

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA
MESTRADO

IMIDACLOPRIDO E FIPRONIL EM MEL COMERCIAL DE *Apis mellifera*

CASCAVEL

2021

KARINE MEDINA ROSA

IMIDACLOPRIDO E FIPRONIL EM MEL COMERCIAL DE *Apis mellifera*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola - Mestrado, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE/*Campus* Cascavel, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.
Área de concentração: Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Silvio César Sampaio

CASCADEL

2021

Medina Rosa, Karine
Mi Imidacloprido e fipronil em mel comercial de
Apis mellifera / Karine Medina Rosa; orientador
Silvio César Sampaio. -- Cascavel, 2021.
80 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de
Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do
Paraná, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2021.

1. . I. Sampaio, Silvio César, orient. II.
Título.

Revisor: Prof. Dr. José Carlos da Costa

Data de revisão de português: 28 de junho de 2021

Data de revisão de inglês: 28 de junho de 2021

Data de revisão das normas de monografias do PGEAGRI: 28 de junho de 2021

KARINE MEDINA ROSA

IMIDACLOPRIDO E FIPRONIL EM MEL COMERCIAL DE *APIS MELLIFERA*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola - Mestrado, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE/*Campus* Cascavel, como requisito parcial para obtenção do título de mestre. Área de concentração: Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Silvio César Sampaio

Universidade Estadual de Oeste do Paraná, *Campus* Cascavel



Prof. Dr. Marcus Metri Correa

Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Ralphy Rinaldo dos Reis

Universidade Estadual de Oeste do Paraná, *Campus* Cascavel

Cascavel, 16 de julho de 2021.

BIOGRAFIA

Nascida em 6 de setembro de 1986, natural de Cascavel – PR. Possui graduação em Nutrição, pelo Centro Universitário Assis Gurgacz, no período de 2008 a 2011 e Pós-Graduação, MBA em Gastronomia, pelo Centro Universitário Assis Gurgacz, no período de 2015 a 2016. Ingressou como mestranda no primeiro semestre de 2019 no Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola (PGEAGRI) da Universidade Estadual do Oeste Paraná, sob orientação do Professor Dr. Silvio César Sampaio, com pesquisa voltada à detecção e quantificação dos defensivos agrícolas imidacloprido e fipronil em mel comercial de *Apis mellífera*, por meio de análise de produtos comercializadas em supermercados e lojas de produtos naturais.

“Se as abelhas
desaparecerem da face da terra, a
humanidade terá apenas mais
quatro anos de existência. Sem
abelhas não há polinização, não há
reprodução da flora, sem flora não
há animais, sem animais
não haverá raça humana”.

Albert Einstein

Dedico primeiramente a Deus e minha
família em especial minha irmã Danielle.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar força, ânimo e disposição durante esse trajeto. Minha família, meu orientador professor Dr. Silvio, aos técnicos de laboratório Euro e Edison que sempre foram solícitos em todas as necessidades, aos meus colegas de classe Luana e Jamerson pela parceria nas apresentações de trabalhos, ao Marcelo que sempre esclareceu minhas dúvidas, agradecimento especial para minhas companheiras de pesquisa Cris e Kat, pois com muita união trilhamos uma etapa importante de nossas vidas, aos membros da banca por compartilharem seus conhecimentos contribuindo para o aprimoramento deste trabalho. A CAPES pelo fornecimento da bolsa, a toda equipe do programa PGEAGRI, em especial a coordenadora Monica sempre prestativa e solícita, aos professores do programa, a UNIOESTE, e, por fim a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

IMIDACLOPRIDO E FIPRONIL EM MEL DE *Apis mellifera*

RESUMO

Os defensivos agrícolas desempenham um papel importante na qualidade da colheita e proteção dos alimentos, proporcionando benefícios para o aumento da produção e redução de pragas. Porém, quando atingem além do alvo desejado, as consequências são danos causados aos ecossistemas. A contaminação das abelhas por defensivos ocorre durante a coleta de néctar e pólen através de visitas a flores contaminadas e partículas suspensas no ar. Por esse motivo, abelhas e seu principal produto, o mel, podem ser ferramentas de monitoramento ambiental. As abelhas encontram-se em processo de desaparecimento, em várias partes do mundo, o que deixa a segurança alimentar ameaçada. Por essa razão, foi estabelecido como objetivo deste trabalho extrair e quantificar os defensivos agrícolas imidacloprido e fipronil em méis orgânicos e convencionais, comercializados em supermercados e lojas de produtos naturais e comparar os resultados encontrados com os limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação. As amostras de mel foram analisadas no Laboratório de Análises Agroambientais da Unioeste, sendo quatro de mel orgânico e quatro convencional. A extração foi realizada utilizando cartuchos SPE C18 em um minifold. A eluição dos analitos foi realizada em TurboVap® LV. Os analitos foram ressuspensos em metanol e transferidos para vials de cromatografia. A determinação de imidacloprido foi por HPLC e fipronil por CG-ECD. A fim de atestar a confiabilidade do método, foram estudados alguns parâmetros de validação: seletividade, linearidade, limites de detecção, limites de quantificação e recuperação. Os resultados encontrados nos parâmetros de validação foram satisfatórios. Três amostras apresentaram contaminação por imidacloprido, sendo duas amostras de mel orgânico e uma de mel convencional, com concentrações entre 0,45 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 4,55 $\mu\text{g mL}^{-1}$, já o fipronil foi detectado em sete das oito amostras, sendo três de mel orgânico e quatro de mel convencional, com concentrações entre 0,04 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 0,14 $\mu\text{g mL}^{-1}$, todas acima dos LMR determinado pela FAO e UE. O mel orgânico apresentou contaminação maior que o convencional. Por esse motivo, sugere-se que sejam implementadas mais pesquisas voltadas para a análise de alimentos orgânicos, a fim de garantir mais segurança aos consumidores que adquirem esses produtos. Por fim, recomenda-se às autoridades um trabalho de conscientização dos agricultores, alertando sobre o desaparecimento das abelhas em todo mundo e a importância delas para a atividade agrícola e orientar sobre a necessidade do bom senso durante a aplicação de defensivos.

Palavras-chave: Segurança alimentar; apicultura; neonicotinóide; pirazol.

IMIDACLOPRID AND FIPRONIL IN *Apis mellifera* HONEY

ABSTRACT

The utilization of agricultural pesticides plays an important role in the quality of the crop and food protection, providing benefits for increasing productivity and reducing pests. However, when they hit beyond the desired target, the consequences are damage caused to ecosystems. The contamination of bees by pesticides occurs during the collection of nectar and pollen through visits to contaminated flowers and airborne particles. For this reason, both the bees and honey, their main product, can be environmental monitoring tools. Bees are in the process of disappearing in various parts of the world, which results in the menace of food security. Therefore, it was established as the objective of this thesis the extraction and quantification of pesticides Imidacloprid and Fipronil in organic and conventional honeys, commercialized in supermarkets and health food shops, as well as the comparison of the results found with the maximum residue limits established by legislation. The honey samples were analyzed in the Laboratory of Agro-Environmental Analyses of the Western Paraná State University (Unioeste), with four of the samples being organic honey and the other four, conventional honey. Extraction was achieved by using SPE C18 cartridges in a minifold. Analyte elution was performed in TurboVap® LV. Analytes were resuspended in methanol and transferred to chromatography vials. The determination of imidacloprid was by HPLC and fipronil by CG-ECD. In order to attest the reliability of the method, some validation parameters were investigated: selectivity, linearity, detection limits, quantification and recovery limits. The results found in the validation parameters were satisfactory. Three samples were contaminated by imidacloprid, two of them being organic honey and one, conventional honey, with concentrations ranging from $0.45 \mu\text{g ml}^{-1}$ to $4.55 \mu\text{g ml}^{-1}$, whereas fipronil was detected in seven of the eight samples, three of which were organic honey and four of conventional honey, with concentrations ranging from $0.04 \mu\text{g ml}^{-1}$ to $0.14 \mu\text{g ml}^{-1}$, all above the LMRs determined by FAO and EU. Organic honey showed greater contamination than the conventional one. For this reason, it is suggested that more research aimed at the analysis of organic foods be implemented, in order to ensure more safety for consumers who purchase these products. Ultimately, it is recommended that the authorities work to raise awareness among farmers, warning them about the disappearance of bees around the world and their importance for agricultural activity, as well as to provide guidance on the need for common sense when applying pesticides.

Keywords: Food security; apiculture; neonicotinoid; pyrazole.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE QUADROS	xii
LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Abelhas: <i>Apis mellifera</i>	4
3.2 Atividade apícola	8
3.3 Polinização	13
3.4 Uso de defensivos agrícolas.....	14
3.4.1 Grupo químico neonicotinóide: imidacloprido	23
3.4.2 Grupo químico pirazol: fipronil	26
3.5 Defensivos em mel	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Descrição das amostras	32
4.2 Limpezas das vidrarias.....	33
4.3 Extração das amostras de mel	33
4.4 Análise estatística	35
4.5 Determinação de imidacloprido em mel.....	36
4.6 Parâmetros de validação cromatográfica para análise de imidacloprido em mel	36
4.7 Determinação de fipronil em mel	38
4.8 Parâmetros de validação cromatográfico para análise de fipronil em mel.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Determinação de imidacloprido em mel.....	41
5.2 Concentração de imidacloprido em mel.....	44
5.3 Determinação de fipronil em mel	47
5.4 Concentração de fipronil em mel	50
5.5 Comparação entre os resultados encontrados para imidacloprido e fipronil	52

6	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Volume em toneladas de defensivos e ingredientes ativos comercializados no Paraná entre os anos de 2013 e 2019	19
Tabela 2	Culturas que mais utilizaram defensivos agrícolas no Paraná entre os anos de 2013 e 2019	20
Tabela 3	Imidacloprido em toneladas e percentual comercializado no Paraná entre 2013 e 2019	26
Tabela 4	Fipronil em toneladas e percentual comercializado no Paraná entre 2013 e 2019	28
Tabela 5	Condições cromatográficas do CG-ECD para determinação de fipronil em amostras de mel	39
Tabela 6	Comparação entre imidacloprido e fipronil, em relação a parâmetros avaliados e características específicas.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fórmula estrutural do imidacloprido.	24
Figura 2	Fórmula estrutural do fipronil.	27
Figura 3	Condicionamento dos cartuchos SPE C18 1000 mg / 6 ml conectado a um Minifold.	34
Figura 4	Coletas de extratos em tubos de ensaios sob vácuo.	34
Figura 5	Eluidos submetidos à secagem sob fluxo de nitrogênio.	35
Figura 6	TurboVap® LV.	35
Figura 7	Shimadzu HPLC, localizado no laboratório de Análises Agroambientais, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.	36
Figura 8	GC-ECD, Shimadzu CG-2010, localizado no laboratório de análises agroambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.	38
Figura 9	Cromatograma correspondente ao solvente metanol utilizado para a diluição do imidacloprido.	41
Figura 10	Cromatograma correspondente ao tempo de retenção do pico do imidacloprido.	41
Figura 11	Curva analítica do imidacloprido realizada no HPLC.	42
Figura 12	Concentração de imidacloprido nas amostras de mel orgânico e convencional, comparadas ao LMR definido pela FAO e EU.	45
Figura 13	Cromatograma correspondente ao solvente metanol utilizado para a diluição do fipronil.	47
Figura 14	Cromatograma correspondente ao tempo de retenção do pico de fipronil.	47
Figura 15	Curva analítica do fipronil realizada no GC-ECD.	48
Figura 16	Concentração de fipronil nas amostras de mel orgânico e convencional comparadas ao LMR definido pela FAO e EU.	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Amostras de mel orgânico utilizadas para determinação de imidacloprido e fipronil.....	32
Quadro 2	Amostras de mel convencional utilizadas para determinação de imidacloprido e fipronil.....	33

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

ADAPAR	Agência de Defesa Agropecuária do Paraná
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Distúrbio do Colapso das Abelhas (<i>Colony Collapse Disorder</i>)
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GARP	Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas
GC	Cromatografia gasosa
GC-ECD	Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IDA	Ingestão diária aceitável
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
LD	Limite de detecção
LD50	Dose letal média
LMR	Limites máximos de resíduos
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento
MS	Espectrometria de massa
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SIAGRO	Sistema de Controle do Comércio e Uso de Agrotóxicos no Estado do Paraná
SINDVEG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal
SPE	Extração em fase sólida
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
µg	Micrograma

1 INTRODUÇÃO

O aumento populacional tem gerado uma demanda crescente por alimentos pressionando a produção agrícola. Dessa forma, o uso de defensivos passou a ser mais frequente e necessário no mundo e o Brasil aparece em destaque neste cenário (BENEVIDES; MARINHO, 2015). Os defensivos agrícolas desempenham um papel importante na qualidade da colheita e na proteção dos alimentos, proporcionando benefícios para o aumento da produção e redução de pragas. Porém, quando não atingem apenas o alvo, a consequência são danos causados aos ecossistemas, já que os defensivos e seus produtos de degradação se espalham pelo ambiente e contaminam as matrizes de água, solo e atmosfera (PALMA *et al.*, 2014).

Embora sejam necessários para atender à demanda populacional por alimentos, deve-se considerar que outros organismos podem ser prejudicados. Essa preocupação é importante quando se leva em consideração que 35% da produção agrícola mundial depende de polinizadores (GOÑALONS; FARINA, 2018). A contaminação das abelhas, geralmente, ocorre durante a coleta de néctar e pólen. Os defensivos podem causar a morte e alterações fisiológicas como, por exemplo, a diminuição da longevidade ocasionada pela exposição a baixas doses desses compostos (SILVA; MELO; BLANCO, 2016).

Uma mudança recente na agricultura tem sido o desenvolvimento e a implantação extensiva de defensivos neonicotinóides e pirazol que substituem muitos dos mais antigos (BOVI; ZALUSKI; ORSI, 2018). No Brasil, os inseticidas imidacloprido (classe neonicotinóide) e fipronil (classe pirazol) têm autorização para comercialização em diversas formulações e para controlar pragas na cana-de-açúcar, algodão, arroz, feijão, milho, cevada, soja e trigo, além de diversas outras culturas (LUNARDI; ZALUSKI; ORSI, 2017). O uso desses defensivos cobre quatro domínios principais: proteção de plantas e plantas ornamentais contra insetos e ácaros herbívoros, controle de pragas urbanas e aplicações veterinárias. Os imidacloprido e fipronil são inseticidas com propriedades sistêmicas (DELSO *et al.*, 2015), ou seja, esses compostos e seus metabólitos após a absorção circulam pelos tecidos da planta, principalmente via transporte do xilema, e fornecem um período de proteção contra vários insetos que se alimentam de seiva (BONMATIN *et al.*, 2015).

A apicultura é uma atividade agropecuária que atende aos três requisitos da sustentabilidade: o econômico, o social e o ecológico. O econômico é o gerador de renda para os produtores; o social intensifica a ocupação de mão de obra familiar no campo, com

diminuição do êxodo rural; o ecológico refere-se à polinização de espécies nativas e cultivadas e à conservação da vegetação, uma vez que não é necessário desmatar para criar abelhas (PAULA *et al.*, 2016). O mel é um produto natural amplamente utilizado para fins nutricionais e terapêuticos. Como qualquer outro alimento, é propenso a vários tipos de contaminação e deve estar livre de produtos químicos e seguro para consumo humano (OLIVEIRA *et al.*, 2016). As abelhas e seus produtos, incluindo mel, cera e pólen, são considerados indicadores potenciais para espelhar a contaminação do ambiente e, frequentemente, são usados como um meio sólido para o monitoramento ambiental (MALHAT *et al.*, 2015). O mel orgânico também pode ser utilizado como indicador de contaminação ambiental (CHIESA *et al.*, 2016).

Estudos sobre defensivos agrícolas em mel já foram realizados em várias partes do mundo. Estudos realizados em colmeias localizadas a 30 km da cidade de Saskatoon, Saskatchewan, Canadá, avaliaram a presença de neonicotinóides e seus produtos de degradação em amostras de mel, pólen e abelhas, em que foi detectado imidacloprido em 30% das amostras de mel (CODLINGA *et al.*, 2016). Ainda em estudos com os neonicotinóides, especificamente clotianidina, thiamethoxam e imidacloprido em mel coletado em uma variedade de locais na Inglaterra, foi detectada a presença de clotianidina e tiametoxam (JONES; TURNBULL, 2016). Em análise de amostras de mel, abelhas, favo de mel e própolis de colmeias despovoadas do Uruguai, foi detectado imidacloprido em três favos de mel e em duas amostras de própolis, em níveis acima do limite de quantificação (LOQ); também foi detectado clorpirifós, cipermetrina, fipronil, endossulfão e coumafós (PAREJA *et al.*, 2011).

Em pesquisa realizada no Brasil, com o objetivo de determinar as concentrações dos defensivos em abelhas mortas com suspeita de envenenamento, foi detectada contaminação em 100% das amostras coletadas. A maior frequência de resíduo encontrado foi fipronil, com 68,4%. Essa substância é apontada pelos pesquisadores como a principal causa de envenenamento das abelhas. Também foram encontrados resíduos de tiametoxam (42,1%), imidacloprido (28,9%), acetamipride (5,3%), nitenpiram (5,3%) e tiaclopride (2,6%), entre outros (CASTILHOS, 2018).

O Brasil produz anualmente mais de 370 milhões de toneladas de alimentos e contribui com 21,1% do PIB e 20% da força de trabalho (EMBRAPA, 2019), para isso, utiliza 54 milhões de toneladas de defensivos agrícolas (VALADARES; ALVES; GALIZA, 2020). Tendo em vista a importância que a agricultura representa ao Brasil e que existem poucos estudos sobre defensivos em méis comercializados, principalmente o orgânico, este trabalho visa avaliar esses produtos a fim de identificar possível contaminação por defensivos que possa comprometer a segurança alimentar.

2 OBJETIVOS

2.1 objetivo geral

- Detectar a presença de defensivos agrícolas da classe neonicotinóide e pirazol utilizando como indicador mel da abelha *Apis mellifera*.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair e quantificar imidacloprido (classe neonicotinóide) e fipronil (classe pirazol) por meio da análise cromatográfica de méis, convencionais e orgânicos, comercializados em supermercados e lojas de produtos naturais;
- Comparar os resultados encontrados com os limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela legislação.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Abelhas: *Apis mellifera*

Apis mellifera é um inseto pertencente à ordem dos himenópteros e à família dos apídeos. É a espécie de maior participação na polinização, com grande interesse na agricultura (SOUZA; RUVOLLO-TAKASUSUKI, 2019). As abelhas, de forma geral, são consideradas elementos de extrema importância para a manutenção da vida no planeta. Acredita-se que o surgimento e a propagação das abelhas estão relacionados com o aparecimento das angiospermas. A sua biodiversidade no mundo é muito grande, sendo conhecidas cerca de 20.000 espécies (CAIRES; BARCELOS, 2017). No Brasil, todas as abelhas encontradas na natureza são mestiças (polihíbrido chamado de abelha africanizada) entre as raças europeias e a africana (SEBRAE, 2009).

As abelhas, da mesma forma que as formigas e as vespas, são consideradas insetos sociais, ou seja, vivem em comunidade e dividem as tarefas para a sobrevivência da colônia. Elas vivem em enxames que podem estar localizados dentro de ocos de árvores, pendurados em galhos, em buracos no chão ou em pedras, cupinzeiros ou ainda instalados nos telhados de residências. Na criação comercial de abelhas, o costume é recolher os enxames e alojá-los em caixas apropriadas chamadas colmeias (EMBRAPA, 2007). Sendo um inseto social avançado, a abelha vive em grandes sociedades, apresentando uma organização complexa que depende de indivíduos cooperativos e motivados de maneira altruísta. A colônia consiste em milhares de trabalhadoras estéreis que realizam todas as tarefas necessárias para apoiar a reprodução da rainha. O grupo permanece coeso ao distinguir companheiros de ninho de não-ninhos, evidenciado pelas abelhas da guarda na entrada da colônia, que impedem os não-ninhos de entrar (HEWLETT; WAREHAM; BARRON, 2018). A comunicação entre as espécies de abelhas do gênero *Apis* envolve sons, danças ou animações rítmicas, que são utilizados para localizar os alimentos, abrigos, presença de predadores, atração sexual, agregação, abandono ou enxameação da colônia (SÁ *et al.*, 2018).

Nas colônias, as abelhas possuem diferentes funções, que visam sempre à sobrevivência e manutenção do enxame. Enxame, colônia ou família é o conjunto de abelhas que contém uma rainha, diversas operárias (5.000 a 100.000) e zangões (0 a 400). O número de abelhas nos enxames depende das condições do ambiente e da existência de alimento. Há enxames fortes, com grande número de abelhas, e enxames fracos, com

poucas abelhas (SEBRAE, 2009). O tempo de vida adulta da rainha varia de três a quatro anos e sua atribuição básica é a reprodução e crescimento da colônia pela postura de ovos, a qual atinge até 1500 ovos por dia. As operárias são fêmeas com atividade reprodutiva inibida e vivem como indivíduo adulto por cerca de 30 a 45 dias no verão e de 90 a 120 dias no inverno. Elas realizam todas as atividades para manter a colônia, em atribuições que variam de acordo com a idade, como alimentação das crias, polinização, transformação de néctar em mel etc. Os zangões são machos plenamente desenvolvidos, mas sem estrutura física para o trabalho na colônia. Alcançam a fase adulta em 23 a 24 dias e vivem por 2 a 3 meses, caso não fecundem nenhuma rainha. A atribuição básica do zangão é o acasalamento com uma rainha, fecundando-a em pleno voo e morrendo em seguida, em decorrência da perda do aparelho genital durante o acasalamento (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008).

O gênero *Apis* são as abelhas sociais mais utilizadas comercialmente, sendo classificadas em sete espécies diferentes: *Apis florea*, *A. andreniformes*, *A. dorsata*, *A. cerana*, *A. mellifera*, *A. laboriosa* e *A. koschevnikov*. Sabe-se, por meio de provas arqueológicas, que existem no mundo há cerca de 42 milhões de anos, junto com o desenvolvimento das flores. Desde então, esses dois grupos biológicos mantêm intensa relação de dependência recíproca (simbiose): a abelha encontra nas flores o néctar e o pólen indispensáveis à sua sobrevivência; por sua vez, uma parte do pólen adere ao seu corpo e é transportada para longe, onde irá fecundar outra flor (DOMINGOS *et al.*, 2016).

