

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE 8 PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ABELHAS PARA BIOMONITORAMENTO

Victor Padilha Catelan, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiiana

Matheus Gomes Bezerra da Silva discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiiana

Maria Elizabeth Gomes Paz, discente de pós-graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiiana

Elton Luis Gasparotto Denardin, docente, Universidade Federal do Pampa

Rafael Roehrs, docente, Universidade Federal do Pampa

victorcatelan.aluno@unipampa.edu.br

As abelhas do mel (*Apis mellifera*) são animais de extrema importância ecológica, pois realizam a polinização de diversas espécies vegetais. Estes insetos percorrem diariamente grandes distâncias na busca por mantimentos, como água, pólen e néctar para sua alimentação e manutenção das colmeias. Neste processo, as abelhas podem ser expostas à diversos fatores nocivos, como por exemplo os pesticidas. Sabe-se que atualmente as abelhas vêm sofrendo uma queda populacional acentuada, que possivelmente está associada ao uso crescente de pesticidas próximo a áreas de criação. Os pesticidas são compostos químicos utilizados para o controle de pragas, como insetos, ácaros, fungos e ervas daninhas, em monoculturas. Estes compostos, quando aplicados de forma inadequada, podem atingir áreas e organismos não-alvo, causando toxicidade. E, dentre os potenciais organismos não-alvo está a abelha, que por este motivo, é um inseto com potencial de biomonitoramento, que é uma ferramenta de monitoramento ambiental que utiliza organismos vivos para a avaliação de mudanças no ambiente. A região Oeste do estado do Rio Grande do Sul tem sua agricultura pautada na produção de arroz e soja. Além disso, diversos casos de deriva de pesticidas já foram, e vêm sendo registrados nesta região. Portanto, é importante que se tenha atenção às possíveis contaminações de organismos não alvo com os pesticidas utilizados nestas monoculturas. Para a avaliação da contaminação por pesticidas, é necessário que se desenvolvam metodologias de preparo de amostra e quantificação sensíveis para estes compostos. Desta forma este trabalho tem como objetivos adaptar um método QuEChERS para a extração dos pesticidas Imazetapir, Propanil, Sulfentrazone, Clorpirifós, 2,4-D e os metabólitos 2,4-DCP, 3,4-DCA e 3,5-DCA de amostras de abelha.

Foram pesados 5 g de *Apis mellifera* em tubos de 50 mL, adicionou-se 10 mL de água ultrapura fortificada com 600 µL da solução de trabalho da mistura dos pesticidas (para concentração final de análise de 6 mg. L⁻¹). Em seguida, a mistura foi homogeneizada com homogeneizador de tecidos por aproximadamente 1,5 minutos. Após, foram adicionados 9,4 mL de acetonitrila (MeCN) com 5% de ácido fosfórico (H₃PO₄). Os tubos foram então levados a banho de ultrassom por 1 minuto e à agitador do tipo vórtex por 1 minuto. Para a etapa de *salting-out* foram adicionados aos tubos

3 g de sulfato de magnésio ($MgSO_4$) e 1 g de cloreto de sódio ($NaCl$) e foram agitados novamente por 1 minuto. Posteriormente, os tubos foram levados à centrifugação por 5 minutos a 3500 rpm. Para a etapa de *cleanup* foi transferido 1 mL do sobrenadante resultante da etapa anterior, para um tubo de centrífuga de 2 mL e adicionou-se 150 mg de $MgSO_4$ e 70 mg de octadecilsilano (C18). O tubo foi levado à agitação por 1 minuto e após, foi centrifugado por 5 minutos a 3500 rpm. Então, todo o sobrenadante foi coletado e filtrado com filtro de seringa de PTFE hidrofóbico ($0,22\ \mu m$), transferido para frascos âmbar de 2 mL para posterior análise por CLAE-DAD, com um método de análise previamente desenvolvido. Foram analisadas amostras sem a adição dos padrões dos pesticidas (branco), para a verificação da existência de compostos interferentes da matriz nos tempos de retenção dos pesticidas. Todas as amostras foram analisadas em duplicata. Foram testadas diferentes condições de fase extratora ($MeCN$ ou $MeCN + 5\%$ de H_3PO_4) e de *cleanup* (70 mg de C18 ou 70 mg de C18 + 150 mg de $MgSO_4$).

Médias de recuperação entre 70 e 120% com desvio padrão relativo (RSD) < 20% foram consideradas aceitáveis para a determinação da fase de extração e *cleanup*.

Dentre os resultados obtidos, as condições que melhor atenderam aos critérios de recuperação aceitáveis foi solvente extrator $MeCN + 5\% H_3PO_4$ e *cleanup* 70 mg de C18 + 150 mg de $MgSO_4$, em que foram obtidas recuperações de $165,5167\% \pm 5,0697\%$; $115,9015\% \pm 0,236\%$; $108,2474\% \pm 1,7443\%$; $91,7109\% \pm 0,3798\%$; $89,5508\% \pm 12,0681\%$; $88,4481\% \pm 2,7392\%$; $123,27\% \pm 0,1806\%$ e $91,3801\% \pm 3,5694\%$ para os pesticidas Imazetapir, Sulfentrazone, 2,4-DCP, 3,4-DCA, 2,4-D, Propanil, 3,5-DCA e Clorpirifós, respectivamente.

A acetonitrila com ácido fosfórico 5% foi considerada a melhor fase de extração, provavelmente por apresentar polaridade intermediária e estar em meio ácido. Dessa forma, há um maior espectro de afinidade pelos pesticidas de interesse. O alto índice de recuperação dos pesticidas Imazetapir e 3,5-DCA podem ser reflexo do efeito da matriz sobre os analitos ou da possibilidade de as abelhas utilizadas estarem previamente contaminadas com estes pesticidas em específico. Os resultados demonstram que o método desenvolvido possibilitou a extração de 6 dos 8 compostos de interesse de forma satisfatória, entretanto, mais testes devem ser realizados para a otimização da extração de todos os pesticidas e posterior aplicação em amostras de biomonitoramento.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS, UNIPAMPA.

Palavras-chave: Abelhas; Biomonitoramento; Contaminação; QuEChERS; Pesticidas.