ N ₆ O ₇ S	Pirazossulfurom- etilico	Sulfonilureia	182.056	157.068	83.024
14.12	C ₁₃ H ₂₄ N ₃ O ₃ PS	Pirimifos etílico	Organofosforado	306.106	170.074	114.963
11.31	C ₉ H ₉ Cl ₂ NO	Propanil	Anilida	161.982	127.013	65.038
13.06	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	Propiconazol	Triazol	158.973	122.996	89.038
12.43	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ PS	Quinalfos	Organotiofosfato	163.034	147.053	114.963
13.69	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₄	Quizalofop-etil	Ácido ariloxifenoxipropiônico	271.063	299.052	373.095
9.15	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₃ N ₅	Robenidina	Guanidina	138.015	155.032	
11.45	C ₁₇ H ₁₇ ClF ₄ N ₄ O ₅ S	Saflufenacil (Heat)	Uracila	348.950	197.990	
12.39	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₂	Tebufenozida	Diacilhidrazina	297.158	133.068	95.049
13.97	C ₁₈ H ₂₄ ClN ₃ O	Tebufenpirade	Pirazóis	145.053	117.022	147.113
6.51	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	Tiabendazol	Benzimidazol	175.035	131.064	92.049
13.12	C ₁₂ H ₁₆ ClNOS	Tiobencarbe	Tiocarbamato	125.013	98.9996	89.038
8.41	C ₉ H ₇ N ₃ S	Triciclazol	Benzotiazol	163.034	136.025	109.016
7.22	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	Triclorfon	Organofosforado	220.952	127.015	78.994
12.99	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₃	Triflumuron	Benzoiluréia	178.044	156.021	138.995
12	C ₁₇ H ₂₀ ClN ₃ O	Triticonazol	Triazol	249.101	125.013	70.041

Fonte: Autoria própria (2024).

APÊNDICE C: VENDAS DE AGROTÓXICOS NO ANO DE 2022 POR REGIÃO.

Região/UF	CLASSE I	CLASSE II	CLASSE III	CLASSE IV	TOTAIS
	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)
NORTE	898.35	18.206,06	26.708,27	72.53	45.885,20
AC	8.104576794	453.3326642	893.7944315	-4.1786053	1.351,05
AM	2.669927135	47.43382051	125.8342561	5.928436016	181.87
AP	0	1.798544	12.0374819	14.91	28.75
PA	198.5084853	6998.091798	8443.232973	13.0890317	15,652.92
RO	261.642768	4499.98548	6271.0605	9.87096532	11,042.56
RR	13.13580797	233.1377411	542.6259503	10.09555853	799.00
TO	414.2853055	5972.276013	10419.68505	22.81243815	16,829.06
NORDESTE	1552.785643	34397.09587	37765.73639	357.351576	74.072,97
MA	372.7463704	6257.54049	8988.842524	30.54406477	15.649,67
PI	310.9222979	4234.60238	5216.533447	10.0821762	9.772,14
CE	8.940066086	286.8363991	640.5057031	33.633877	969.92
RN	7.740386378	268.1697099	282.0490764	2.445158136	560.40
PB	8.3848206	480.7263192	676.1252712	3.780411676	1,169.02
PE	28.78438675	1528.614955	2089.251207	105.4539152	3.752,10
AL	18.64629861	911.0937403	990.1627397	9.05251297	1,928.96
SE	14.55783809	604.9482741	761.9906208	4.720935704	1,386.22
BA	782.0631777	19824.5636	18120.2758	157.6385243	38,884.54
SUDESTE	4141.142592	65652.29156	77151.19727	6680.946833	153.625,58
ES	21.74677296	1262.738344	2332.079494	15.67111951	3,632.24
MG	1311.453938	22833.29494	28986.83546	1102.841155	54.234,43
RJ	3.7904895	-532.2988886	-3480.042297	6.032778306	-4.002,52
SP	2804.151391	42088.55716	49312.32462	5556.40178	99.761,43