Diversas características biológicas propiciam um alto desempenho à abelha *mellifera* como coletora de alimentos e como polinizadora de várias espécies de plantas cultivadas e nativas. Seu aparelho bucal de, aproximadamente, 7 mm de comprimento permite a coleta do néctar de flores que para muitos outros insetos está inacessível. Sua vesícula *mellifera*, inserida no tubo digestivo como um balão que se dilata, torna mais eficiente cada viagem de coleta, com uma capacidade de transporte de 40 a 50 mg de néctar por abelha. Sua estrutura coletora de pólen é altamente especializada, contendo escovas, prensas e corbículas nas duas pernas traseiras e pentes nas demais. Dessa forma, a abelha providencia a varredura e remoção dos pequenos grãos de pólen acumulados nos pelos do seu corpo, procedendo a sua compactação e acúmulo para o transporte com segurança até a colônia (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008).

O corpo da *Apis mellifera* é dividido em cabeça, tórax e abdome. Na cabeça, estão os olhos compostos e ocelos; as antenas e cavidades olfativas, mais desenvolvidas no macho do que na rainha e operárias, devido à necessidade de perceber o odor da rainha durante o voo. No tórax, destacam-se as estruturas locomotoras, adaptadas para o transporte de pólen, manipulação da cera, manipulação da própolis e limpeza do corpo, além das asas que possibilitam o voo, o sistema respiratório e parte do digestivo. No abdome, estão os

órgãos do aparelho digestivo, circulatório, reprodutor, excretor, órgãos de defesa e glândulas produtoras de cera (SOUZA; RUVOLO-TAKASUSUKI, 2019). As mandíbulas são estruturas fortes, utilizadas para cortar e manipular cera, própolis e pólen. A língua ou glossa é uma peça bastante flexível, coberta de pelos utilizada na coleta e transferência de alimento, na desidratação do néctar e na evaporação da água quando se torna necessário controlar a temperatura da colônia. As glândulas mandibulares e hipofaríngeas compõem o sistema salivar (DOMINGOS *et al.*, 2016).

Quando o enxame se instala em determinado local, as abelhas produzem cera para a construção de favos. Os favos servem para armazenar o alimento e para o desenvolvimento das crias. Os favos são moldados pelas operárias de forma a possuírem pequenos compartimentos de seis lados, chamados alvéolos, nos quais fica estocado o alimento (mel e pólen) e onde a rainha deposita os ovos e as crias se desenvolvem até a transformação em abelhas adultas (SEBRAE, 2009). Além das abelhas *mellíferas* adultas, também as larvas se alimentam de pólen e néctar. Para sobreviverem aos períodos de escassez desses recursos na natureza, as abelhas ao longo dos milênios de evolução desenvolveram a característica de estocar alimentos muito além de suas necessidades imediatas. Isso conduz a uma atividade de armazenagem vinculada à polinização, nas épocas de florescimento das espécies vegetais. Dessa atividade de estocagem, a humanidade também se beneficia utilizando uma parte de suas reservas (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008).

Apesar de toda importância que as abelhas representam, elas se encontram em processo de desaparecimento em várias partes do mundo. Esse grande declínio populacional é conhecido mundialmente como Distúrbio do Colapso das Abelhas (*Colony Collapse Disorder* - CCD). A perda de colônias de abelhas sempre existiu, desde o início da apicultura moderna, no entanto, em 2006 esse fenômeno atingiu grandes dimensões, atraindo a atenção pública e aumentando o interesse entre a comunidade científica. Vários anos de estudos revelaram que essa síndrome não está relacionada a um agente causal específico, pois sua origem é multifatorial. Dentre os diversos fatores relacionados a esse declínio, podemos citar como sendo os principais: doenças, parasitismo, desnutrição, defensivos agrícolas, fatores antrópicos, mudanças climáticas, insuficiência da rainha devido à baixa variabilidade genética (CAIRES; BARCELOS, 2017) e o desmatamento, que é considerado o principal fator relacionado à extinção de espécies (ROSA *et al.*, 2019). Os sintomas da CCD são a rápida perda de abelhas operárias, evidenciada pelo enfraquecimento ou morte da colônia com excesso de crias em comparação ao número de abelhas adultas, abelhas adultas mortas dentro ou fora da colmeia (PIRES *et al.*, 2016), uso dos novos inseticidas neonicotinóides e fipronil, um novo tipo do vírus *Nosema*, problemas com a variabilidade genética e seleção das abelhas, mudanças no ácaro *Varroa destructor*,

falta de alimentos adequados, fungicidas que afetam a comida das abelhas e sistemas de manejo intensivo das colmeias (IBAMA, 2015).

Uma série de pesquisadores, nacionais e internacionais, buscam informações sobre a perda das abelhas (FREITAS *et al.*, 2017). Até o início dos anos 2000, não havia registros na literatura sobre a perda de colônias de *Apis mellifera* no Brasil, com exceção de perdas ocorridas em virtude de indisponibilidade de recursos naturais e manejo inadequado. A partir de 2007, é possível constatar o uso de termos como “declínio” e “colapso” de colônias no país, em congressos, jornais, revistas e portais digitais, em que se procura estabelecer semelhanças com o fenômeno da CCD identificado nos Estados Unidos. Em 2010, foi levantada a possibilidade de ocorrência de CCD em abelhas africanizadas no município de Altinópolis, no estado de São Paulo, com características semelhantes às descritas pelos pesquisadores americanos, todavia, sem causas estabelecidas. Igualmente, sem definição de causas, foi constatada a presença de crias amareladas, amarronzadas e com aparência anômala, ou seja, abdome retraído e ressecado. Embora os apiários estudados estivessem em área de plantio de cana-de-açúcar e eucalipto, com considerável uso de neonicotinóides e fipronil e tenha sido constatada a presença de *Varroa destructor* e de diversos patógenos, entre os quais vírus e o fungo *Nosema ceranae*, não foi possível concluir qual seria a causa ou causas de tais colapsos (PIRES *et al.*, 2016).

Nos Estados Unidos a perda anual ultrapassa os 30%. Essa perda, acelerada nos últimos anos, tem deixado apicultores e pesquisadores espantados (FREITAS *et al.*, 2017). No Brasil, a situação é preocupante, pois, cerca de um terço do território nacional já foi convertido para a produção agrícola, o que tem levado à perda de grandes áreas de vegetação natural. Porém, os possíveis impactos da fragmentação de *habitats* sobre as comunidades de abelhas, associados às práticas agrícolas, não têm sido devidamente avaliados (PIRES *et al.*, 2016).

Uma investigação realizada pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná, no município de Turvo, revelou a morte de abelhas por envenenamento, em cerca de 40 caixas pertencentes a apicultores da região (ADAPAR, 2020). Ao inspecionar os apiários, os apicultores encontraram abelhas desorientadas e sem reação e outras mortas dentro e fora das caixas. Fiscais da ADAPAR foram ao local para realizar coletas e iniciar a investigação. O laudo técnico do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) apontou o agrotóxico fipronil nas amostras coletadas de abelhas mortas, abelhas vivas, favos e em plantas de nabo forrageiro, utilizado como cobertura de inverno em uma área próxima aos apiários.

As abelhas são de particular interesse, pois entram em contato com vários poluentes durante a atividade de forrageamento, tornando-se um agente perfeito em estudos e bioensaios para o monitoramento da toxicidade de metais pesados e defensivos, tanto em áreas urbanas como em áreas rurais (ROSA *et al.*, 2019). Dessa forma, as abelhas

melliferas e seu principal produto: o mel podem ser ferramentas de monitoramento ambiental. Durante o voo, esses insetos registram valiosas informações sobre o meio ambiente em que circulam. Numerosas partículas de produtos químicos e substâncias tóxicas suspensas no ar ficam aderidas aos pelos superficiais de seu corpo, retidas em seu sistema respiratório ou armazenadas em sua vesícula *mellifera* e no pólen que coletaram (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008). Com base na extensa área forrageada pelas abelhas e considerando que a produção de 1 kg de mel requer mais de 100.000 voos forrageiros, ambos, abelhas e mel podem ser amostras altamente representativas dos níveis médios de poluentes disponíveis no ambiente da área de forrageamento (LATORRE *et al.*, 2017).

3.2 Atividade apícola

A apicultura promove o desenvolvimento regional e se apresenta como uma atividade essencialmente ecológica, comprovadamente rentável e sustentável. É uma atividade econômica que garante importante fonte de renda para a população rural, além de ser de fácil manutenção e baixo custo inicial, em relação às demais atividades agropecuárias. Ainda, oferece diversos produtos e serviços, como: mel, própolis, cera, geleia real, apitoxina, coleta de pólen, criação de rainhas, produção de enxames e polinização dirigida (LOURENÇO; CABRAL, 2016). É uma das poucas atividades agrícolas que causa baixo impacto ambiental, e proporciona um rápido retorno do capital investido (FREITAS *et al.*, 2017).

A apicultura no Brasil pode ser desenvolvida em praticamente todas as regiões, devido à flora diversificada, extensão territorial e variabilidade climática, o que favorece a produção do mel ao longo do ano. A cadeia produtiva da apicultura proporciona a geração de inúmeros postos de trabalhos, empregos diretos e indiretos, fluxo de renda, principalmente no ambiente da agricultura familiar, determinando a melhoria da qualidade de vida e a fixação do homem no meio rural. É uma atividade que não depende de extensas áreas de terra, proporcionando ao apicultor, flexibilidade de horário, não exigindo técnicas especializadas, podendo ser consorciada com outras atividades sem danos à atividade principal da propriedade. No Brasil, a cadeia produtiva é composta por mais de 300 mil apicultores e centenas de unidades de processamento de mel, juntos empregam cerca de 500 mil pessoas (TOMAZINI; GROSSI, 2019). Portanto, é uma atividade agrícola que fornece renda no campo e contribui para a balança comercial, em relação à exportação de alimentos e demais produtos das colmeias (CERQUEIRA; FIGUEIREDO, 2017).

Mesmo com o avanço do setor apícola, a participação do Brasil na produção mundial ainda é baixa. 139 países desenvolvem atividades apícolas, dentre os principais, destacam-se, em ordem decrescente: China, com 26,4% da produção mundial, Turquia com 5,8%, Ucrânia com 4,3%, Estados Unidos com 4,1%, Índia e Rússia com 3,7% cada, Argentina com 3,6%, México com 3,5%, Etiópia com 3,3% e Irã com 2,9%. Em 2000, o Brasil participou com 1,7%, em 2005 com 2,37% e em 2011 com 2,5% do total de mel produzido, ocupando o 11º lugar no ranking mundial. (PAULA *et al.*, 2016).

De acordo com o último Censo Agropecuário, realizado em 2017, a produção de mel no Brasil chegou a 41 milhões de kg nesse mesmo ano, ante 35 os milhões de kg alcançados em 2013. A região Sul é a maior produtora, com cerca de 40% do total, seguida pelo Nordeste com cerca de 30% do total e o Sudeste com 5%. As regiões Centro-Oeste e Norte respondem por um baixo percentual da produção nacional. O maior produtor de mel do Brasil é o Rio Grande do Sul, seguido pelo Paraná. A apicultura paranaense é praticada principalmente por pequenos produtores, empregando baixa tecnologia. A atividade é pouco especializada e a produção varia bastante em função de condições climáticas, como chuvas e geadas, e pelo uso de defensivos agrícolas, que tem resultado em perdas para a atividade. O Censo de 2017 identificou que havia 12.491 produtores no estado, com 20,9 colmeias cada e produtividade de 14,4 kg/colmeia/ano (NUNES; HEINDRICKSON, 2019). A produção apícola do estado do Paraná é de grande importância em relação à produção de mel devido ao clima subtropical úmido e à sua extensa cobertura de florestas tropicais, que fornecem características especiais ao mel produzido no estado (ANDRADE *et al.*, 2014b).

No Brasil, não existe uma legislação específica para produção de mel orgânico. O Decreto Nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007, regulamenta a Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, em que estão descritas as normas disciplinares para a produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade dos produtos orgânicos, sejam de origem animal ou vegetal. A Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que altera diversos arts. da Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. De acordo com a referida instrução, o uso de imidacloprido e fiponil não é regulamentado para a agricultura orgânica (BRASIL, 2104). O capítulo III da Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011, do MAPA, regulamenta os sistemas produtivos e as práticas de manejo orgânico de abelhas mellíferas (BRASIL, 2011).

De acordo com a Associação Brasileira de Estudo das Abelhas, o mel orgânico é produzido segundo normas específicas que o qualificam como produto isento de contaminações químicas e biológicas indesejáveis (A.B.E.L.H.A, 2021). Para produzir mel que possa receber o título de orgânico, o apicultor deve passar por um processo de

certificação. Isso é feito por algumas empresas que enviam inspetores que analisam tecnicamente as condições do apiário e sugerem adequações para a conversão do apiário convencional em orgânico. Atendidas às exigências e após um período de carência, a empresa certifica o apiário. Essa certificação dá ao apicultor o direito de usar um selo especial no seu produto, identificando-o como orgânico perante os consumidores. Entre os critérios exigidos, está a proibição de lavouras de manejo convencional num raio mínimo de 3 km do apiário. Para a manutenção do certificado, as inspeções são repetidas frequentemente.

A Comissão Europeia é muito restritiva no que diz respeito à produção de mel orgânico em termos de origem das abelhas, localização dos apiários, alimentação, prevenção de doenças e tratamentos veterinários. Em particular, estabelece que as plantas que podem ser forrageadas por abelhas, sejam biológicas ou espontâneas, devem estar a pelo menos 3 km de qualquer fonte de poluição e de qualquer fonte de produção não agrícola, podendo ocasionar contaminação, como áreas industriais, centros urbanos ou autoestradas. Normalmente, os apicultores administravam inseticidas, fungicidas e acaricidas para controlar algumas infestações, como *Varroa destructor*, *Acarapis woodi* e *larvas de Paenibacillus*. De acordo com o Regulamento do Conselho da Comissão Europeia 1804/1999, é proibida a utilização de medicamentos alopáticos sintetizados quimicamente para tratamentos preventivos na apicultura orgânica (CHIESA *et al.*, 2016).

Existe um mercado considerável para os produtos apícolas, que podem ser utilizados como alimentos ou como aditivos para produtos farmacêuticos e médicos (FREITAS *et al.*, 2017). A apicultura é a atividade de criação racional de abelhas do gênero *Apis*, com o intuito de obter os diversos produtos que as abelhas podem fornecer de forma sustentável. Entre esses produtos destaca-se o mel, como o principal produto explorado mundialmente (SEBRAE, 2009). Além do mel, comercializam-se cera, própolis, pólen apícola, geleia real e apitoxina (EMBRAPA, 2007).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio da Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000, define mel com sendo o produto alimentício produzido pelas abelhas *mellíferas*, 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 madurar nos favos da colmeia.

Por ser considerado um dos produtos naturais mais importantes, o mel tem sido utilizado pela humanidade desde a antiguidade. Muitas evidências indicam que o mel pode exercer vários efeitos benéficos à saúde, incluindo cicatrização de feridas, antioxidante, efeitos anti-inflamatórios, anticâncer e antimicrobiano, além de efeitos protetores ao sistema respiratório, gastrointestinal, cardiovascular, neurológico e nervoso

(MASALHA *et al.*, 2018). Além de ser um alimento, é também utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas, pelas suas conhecidas ações terapêuticas (ANDRADE *et al.*, 2014a). Apesar de sua longa história, sabe-se que apenas as últimas décadas trouxeram um conhecimento cientificamente fundamentado do valor real do mel. A curiosidade sobre essa substância, como uma mistura muito complexa, resulta de que muitas variáveis são responsáveis por seu extraordinário valor nutritivo (MRAČEVIĆA *et al.*, 2020).

O mel é composto por cerca de 83% de sólidos, sendo o restante água. A porção principal da fração sólida consiste em 95 a 97% de carboidratos. Além disso, contém proteínas (diastase, invertase, glicose oxidase, catalase e fosfatase ácida), vitaminas, aminoácidos (todos os nove aminoácidos essenciais e todos os aminoácidos não essenciais, exceto asparagina e glutamina), minerais (fósforo, sódio, cálcio, potássio, enxofre, magnésio, cloro) e outros ácidos orgânicos, como flavonóides, polifenóis, alcalóides, glicosídeos, antraquinona e compostos voláteis (MASALHA *et al.*, 2018).

Considerado um adoçante natural de grande valor energético (SEBRAE, 2009), o mel é uma substância viscosa de composição variável. O conteúdo mineral é relativamente baixo, tipicamente de 0,1 a 0,2%, e, ocasionalmente, encontram-se elementos de nível vestigial, como chumbo, cádmio, níquel, cobalto, cromo etc. A composição do mel, bem como suas características físicas e químicas gerais, como sabor, cor, pH e umidade podem ser alteradas pela origem botânica e geográfica, solos, condições climáticas e antropogênicas e pelo tipo de processamento e armazenamento do produto comercial (ANDRADE *et al.*, 2014b). A manipulação do mel pelo apicultor também pode alterar suas características (EMBRAPA, 2007).

A cera é utilizada pelas abelhas para construção dos favos e o fechamento dos alvéolos (operculação). É produzida por glândulas produtoras de cera, localizadas no abdome das abelhas operárias. Logo após sua produção, a cera possui uma cor clara, que vai escurecendo com o tempo, em virtude do depósito de pólen e do desenvolvimento das crias (SEBRAE, 2009). Atualmente, a cera é muito utilizada para a elaboração de velas, esculturas, medicamentos, cosméticos, isolante de materiais elétricos, anticorrosivos e polidores de móveis e objetos. Há registros antigos que apontam que a utilização da cera vem desde a pré-história, quando os povos primitivos a utilizavam na mumificação de cadáveres e para a fabricação de frutas de cera, muito semelhantes às frutas naturais (TOMAZINI; GROSSI, 2019).

A própolis é uma substância produzida pelas abelhas a partir da mistura da cera e da resina coletada das plantas, retirada dos botões florais, gemas e dos cortes nas cascas dos vegetais. É usada pelas abelhas para fechar as frestas e a entrada do ninho, evitando correntes de ar frias durante o inverno. É utilizada também na limpeza da colônia e para isolar uma parte do ninho ou algum corpo estranho que as abelhas não conseguem retirar

da colônia. Sua composição, cor, odor e propriedades medicinais dependem da espécie de planta disponível (SEBRAE, 2009). Atualmente, a própolis é usada principalmente pelas indústrias de produtos de beleza e de remédios. Possui efeitos cicatrizantes e é considerada um antibiótico natural (EMBRAPA, 2007).

O pólen é o órgão masculino das flores, que é coletado pelas abelhas e transportado para a colônia para ser armazenado nos alvéolos e utilizado como alimento depois de passar por um processo de fermentação (SEBRAE, 2009). Possui alto valor nutritivo. É vendido seco, misturado com mel, em cápsulas ou tabletes (EMBRAPA, 2007). O pólen é a principal fonte de proteínas e lipídios das colônias e parte fundamental da dieta das abelhas e larvas (TOSI, 2018).

A geleia real é uma substância produzida por glândulas das abelhas operárias. Na colônia, é usada como alimento das crias e da rainha. Possui cor branco-leitosa e sabor ácido forte (SEBRAE, 2009). Produzida por alguns apicultores para comercialização em estado natural, a geleia real é misturada com mel ou mesmo seca e em tabletes. As indústrias de produtos de beleza e de medicamentos também usam esse produto (EMBRAPA, 2007). Rica em proteínas, carboidratos, vitaminas, enzimas e minerais, a geleia real beneficia os processos de regeneração das células do corpo humano (TOMAZINI; GROSSI, 2019).

A apitoxina é o veneno das abelhas operárias purificado. É produzido pelas glândulas de veneno das operárias e armazenado no “saco de veneno” situado na base do ferrão, para ser utilizado na defesa da colônia. Cada operária produz 0,3 mg de veneno, que é uma substância transparente, que se dissolve em água e é composta por proteínas, gorduras e enzimas (SEBRAE, 2009). Durante a ferroadinha, a apitoxina atua principalmente no sistema nervoso, mas se administrada em quantidades ideais pode apresentar eficiência biológica, com grande potencial farmacológico, pois estimula o fluxo sanguíneo para os tecidos e aumenta a permeabilidade da membrana das células, relaxa os músculos podendo reduzir a dor muscular, estimula a produção de cortisona pelas glândulas suprarrenais, que podem reparar a mielina dos axônios das células nervosas. Apresenta propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, estimulante da circulação sanguínea, além de ação antibiótica, hipotensora, neuroprotetoras e aumento da permeabilidade capilar (SOUZA; RUVOLLO-TAKASUSUKI, 2019). A produção de apitoxina constitui uma atividade diferenciada dentro da apicultura, com grande potencial para o mercado farmacêutico e em técnicas médicas como a apicupuntura, ramo que vem ganhando mercados e pode se tornar extremamente importante para várias terapias, especialmente para aquelas que têm como objetivo, aliviar a dor e reduzir inflamações (CAIRES; BARCELOS, 2017).

Com o uso de técnicas apropriadas, é possível extrair a apitoxina e vendê-la. Entretanto, essa atividade não é interessante para os pequenos produtores (EMBRAPA,

2007). A extração da apitoxina pode ser feita forçando a ferroadada em uma membrana, separando o ferrão e o veneno, que é despejado em um recipiente e coletado. Outra forma é matar a abelha e retirar o veneno por remoção cirúrgica da glândula de veneno. Ou, ainda, é possível utilizar equipamento automatizado, que por impulsos elétricos, permite obter o veneno livre de impurezas, sem sacrificar abelhas, já que, esse método de extração utiliza uma placa de vidro conectada a uma fonte elétrica, colocada na entrada da colmeia, liberando um pequeno choque que promove contração da musculatura acessória do aparato de veneno, liberando uma gota do veneno, que é desidratado e coletado na forma de cristais por raspagem com uma espátula. Este último método, é utilizado como padrão na extração (SOUZA; RUVOLO-TAKASUSUKI, 2019).

3.3 Polinização

O processo de evolução de abelhas e plantas se deu de forma conjunta durante milhões de anos. Em algumas espécies vegetais pode ocorrer a autopolinização, enquanto em outras há a necessidade de o pólen ser recebido de outras plantas. Por isso, surgiram muitas especializações entre abelhas e plantas, de forma que algumas espécies vegetais dependem diretamente das abelhas para manutenção. As abelhas se beneficiam com os recursos fornecidos pelas flores durante as visitas para coleta de alimentos e, intencionalmente, ficam aderidos grãos de pólen no corpo da abelha, que são depositados na próxima flor visitada, ocorrendo, assim, a polinização cruzada que propicia a fertilização cruzada das flores (FREITAS *et al.*, 2017).

A polinização é a transferência de grãos de pólen do estame, órgão reprodutor masculino, para o estigma, receptáculo feminino, numa mesma flor ou entre flores da mesma espécie. Os insetos, principalmente as abelhas, são os agentes polinizadores mais representativos para a produção de frutos e sementes, em virtude de sua eficiência em realizar a polinização cruzada, que consiste no transporte de grãos de pólen entre flores. O corpo coberto de pelos, o comportamento e a habilidade de forrageamento, além de sua dependência por recursos florais para a alimentação de toda colônia são características que conferem às abelhas a qualidade de agentes polinizadores mais eficientes (CARVALHO; NICODEMO; LOPES, 2015).

A fim de promover a polinização, as plantas possuem atrativos como a cor, fragrâncias, néctar, óleos e o próprio pólen, que são os principais recursos utilizados pelas abelhas. A maior eficiência das abelhas como polinizadores se dá, tanto pelo seu número na natureza, quanto por sua melhor adaptação às complexas estruturas florais como, por

exemplo, peças bucais e corpos adaptados para coleta e transporte de recursos como o néctar e o pólen, respectivamente. As abelhas são morfologicamente adaptadas para recolher, manipular, transportar, armazenar pólen e outros produtos vegetais (RIBEIRO *et al.*, 2014).

Os insetos polinizadores podem ser vistos como os principais responsáveis pela obtenção de vários tipos de culturas agrícolas, contribuindo para o aumento da diversidade genética da flora, desenvolvimento de sementes, aumento da produção e melhoramento das propriedades físicas dos alimentos (COSTA *et al.*, 2016). A ação polinizadora das abelhas aumenta a produtividade de pomares e lavouras. Pela garantia de intensidade e de eficiência em fecundações cruzadas, esses insetos contribuem para o aumento da qualidade e da quantidade das produções de sementes de hortaliças, pastagens, grãos e frutos de diversas culturas agrícolas (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008). As abelhas constituem o grupo economicamente mais importante de polinizadores em todo o mundo. Trinta e cinco por cento da produção mundial de alimentos depende de polinizadores, as abelhas colaboram de maneira bastante expressiva, atuando como agentes de polinização em, aproximadamente, 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo (ROSA *et al.*, 2019).

As abelhas *Apis mellifera* têm sido as mais utilizadas em todo o mundo para a polinização de plantas cultivadas, em razão de seu fácil manejo, tamanho de suas colônias, sua abundância em diferentes ecossistemas e seu perfil generalista na busca de recursos (PIRES *et al.*, 2016). Os valores econômicos dos produtos produzidos pelas abelhas representam uma pequena parcela, quando comparados à importância da função polinizadora para a biodiversidade e agricultura (FREITAS *et al.*, 2017).

3.4 Uso de defensivos agrícolas

De acordo com a Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4074, de 04 de janeiro de 2002, agrotóxicos (defensivos agrícolas) e afins são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou plantadas e de outros ecossistemas, além de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 2002).

A legislação brasileira atribui a competência para regularizar os defensivos agrícolas sob o paradigma de uso seguro ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), órgão responsável pela avaliação de eficiência, à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão responsável pela avaliação toxicológica, e ao IBAMA, órgão responsável pela avaliação ambiental (IBAMA, 2015). Esses órgãos estabelecem diretrizes, com o propósito de minimizar os riscos apresentados pelos defensivos, atribuem a obrigatoriedade do registro, a avaliação de sua eficiência agrônômica, sua toxicidade para a saúde humana e sua periculosidade para o meio ambiente. Estabelecem um limite máximo de resíduos aceitável em alimentos, além do intervalo de segurança entre a aplicação do produto e a colheita. Também são os responsáveis por definir os parâmetros para rótulos e bulas, fiscalização da produção e dos processos de importação e exportação; divulgam e esclarecem o uso correto e eficaz dos defensivos; regulam a destinação final das embalagens, entre outros pormenores que devem ser considerados (RICO; CAVICHIOLI, 2018).

O benefício mais comum associado à utilização dessas substâncias é o aumento na produtividade da lavoura que, advinda do emprego de defensivos, é capaz de reduzir a demanda por recursos naturais, como terra e água e por alguns recursos tecnológicos, como mecanização, para a produção de uma mesma quantidade de produtos agrícolas (FERREIRA *et al.*, 2014). Os defensivos são substâncias químicas ou agentes biológicos que possuem como finalidade impedir, repelir ou eliminar qualquer tipo de praga, como: insetos, ervas daninhas, ácaros e fungos, entre outros seres que são nocivos, principalmente, em culturas agrícolas. Desse modo, dependendo do foco para o qual o defensivo é utilizado ele recebe uma denominação e uma classificação, dentro do grupo dos defensivos: acaricidas, bactericidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, nematicidas, rodenticidas ou moluscicidas. Os inseticidas são componentes químicos utilizados na agricultura com o objetivo de defender as culturas do ataque de insetos nocivos para o desenvolvimento dessa atividade econômica e alimentícia (SOUZA, 2018).

No Brasil, o ataque de pragas é mais severo, em razão das condições climáticas de um país tropical, com temperaturas mais altas e ambientes mais úmidos. Não controlar as pragas, por meio de manejo ou de defensivos, teria um impacto direto no volume de alimento ou matéria prima produzida. Ao produzir menos do que seria possível, os preços se elevam porque a demanda se mantém alta, porém, a oferta reduz à medida que as pragas inutilizam os alimentos para consumo. Os defensivos ajudam a manter esse equilíbrio econômico porque reduzem as perdas, tornando os alimentos e as matérias primas mais acessíveis (SINDIVEG, 2018).

Em muitos casos, a utilização destes produtos pode ser analisada como uma questão de sobrevivência, pois, para a maioria dos produtores e trabalhadores rurais, uma

cultura agrícola sem o uso de defensivos não seria uma alternativa viável. Entretanto, o uso incorreto durante várias décadas levou à acumulação de resíduos tóxicos em alimentos, contaminação da água e do solo, intoxicação de produtores rurais e seleção de pragas resistentes, entre muitos outros problemas. Muitas vezes, o uso destes produtos químicos é feito de forma inadequada, sem o conhecimento das reais necessidades, das doses e tipo de defensivo mais eficaz para cada cultura. Ainda, a reutilização, o descarte e/ou destinação inadequada das embalagens vazias favorecem à contaminação ambiental e provocam efeitos adversos à saúde humana e de animais (ASCARI; SCHEID; KESSLER, 2012).

Os defensivos deixam resíduos onde quer que sejam empregados, às vezes inalterados e, muitas vezes, sob a forma de produtos degradados, cuja duração até que ocorra a sua degradação final é variável. No ambiente, alguns mais persistentes podem até passar de uma cultura para um animal e desse animal para o homem. Por essa razão é que se estabelece em lei a quantidade máxima de resíduos de defensivo permitida para determinado produto agrícola, valor denominado de tolerância ou limite máximo de resíduos (LMR). O LMR é a quantidade máxima de resíduo de defensivo ou afim oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em miligramas do defensivo afim ou de seus resíduos por quilo do alimento analisado (mg/Kg). Os LMR referem-se a valores provenientes de experimentos de campo, exigidos para cada cultura alimentar e consideram a ingestão diária aceitável (IDA), que é a quantidade máxima que, ingerida diariamente durante toda a vida, parece não oferecer risco apreciável à saúde, à luz dos conhecimentos atuais. É expressa em mg do defensivo em kg de peso corpóreo (mg/kg p.c.) (FERMAM; ANTUNES, 2009). No Brasil, estabelecer limites máximos de resíduos (LMR) é competência do Ministério da Saúde. No caso de não estarem estabelecidos por esse Ministério, a Instrução Normativa SDA/MAA 42/1999 recomenda utilizar os internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes nas Diretivas da União Europeia e os utilizados pelo FDA/USA (BRASIL, 1999).

No Diário Oficial da União, a ANVISA (2019) fez publicar a reclassificação toxicológica dos defensivos já registrados no Brasil. Essa medida ocorre em razão do novo marco regulatório do setor, que atualizou e tornou mais claros os critérios de avaliação e de classificação toxicológica de agrotóxicos no país. No total, 1.942 produtos foram avaliados pela Agência, sendo que 1.924 foram reclassificados. De acordo com a reclassificação, 43 produtos foram enquadrados na categoria de produtos extremamente tóxicos, 79 na de altamente tóxicos, 136 na categoria de moderadamente tóxicos, 599 na de pouco tóxicos e outros 899 foram classificados como produtos improváveis de causar dano agudo. Ainda, outros 168 produtos foram categorizados como “não classificados”.

Ao longo dos anos, a agricultura mundial cresceu em área cultivada e produtividade, acompanhada pelo uso defensivos agrícolas, adubos químicos e outras substâncias sintéticas (FERREIRA *et al.*, 2014). O Brasil começou a expandir o consumo entre as décadas de 1950 e 1970 (FRANCO; PELAEZ, 2016). A Revolução Verde se consolidou no Brasil em 1965, um ano após o golpe militar, mediante a criação do Sistema Nacional de Crédito Rural, que vinculava a obtenção de crédito de custeio à obrigatoriedade da compra de insumos químicos pelos agricultores. Em 1975, foi criado o Programa Nacional de Defensivos Agrícolas, que proporcionou recursos financeiros para o desenvolvimento de empresas nacionais e a instalação, no país, de subsidiárias de empresas transnacionais de defensivos. Outro condicionante a colaborar de forma marcante para a disseminação do uso dos defensivos no Brasil foi o marco regulatório defasado e pouco rigoroso que vigorou até 1989 (quando foi aprovada a Lei nº 7.802), que facilitou o registro de centenas de substâncias tóxicas, muitas das quais já proibidas em outros países (FIOCRUS, 2018). Esses incentivos também estimularam a expansão das indústrias de síntese e formulação de defensivos no país, aumentando, de 14 fábricas no ano de 1974, para 73, em 1985 (RICO; CAVICHIOLO, 2018).

No início de 2019, existiam no Brasil cerca de 13.300 registros de defensivos. Em termos de ingredientes ativos, em 2017, havia 517 cujo uso era autorizado e 97 que haviam sido banidos. Dentre os autorizados, dez ingredientes responderam por cerca de 70% do total consumido, sendo: glifosato, 2,4 D, mancozebe, acefato, óleo mineral, atrazina, óleo vegetal, paraquate (dicloreto), imidacloprido e oxicloreto de cobre (MORAES, 2019). Entretanto, desses, mais de uma centena são proibidos na União Europeia (UE), mais precisamente 149. Portanto, 30% de todos os ingredientes ativos utilizados no Brasil são proibidos na UE. Dos dez mais vendidos no Brasil, dois são proibidos na UE. Um deles é o acefato que ocupa o quarto lugar na lista dos mais vendidos. Outro ingrediente proibido na UE desde 2004 é a atrazina que ocupa o sétimo lugar na lista dos mais vendidos no Brasil. Os limites máximos de resíduos estabelecidos no Brasil são bem maiores que os da UE, um exemplo é o limite de 2,4 D, permitido nas águas brasileiras 300 vezes mais que o permitido pela UE. Além disso, para alguns defensivos inexitem limites estabelecidos no Brasil (BOMBARDI, 2017) como, por exemplo, imidacloprido e fipronil.

O Brasil é um dos maiores produtores agropecuários do mundo e o segundo país que mais exporta defensivos. Para manter tal produção, o setor utiliza sementes transgênicas e insumos químicos, como fertilizantes e defensivos agrícolas. A extensa área de plantio no Brasil proporcionou que o país fosse o maior consumidor de defensivos no mundo (PIGNATI *et al.*, 2017). De acordo com Moraes (2019), uma forma complementar de apresentar esses dados é dividir a quantidade de defensivos utilizada pela população do país, isto corrige uma distorção presente no indicador da quantidade aplicada por área, qual

seja que a área cultivada pode ser relativamente pequena e de uso intensivo. Ao fazer esse cálculo utilizando uma média móvel de 2013 a 2015, os países que mais consumiram defensivos foram: China (1787 mil toneladas), seguida pelos Estados Unidos (408 mil toneladas) e, em terceiro lugar, o Brasil (375 mil toneladas).

De acordo com o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal, quando comparado o emprego de defensivos com área plantada (hectare) e a quantidade de produtos agrícolas produzidos, o Brasil está em 13º lugar. Antes dele, países europeus, como: Itália, França, Espanha, Alemanha, Inglaterra e Polônia, além de outros com: Japão, Coreia, Austrália, Canadá, Argentina e Estados Unidos (SINDIVEG, 2020). Quando comparado o emprego com a área plantada (hectare) o Brasil está em 7º lugar, atrás do Japão, Coreia, Alemanha, França, Itália e Inglaterra.

O consumo total de defensivos no Brasil saltou de cerca de 170.000 toneladas em 2000 para 500.000 toneladas em 2014, ou seja, um aumento de 135% em apenas 15 anos (BOMBARDI, 2017). De acordo com o Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de populações expostas a agrotóxicos, na comercialização de defensivos no Brasil, em números absolutos, destacaram-se os estados de São Paulo, Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, como os maiores comercializadores em 2014. Amapá, Amazonas e Roraima foram os estados que menos comercializaram agrotóxicos no ano correspondente. Entre as macrorregiões do Brasil, em números absolutos, a região Sudeste apresentou a maior parcela de comercialização de agrotóxicos, correspondente a 38,4% do país, sendo o estado de São Paulo, individualmente, responsável por 23,5%. Na sequência, destacaram-se as regiões Centro-Oeste (26,2%) e Sul (24,2%). As regiões Nordeste e Norte apresentaram, respectivamente, 8,7% e 2,5% do total (BRASIL, 2018).

O Paraná é o segundo maior consumidor de defensivos no Brasil, alcançando cerca de 16% da quantidade total consumida no País (TAVEIRA; ALBUQUERQUE, 2018). Estão cadastrados no Paraná 1218 produtos agrotóxicos, sendo 426 da classe I, extremamente tóxicos; 207 da classe II, altamente tóxicos; 431 da classe III, medianamente tóxicos; 145 da classe VI, pouco tóxicos; 9 produtos sem classificação toxicológica, além de 290 princípios ativos que são liberados para o comércio (PARANÁ, 2020). As dez cidades paranaenses que mais consumiram defensivos em 2019 foram: Guarapuava (1974,7 t), Cascavel (1939,2 t), Tibagi (1866,8 t), Castro (1419,5 t), Cândói (1272,4 t), Toledo (1241,7 t), Palmeira (1237,3 t), Ponta Grossa (1136,3 t), Assis Chateaubriand (1083,9 t) e Mamborê (1038,8 t) (ADAPAR, 2020).

O volume de defensivos e ingredientes ativos comercializados no Paraná, entre os anos de 2013 e 2019, estão apresentados na Tabela 1, com resultados fornecidos pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR, 2020), por meio de informações recebidas do Sistema de Controle do Comércio e Uso de Agrotóxicos no Estado do Paraná

– SIAGRO, pelo qual as empresas comerciantes declaram as vendas desses insumos para os produtores paranaenses.

Tabela 1 Volume em toneladas de defensivos e ingredientes ativos comercializados no Paraná entre os anos de 2013 e 2019

Ano	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Volume	93.137,2	97.615,6	100.572,8	92.160,5	92.398,0	92.904,3	95.286,8
Ing. At.	255	363	363	273	285	300	293

Fonte: ADAPAR (2020).

De acordo com a Secretaria do Estado da Saúde do Paraná (PARANÁ, 2020), o estado elaborou sua própria lei de agrotóxicos em 1983, a Lei Estadual Nº 7827, de 29 de dezembro de 1983, sendo uma das primeiras do Brasil a regulamentar o comércio em seu território, exigindo a anuência da Secretaria de Estado da Agricultura de Abastecimento (SEAB), da Secretaria de Estado do Interior – Superintendência dos Recursos Hídricos e Meio Ambiente (SEIN/SUREHMA), atual Instituto Ambiental do Paraná (IAP) e da Secretaria da Saúde (SESA), instituindo a obrigatoriedade do receituário agrônomo.

Segundo Bombardi (2017), 79% dos agrotóxicos comercializados no Brasil são aplicados em apenas quatro culturas: soja (52%), milho (10%), cana-de-açúcar (10%) e algodão (7%). De acordo com SINDIVEG (2020), grande parte dos defensivos utilizados no Brasil é destinada basicamente para culturas que são utilizadas majoritariamente como matéria-prima para produtos industrializados, como a produção de energia (álcool), roupas (algodão) ou ainda alimentação de animais (soja e milho). Por esse motivo, está errado dizer que o brasileiro consome 5 litros de defensivo por ano, pois as pessoas não consomem defensivos, eles são usados nas lavouras. Quase 80% são usados nas culturas agrícolas que dão origem aos produtos industrializados, energia (álcool) e roupas (algodão). Ainda assim, a maior parte (60%) são herbicidas que não são empregados nas plantas que servem de alimento. Os produtos são diluídos em água para uso na agricultura, portanto, não são usados na forma que saem das fábricas; o produto geralmente é aplicado no caule, nas folhas e nas sementes, dificilmente é aplicado na parte comestível da planta e, ainda, há um intervalo de segurança entre a aplicação do defensivo e sua chegada à mesa do consumidor, período em que o defensivo agrícola se degrada. Parte do que é produzido no Brasil é exportado, o que significa que nem tudo que é produzido será empregado no próprio país.

As culturas que mais utilizaram defensivos agrícolas no estado do Paraná entre os anos de 2013 e 2019 estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 Culturas que mais utilizaram defensivos agrícolas no Paraná entre os anos de 2013 e 2019

Cultura	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Soja	53,92%	44,42%	47,34%	50,66%	52,27%	56,93%	53,21%
Milho	19,73%	18,00%	16,66%	19,62%	18,35%	17,33%	17,37%
Trigo	7,73%	11,68%	10,31%	8,75%	8,03%	9,10%	9,01%
Soja Gen. Mod.	3,63%	1,75%	1,52%	4,68%	4,67%	3,58%	6,67%
Outras	14,99%	24,15%	24,17%	16,30%	16,77%	13,06%	13,75%

Fonte: ADAPAR (2020).

De acordo com a Secretaria do Estado da Saúde do Paraná, uma das formas de uso de defensivos na agricultura que causa grande contaminação é a pulverização aérea. O Brasil tem a segunda maior frota de aviação agrícola do mundo, com 2.083 aeronaves (aviões e helicópteros agrícolas). Essa atividade fatura anualmente em torno de R\$ 936 milhões e gera R\$ 234 milhões em impostos. São realizadas em torno de 495 mil horas de voo por ano. Há 240 empresas de aviação agrícola no Brasil. Entre essas empresas, 77 estão sediadas no Rio Grande do Sul (32% do total), 38 em São Paulo (15,8%), 25 em Mato Grosso (10,4%) e 24 em Goiás (10%). A maior parte da frota está no Mato Grosso, com 462 aeronaves (22,1%), seguido do Rio Grande do Sul com 148 (20%), São Paulo com 311 (14,9%), Goiás com 277 (13,3%) e Paraná com 140 (6,7%). Segundo estimativas, essa modalidade executa 24% de toda pulverização de defensivos no Brasil (PARANÁ, 2020).

Além de ser grande consumidor de defensivos comercializados de forma legal, o cenário agroquímico nacional é composto também por diversos produtos ilegais, os quais podem ser tipificados como crime de contrabando ou de falsificação, assim como crime ambiental. A repressão a esses crimes é competência da Polícia Federal (PF), responsável por prevenir e reprimir tais infrações. Apreensões de defensivos contrabandeados têm sido muito frequentes nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás. A importação ilegal destes produtos para o Brasil ocorre, principalmente, através das fronteiras do Brasil com o Uruguai e com o Paraguai. Um dos principais motivos para a existência do contrabando é a diferença significativa entre os preços dos produtos vendidos no Brasil e nos países vizinhos, que chegam a ser 50% menores do que os preços praticados no Brasil, tornando os ganhos econômicos desses crimes encorajadores para os agricultores. Além disso, a legislação entre os diferentes países também varia muito, facilitando o crime nas fronteiras. Por exemplo, enquanto para comprar defensivos no Brasil é preciso ter um receituário agrônomo prescrito por profissional legalmente habilitado, no Uruguai grande parte destes produtos são de venda livre (LEMOS; CARVALHO; ORTIZ, 2018).

O uso de defensivos agrícolas é um assunto muito polêmico. Os impactos ao meio ambiente são amplamente debatidos por toda a sociedade e comunidade científica. As

consequências sobre a microbiota do solo e os processos biológicos dificilmente podem ser determinadas com precisão, devido à natureza, heterogeneidade, dinâmica e respostas adaptativas da comunidade microbiana. A qualidade do solo pode ser definida como a capacidade contínua do solo de aceitar, estocar e reciclar água, nutrientes e energia, além de ser capaz de transformar materiais químicos e biológicos, funcionando como um tampão ou filtro ambiental. Ou seja, a qualidade de qualquer solo depende da sua natureza, que é função dos fatores de formação e da interferência antrópica relacionada ao seu uso e manejo (FERREIRA *et al.*, 2014).

Os componentes químicos dos defensivos agrícolas têm grande potencial de contaminação das águas superficiais, subterrâneas e sedimentos, devido às suas propriedades físicas e químicas, como: solubilidade, adsorção, deslocamento, persistência e toxicidade. Sendo estes dois últimos, os fatores de maior poder contaminante. O homem e os animais aparecem nessa rota perigosa, devido ao efeito bioacumulativo na cadeia de transferência de efeitos tóxicos pela ingestão de água e alimentos contaminados. Os defensivos são produzidos com o objetivo de serem tóxicos a grupos determinados, mas o comportamento destes químicos é muito complexo e, na maioria das vezes, não segue a rota programada, podendo provocar danos em outras espécies. Muitos estudos têm sido realizados no sentido de minimizar o uso desses compostos, bem como, dar o devido tratamento aos corpos receptivos desses produtos (BENEVIDES; MARINHO, 2015).