Região/UF	CLASSE I	CLASSE II	CLASSE III	CLASSE IV	TOTAIS
	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)	Qtde (t. IA)
SUL	2690.820484	54480.55163	98670.68435	1473.954935	157.316,01
<i>PR</i>	1471.678016	30700.11928	46927.01537	666.0512472	79.764,86
<i>SC</i>	207.0613949	5120.731792	7121.165118	187.6571954	12,636.62
<i>RS</i>	1012.081074	18659.70056	44622.50387	620.2464924	64.914,53
CENTRO-OESTE	8834.552251	139190.7659	142430.2515	2387.644792	292.843,21
<i>DF</i>	32.62643906	980.85057	1041.667789	18.28386762	2.073,43
<i>GO</i>	2258.88046	28280.27632	33242.81754	1470.05094	65.252,03
<i>MS</i>	1163.584635	20226.82224	27202.20899	179.5614698	48.772,18
<i>MT</i>	5379.460717	89702.81674	80943.55719	719.7485148	176.745,58
Vendas sem definição	1038.69354	18428.02656	54327.47201	3115.006403	76.909,20
Vendas Totais	19.156,34	330.354,79	437.053,61	14087.4317	800.652,17

Fonte: IBAMA (2022).

APÊNDICE D: FRAGMENTOS RETIRADOS DO *MASS BANK* PARA OS SEIS COMPOSTOS CONFIRMADOS:

MELATIONA

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

46.9943 0.5 22
71.0114 1.7 75
78.9928 3 132
86.9891 1 44
98.9853 0.8 35
99.0069 22.6 999
110.9656 0.9 39
114.9841 0.6 26
116.9997 0.8 35
118.9627 0.9 39
124.9814 17.8 786
127.0384 1.1 48

METICARB

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

121.064 193200 999
122.0714 114368 591
123.0759 13316 68
124.0797 1008 5
126.0487 1060 5
139.0192 1092 5
141.0718 1028 5
153.0352 5676 29
154.0432 19644 101
155.0463 1760 9
169.0668 28604 147
170.0698 3648 18

MOLINATO

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

55.054227 100 999
69.069877 1.493633 14
70.065126 6.60809 66
81.069877 5.501403 54
83.049141 1.928168 19
83.085527 32.965973 329
84.080776 1.817194 18
98.096426 30.913282 308
126.09134 59.954509 598
160.115447 1.674437 16
188.110361 3.911774 39

FLUTRIAFOL

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

43.0293 18.3 14
70.0399 1249.7 999
75.0221 16.7 13
95.0286 107.8 86
109.0444 332.3 265
123.0242 944.3 754
137.0391 13 10
165.0696 13.5 10
175.0529 13.1 10
194.0511 13.5 10
195.0582 34.1 27
214.0577 18.9 15
215.066 26.1 20

ACEFATO

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

110.9661 1096 9
124.982 22084 184
126.9771 1192 9
128.9769 1012 8
136.0156 1236 10
142.0083 5272 44
142.9928 119492 999
143.9947 3960 33
144.9884 5224 43

ETIOFENCARBE

PK\$PEAK: m/z int. rel.int.

50.0151 2639344.8 166
51.0229 15814404 999
53.0386 3999473.2 252
55.018 245077.1 15
58.0288 1269764.5 80
77.0386 12425397 784
78.0465 270344.2 17
79.0542 933639.1 58
94.0412 603754.7 38
95.0491 3433452.8 216
107.0493 151653.9 9

ANEXO 1: DECLARAÇÃO DE INTERESSE NOS RESULTADOS OBTIDOS:

DECLARAÇÃO DE INTERESSE

Eu, Cristian Acker Godoy, CPF: 108.206.349-56, produtor rural inscrito sob CAD/PRO 95974056-90, apicultor na cidade de São Miguel do Iguaçu-PR, declaro interesse nos resultados que possam vir a ser gerados no trabalho de conclusão de curso da aluna LARISSA MENEGHINI, sob orientação do Dr. ALEXSANDRO DALLEGRAVE no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que busca realizar uma análise de triagem de agrotóxicos em amostras de mel.

Foz do Iguaçu, 29 de Janeiro de 2024.

Documento assinado digitalmente
 **CRISTIAN ACKER GODOY**
Data: 29/01/2024 15:39:07-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Cristian Acker Godoy