A utilização de defensivos na agricultura ocorre em áreas muito extensas. A contaminação por resíduos pode advir acidentalmente, devido ao manejo impróprio utilizado na agricultura em geral, o que pode causar contaminação e dispersão em diferentes locais no ambiente. Em alguns casos, os defensivos se fixam nas plantas e afetam outros insetos, diferentes daqueles para os quais foram desenvolvidos. Assim, distintos defensivos podem ser introduzidos na cadeia alimentar pelas abelhas produtoras de mel, afetando diretamente a saúde humana (SILVA *et al.*, 2014). Diante disso, o aumento das práticas agrícolas teve um alto custo ambiental: a perda de *habitat* e o uso inadequado de defensivos que trazem consequências negativas para a flora e a fauna silvestres. Assim, não surpreende que haja um declínio global contínuo de polinizadores, o que é alarmante, devido ao importante papel que desempenham nos sistemas ecológicos e na produtividade das culturas (TOSI *et al.*, 2018).

No processo de forragear de flor em flor, coletando pólen e néctar, os polinizadores também coletam inadvertidamente diversos contaminantes ambientais, incluindo defensivos agrícolas. Misturas complexas de defensivos atuais e antigos são rotineiramente encontradas em tecidos de abelhas e matrizes de colônia. As recentes perdas de colônias e a diminuição das populações de abelhas nativas em todo o mundo renovaram o interesse no

risco potencial não apenas com ingredientes ativos de defensivos agrícolas, mas também com suas formulações (HOOVEN *et al.*, 2019).

O impacto nas abelhas da sua exposição a defensivos agrícolas, particularmente a partir de inseticidas neonicotinóides, recebeu considerável atenção recente de pesquisa e tornou-se um tópico de debate público (RAINE; GILL, 2015). As abelhas forrageiras constituem um modelo terrestre por excelência para amostragem de agroquímicos no ambiente, uma vez que a área de forrageamento de uma única colônia tem, em média, 3 quilômetros de raio (MULLIN *et al.*, 2015). Os defensivos agrícolas podem afetar as abelhas pelo contato, pela ingestão e por meio da fumigação. Os efeitos tóxicos também estão intimamente ligados às concentrações administradas, o tempo de exposição, dentre outras características (SILVA; MELO; BLANCO, 2016).

As possíveis consequências da exposição das abelhas a defensivos agrícolas para a aprendizagem e a memória são preocupantes, pois as habilidades cognitivas são essenciais para a forragem. As abelhas vinculam diretamente as habilidades cognitivas à eficiência de forrageamento, uma característica determinante da aptidão. As recompensas de néctar e pólen oferecidas pelos recursos florais mudam ao longo do tempo e as abelhas devem não apenas lembrar quais espécies de flores são atualmente recompensadoras, mas também sua localização, além de lidar com diferentes tipos de flores, quais flores foram visitadas e onde a colônia está localizada. Por essas razões, numerosos estudiosos se propuseram a examinar os efeitos dos defensivos agrícolas nas características cognitivas das abelhas (SIVITER *et al.*, 2018).

Nos seres humanos, as vias mais comuns de exposição aos defensivos são: a via dérmica (verso das mãos, pulsos, pés, axilas etc.), a via respiratória (boca, nariz), a via digestiva (trato gastrointestinal) e a via ocular (MENDONÇA; BURLE; FIGUEIREDO, 2019). As principais rotas de contaminação seguem as vias ocupacional, ambiental e alimentar. A via ocupacional perfaz 80% dos casos e está relacionada com o contato direto, como é o caso dos trabalhadores rurais. A via alimentar se caracteriza pela ingestão de alimentos contaminados. De acordo com o tempo (curto, médio ou longo) de exposição a esses químicos, o grau de intoxicação pode ser classificado como agudo, subagudo e crônico, sendo que os efeitos podem variar de pessoa a pessoa (BENEVIDES; MARINHO, 2015).

Independentemente da forma de exposição, às consequências neurotóxicas estão associadas a uma série de sintomas e defeitos na conduta neurológica e anormalidades na função nervosa. Os sintomas neurológicos menos severos incluem dor de cabeça, tontura, náusea, vômito e excessivo suor. Já os mais perigosos são o desenvolvimento de fraqueza muscular e bronquiespasmos, que podem progredir para convulsões e coma (FERREIRA *et al.*, 2014). Existem outros sintomas como dificuldade respiratória, depressão, câncer, problemas de pele e de memória, cirrose hepática, abortos, deformações fetais, impotência

sexual, fibrose pulmonar, braquicardia, distúrbios do sistema nervoso, hepatite, acnes, pancreatite, diabete, úlcera, alergia e distúrbios audiovisuais, que se somam a outras intoxicações consideradas. Esses são problemas imediatos e visíveis, entretanto, existe outro ponto importante que é a exposição a concentrações muito baixas e frequentes pelos consumidores desses produtos e o seu possível acúmulo no corpo, o que corresponderia a uma toxicidade crônica (MENDONÇA; BURLE; FIGUEIREDO, 2019).

Caso produtores rurais e produtores de defensivos fossem livres para decidir sobre as quantidades utilizadas e produzidas, é provável que os níveis escolhidos fossem por demais altos, tendo em vista que custos seriam impostos, principalmente, sobre terceiros. Nessa situação, o nível de produção e utilização de agrotóxicos estaria acima do socialmente ótimo, beneficiando alguns em detrimento do bem-estar da sociedade. Isso torna essencial a regulamentação da produção, comércio, uso e disposição de defensivos, a qual deve equilibrar ao menos três fatores: performance agrônômica, saúde pública e meio ambiente. Limita-se, assim, a imposição de custos a terceiros e mantém-se sustentável o fornecimento de bens públicos, tais como água potável, ar puro, solos saudáveis e saúde pública (MORAES, 2019).

Na década de 1980, muitos insetos-praga desenvolveram resistência aos organofosforados, carbamatos e piretróides então existentes no mercado. Diante desse cenário de maior resistência aos inseticidas existentes, o neonicotinóide e o fipronil foram apresentados como tendo vários atributos-chave que levaram à sua rápida adoção em ambientes agrícolas e urbanos. Os neonicotinóides e o fipronil (classe pirazol) são inseticidas com propriedades sistêmicas. Suas características físico-químicas, avaliadas, principalmente, em termos de seu coeficiente de partição octanol água (K_{ow}) e constante de dissociação (pKa) permitem sua entrada nos tecidos vegetais e sua translocação para todas as suas partes. Independentemente da forma de aplicação e da rota de entrada na planta, eles se translocam por todos os seus tecidos, tornando-os tóxicos para quaisquer insetos e, potencialmente, para outros organismos que se alimentam da planta. Isso protege a planta de danos diretos por insetos herbívoros, principalmente que se alimentam de seiva e, indiretamente, de danos por vírus de plantas que são transmitidos por insetos (DELSO *et al.*, 2015).

3.4.1 Grupo químico neonicotinóide: imidacloprido

De acordo com a Resolução nº 165, de 29 de agosto de 2003, o imidacloprido pertence ao grupo químico neonicotinóide. Classe: Inseticida. Nome químico: 1 - (6 – chloro

– 3 – pyridylmethyl) – N – nitroimidazolidin – 2 - ylideneamine. Fórmula bruta: C₉H₁₀ClN₅O₂. A fórmula estrutural está apresentada na Figura 1 (ANVISA, 2003).

Os neonicotinóides constituem uma família química que incluem alguns dos inseticidas mais populares e amplamente utilizados (GOÑALONS; FARINA, 2018). A descoberta do imidacloprido por Shinzo Kagabu e sua subsequente introdução no mercado em 1991, deu início à era da classe de inseticidas neonicotinóides (DELSO *et al.*, 2015). Nos anos seguintes, houve um desenvolvimento notável de derivados tais como nitempiram e acetamiprida, desenvolvidos em 1995, e as demais classes como tiametoxam, clotianidina, dinotefurano e tiaclopride, desenvolvidos entre 1998 e 2002, resultando em sete classes desse grupo (SOUZA, 2018). Nas duas décadas seguintes, os neonicotinóides tornaram-se os inseticidas mais amplamente usados das cinco principais classes químicas (os outros sendo organofosforados, carbamatos, fenil-pirazol e piretróides) no mercado global (DELSO *et al.*, 2015). A meia vida de degradação em solos brasileiros é maior que 188 dias (IBAMA, 2015). De acordo com a classificação toxicológica estabelecida pela ANVISA (2019), o imidacloprido se enquadra na categoria III, ou seja, é considerado produto moderadamente tóxico (embalagem faixa amarela).

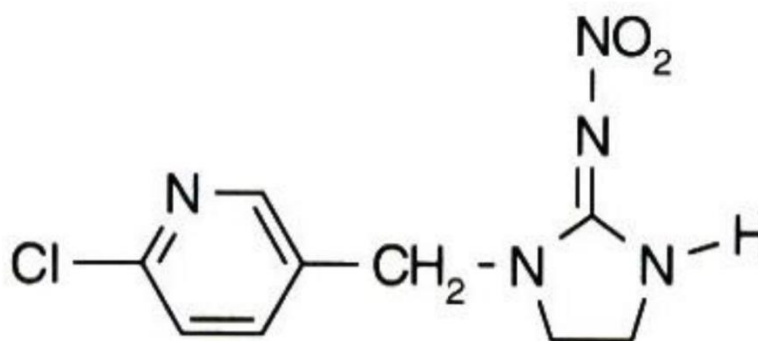


Figura 1 Fórmula estrutural do imidacloprido.

É uma classe de defensivos sistêmicos, por isso são absorvidos e translocados por toda a planta, fornecendo proteção contra pragas por um período. Essa classe foi adotada para substituir as químicas mais antigas de carbamato e organofosfato consideradas mais perigosas para aplicadores e outros organismos não alvo, particularmente mamíferos. São utilizados como tratamento de sementes e do solo, diretamente sobre a folha ou através de sistemas de irrigação (SCHAAFSMA *et al.*, 2015), aplicação granular, imersão de mudas, quimigação, encharcamento (solo), aplicação de sulco, injeção no tronco das árvores, mistura com água de rega, aplicação de bolbos de flores e aplicação com pincel no caule das árvores de fruto.

As aplicações de sementes e solo representam, aproximadamente, 60% do uso em todo o mundo (DELSO *et al.*, 2015). A variedade de métodos de aplicação, juntamente com suas propriedades sistêmicas e baixa toxicidade para mamíferos, resultou em uma ampla adoção para a proteção de culturas (SCHAAFSMA *et al.*, 2015). Por serem persistentes no ambiente, os neonicotinóides requerem menos pulverização adicional (CODLINGA *et al.*, 2016). Independentemente do modo de aplicação, os neonicotinóides se distribuem por toda a planta, incluindo os ápices do crescimento de uma nova vegetação, tornando-os particularmente eficazes contra pragas sugadoras, tanto acima quanto abaixo do solo (DELSO *et al.*, 2015).

Esses químicos possuem um excelente desempenho no controle de pragas, sendo utilizados para o combate de uma ampla gama de insetos como pragas sugadoras, pulgões, mosca branca, gorgulhos, cigarrinhas, gafanhotos e besouros (SOUZA, 2018). Atualmente, os neonicotinóides são aprovados para uma ampla variedade de culturas agrícolas como algodão, arroz, arroz irrigado, batata, cana-de-açúcar, citros, feijão, fumo, milho, soja, tomate e trigo (ADAPAR, 2020). Eles são solúveis em água, mas exibem potências agudas relativamente menores em relação aos peixes (CODLINGA *et al.*, 2016).

A aplicação de inseticidas neonicotinóides às plantas é conhecida por resultar na concentração residual de defensivos no néctar e pólen das flores, mesmo quando é utilizado apenas para o tratamento de sementes (SILVA; MELO, BLANCO, 2016). Eles agem como neurotoxinas, perturbando o sistema nervoso das abelhas, ativando agonisticamente os receptores nicotínicos de acetilcolina (GOÑALONS; FARINA, 2018), interrompendo a transmissão colinérgica, o que pode levar as células neurais a falharem (SIVITER *et al.*, 2018). A dose letal média (LD50) de imidacloprido por contato é 0,061 µg/abelha e a dose letal oral média (LD50) 0,013 µg/abelha (BAYO; GOKA, 2016).

Entre os principais efeitos podem ser citadas a redução do crescimento da colônia, a redução do forrageamento e a redução de produção de abelhas rainhas (ROSA *et al.*, 2019), além de prejudicar a aptidão individual das abelhas e das colônias em doses subletais. Ainda, os neonicotinóides podem ter efeitos tóxicos retardados nas abelhas, principalmente em casos de exposição crônica. Os produtos de degradação do imidacloprido do metabolismo dos insetos e da deterioração ambiental também são tóxicos para as abelhas. O imidacloprido e seus subprodutos podem permanecer no solo e, posteriormente, serem incorporados em plantas, iniciando um novo ciclo de exposição ao polinizador (ZHANG; NIEH, 2015).

Em menos de 20 anos os neonicotinóides se tornaram a classe de inseticida mais utilizada, com uma quota de mais de 25% do mercado global (ROSA *et al.*, 2019). Em 2010 os neonicotinóides representaram cerca 27% das vendas mundiais de inseticidas, sendo que nos Estados Unidos a renda com a venda desses defensivos foi de, aproximadamente,

US\$ 2.63 bilhões, dos quais o imidacloprido representou 41,5% das vendas. Em 2014, mais uma vez este grupo químico disparou com mais de 25% das vendas mundiais, sendo que as classes tiametoxam, imidacloprido e clotianidina representaram 85% das vendas.

As principais regiões consumidoras desse inseticida são a América Latina, a Ásia e a América do Norte (SOUZA, 2018). No geral, o maior uso parece ser a proteção de plantações, plantas ornamentais, árvores, agricultura, horticultura, viveiro de árvores e silvicultura (DELSO *et al.*, 2015).

De acordo com a bula de um dos fabricantes de imidacloprido, nos humanos a ingestão pode causar tontura, sonolência, tremores e movimentos incoordenados, falta de coordenação, tremores, diarreia e perda de peso. Esses inseticidas parecem ser menos tóxicos quando absorvidos por via dérmica ou inalatória do que quando absorvidos por via oral (NORTOX, 2019b).

O volume e percentual de imidacloprido comercializado no Paraná, entre os anos de 2013 e 2019, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Imidacloprido em toneladas e percentual comercializado no Paraná entre 2013 e 2019

Ano	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Volume	2617,16	1913,27	1900,83	2248,72	2309,95	2489,84	2115,37
%	2,81	1,96	1,89	2,44	2,50	2,68	2,22

Fonte: ADAPAR (2020).

3.4.2 Grupo químico pirazol: fipronil

De acordo com a nº Resolução - RE nº 165, de 29 de agosto de 2003, o fipronil pertence ao grupo químico pirazol. Classe: Inseticida, formicida e cupinicida. Nome químico: (RS) – 5 – amino – 1 - (2,6 – dichloro - α,α,α – trifluoro – p - tolyl) – 4 - trifluoro methylsulfinylpyrazole – 3 – carbonitrile. Fórmula bruta: C₁₂H₄Cl₂F₆N₄OS. A fórmula estrutural está apresentada na Figura 2 (ANVISA, 2003).

Os fenilpirazóis foram desenvolvidos na década de 1980 e introduzidos no mercado por volta dos anos 1990, com indicação para uso na agricultura e na medicina veterinária (SOUZA *et al.*, 2014). Os defensivos pirazóis diferem dos inseticidas clássicos, pois apresentam ação sistêmica na planta (SILVA; MELO; BLANCO, 2016). A empresa francesa Rhône-Poulenc Agro (agora Bayer CropScience) descobriu e desenvolveu o fipronil entre 1985 e 1987, que chegou ao mercado em 1993. As substâncias pertencentes à família do pirazol têm principalmente efeitos herbicidas, enquanto o fipronil é um potente inseticida (DELSO *et al.*, 2015). A meia vida é em torno de 142 dias (BAYO; GOKA, 2016). De acordo

com a classificação toxicológica estabelecida pela ANVISA (2019), o fipronil se enquadra na categoria II, ou seja, é considerado produto altamente tóxico (embalagem faixa vermelha).



Figura 2 Fórmula estrutural do fipronil.

Atualmente o fipronil, defensivo pirazol mais conhecido, é amplamente utilizado no controle de pragas (JACOB *et al.*, 2015) como proteção de várias culturas, pois permite grande flexibilidade nos métodos de aplicação (BONMATIN *et al.*, 2015), como a aplicação no solo (culturas de batata, cana-de-açúcar, duboisia e milho), a aplicação foliar (culturas do algodão, arroz, duboisia, eucalipto e soja), a aplicação no solo/olheiros (culturas acácia, acácia negra, araucária, paricá, pinus, populus, seringueira e teca) a aplicação em sementes (algodão, amendoim, arroz, cevada, feijão, girassol, milho, pastagens, sorgo, soja e trigo), a aplicação foliar de mudas em viveiros (culturas de acácia, acácia negra, araucária, eucalipto, paricá, pinus, populus, seringueira e teca) e o controle de formigas e cupins e aplicação na água de irrigação para o arroz irrigado (ANVISA, 2020).

O fipronil sofreu restrições em diversos países. No Uruguai foi cancelado o uso agrícola, permanecendo apenas as formulações formicidas e tratamento de semente para o arroz. No Reino Unido, foram revogadas todas as autorizações após conclusão da revisão feita pela UE. Nos EUA, o fipronil possui uso restrito (*Restricted use pesticide* - RUP), podendo ser aplicado apenas por profissionais certificados pela Agência. Na Alemanha não é registrado. Foi concedido apenas o uso emergencial para a cultura da batata. Mas no Brasil, não possui autorização apenas para aplicação aérea (IBAMA, 2015).

Além de causar alterações comportamentais que prejudicam as atividades de comunicação e forrageamento das abelhas, o fipronil pode tornar as colônias mais vulneráveis a patógenos e parasitas (ZALUSKI *et al.*, 2015). É um inseticida neurotóxico que inibe os receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), causando excesso de atividade neural (JACOB *et al.*, 2015). A dose letal média (LD50) de fipronil por contato é

0,007 µg/abelha e a dose letal oral média (LD50) 0,001 µg/abelha (BAYO; GOKA, 2016). Os inseticidas pirazois podem ser detectados no pólen e néctar durante todo o período de floração, como consequência, as abelhas podem sofrer uma exposição crônica a eles, ao longo de grandes períodos de tempo após a aplicação (SILVA; MELO; BLANCO, 2016). O fipronil está relacionado à maioria dos eventos de mortandade de abelhas notificados no Brasil (IBAMA, 2015).

Além disso, o fipronil é altamente tóxico para muitas classes de insetos e exibem toxicidade vertebrada relativamente baixa quando comparados com outras classes de inseticidas atualmente em uso. O fipronil é composto por moléculas relativamente pequenas e são altamente solúveis em água. Na última década, as preocupações com o destino e os efeitos ambientais desse composto destacaram algumas das armadilhas associadas ao uso inadequado, como a persistência no solo e os efeitos sobre espécies de invertebrados não direcionados (BONMATIN *et al.*, 2015).

De acordo com a bula de um dos fabricantes de fipronil, nos humanos os principais efeitos estão relacionados ao sistema nervoso central, como convulsão, ataxia, tremores, hiper e/ou hipoatividade (NORTOX, 2019a).

O volume e percentual de fipronil comercializado no Paraná entre os anos de 2013 e 2019 estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Fipronil em toneladas e percentual comercializado no Paraná entre 2013 e 2019

Ano	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Volume	1452,94	370,94	362,06	230,40	230,10	148,65	200,10
%	1,56	0,38	0,36	0,25	0,25	0,16	0,21

Fonte: ADAPAR (2020).

3.5 Defensivos em mel

O mel pode ser contaminado diretamente nas práticas apícolas ou indiretamente através de fontes ambientais. Acaricidas, fungicidas, inseticidas e muitas outras substâncias tóxicas são usadas nas colônias para controlar doenças nas abelhas, especialmente *varroatose* e *ascosferiose*, podendo contaminar diretamente o mel e outros produtos da colônia. Por outro lado, a contaminação indireta do meio ambiente ocorre por visitas das abelhas a flores contaminadas por defensivos agrícolas. De acordo com os regulamentos da União europeia (UE), o mel é considerado inadequado para consumo humano se os resíduos de defensivos estiverem além dos níveis máximos de resíduos (LMR) que geralmente estão na faixa de 0,01 a 0,05 µg g⁻¹ (SHENDY *et al.*, 2016).

Usar o mel como alimento natural demanda alta qualidade. No entanto, a produção ocorre em conjunto com as atividades agrícolas e resíduos de defensivos foram detectados em méis de vários países em níveis variados, em alguns casos excedendo os LMR permitidos (KARISE *et al.*, 2017). A demanda por mel livre de defensivos é aumentada devido às preocupações de saúde e segurança do cliente e competitividade no mercado (RAFIQUE *et al.*, 2018). Devido ao uso extensivo do mel em todo o mundo, sua contaminação tem sido uma grande preocupação em nível mundial. Vários estudos foram realizados para monitorar contaminantes de mel (MALHAT *et al.*, 2015). Para preservar a saúde das abelhas, que está integrada à saúde humana, e para preservar a qualidade dos subprodutos das abelhas, especialmente o mel, é necessário monitorá-los regularmente usando métodos analíticos rigorosos para confirmar a qualidade dos produtos (IRUNGU; RAINA; TORTO, 2016). Por isso, a procura por rigorosos padrões de qualidade torna-se necessária para suprir ao mercado consumidor cada vez mais exigente (SILVA *et al.*, 2014).

Em escala global, existem numerosos estudos sobre resíduos de defensivos agrícolas em abelhas e seus produtos. Rafique *et al.* (2018) avaliaram resíduos de defensivos no mel do Paquistão. Vinte e seis amostras foram coletadas em apiários de diferentes regiões. Dos 35 defensivos selecionados, resíduos de 9 foram detectados em 26,9% das amostras de mel. Cerca de 15,3% das amostras foram contaminadas com mevinpos, lindano, clorpirifós-metil e dieldrin, que estão acima dos limites permitidos pelo *Codex Alimentarius*. Já os defensivos diclorodifeniltricloroetano (4,4-DDE), profenofos, trifluralina, etalfluralina e diclorvos foram detectados, porém, dentro dos limites preconizados pela legislação. Embora mevinpos e diclorvos sejam proibidos no Paquistão, o uso no passado e o uso ilícito no presente podem ser uma importante fonte de contaminação.

Malhat *et al.* (2015) monitoraram resíduos de defensivos agrícolas organoclorados e piretróides sintéticos em amostras de mel coletadas nas províncias de Sharqya, Qalyoubia e Ismailia, localizadas no Egito e detectaram resíduos de Hexaclorobenzeno (HCB) em 68 amostras, quase 70% do total, com uma concentração média de $0,0085 \mu\text{g g}^{-1}$. Apenas duas amostras continham resíduos p, p DDE (diclorodifenildicloroetileno) a uma concentração média de $0,019 \mu\text{g g}^{-1}$. Os compostos mais frequentemente detectados foram HCB, permetrina, heptacloro-epóxido, endrina, aldrina e Gama hexaclorociclohexano (γ -HCH). Apenas uma amostra contendo γ -HCH com valor superior ao LMR foi detectada nesse estudo.

Em estudo realizado por Karise *et al.* (2017), um total de 33 amostras de mel foram coletadas de colmeias da Estônia nos anos de 2013 e 2014, para análise de resíduos de defensivos agrícolas. As proporções de amostras com pelo menos vestígios de defensivo foram comparadas, sendo 78% em 2013 e 63% em 2014. Em 2013, cinco compostos diferentes foram encontrados nas amostras de mel, sendo o clopiralide em 64%

(duas vezes acima do LMR), glifosato em 21% (duas vezes acima do LMR). Para o dimetoato, o tiaclopride e o tau-fluvalinato encontrados, todas as quantidades permaneceram abaixo do limite de detecção (LOD). Em 2014, no entanto, foram encontrados sete compostos sendo o ácido 2,4D (2,4D), glifosato, tebuconazol, azoxistrobina, dimetoato, tiaclopride e tau-fluvalinato.

Darko *et al.* (2017) avaliaram as concentrações de resíduos de defensivos agrícolas no mel amostrado nas principais áreas produtivas em Gana, sendo: piretróides, organoclorados e organofosforados. Os defensivos: aldrina, γ -HCH, Beta-Hexaclorociclohexano (β -HCH), endossulfão, ciflutrina, cipermetrina, deltametrina, permetrina metoxicloro, Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT), clorpirifos, fenvalerato, malatião, dimetoato e diazinon foram detectados na concentração de $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto a ciflutrina e permetrina foram detectadas na concentração média de $0,02$ e $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Todos os resíduos detectados estavam em níveis abaixo dos LMR estabelecidos pela União Europeia. Portanto, os autores concluíram que os resíduos de defensivos nas amostras de mel analisadas não representam risco à saúde dos consumidores.

Kasiotis *et al.* (2014) analisaram resíduos de 115 defensivos agrícolas de diferentes classes químicas em corpos de abelhas, pólen e mel de diferentes áreas da Grécia. E encontraram resíduos em 73% das amostras de abelhas, 43% das amostras de pólen e apenas 0,1% das amostras de mel. Os autores concluíram que as abelhas têm contato com as plantas, mas nem todo defensivo tem contato com o mel.

Oliveira *et al.* (2016) analisaram 21 amostras de pólen de abelha fornecidas pelos apicultores de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, em que detectaram a presença de: trifluralina, alaclor, bioaletrina, permetrina, aldrin e endossulfão. Nesse mesmo estudo, analisaram 145 amostras de pólen coletadas de dez colmeias no apiário experimental da Embrapa em Jaguariúna, São Paulo, Brasil, em que 18 (12%) das amostras apresentaram resíduos de pendimetalina, mas em concentrações abaixo do limite de quantificação, enquanto quatro amostras (3%) apresentaram resultados positivos para a bioaletrina, também abaixo do limite de quantificação.

Diferentes resultados foram encontrados por Valverde *et al.* (2018), que analisaram resíduos de neonicotinóides em dezoito amostras comerciais de mel de três diferentes origens botânicas e em dez amostras de mel coletadas de apiários experimentais de diferentes regiões da Espanha. Não foram detectados resíduos desses inseticidas em nenhuma das amostras comerciais, enquanto nas amostras dos apiários foi detectado resíduo de tiametoxam em seis amostras e imidacloprido em apenas uma amostra.

Silva Junior, Neves e Nascimento (2019) avaliaram 207 amostras de mel coletadas em Jaguaquara, Bahia, Brasil. O mel analisado foi coletado entre novembro e dezembro de

2017, período mais seco e com número reduzido de culturas anuais que, na região do estudo, concentram-se entre os meses de março a julho. Também não detectaram resíduos de defensivos em nenhuma das amostras. Resultados semelhantes foram verificados por Lopes *et al.* (2018), que não encontraram resíduos de defensivos em 20 amostras de mel produzido e extraído nas casas de mel da Região das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição das amostras

As amostras de mel foram adquiridas em mercados e lojas de produtos naturais na cidade de Cascavel, Paraná, no período de janeiro de 2020, sendo quatro de mel orgânico e quatro convencional. Inicialmente, desejava-se realizar as análises apenas com mel produzido no estado do Paraná, porém, isso não foi possível por não haver quantidade suficiente do produto disponível para compra. Por esse motivo, escolheram-se os estados mais próximos, sendo Santa Catarina com duas amostras e São Paulo com uma amostra, as demais foram produzidas no Paraná. Dentre elas, sete estavam embaladas em recipientes de plástico e uma em recipiente de vidro. As quantidades líquidas variaram entre 250 e 500 g, com valores entre R\$ 5,58 e 8,66 por 100 g para o mel orgânico e de R\$ 4,23 a 4,85 por 100 g para o mel convencional, estando as diferenças relacionadas, principalmente, com a marca e local de produção. As amostras de mel orgânico estão identificadas no Quadro 1 e as de mel convencional estão identificadas no Quadro 2, em que estão descritas as principais atividades econômicas e locais de produção de cada uma delas. A marca foi omitida a fim de preservar legalmente os dados gerados.

Quadro 1 Amostras de mel orgânico utilizadas para determinação de imidacloprido e fipronil

Marca	Local de produção	Principais atividades econômicas da cidade			
		Produção agropecuária			Industrial
		Temporária	Permanente	Origem animal	
1	São Bento do Sul - Santa Catarina	Milho, soja, batata, mandioca, tomate, fumo e feijão.	Banana e erva mate.	Criação de aves e bovinos; produção de mel, leite e ovos de galinha.	Mobiliário, higiene e limpeza, metalúrgica, fiação, tecelagem, cerâmica e plástico.
2	Ipeúna - São Paulo	Cana de açúcar, mandioca e milho.	Caqui, laranja, tangerina, pera e abacate.	Criação de aves e suínos; produção de mel, ovos de galinha e leite.	Beneficiamento e empacotamento de leite; fabricação de tubos e tanques em fibra de vidro; fabricação de aeronaves; moagem de calcário; metalúrgica; beneficiamento de cereais; integração e abatedouro de aves; purificação de aromas cítricos etc.
3	Prudentópolis - Paraná	Soja, milho, feijão, fumo e cevada.	Erva mate, maracujá, laranja e uva.	Criação de aves, bovinos e suínos; produção de mel e leite.	Produtos minerais não metálicos, metalúrgica, madeira, móveis, têxtil, calçados, produtos alimentícios, bebida e álcool etílico.
4	União da Vitória - Paraná	Soja, milho, mandioca, feijão, cana de açúcar, melancia, trigo e fumo.	Erva mate, uva e tangerina.	Criação de aves, suínos e bovinos; produção de mel e leite.	Fabricação de artefatos para pesca e esporte, produtos de madeira, produtos de fumo, papel, siderurgia, produtos de material plástico, fabricação de produtos químicos orgânicos.

Fonte: IBGE e sites dos municípios.

Quadro 2 Amostras de mel convencional utilizadas para determinação de imidacloprido e fipronil

Marca	Local de produção	Principais atividades econômicas da cidade			
		Produção agropecuária			Industrial
		Temporária	Permanente	Origem animal	
5	Xaxim - Santa Catarina	Soja, milho, trigo, feijão, mandioca e fumo.	-	Criação de aves, suínos e bovinos; produção de mel, leite e ovos de galinha.	Abatedouro de aves e prestações a serviços às agroindústrias.
6	Rolândia - Paraná	Soja, cana de açúcar, milho, trigo, mandioca e algodão.	Laranja, café, abacate e uva.	Criação de aves, suínos e bovinos; produção de leite, mel e ovos de galinha.	Indústria alimentícia e usina de álcool.
7	Maringá - Paraná	Milho, soja, cana de açúcar, trigo e mandioca.	Banana, laranja e café.	Criação de aves, bovinos, suínos, codornas e ovinos; produção de mel.	Alimentação e bebidas, vestuário e móveis.
8	Marechal Cândido Rondon - Paraná	Milho, soja, mandioca e cana de açúcar.	Uva, banana e abacate.	Criação de aves, suínos, bovinos e ovinos; produção de leite e mel.	Indústrias alimentícias, moveleira, vestuário e metalúrgica.

Fonte: IBGE e sites dos municípios.

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente e levadas ao Laboratório de Análises Agroambientais, Setor de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *campus* de Cascavel. Para extração e quantificação dos defensivos selecionados. A metodologia utilizada foi adaptada de Costa (2014).

4.2 Limpezas das vidrarias

As vidrarias foram lavadas em água e detergente e, em seguida, com água Milli-Q. Foram passados duas vezes em todo material os reagentes etanol 99,5%, metanol grau HPLC e hexano grau HPLC. As vidrarias não volumétricas foram secadas em estufa a 70 °C por 24 h e as vidrarias volumétricas foram posicionadas em um escorredor, onde secaram naturalmente. Tal procedimento de limpeza é imprescindível para minimizar a presença de interferentes.

4.3 Extração das amostras de mel

Um grama de cada amostra de mel foi pesado em tubos de ensaio identificados utilizando-se uma balança analítica (Shimadzu®) com precisão de quatro casas decimais.

Em seguida, a amostra foi diluída em água Mili-Q até o volume de 3 mL e a solução foi homogeneizada sob agitação de um vortex (Kasvi basic, modelo: K45-2810).

O condicionamento dos cartuchos SPE C18 1000 mg/ 6 mL foi realizado conectando-se os cartuchos a um minifold (Figura 3). Foram adicionados 5 mL de metanol e aplicou-se vácuo, descartou-se o solvente, sem permitir a secagem do adsorvente. Para todas as adições nos cartuchos a torneira do equipamento foi regulada para que a passagem do solvente fosse por gotejamento. Em seguida, o procedimento foi repetido com 5 mL de água Mili-Q. Em seguida, os cartuchos foram carregados com 1 mL da solução da amostra e lavados com 5 mL de água Mili-Q. Essas etapas foram realizadas permitindo a completa secagem do adsorvente e o descarte do solvente. Em seguida, os tubos de ensaio identificados foram posicionados abaixo dos cartuchos, adicionando-se para eluição dos extratos 3 mL de metanol (Figura 4).



Figura 3 Condicionamento dos cartuchos SPE C18 1000 mg / 6 ml conectado a um Minifold.



Figura 4 Coletas de extratos em tubos de ensaios sob vácuo.

Os eluídos foram secos sob fluxo de nitrogênio (Figura 5) no equipamento TurboVap® LV (Figura 6), à temperatura de 40 °C, até a completa evaporação do solvente por, aproximadamente, 45 min. Os analitos foram ressuspensos em 1 mL de metanol, homogeneizados sob agitação do vortex e transferidos para vials de cromatografia. Cada vial foi tampado, identificado e armazenado no congelador até o momento da determinação cromatográfica.



Figura 5 Eluídos submetidos à secagem sob fluxo de nitrogênio.



Figura 6 TurboVap® LV.

4.4 Análise estatística

A correlação foi avaliada com base no coeficiente de correlação linear (R^2) utilizando o *software Ms-Excel* 2010. Para comparar a média da concentração entre as amostras orgânicas e convencionais foi realizado o Teste *T Student*.

4.5 Determinação de imidacloprido em mel

Uma solução estoque foi preparada pesando-se 8,0 mg de imidacloprido (pureza 99,9% grau HPLC, Sigma-Aldrich®) em uma balança analítica (Shimadzu®) com precisão de quatro casas decimais, dissolvendo-se esse sólido em 10 mL de metanol, obtendo-se uma concentração de 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A partir dessa solução, foi preparada a solução-mãe de 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, a partir da qual foram preparadas seis soluções de trabalho, todas em metanol, com as seguintes concentrações: 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 e 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A detecção de imidacloprido nas amostras de mel e os parâmetros de validação foram analisados em sistema cromatográfico, utilizando equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - Shimadzu®, Figura 7), equipado com amostrador automático (SIL-20A).



Figura 7 Shimadzu HPLC, localizado no laboratório de Análises Agroambientais, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

A coluna cromatográfica utilizada foi a Kromasil C18, 5 μm , 150 X 4,6 mm da marca AkzoNobel. Os parâmetros cromatográficos do método de determinação foram detector UV (SPD-20A), comprimento de onda 270 nm, modo de eluição isocrático, fase móvel água-acetonitrila (70:30 v/v), fluxo de 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, volume de injeção 30 μL , temperatura de aquecimento 25 $^{\circ}\text{C}$ e tempo de corrida 8 min.

4.6 Parâmetros de validação cromatográfica para análise de imidacloprido em mel

A fim de atestar a confiabilidade do método, alguns parâmetros de validação foram estudados, seguindo-se às recomendações da *in-house validation*, conforme descritas por Ribani *et al.* (2004), sendo: seletividade, linearidade, limites de detecção e de quantificação e recuperação.

A seletividade foi realizada em triplicata, comparando-se uma matriz com adição do analito (padrão imidacloprido com concentração de $4 \mu\text{g mL}^{-1}$) e uma matriz sem a adição do analito. O resultado destas medições foi avaliado considerando-se os tempos característicos de retenção do pico.

A linearidade foi obtida por padronização externa e formulada com expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra de mel. A equação da reta que relaciona as duas variáveis: área do pico e a concentração da substância a ser quantificada é expressa pela Equação 1 (INMETRO, 2007).

$$y = ax + b \quad (1)$$

em que:

y = resposta medida (absorbância, altura ou área do pico etc.);

x = concentração;

a = inclinação da curva de calibração = sensibilidade;

b = interseção com o eixo y, quando $x = 0$.

A linearidade foi avaliada através da equação da reta, considerando-se o coeficiente de correlação linear ($r^2 \geq 0,99$) como indicador do modelo matemático e, para o ajuste da curva analítica, foram preparadas soluções estoques e de trabalho, conforme seção 4.5, em triplicatas injetadas em ordem crescente.

O limite de detecção (LD) foi determinado pelo método visual, que consiste em injetar soluções de concentração crescente, até o aparecimento de um sinal analítico visível. O limite de quantificação (LQ) foi considerado a concentração do menor ponto da curva analítica.

O ensaio de recuperação foi realizado comparando-se os resultados analíticos da solução padrão dos defensivos de menor concentração da curva analítica, submetidos ao processo de extração em fase sólida, com os resultados que foram obtidos com a mesma solução padrão não extraídas.

O ensaio de recuperação foi calculado, conforme a Equação 2 (ANVISA, 2017).

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

em que:

Concentração média experimental = obtida pela equação de linearidade;

Concentração teórica = concentração conhecida e selecionada para a recuperação ($4 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Conforme a Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas, os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (GARP, 1999).

4.7 Determinação de fipronil em mel

Uma solução estoque foi preparada pesando-se 8,0 mg de fipronil (pureza 99,9% grau HPLC, Sigma-Aldrich) em uma balança analítica (Shimadzu®), com precisão de quatro casas decimais. O sólido foi dissolvido em 10 mL de metanol, obtendo-se uma concentração de $800 \mu\text{g mL}^{-1}$. A partir dessa solução, foi preparada a solução-mãe de $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, a partir da qual foram preparadas seis soluções, todas em metanol, com as seguintes concentrações: 0,01; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 e $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A detecção de fipronil nas amostras de mel e os parâmetros de validação foram analisados em sistema cromatográfico, utilizando um equipamento de cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons CG-ECD (Shimadzu GC-2010, Figura 8), equipado com amostrador automático (AOC 20i), com volume de injeção de $1 \mu\text{g}$, com gás de arraste hélio 5.0, gás make-up nitrogênio 5.0 e coluna capilar cromatográfica com filme de 5% de fenil e 95% de metilpolisiloxano SLB® Supelco (comprimento: 30 m, diâmetro interno: 0,25 mm e espessura do filme: $0,25 \mu\text{g}$). Os demais parâmetros cromatográficos do método estão descritos na Tabela 5.



Figura 8 GC-ECD, Shimadzu CG-2010, localizado no laboratório de análises agroambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Tabela 5 Condições cromatográficas do CG-ECD para determinação de fipronil em amostras de mel

Temperatura (°C)		260
Injetor	Modo de injeção	Splitless
	Tempo de amostragem (min)	2,0
	Razão do split	1:10
	Gás de arraste	Hélio
	Modo de controle de fluxo	Pressão
	Fluxo na coluna (m min ⁻¹)	0,92
Temperatura		100
Coluna	Programação da temperatura	100 °C por 1 min, 15 °C min ⁻¹ até 230 °C; 2 °C min ⁻¹ até 256 °C por 2 min; 20 °C min ⁻¹ até 280 °C por 10 min
	Tempo total da corrida cromatográfica	35,87
Temperatura		340
Detector	Gás de Make-up	Nitrogênio
	Fluxo do gás Make-up (ml min ⁻¹)	20
	Corrente	0.3

4.8 Parâmetros de validação cromatográfico para análise de fipronil em mel

A fim de se atestar a confiabilidade do método, alguns dos parâmetros de validação foram estudados, seguindo-se às recomendações da *in-house validation*, conforme descritas por Ribani *et al.* (2004), sendo: seletividade, linearidade, limites de detecção e de quantificação e recuperação.

A seletividade foi realizada em triplicata, comparando uma matriz com adição do analito (padrão fipronil com concentração de 4 µg mL⁻¹) e uma matriz sem a adição do analito. O resultado dessas medições foi avaliado, considerando-se os tempos característicos de retenção do pico.

A linearidade foi obtida por padronização externa e formulada com expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra de mel, a equação da reta que relaciona as duas variáveis área do pico e a concentração da substância a ser quantificada é expressa pela Equação 3 (INMETRO, 2007).

$$y = ax + b \quad (3)$$

em que:

y = resposta medida (absorbância, altura ou área do pico etc.);

x = concentração;

a = inclinação da curva de calibração = sensibilidade;

b = interseção com o eixo y, quando x = 0.

A linearidade foi avaliada através da equação da reta, considerando-se o coeficiente de correlação linear ($r^2 \geq 0,99$) como indicador do modelo matemático e, para o ajuste da curva analítica, foram preparadas soluções estoques e de trabalho, conforme a seção 4.7, em triplicatas injetadas em ordem crescente.

O limite de detecção (LD) foi determinado utilizando-se o método visual, que consiste em injetar soluções de concentração crescente, até o aparecimento de um sinal analítico visível. O limite de quantificação (LQ) foi considerado a concentração do menor ponto da curva analítica.

O ensaio de recuperação foi realizado comparando-se os resultados analíticos da solução padrão dos defensivos de menor concentração da curva analítica, submetidos ao processo de extração em fase sólida, com os resultados que foram obtidos com a mesma solução padrão não extraídas.

O ensaio de recuperação foi calculado conforme a Equação 4 (ANVISA, 2017).

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (4)$$

em que:

Concentração média experimental = é obtida por meio da equação de linearidade;

Concentração teórica = concentração conhecida e selecionada para a recuperação (4 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Conforme a Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas, os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos, geralmente, estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, esse valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (GARP, 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de imidacloprido em mel

Os parâmetros de validação estudados foram satisfatórios. A seletividade do método foi avaliada, comparando-se a matriz isenta de substância (Figura 9) e a matriz adicionada com o padrão imidacloprido (Figura 10). Na Figura 9 é apresentado o cromatograma com pico de metanol (solvente utilizado para diluição do imidacloprido) e o pico da fase móvel água-acetonitrila (70:30 v/v) entre 2 e 3 min. Na Figura 9 é apresentado o cromatograma referente ao pico de imidacloprido no tempo de retenção de 4,79 min.

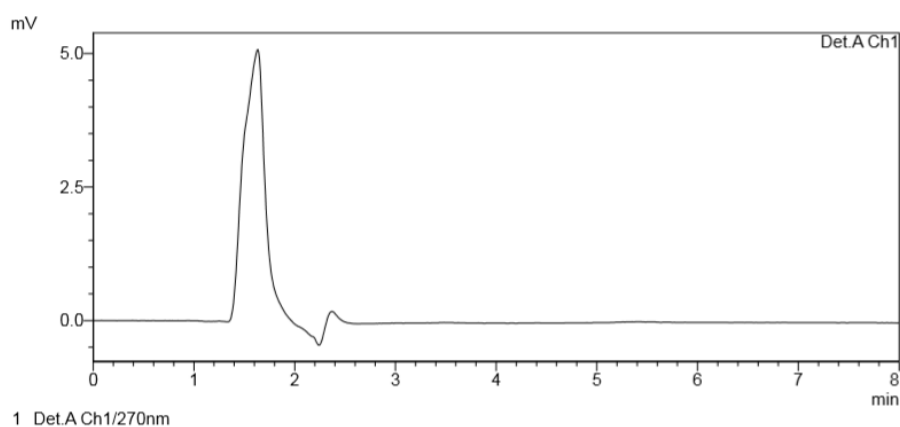


Figura 9 Cromatograma correspondente ao solvente metanol utilizado para a diluição do imidacloprido.

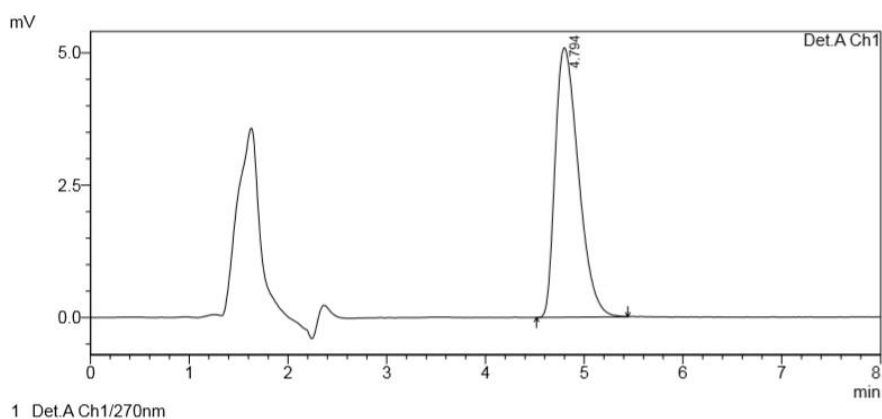


Figura 10 Cromatograma correspondente ao tempo de retenção do pico do imidacloprido.

Analisando-se as figuras observa-se que o método mediu exatamente o composto em estudo e não houve interferência de outros componentes, pois na Figura 9 não há sinal do composto imidacloprido, garantido desta forma, que o pico de resposta é exclusivamente do composto de interesse. Para avaliar a seletividade, Valverde *et al.* (2018) utilizaram em sistema cromatográfico amostras de mel em branco de três origens diferentes e os resultados foram comparados com os obtidos em amostras de mel adicionadas com padrão. Não foi observada interferência cromatográfica nos tempos de retenção dos analitos em nenhuma das amostras em branco analisadas. Jovanov *et al.* (2015), para encontrar a seletividade do método, investigaram a possibilidade de compostos interferentes pela análise de amostras combinadas com a matriz, preparadas usando-se uma amostra em branco para garantir que não houvesse interferência nos respectivos tempos de retenção de neonicotinóides e obtiveram picos nos tempos de retenção de todos os neonicotinóides investigados, sem picos interferentes observados nos respectivos tempos de retenção na amostra de mel em branco.

A linearidade foi determinada com seis concentrações diferentes, sendo: 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 e 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em que se obteve a curva analítica do imidacloprido que expressa a equação da reta apresentada na Figura 11. A curva analítica para o composto em estudo apresentou boa linearidade com correlação de 0,998, estando de acordo com o recomendado pela ANVISA (2017), que define um coeficiente de correlação (R^2) acima de 0,99.

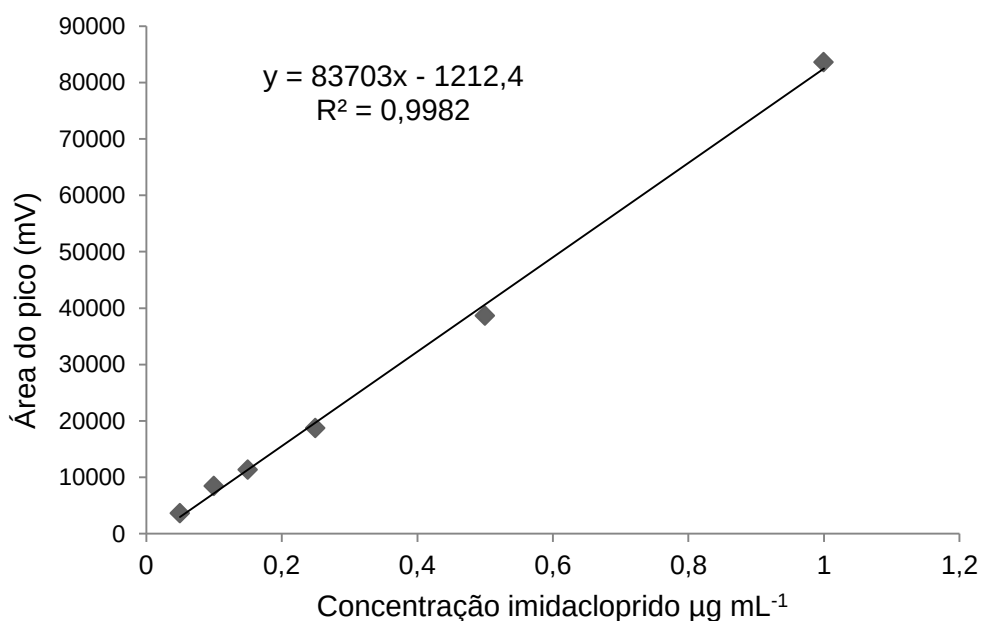


Figura 11 Curva analítica do imidacloprido realizada no HPLC.

Diversos autores, em estudos cromatográficos, também alcançaram $R^2 = 0,99$. Destacam-se os trabalhos de: Valverde *et al.* (2018) no desenvolvimento e validação de métodos baseados em cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massa em tandem para a determinação de inseticidas neonicotinóides no mel; Pareja *et al.* (2011) que analisaram favos de mel em colmeias despovoadas no Uruguai; Jovanov *et al.* (2015) pela análise de mel de diferentes origens florais em 7 regiões da Província Autônoma de Voivodina, República da Sérvia; Silva e Faria (2020) que desenvolveram um método analítico de alta detectabilidade para a determinação de resíduos de defensivos em méis produzidos na região do Triângulo Mineiro, MG, Brasil, empregando o método QuEChERS e a técnica UHPLC-MS/MS; Irungu, Raina e Torto (2016) que utilizaram espectrometria de massa em cromatografia líquida em tandem (LC-MS / MS).

O limite de detecção (LD) encontrado para imidacloprido foi $0,004 \mu\text{g ml}^{-1}$. Para se chegar a esse valor, utilizou-se o primeiro ponto da curva que tem a concentração de 0,05 ppm do padrão imidacloprido; valores foram estimados para detectar o composto no HPLC, inicialmente injetou-se a concentração de $0,001 \mu\text{g g}^{-1}$ (preparada a partir do primeiro ponto da curva) e, em ordem crescente, demais valores foram sendo testados até o aparecimento de um sinal analítico visível. Na concentração de $0,004 \mu\text{g g}^{-1}$ visualizou-se um pico, concluindo-se que esse era o valor para LD. Valores semelhantes foram encontrados por Silva e Faria (2020) $0,004 \mu\text{g g}^{-1}$ e Pareja *et al.* (2011) $0,005 \mu\text{g g}^{-1}$. Resultados superiores foram alcançados por Costa (2014) que, ao desenvolver um método para determinação de fipronil e imidacloprido em mel, encontrou $0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ e Silva Junior, Neves e Nascimento (2019), em determinação de resíduos de agrotóxicos em mel e análise em amostras coletadas em Jaguaquara, Bahia, Brasil, estudaram 207 compostos de defensivos e encontraram $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$. Valores inferiores foram observados por Kasiotis *et al.* (2014) em que analisaram amostras de abelhas, pólen de abelha e mel de diferentes áreas da Grécia quanto à presença de resíduos de defensivos, utilizando detectores de espectrometria de massa e encontram nas amostras de mel $0,0004 \mu\text{g g}^{-1}$; Jovanov *et al.* (2015) utilizaram dois métodos: DLLME e QuEChERS, encontrando $0,0015 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,002 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

O limite de quantificação (LQ) foi considerado $0,05 \mu\text{g ml}^{-1}$, ou seja, o menor ponto da curva. Resultado semelhante ao deste estudo foi observado por Costa (2014) $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$. Valores inferiores foram encontrados por outros autores, como: Jovanov *et al.* (2015) que utilizaram dois métodos: DLLME e QuEChERS e encontraram $0,005 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,005 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Pareja *et al.* (2011) que encontraram $0,0015 \mu\text{g g}^{-1}$ e Kasiotis *et al.* (2014) $0,0015 \mu\text{g g}^{-1}$.

A taxa de recuperação alcançada foi 92,28%, percentual ideal de acordo com os intervalos aceitáveis para análise de resíduos, os quais devem estar entre 70 e 120%, com

precisão de até $\pm 20\%$ (GARP, 1999). Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados por Jovanov *et al.* (2015), que determinaram a recuperação utilizando amostras de mel em branco enriquecidas em três níveis de concentração e alcançaram uma média de 92,17% para o método DLLME e 83,53% para o método QuEChERS. Resultados diferentes foram encontrados por diversos autores: Irungu, Raina e Torto (2016), utilizando espectrometria de massa em cromatografia líquida em tandem (LC-MS / MS), avaliaram vários métodos de limpeza para determinação eficiente de 96 defensivos agrícolas no mel. O método de limpeza selecionado foi otimizado e validado e, em seguida, aplicado para realizar um estudo preliminar de amostras comerciais de mel da África; a média de recuperação para imidacloprido nos métodos selecionados foi 80,65%; Pareja *et al.* (2011) testaram favos de mel quanto ao teor de defensivos e os livres de defensivos foram empregados para os testes de recuperação; alcançaram uma taxa de 98%; Jones e Turnbull (2016) avaliaram a presença de imidacloprido em amostras de mel coletadas na Inglaterra. Os valores percentuais de recuperação das amostras de controle fortificadas analisadas simultaneamente foram de 97 e 100%; Silva e Faria (2020) avaliaram o efeito do adsorvente na etapa de *clean-up* dispersivo do método QuEChERS para a recuperação dos resíduos de defensivos nas amostras de mel empregando, PSA: recuperação 70%, Sílica Adsorventes: recuperação 90% e C18 + MgSO₄: recuperação 100%. As variações dos limites encontrados se devem, provavelmente, às técnicas analíticas utilizadas, principalmente as referentes à sensibilidade dos equipamentos.

5.2 Concentração de imidacloprido em mel

Das oito amostras avaliadas três estavam contaminadas com imidacloprido, sendo 50% das amostras de mel orgânico e 25% das amostras de mel convencional, representando 37,5% do total avaliado. Todas acima dos LMR definidos pela FAO e UE (Figura 12). A presença de imidacloprido acima dos LMR nas três amostras pode indicar o uso inadequado desse inseticida em culturas que são fonte de pólen e néctar para as abelhas, já que, as amostras contaminadas foram produzidas em cidades nas quais a prática agrícola representa uma das principais atividades econômicas.

A amostra 1 de mel orgânico produzida em São Bento do Sul (Santa Catarina) apresentou concentração de 4,55 $\mu\text{g g}^{-1}$ de imidacloprido, o que excede em noventa e uma vezes o LMR de 0,05 $\mu\text{g g}^{-1}$ definido pela FAO e EU. Nessa cidade, as culturas predominantes são o milho (em que o imidacloprido é utilizado no tratamento de sementes e

solo), soja (em que o imidacloprido é utilizado no tratamento foliar e de sementes) e banana (em que o imidacloprido é utilizado no tratamento foliar).

A amostra 4, também de mel orgânico produzida em União da Vitória (Paraná), apresentou concentração de $0,45 \mu\text{g g}^{-1}$ de imidacloprido, o que excede em nove vezes o LMR definido pela FAO e UE. Nessa cidade, as culturas predominantes também são a soja, milho e uva (em que o imidacloprido é utilizado no tratamento de tronco e foliar). De acordo com Costa (2014), a contaminação de mel orgânico por defensivos pode ocorrer por as abelhas serem criadas de forma pouco restritiva, podendo atingir áreas muito mais abrangentes que o esperado durante suas sucessivas viagens diárias. Dessa forma, embora o apicultor não utilize nenhum tipo de defensivo diretamente no tratamento da colmeia, as abelhas podem ser contaminadas em plantações tratadas com esses produtos.

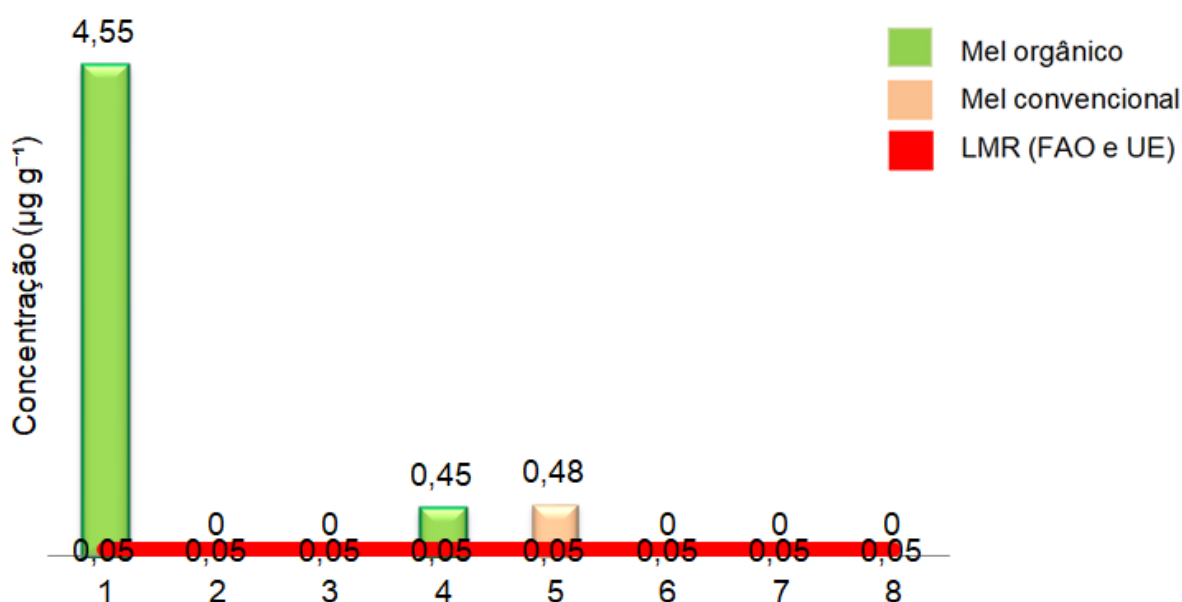


Figura 12 Concentração de imidacloprido nas amostras de mel orgânico e convencional, comparadas ao LMR definido pela FAO e EU.

Até o momento, existem poucos estudos sobre a concentração de defensivos agrícolas em mel orgânico. Sendo assim, existem poucos dados disponíveis, o que torna difícil a comparação dos resultados alcançados nesta pesquisa com outros. Mogren e Lundgren (2016) analisaram fazendas de milho orgânico e fazendas que utilizaram sementes de milho tratadas com o defensivo clotianidina da classe neonicotinóide. Avaliaram resíduos de clotianidina nas folhas de milho, néctar, mel e pólen em ambas as fazendas. O tecido foliar e o mel tinham concentrações similares entre as fazendas orgânicas e as com sementes tratadas, já o pólen coletado nas fazendas orgânicas tinha significativamente menos clotianidina que o das fazendas com sementes tratadas; Chiesa *et al.* (2016) analisaram 59 amostras de mel orgânico produzidas em diferentes áreas

geográficas italianas a fim de triar e relacionar a presença de resíduos de defensivos à sua potencial fonte de contaminação, confirmando também o mel orgânico como um indicador adequado de poluição ambiental. Analisaram a ocorrência de diferentes classes de contaminantes: organoclorados, organofosforados, policlorobifenilos e éteres polibromodifenílicos. A maioria das amostras de mel continha pelo menos um defensivo, mesmo que suas concentrações fossem inferiores ao LMR. Diazinon, Mevinpos, Coumafos, Clorpirifos e Quinoxifen foram os resíduos frequentemente detectados em concentrações que variaram entre $0,00009 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,39 \mu\text{g g}^{-1}$.

A amostra 5 de mel convencional produzida em Xaxim (Santa Catarina) apresentou concentração de $0,48 \mu\text{g g}^{-1}$ de imidacloprido, valor que excede em quase dez vezes o LMR definido pela FAO e UE. Nessa cidade, as culturas predominantes são: soja, milho e trigo (em que o imidacloprido é utilizado no tratamento de sementes e foliar). As concentrações de imidacloprido encontradas neste estudo foram maiores do que as relatadas por outros autores.

Codlinga *et al.* (2016) analisaram os sete neonicotinóides em amostras de mel e encontraram imidacloprido na concentração média de $0,002 \mu\text{g g}^{-1}$, em 30% das amostras. As principais fontes de néctar e pólen disponíveis para as abelhas relatadas pelos autores eram: canola, alfafa, dentes-de-leão e os salgueiros, assumindo campo de forrageamento de 10 km das colmeias estudadas; Pareja *et al.* (2011) coletaram amostras em oito apiários e encontraram imidacloprido em três amostras nas concentrações de 0,024; 0,044 e $0,045 \mu\text{g g}^{-1}$. Os apiários amostrados estavam próximos às plantações de soja, girassol e *Lotus sp*, que são as atividades agrícolas mais importantes durante o verão na região desse estudo. Silva e Faria (2020) avaliaram sete amostras de mel da região do Triângulo Mineiro e encontraram contaminação por imidacloprido em todas as amostras, quatro abaixo do limite de quantificação e as demais com concentrações de 0,0045; 0,014 e $0,0046 \mu\text{g g}^{-1}$. O imidacloprido é comumente empregado nas culturas de milho e soja que estão espalhadas por toda região do Triângulo Mineiro.

Mitchell *et al.* (2017) realizaram um levantamento global da contaminação de cinco neonicotinóides (acetamipride, clotianidina, imidacloprido, tiaclopride e tiametoxam) em 198 amostras de mel de todos os continentes (exceto a Antártica). Trinta por cento de todas as amostras continham um único neonicotinóide, 45% continham entre dois e cinco e 10% continham quatro ou cinco. A frequência de ocorrência foi maior para o imidacloprido (51% das amostras) e menor para a clotianidina (16%). A concentração total dos cinco neonicotinóides medidos foi, em média, $0,0018 \mu\text{g g}^{-1}$ em amostras positivas (isto é, contaminadas) e atingiu um máximo de $0,056 \mu\text{g g}^{-1}$ em todas as amostras positivas.

5.3 Determinação de fipronil em mel

Os parâmetros de validação estudados foram satisfatórios. A seletividade do método foi avaliada comparando-se a matriz isenta de substância (Figura 13) e a matriz adicionada com o padrão fipronil (Figura 14). Na Figura 11 é apresentado o cromatograma com pico de metanol (solvente utilizado para diluição do fipronil entre 1 e 3 min). Na Figura 14 é apresentado o cromatograma referente ao pico de fipronil no tempo de retenção de 14,88 min. Analisando-se as figuras, observa-se que o método mediu exatamente o composto em estudo e não houve interferências de outros componentes, pois na Figura 13 não há sinal do composto fipronil, garantido dessa forma que o pico de resposta é exclusivamente do composto de interesse. Ohba *et al.* (2018) verificaram a seletividade analisando amostras de mel em branco e amostras com padrão adicionado e não observaram picos interferentes no mesmo tempo de retenção nos cromatogramas de analito alvo.

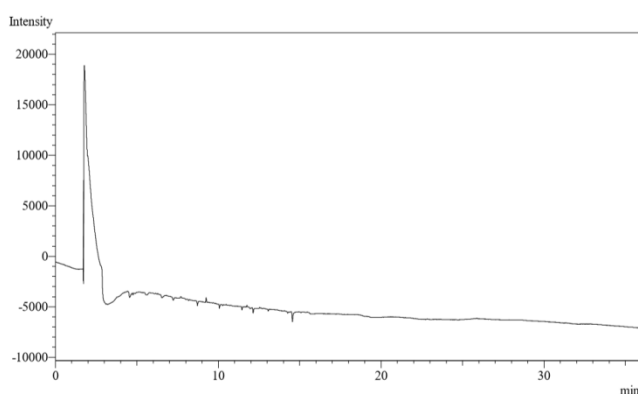


Figura 13 Cromatograma correspondente ao solvente metanol utilizado para a diluição do fipronil.

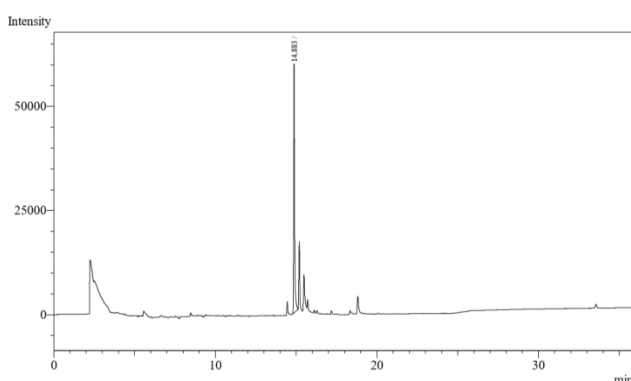


Figura 14 Cromatograma correspondente ao tempo de retenção do pico de fipronil.

A linearidade foi determinada com seis concentrações diferentes, sendo: 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 e 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em que se obteve a curva analítica do fipronil que expressa a equação da reta apresentada na Figura 15. A curva analítica para o composto em estudo apresentou boa linearidade com correlação de 0,99, estando de acordo com o recomendado pela ANVISA (2017), que define um coeficiente de correlação (R^2) maior que 0,99. Diversos autores em estudos cromatográficos também alcançaram $R^2 = 0,99$. Destacam-se os trabalhos de: Zheng *et al.* (2018), ao desenvolverem e validarem um método utilizando QuEChERS modificado associado a LC-MS / MS para determinação simultânea de cimiazol, fipronil, coumafos, fluvalinato, amitraz e seus metabólitos em vários tipos de mel e geleia real; Kasiotis *et al.* (2014) que utilizaram detectores de espectrometria de massa; e Irungu, Raina e Torto (2016) utilizando espectrometria de massa em cromatografia líquida em tandem (LC-MS / MS).

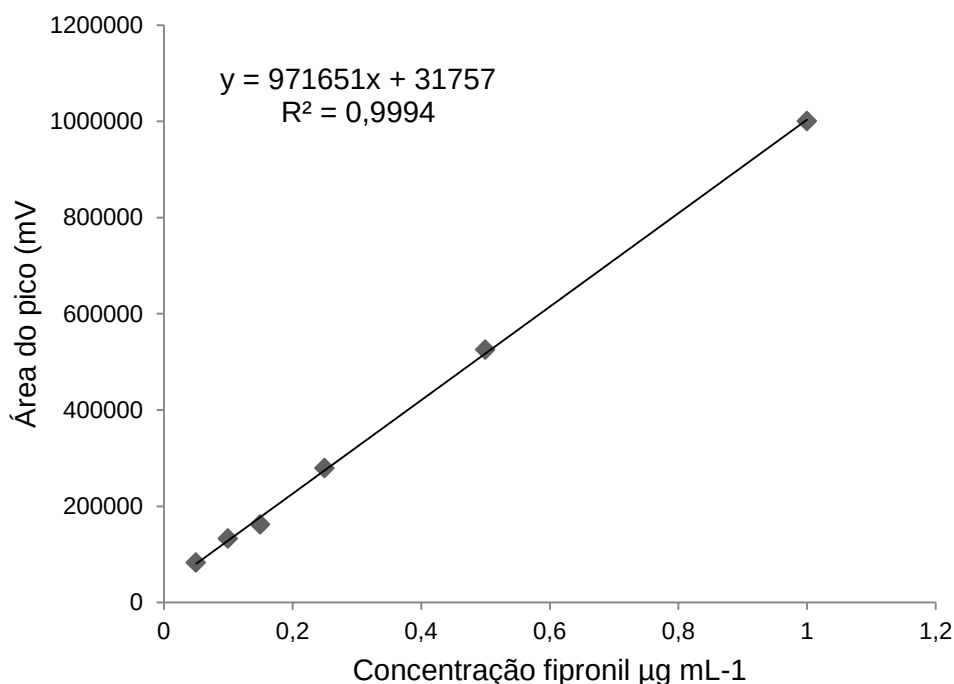


Figura 15 Curva analítica do fipronil realizada no CG-ECD.

O limite de detecção (LD) encontrado para fipronil foi 0,003 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para encontrar esse valor iniciou-se utilizando o primeiro ponto da curva que tem a concentração de 0,05 ppm do padrão fipronil; valores crescentes foram estimados para detectar o composto no CG-ECD, iniciou-se injetando a concentração de 0,001 ppm (preparada a partir do primeiro ponto da curva: 0,05 ppm) e, em ordem crescente, demais valores foram sendo testados até o aparecimento de um sinal analítico visível; na concentração de 0,003 $\mu\text{g g}^{-1}$ visualizou-se um pico, concluindo-se que esse era o valor para LD. Resultado semelhante

ao deste estudo foi observado por Notardonato *et al.* (2014), que determinaram traços de cinco acaricidas (tau-fuvalinato, fipronil, bromopropilato, amitraz e coumafós) utilizando adsorvente XAD-2 e cromatografia gasosa acoplado com um espectrômetro de massa *ion trap detector* e encontraram $0,004 \mu\text{g g}^{-1}$. Resultados superiores foram observados por Costa (2014) que, ao desenvolver um método para determinação de fipronil e imidacloprido em mel, encontrou $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$; Silva Junior, Neves e Nascimento (2019), em determinação de resíduos de agrotóxicos em mel e análise palinológica, avaliaram 207 compostos e encontraram $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$; Pareja *et al.* (2011) ao analisarem amostras de mel em colmeias despovoadas no Uruguai encontraram $0,008 \mu\text{g g}^{-1}$. Resultados inferiores foram observados por Kasiotis *et al.* (2014) que analisaram amostras de abelhas, pólen de abelhas e mel de diferentes áreas da Grécia quanto à presença de resíduos de defensivos, utilizando detectores de espectrometria de massa e encontram nas amostras de mel $0,0013 \mu\text{g g}^{-1}$ e Zheng *et al.* (2018), que encontraram $0,0000004 \mu\text{g g}^{-1}$.

O limite de quantificação (LQ) considerado para fipronil foi $0,05 \mu\text{g g}^{-1}$, ou seja, o menor ponto da curva. Resultado semelhante ao deste estudo foi alcançado por Costa (2014) $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$. Valores inferiores foram observados por outros autores: Notardonato *et al.* (2014) encontraram $0,008 \mu\text{g g}^{-1}$; Kasiotis *et al.* (2014) encontram $0,0044 \mu\text{g g}^{-1}$; Pareja *et al.* (2011) encontraram $0,0025 \mu\text{g g}^{-1}$ e Zheng *et al.* (2018), que encontraram $0,000001 \mu\text{g g}^{-1}$.

A taxa de recuperação alcançada foi 118,32%, percentual ideal de acordo com os intervalos aceitáveis para análise de resíduos, os quais devem estar entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$ (GARP, 1999). Resultados inferiores foram alcançados por diversos autores: Irungu, Raina e Torto (2016) avaliaram vários métodos de limpeza para determinação eficiente de 96 defensivos agrícolas no mel, o método de limpeza selecionado foi otimizado e validado e, em seguida, aplicado para realizar um estudo preliminar de amostras comerciais de mel da África, obtendo uma média de 109,67%; Rafique *et al.* (2018) utilizaram amostras de mel de diversas origens florais e de diferentes regiões do Paquistão. Para encontrar a recuperação as amostras de mel foram aumentadas em três níveis diferentes de fortificação, sendo: baixa, média e alta, que alcançaram 90%; 114,4% e 81% respectivamente; Pareja *et al.* (2011) encontraram 88,4%; Zheng *et al.* (2018) testaram a recuperação em três níveis de pico (0,005, 0,01 e 0,02 mg / kg) e os resultados ficaram entre 75,19% e 92,85%; Kasiotis *et al.* (2014) analisaram a recuperação em três concentrações diferentes: 4 ng/g recuperação 95%, 50 ng/g recuperação 97% e 700 ng/g recuperação 94% e Notardonato *et al.* (2014), que encontraram recuperação 95,8%. As variações dos limites encontrados se devem provavelmente às técnicas analíticas utilizadas, principalmente as referentes à sensibilidade dos equipamentos.

5.4 Concentração de fipronil em mel

Das oito amostras avaliadas, sete estavam contaminadas com fipronil, sendo 75% das amostras de mel orgânico e 100% das amostras de mel convencional, representando 87,5% das amostras avaliadas. Todas acima dos LMR definidos pela FAO e UE (Figura 16). Observou-se que, em todos os locais de produção das amostras, a prática agrícola representa uma das principais atividades econômicas. A presença de fipronil acima dos LMR admitidos pode indicar o uso inadequado desse inseticida nessas regiões, o que levou à contaminação das culturas que são fonte de néctar e pólen para as abelhas.

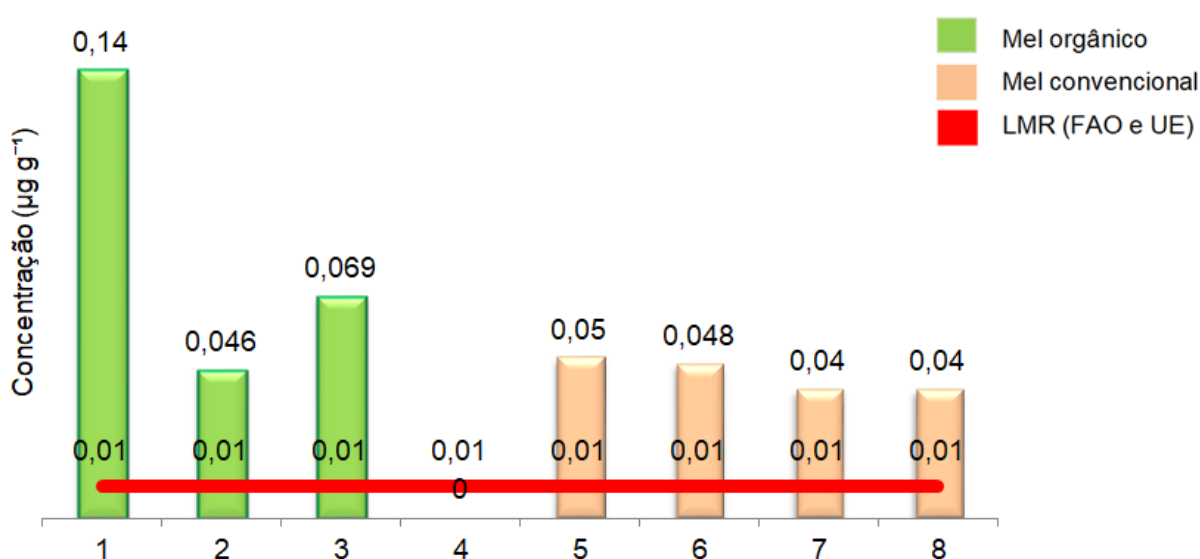


Figura 16 Concentração de fipronil nas amostras de mel orgânico e convencional comparadas ao LMR definido pela FAO e EU.

A amostra 1 de mel orgânico produzida em São Bento do Sul (Santa Catarina) foi a que apresentou maior concentração dos dois defensivos analisados neste estudo, com $4,55 \mu\text{g g}^{-1}$ de imidacloprido e $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$ de fipronil, o que excede em quatorze vezes o LMR de $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ definido pela FAO e EU. Nessa cidade as culturas predominantes são o milho (em que o fipronil é utilizado no tratamento de sementes e solo) e a soja (em que o fipronil é utilizado no tratamento de sementes e foliar). Na cultura da banana o fipronil não tem recomendação de uso. A amostra 2 produzida em Ipeúna (São Paulo) apresentou concentração de $0,046 \mu\text{g g}^{-1}$, estando quase cinco vezes acima do LMR. Nessa cidade a cultura predominante é a cana de açúcar em que o fipronil é utilizado no tratamento foliar. A amostra 3 produzida em Prudentópolis (Paraná) apresentou concentração de $0,069 \mu\text{g g}^{-1}$ estando quase sete vezes acima do LMR. Nessa cidade predominam as culturas de soja e milho. Das amostras de mel orgânico avaliadas somente na amostra 4 não foi detectado

fipronil, porém, foi detectado imidacloprido (Figura 12), ou seja, todas as amostras avaliadas neste estudo estavam contaminadas por, no mínimo, um dos defensivos avaliados.

Conforme relatado, existem poucos estudos sobre a concentração de defensivos em mel orgânico, o que torna difícil a comparação dos resultados. Costa (2014) analisou resíduos de fipronil em 9 amostras comerciais de mel orgânico e encontrou contaminação em três, com média de $0,103 \mu\text{g g}^{-1}$; concentração maior que a encontrada neste estudo que teve média de $0,0836 \mu\text{g g}^{-1}$. Chiesa *et al.* (2017) testaram dois métodos de preparação com extração acelerada por solvente, sendo o melhor, posteriormente, utilizado para a detecção de defensivos em méis orgânicos por GC-MS / MS. Avaliaram 53 defensivos em 45 amostras de mel orgânico de duas regiões italianas, Calábria (cultura predominante citrus) e Trentino- Alto Adige (cultura predominante maçã), entre os defensivos investigados, foram encontrados boscalid, diazinon e clorpirifos. Diazinon e boscalid foram encontrados em todas as amostras de Trentino- Alto Adige com concentração média de $0,00114 \mu\text{g g}^{-1}$.

A amostra 5 de mel convencional, produzida em Xaxim (Santa Catarina), apresentou contaminação cinco vezes acima dos LMR definidos pela FAO e UE, com concentração de 0,05; no local de produção dessa amostra predominam as culturas de soja, milho e trigo, nas quais o fipronil é usado no tratamento de sementes. A amostra 6 de mel convencional, produzida em Rolândia (Paraná), também apresentou contaminação quase cinco vezes acima dos LMR definidos pela FAO e UE, com concentração de 0,048. Nessa cidade as culturas predominantes são: soja, cana-de-açúcar e milho. A amostra 7, produzida em Maringá (Paraná), apresentou concentração de $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$, quatro vezes acima do LMR. Nessa cidade, as culturas predominantes são: soja, cana-de-açúcar e milho. Por fim, a amostra 8, produzida em Marechal Candido Rondon (Paraná), apresentou contaminação de $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$, quatro vezes acima do LMR; Nesse cidade predominam as culturas de soja e milho.

Resultados semelhantes ao deste estudo foram observados por Notardonato *et al.* (2014), em avaliação de quatro amostras comerciais disponíveis no mercado italiano, sendo: duas de mel, uma de melaço e uma de geleia real. Encontraram fipronil em uma das amostras de mel com concentração de $0,055 \mu\text{g g}^{-1}$; Pareja *et al.* (2011), que encontraram resíduos de fipronil no mel de colmeias abandonadas provenientes de áreas com plantações de soja onde esse inseticida foi pulverizado. Das trinta e uma amostras avaliadas, duas estavam contaminadas com fipronil com concentrações de 0,01 e $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$. Concentrações superiores foram encontradas por Costa (2014), em avaliação de 19 amostras comerciais de mel convencional, encontrando contaminação em oito amostras com uma média de $0,096 \mu\text{g g}^{-1}$. Resultado inferior foi observado por Zheng *et al.* (2018), que avaliaram 43 amostras de mel e fipronil foi detectado, mas não quantificado em 37 amostras.

Foi realizado o Teste *t Student* para comparar a média da concentração de fipronil entre as amostras orgânicas e convencionais, os resultados apontaram p-valor= 0,54. Dessa forma, considera-se que não houve diferença estatística significativa entre as amostras de mel orgânico e convencional.

5.5 Comparação entre os resultados encontrados para imidacloprido e fipronil

Nas amostras de mel orgânico imidacloprido foi detectado com concentração média de $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$, o que excede em 50 vezes o LMR, enquanto o fipronil apresentou concentração média de $0,085 \mu\text{g g}^{-1}$, estando 8,5 vezes o LMR. Nas amostras de mel convencional imidacloprido apresentou concentração média de $0,48 \mu\text{g g}^{-1}$, o que excede em 9,6 vezes o LMR, enquanto fipronil apresentou concentração média de $0,045 \mu\text{g g}^{-1}$, estando 4,5 vezes o LMR (Tabela 6). O LMR é a quantidade máxima de resíduo de defensivo ou afim, oficialmente, aceita no alimento. Sendo assim, resíduos eventualmente detectados devem ser inferiores aos do LMR.

As amostras de mel orgânico apresentaram contaminação maior que o mel convencional para os dois defensivos avaliados. Resultado diferente do esperado, já que o uso de defensivos é permitido na agricultura convencional e não na orgânica. De acordo com a Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014, o uso de imidacloprido e fipronil não é regulamentado para a agricultura orgânica no Brasil (BRASIL, 2014). No entanto, devido à contaminação ambiental, as práticas de agricultura orgânica nem sempre podem garantir a ausência total de resíduos.

Tabela 6 Comparação entre imidacloprido e fipronil, em relação a parâmetros avaliados e características específicas

Informações avaliadas	Imidacloprido	Fipronil
Concentração média no mel orgânico	$2,5 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,085 \mu\text{g g}^{-1}$
Concentração média no mel convencional	$0,48 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,045 \mu\text{g g}^{-1}$
Média de uso no Paraná entre 2013 e 2019	2227,88 t	427,89 t
LMR definido pela FAO e UE	$0,05 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,01 \mu\text{g g}^{-1}$
Dose letal oral para as abelhas	$0,013 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,001 \mu\text{g g}^{-1}$
Dose letal por contato para as abelhas	$0,061 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,007 \mu\text{g g}^{-1}$
Classificação toxicológica	Moderadamente tóxico	Altamente tóxico

Cabe ressaltar que a amostra 1 de mel orgânico apresentou maior contaminação de ambos os defensivos avaliados. Essa amostra possui em sua embalagem o selo Produto Orgânico Brasil – Sistema Participativo e as demais possuem o selo Produto Orgânico Brasil

– Certificação por auditoria. Como todas as amostras apresentaram contaminação acima dos LMR admitidos, conclui-se que ambas as modalidades de certificação, nesse caso, não foram eficientes. Sendo assim, considera-se que esses produtos não deveriam conter o selo Produto Orgânico Brasil, pois o termo “orgânico” indica que o alimento é produzido de acordo com normas específicas que vetam o uso de defensivos. Essa informação contida no rótulo leva aos consumidores a garantia de adquirirem produtos de boa qualidade e livre de defensivos, pagando mais caro por eles, pois a ausência de defensivos é o principal atributo destes alimentos. Por esse motivo, recomenda-se ao consumidores optarem por alimentos rotulados com a identificação do produtor o que contribui para o comprometimento em relação à qualidade de seus produtos.

Embora em concentrações menores, o fipronil foi detectado em sete das oito amostras, enquanto imidacloprido foi detectado em três das oito amostras (Tabela 6). Um levantamento feito pela ADAPAR (2020), quanto ao uso de imidacloprido e fipronil no Paraná entre os anos de 2013 e 2019, mostra que o estado utilizou em média 94.867,86 (Tabela 2) toneladas de defensivos agrícolas por ano. Desse total, 2,35% corresponde ao uso de imidacloprido e 0,45% de fipronil. Conforme Tabela 6, observa-se que fipronil é mais tóxico e letal, porém é usado em menor quantidade no estado do Paraná.

Na bula de um dos fabricantes de imidacloprido e fipronil lê-se a advertência: “este produto é altamente tóxico para abelhas, podendo atingir outros insetos benéficos. Não aplique o produto no período de maior visitação das abelhas” (NORTOX, 2019). Dessa forma, destaca-se a necessidade de cuidados relacionados à época de aplicação. Isso porque, assim como o uso de defensivos, os polinizadores também são essenciais para a produção agrícola, por isso, cuidados como ler atentamente a bula e receituários agrônômicos devem ser observados pelos agricultores. Vale ressaltar, que este estudo avaliou dois defensivos e ambos foram detectados, porém muitos outros são aplicados, diante disso, as abelhas e seus produtos estão potencialmente expostos diariamente a diferentes tipos de defensivos.

Por fim, salienta-se a importância do uso de defensivos para a produção agrícola como forma de controlar o ataque de pragas, melhorar quantidade e qualidade dos produtos, porém, o uso inadequado pode diminuir a população de polinizadores que, além de essenciais para reprodução das plantas, também auxiliam no aumento da quantidade e qualidade dos produtos. Os efeitos não pretendidos dos defensivos podem reduzir essa contribuição, pois o declínio dos polinizadores ameaça a produção global de alimentos e, consequentemente, a segurança alimentar da população.

6 CONCLUSÃO

Todas as amostras avaliadas apresentaram concentrações dos defensivos analisados acima do LMR admitido, por isso, entende-se que estão sendo usados de forma inadequada, o que tem contaminado as fontes de néctar e pólen das abelhas. Diante disso, sugere-se às autoridades que realizem um trabalho de conscientização aos agricultores alertando sobre o desaparecimento das abelhas em todo mundo e a importância que as mesmas representam para a agricultura, ressaltando que se deve ter bom senso durante a aplicação de defensivos, respeitando a dose recomendada e o receituário agrônomo, pois, sem os serviços de polinização não seria possível atender à demanda populacional por alimentos.

Os defensivos agrícolas imidacloprido e fipronil também foram detectados nas amostras de mel orgânico, por esse motivo conclui-se que alguma das etapas do processo tanto de produção como de certificação, nestes casos, falharam. Dessa forma, entende-se que fiscalizações mais rigorosas devam existir para liberação destes produtos para venda como tal, já que os consumidores pagam mais caro por acreditarem que os mesmos são produzidos sem a utilização ou contaminação por defensivos agrícolas. Diante disso, propõe-se que as barreiras fitossanitárias sejam maiores e que mais pesquisas voltadas para análise de alimentos orgânicos sejam implementadas, a fim de garantir mais segurança aos consumidores que optam por consumir esses produtos.

Por fim, sugere-se maiores fiscalizações dos órgãos municipal, estadual e federal, a fim de notificar os crimes contra a fauna previstos em lei.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ – ADAPAR. **Imidacloprid Nortox, Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA sob nº 11012.** Arapongas – PR, 29 de junho de 2020. Disponível em: www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/imidacloprid_nortox.pdf. Acesso em: 12 jun. 2020.

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ – ADAPAR. **Relatório com o resultado das informações recebidas através do Sistema de Controle do Comércio e Uso de Agrotóxicos no Estado do Paraná – SIAGRO, pelo qual as empresas comerciantes declaram as vendas destes insumos para os produtores paranaenses.** Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GSV/Siagro/dados_siagro_19.xls. Acesso em: 12 set. 2020.

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ – ADAPAR. **Mau uso de agrotóxicos dizima abelhas de 40 caixas em Turvo.** Agência Estadual de Notícias, 30 de novembro de 2020. Disponível em: <http://www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=109879&tit=Agrotoxico-dizima-abelhas-de-40-caixas-em-Turvo>. Acesso em: 1 mar. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RE Nº 165, de 29 de agosto de 2003. **Diário Oficial da União.** Brasília – DF, 2 de setembro de 2003. Publica o "Índice das monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira". Disponível em: https://www.normasbrasil.com.br/norma/resolucao-165-2003_99091.html. Acesso em: 13 jun. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Índice Monográfico - Fipronil.** 18 de dezembro de 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sectorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/f/4351json-file-1/view>. Acesso em: 12 jun. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Reclassificação Toxicológica dos Agrotóxicos.** 08 de agosto de 2019. Disponível em: portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/publicadareclassificacao-toxicologica-dagrotoxicos. Acesso em: 21 ago. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA; Resolução RE Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União.** Brasília – DF, Edição 141, Seção 1, p. 87, 25 de julho de 2017.

ANDRADE, A. B. A.; SILVA, R. A.; MARACAJÁ, P. B.; FREITAS, F. A. Importância econômica da apicultura para produtores de méis do município de Poço de José de Moura – PB; CONGRESSO INTERNACIONAL DA REALIDADE SEMIÁRIDA; SIMPÓSIO ALAGOANO SOBRE ECOSSISTEMAS DO SEMIÁRIDO. Local Delmiro Gouveia – Campus do Sertão – UFAL, 2014.

ANDRADE, C. K.; ANJOS, V. E.; FESNER, M. L.; TORRES, Y. R.; QUINÁIA, S. P. Relationship between geographical origin and contents of Pb, Cd, and Cr in honey samples

from the state of Paraná (Brazil) with chemometric approach; **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 12372-12381, 2014b.

ASCARI, R. A.; SCHEID, M.; KESSLER, M. Fumicultura e a utilização de agrotóxicos: riscos e proteção da Saúde; **Revista Contexto & Saúde**, Unijuí, v. 12, n. 23, p. 41-50, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDO DAS ABELHAS - A.B.E.L.H.A. **O que é mel orgânico?** Disponível em: <https://abelha.org.br/faq/64-o-que-e-mel-organico/>. Acesso em: 9 fev. 2021.

ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS – GARP. Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (apostila), 1999.

BAYO, F. S.; GOKA, K. Impacts of pesticides on honey bees. In: CHAMBO, Emerson Dechechi. **Beekeeping and bee conservation**. Advances in research. London UK: **Intech** (Open science/Open minds). 2016. c. 4, p. 77-97, DOI: 2016.http://dx.doi.org/10.5772/62487.

BENEVIDES, J. A. J.; MARINHO, G. M. Degradação de pesticidas por fungos – Uma revisão. **HOLOS**, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, v. 2, p. 110-129, 2015.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. 1. ed. São Paulo: FFLCH/USP, 2017.

BONMATIN, J. M.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; LONG, E.; MARZARO, M.; MITCHELL, E. A. D.; NOOME, D. A.; DELSO, N. S.; TAPPARO, A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil; **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 35-67, 2015.

BOVI, T. S.; ZALUSKI, R.; ORSI, R. O. Toxicity and motor changes in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) exposed to fipronil and imidacloprid; **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 90, p. 239-245, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional do Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal, PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL e Pescado - PCRP. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, p. 1. 22 de dezembro de 1999. Disponível em: <file:///C:/Users/ADMIN/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/7407f665-95e7-4718-9ffb-d3e190ce2c1f/instrucao-normativa-sda-n-o-42-de-20-de-dezembro.pdf>. Acesso em: 8 set. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, Seção 1, 23 de outubro de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 17, de 18 de junho de 2014. Altera diversos arts. da Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, Seção 1, 20 de junho de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46, de 6 de outubro de 2011. Estabelece o “Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal”. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, Seção 1, 7 de outubro de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Agrotóxicos na ótica do Sistema Único de Saúde**. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2018. V. 1.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 4074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, p. 1. 2002. Disponível em www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm. Acesso: 19 set. 2019.

CAIRES, S. C.; BARCELOS, D.; Colapso das abelhas: possíveis causas e consequências do seu desaparecimento na natureza. **Acta Apícola Brasileira**; v. 5, n.1, p.11-15, 2017.

CARVALHO, A.; NICODEMO, D.; LOPES, P. R. M. Nível de conhecimento de agricultores sobre a importância dos agentes polinizadores e implicações na produtividade agrícola, CONGRESSO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 8, 2015, São Paulo, **Anais...** UNESP, n/p.

CASTILHOS, D. **Desaparecimento e morte de abelhas no Brasil, registrados no aplicativo bee alert**. 2018. 163 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró – RN, 2018.

CERQUEIRA, A.; FIGUEIREDO, R. A. Percepção ambiental de apicultores: desafios do atual cenário apícola no interior de São Paulo. **Acta Brasiliensis**, v.1, p. 17-21, 2017.

CHIESA, L. M.; LABELLA, G. F.; PANSERIA, S.; BRITTI, D.; GALBIATIC, F.; VILLA, R.; ARIOLI, F. Accelerated solvent extraction by using an 'in-line' clean-up approach for multiresidue analysis of pesticides in organic honey; **Food Additives & Contaminants**, v. 34, n. 5, p. 809–818, 2017.

CHIESA, L.M.; LABELLA, G. F.; GIORGI, A.; PANSERI, S.; PAVLOVIC, R.; BONACCI, S.; ARIOLI, F. The occurrence of pesticides and persistent organic pollutants in Italian organic honeys from different productive areas in relation to potential environmental pollution; **Chemosphere**, n. 154, p. 482-490, 2016.

CODLINGA, G.; NAGGAR, Y. A.; GIESYA, J. P.; ROBERTSONH, A. J. Concentrations of neonicotinoid insecticides in honey, pollen and honey bees (*Apis mellifera* L.) in central Saskatchewan, Canada; **Chemosphere**, v. 144, p. 2321-2328, 2016.

COSTA, M.; JARMELA, P.; SANÇANA, A. P.; HALAK, A. ROCHA, H.; MATEUS, T. L. A importância da polinização na agricultura, **Agrotec**, Porto, Portugal, ed. 20, 2016.

COSTA, N. R. **Determinação de fipronil e imidacloprido em mel utilizando cromatografia gasosa e líquida**. 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília -DF, 2014.

DARKO, G.; TABI, J. A.; ADJALOO, M. K.; BORQUAYE, L. S. Pesticide Residues in Honey from the Major Honey Producing Forest Belts in Ghana; **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2017, p. 1-6, 2017.

DELISO, N. S; ROGERS, V. A.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J. M.; CHAGNON, M.; DOWNS, C.; et al. M. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends , uses ,

mode of action and metabolites; **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 5-34, 2015.

DOMINGOS, A. T. S.; NÓBREGA, M. M.; SILVA, R. A. Biologia das abelhas *Apis mellifera*: Uma revisão bibliográfica; **ACTA Apícola Brasilica**; v. 4, n.2, p. 8-12, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Criação de abelhas**: apicultura. 1. ed. Brasília – DF: Embrapa Meio-Norte, 2007. (ABC da agricultura familiar, 41).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Embrapa em números**. Brasília, DF: Secretaria Geral, Gerência de Comunicação e Informação, 2019.

FERMAM, R. K. S.; ANTUNES, A. M. S. Uso de defensivos agrícolas, limites máximos de resíduos e impacto no comércio internacional: estudo de caso; **Revista de Economia e Agronegócio**, v.7, n. 2, p. 197-214, 2009.

FERREIRA, J. V. R.; PECKLE, B. A.; SILVA, A. S.; GOMES, A. S.; SANTANA, V. M.; DIREITO, I. C. N. Pesticidas aplicados na lavoura e o risco à saúde pública: uma revisão da literatura, **Cadernos UniFOA**, v. 9, n. 24, p.87-103, 2014.

FRANCO, C. R.; PELAEZ, V. (DE) Constructing the political agenda of control over pesticides in Brazil; **Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 215-232, jul./set. 2016.

FREITAS, P. V. D.; RIBEIRO, F. M.; ALMEIDA, E. M.; ZANATA, R. A.; ALVES, J. J. L.; OLIVEIRA, V. F.; FAQUINELLO, P. Declínio populacional das abelhas polinizadoras: revisão. **Pubvet**. Medicina veterinária e zootecnia, v.11, n.1, p.1-10, 2017.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ. **Agrotóxicos e saúde**. Coleção saúde, ambiente e sustentabilidade. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2018. V. 2.

GOÑALONS, C. M.; FARINA, W. M. Impaired associative learning after chronic exposure to pesticides in young adult honey bees. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. 7, n. p., 2018.

HEWLETT, S. E.; WAREHAM, D. M.; BARRON, A. B. Honey bee (*Apis mellifera*) sociability and nestmate affiliation are dependent on the social environment experienced post-eclosion. **Journal of Experimental Biology**, v. 221, n. 3, n. p., 2018.

HOOVEN, L. A.; CHAKRABARTI, P.; HARPER, B. J.; SAGILI, R. R.; HARPER, S. L. Potential Risk to Pollinators from Nanotechnology-Based Pesticides; **Molecules**; v. 24, n. 24, n. p., 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>. Acesso em: 13 de jun. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. Câmara setorial da cadeia produtiva do mel e produto das abelhas registro de agrotóxicos e polinizadores. **Registros de agrotóxicos e polinizadores**. 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/mel-e-produtos-das-abelhas/anos-anteriores/registros-de-agrotoxicos-e-polinizadores.pdf/view>. Acesso em: 24 set. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008. Rio de Janeiro: Inmetro, 2007.

IRUNGU, J.; RAINA, S.; TORTO, B. Determination of pesticide residues in honey: a preliminary study from two of Africa's largest honey producers; **International Journal of Food Contamination**; v. 3, p. 3-14, 2016.

JACOB, C. R. O.; SOARES, H. M.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Management Science**. v. 71, p. 114–122, 2015.

JONES, A.; TURNBULL, G. Neonicotinoid concentrations in UK honey from 2013; Pest Management Science; **Society of Chemical Industry**; v. 72, p. 1897–1900, 2016.

JOVANOVIĆ, P.; GUZSVÁNY, V.; LAZIC, S.; FRANKO, M.; SAKAC, M.; SARIC, L.; KOS, J. Development of HPLC-DAD method for determination of neonicotinoids in honey; **Journal of Food Composition and Analysis**; v. 40, p. 106–113, 2015.

KARISE, R.; RAIMETS, R.; BARTKEVICS, V.; PUGAJEVA, I.; PIHLIK, P.; KERES, I.; WILLIAMS, I. H.; VINALASS, H.; MAND, M. Are pesticide residues in honey related to oilseed rape treatments? **Chemosphere**, v.188, p. 389-396, 2017.

KASIOTIS, M. K.; ANAGNOSTOPOULOS, C.; ANASTASIADOU, P.; MACHERA, K. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees; **Science of the Total Environment**, v. 485–486, p. 633–642, 2014.

LATORRE, C. R.; GARCIA, J. B.; MARTÍN, S. G.; CRECENTE, R. M. P. The use of honeybees and honey as environmental bioindicators for metals and radionuclides: a review. **Environmental**, v. 25, p. 463-480, 2017.

LEMOS, V. F.; CARVALHO, A. C. B.; ORTIZ, R. S. Perfil nacional de apreensões de agrotóxicos pela Polícia Federal. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 7, n. 1, p. 21-25, 2018.

LOPES, T. O.; PEREZ, K. J.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; LEÃES, F. L. Resíduos de agrotóxicos em mel produzido nas casas do mel da Região das Missões – RS. SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 6, Gramado – RS, 2018. **Anais...** Gramado, RS: SBCTA Regional, RS, 2018. *Online*.

LOURENÇO, M. S. M.; CABRAL, J. E. O. Apicultura e sustentabilidade: visão dos apicultores de Sobral (CE); **Revista Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá - PR, v. 9, n.1, p. 93-115, 2016.

LUNARDI, J. S.; ZALUSKI, R.; ORSI, R. O. Evaluation of motor changes and toxicity of insecticides fipronil and imidacloprid in africanized honey bees (*Hymenoptera: apidae*). **Sociobiology - An international journal on social insects**, v. 64, p. 50-56, 2017.

MALHAT, F. M.; HAGGAG, M. N.; LOUTFY, N. M.; OSMAN, M. A. M.; AHMED, M. T. Residues of organochlorine and synthetic pyrethroid pesticides in honey, an indicator of ambient environment, a pilot study; **Chemosphere**, v. 120, p. 457-461, 2015.

MASALHA, M.; LAFI, A. A.; FARICH, B. A.; RAYAN, M.; ISSA, N.; ZEIDAN, M.; RAYAN, A. A new approach for indexing honey for its health/medicinal benefits: visualization of the concept

by indexing based on antioxidant and antibacterial activities. **Medicines**, v. 5, 135, p.1-9, 2018.

MENDONÇA, A. C.; BURLE, E. C.; FIGUEIREDO, R. T. Agrotóxicos: danos à saúde humana e ambiental. Existem outros caminhos? **Ciências Biológicas e de Saúde UNIT**; v. 5, n. 3, p. 91-106, 2019.

MITCHELL, E. A. D.; MULHAUSER, B.; MULOT, M.; MUTABAZI, A.; GLAUSER, G.; AEBI, A. A worldwide survey of neonicotinoids in honey. **Science**, v. 358, p. 109-111, 2017.

MOGREN, C. L.; LUNDGREN, J. G. Neonicotinoid-contaminated pollinator strips adjacent to cropland reduce honey bee nutritional status. **Scientific Reports**. v. 6, Art. 29608; DOI: 10.1038/srep29608; 2016.

MORAES, R. F; **Agrotóxicos no Brasil**: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA, 2019.

MRAČEVIĆA, S. D.; KRSTIĆA, M.; LOLIĆB, A.; RAŽIĆ, S.; Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia; **Microchemical Journal**, v. 152, 104420, 2020.

MULLIN, A. C.; CHEN, J.; FINE, J. D.; FRAZIER, M. T.; FRAZIER, J. L.; The formulation makes the honey bee poison; **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 120, p. 27–35, 2015.

NORTOX Fipronil. Titular do registro: Nortox S/A BR 369, Km 197- Arapongas - PR – Brasil; CEP: 86700-970 Fone: (43) 3274-8585 - fax: (43) 3274-8500; C.N.P.J.: 75.263.400/0001-99; Registro na Agência de Defesa Agropecuária do Paraná nº 466. Fabricante do produto técnico: fipronil técnico nortox registro mapa nº 12111 Jiangsu Tuoqiu agrochemical CO., LTD Kaitai Road, Coastal Industrial Park, Jiangsu Binhai Economic and Development Zone, Jiangsu – China. 2019a. Bula de defensivo agrícola. Disponível em: https://www.nortox.com.br/wp-content/uploads/2017/06/BULA-Fipronil-Nortox_VER-04-20.03.2019.pdf. Acesso em: 11 mar. 2021.

NORTOX Imidacloprid. Titular do registro: Nortox S/A Rodovia BR 369, km 197 - CEP: 86700-970 - Arapongas – PR; CNPJ: 75.263.400/0001-99 Fone: (43)3274-8585 - Fax: (43) 3274.8500. Registro Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – ADAPAR/PR Nº 466. Fabricante do produto técnico: imidacloprid técnico nortox Registro MAPA nº 12311 Hebei Veyong bio-chemical CO., LTD -393 East Heping Road Shijiazhuang 050031, Hebei Province – CHINA, 2019b. Bula de defensivo agrícola. Disponível em: <https://www.nortox.com.br/wp-content/uploads/2020/02/Imidacloprid-Nortox-Bula-VER-17-19.08.19.pdf>. Acesso em 18 fev. 2021.

NOTARDONATO, I.; PASQUALE A.; CINELLIA, G.; RUSSO, M. V. Trace determination of acaricides in honey samples using XAD-2 adsorbent and gas chromatography coupled with an ion trap mass spectrometer detector. **Royal Society of Chemistry**; v. 4, p. 42424–4243, 2014.

NUNES, S. P.; HEINDRICKSON, M. A cadeia produtiva do mel no Brasil: análise a partir do sudoeste Paranaense. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 9, p. 16950-16967, 2019.

OHBA, Y.; NAKAJIMA, T.; KANDA, M.; HAYASHI, H.; MATSUSHIMA, Y.; NAKAGAWA, Y.; KOIKE, H.; NAGANO, C.; SEKIMURA, K.; OTSUKA, K.; SASAMOTO, T.; HASHIMOTO, T. Simultaneous determination of nine acaricides and two metabolites in comb honey by LC/MS/MS; LC/MS/MS. **Food additives & Contaminants**; v. 35, p. 2375–2386, 2018.

OLIVEIRA, R. C.; QUEIROZ, S. C/ N; LUZ, C. F. P.; PORTO, R. S.; RATH, S. Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. **Chemosphere**, v. 163, p. 525-534, 2016.

PALMA, P.; SCHULMEYER, M. K.; ALVARENGA, P.; IEDO, L.; BARBOSA, I. V.; ALDA, M. L.; BARCELÓ, D. Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Guadiana basin, southern of Portugal). **Science of the Total Environment**, v. 488, p. 208-2019, 2014.

PARANÁ. Secretaria do Estado da Saúde do Paraná. **Plano de vigilância e atenção da saúde de populações expostas aos agrotóxicos do estado do Paraná: 2017 a 2019**. Curitiba: SESA, 2020.

PAREJA, L.; COLAZZO, M.; PARADA, A. P.; NIELL, S.; LETELIER, C.; BESIL, N.; CESIO, M. V; HEINZEN, H. Detection of Pesticides in Active and Depopulated Beehives in Uruguay. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, p. 3844-3858, 2011.

PAULA, M. F.; SANTOS, A. J.; JUNIOR, R. T.; HOEFELICH, V. F.; SILVA, J. C. G. L.; ANGELO, H. Análise da competitividade das exportações brasileiras de mel natural, segundo o modelo constant market share e o índice de vantagem comparativa revelada. **Revista Ceres**, v. 63, n. 5, p. 614-620, 2016.

PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASOINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, É. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília - DF, v. 51, n. 5, p. 422-442, 2016.

RAFIQUE, N.; NAZIR, S.; AKRAM, S.; AHAD, K.; GOHAR, A.; ABBASI, S. T.; AHMED, I.; RAFIQUE, K. Screening of multiclass pesticide residues in honey by SPE-GC/MSD: a pilot study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, Art. 666, 2018.

RAINE, N. E.; GILL, R. J. Tasteless pesticides affect bees in the field. **Research News & Views**, v. 251, p. 38-39, 2015.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, E.; DELONZEK, E. C.; VIEIRA, A. C.; RIBEIRO, M. O.; LORSCHIEDER, C. A. Representatividade de *Apis mellifera*, Linneaus, 1758, em diferentes biomas brasileiros. CONGRESSO PARANAENSE DE AGROECOLOGIA, 1, 2014, Pinhais – PR, **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 1, 2014. ISSN 2236-7934.

RICO, G. K.; CAVICHIOLI, F. A. Análise geral do uso de agrotóxicos no Brasil. **Revista Interface Tecnológica**, v. 15, n. 2, p. 425-435, 2018.

ROSA, J. M.; ARIOLI, C. J.; SILVA, P. N.; GARCIA, F. R. M. Desaparecimento de abelhas polinizadoras nos sistemas naturais e agrícolas: Existe uma explicação? **Revista de**

Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, v. 18, p. 154-162, 2019.

SÁ, M. S.; SILVA, L. G. S.; CAVALCANTE, M. C.; OLIVEIRA, P. A. Forrageamento e comunicação em abelhas *Apis mellifera* L. na caatinga do Brasil. CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 3, 2018, Recife – PB, PDVAGRO. **Anais...** Recife – PB: Instituto Internacional Despertando Vocações, 2018.

SCHAAFSMA, A.; RIOS, V. L.; BAUTE, T.; SMITH, J.; XUE, Y.; Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in Southwestern Ontario, **Plos one**, v. 10, n. 2 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0118139.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE. **Manual de segurança e qualidade para apicultura**. 1. ed. Brasília – DF, 2009. Mel - Programa de alimentos seguros. Série qualidade e segurança dos alimentos.

SHENDY, A. H.; GHOBASHY, A. A.; MOHAMMED, M. N.; ALLA, A. G.; LOTFY, H. M. Simultaneous determination of 200 pesticide residues in honey using gas chromatography–tandem mass spectrometry in conjunction with streamlined quantification approach. **Journal of Chromatograph**, v.1427, p. 142-160, 2016.

SILVA, F. M.; COELHO, D. C.; MACHADO, A. V.; COSTA, R. O.; Detecção de Resíduos de Agrotóxicos no Mel de Abelha; **ACTA Apicola Brasileira**; v. 2, p.17-27, 2014.

SILVA, I. P.; MELO, M. M.; BLANCO, B. S.; Efeitos tóxicos dos praguicidas para abelhas, **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, p. 142-157, 2016.

SILVA, E. D. S. J; NEVES, G. A. O.; NASCIMENTO, A. S. Determinação de resíduos de agrotóxicos em mel e análise palinológica. **Educação ambiental em ação**, n. 69, 2019. Disponível em: Revistaea.org. Acesso em: 21 set. 2020.

SILVA, R. A. G.; FARIA, A. M.; Determinação de multirresíduos de agrotóxicos em méis produzidos na região do triângulo mineiro por UHPLC-MS/MS; **Química Nova**, v. 43, n. 3, p. 307-313, 2020.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL - SINDIVEG. A importância dos defensivos agrícolas. v. 1, p. 6-13, 2018.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL – SINDIVEG. O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas. 2020.

SIVITER, H.; KORICHEVA, J.; BROWN, M. J. F.; LEADBEATER, E. Quantifying the impact of pesticides on learning and memory in bees. **Journal of Applied Ecology**, v. 55, p. 2812-2821, 2018.

SOUZA, A. P.; PAIM, F.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B.; ROSA, L. D.; MIQUELLUTI, D. J. Avaliação da eficácia do fipronil em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em tratamentos consecutivos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 1, p. 55-60, 2014.

SOUZA, P. M.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C. Apitoxina: Utilização do veneno da abelha *Apis mellifera*. **Pubvet**, v.13, n. 8, p. 1-8, 2019.

SOUZA, S. J. **Estudo da influência da utilização de imidacloprido em alface (*Lactuca sativa* L.)**. 2019. 59 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão – PR, 2019.

TAVEIRA, B. L.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Análise das notificações de intoxicações agudas, por agrotóxicos, em 38 municípios do estado do Paraná. **Saúde Debate**, v. 42, n. 4, p. 211-222, 2018.

TOMAZINI, C. G.; GROSSI, S. F. A importância da apicultura para o agronegócio brasileiro. SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA, 2019, Faculdade de Tecnologia, Taquaritinga, 2019. **Anais...** Taquaritinga: FATEC, 2019. v. 6, n. 1, p. 48-61, 22 dez.

TOSI, S.; COSTA, C.; VESCO, U.; QUAGLIA, G.; GUIDO, G. A 3-years survey of italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 208, p. 208-218, 2018.

VALADARES, A.; ALVES, F.; GALIZA, M.; O crescimento do uso de agrotóxicos: uma análise descritiva dos resultados do censo agropecuário 2017. Nota técnica n. 65. 2020. Disponível em: https://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=35512. Acesso em: 15 jul. 2021.

VALVERDE, S.; IBÁÑEZ, M.; BERNALA, J. L.; NOZALA, M. J.; HERNÁNDES, F.; BERNA, J. Development and validation of ultra high performance-liquid chromatography–tandem mass spectrometry based methods for the determination of neonicotinoid insecticides in honey. **Food Chemistry**, v. 266, p. 215–222, 2018.

WOLFF, L. F. REIS, V. D. A. SANTOS, R. S. S. **Abelhas melíferas: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica**. 1. ed. Pelotas - RS: Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, 2008.

www.acimacar.com.br/acimacar/4/14/ind%C3%BAstria.html. Associação Comercial e Empresarial de Marechal Cândido Rondon. Acesso em: 16 jul. 2020.

www.camaraipeuna.sp.gov.br/Pagina/Listar/495. **Breve Histórico de Ipeúna**. Acesso em: 15 jul. 2020.

www.cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/xaxim/panorama. **Xaxim**. Acesso em: 15 jul. 2020.

www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=84400&btOk=ok. **Caderno Estatístico Município de Prudentópolis**. Acesso em: 16 jul. 2020.

www.investparana.org.br/sites/portal-empendedor/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/PMAI%20Uni%C3%A3o%20da%20Vit%C3%B3ria%20-%20DIGITAL.pdf. **PMAI-Programa Municipal Para Atração de Investimentos – União da Vitória**. 2018. Acesso em: 16 jul. 2020.

www.pgm.uem.br/maringa/maringa.htm. **Conhecendo Maringá**. Acesso em: 16 jul. 2020.

www.rolandia.pr.gov.br/?pag=T1RjPU9EZz1PVFU9T0dVPU9HST1PVEE9T0dFPU9HRT0=&idmenu=214. **Prefeitura do Município de Rolândia**. Acesso em: 15 jul. 2020.

www.saobentodosul.sc.gov.br/sao-bento-do-sul-em-dados. **São Bento do Sul em dados**. Acesso em: 15 jul. 2020.

ZALUSKI, R.; KADRI, S. M.; ALONSO, D. P.; RIBOLLA, P. E. M.; ORSI, R. O. Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) and affects the development of colonies exposed to sublethal doses. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 1062-1069, 2015.

ZHANG, E.; NIEH, J. C. The neonicotinoid imidacloprid impairs honey bee aversive learning of simulated predation. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 3199-3205, 2015.

ZHENG, W., PARKA, J. A.; ATYA, A. M. A. E.; KIMA, A.K.; CHOA, S. H.; CHOIA, J.M.; YIA, H.; CHOA, S. M.; RAMADANB, A.; JEONGC, J. H.; SHIMD, J. H.; SHIN, H. C. Development and validation of modified QuEChERS method coupled with LC–MS/MS for simultaneous determination of cymiazole, fipronil, coumaphos, fluvalinate, amitraz, and its metabolite in various types of honey and royal jelly. **Journal of Chromatography** , v. 1072, p. 60–69, 2018.