



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE QUÍMICA LICENCIATURA**

EDENILSON DA SILVA

**LEVANTAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS
VETERINÁRIOS NO LEITE BOVINO EM CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ**

REALEZA

2016

EDENILSON DA SILVA

**LEVANTAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS
VETERINÁRIOS NO LEITE BOVINO EM CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do grau de
Químico Licenciado da Universidade Federal da
Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Liziara da Costa Cabrera

REALEZA

DGI/DGCI - Divisão de Gestão de Conhecimento e Inovação

Silva, Ednilson da
LEVANTAMENTO DE CONTAMINANTES NO LEITE BOVINO EM
CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ/ Ednilson da Silva. --
2016.
19 f.:il.

Orientadora: Lizziara da Costa Cabrera.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Química
Licenciatura , Realeza, PR, 2016.

1. Produção Leiteira. 2. Agrotóxicos. 3.
Medicamentos. I. Cabrera, Lizziara da Costa, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

EDENILSON DA SILVA

LEVANTAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS
VETERINÁRIOS NO LEITE BOVINO EM CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau em
Licenciatura em Química da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Liziana da Costa Cabrera

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 15/12/2016

DANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Liziana da Costa Cabrera (Orientadora UFFS)



M.^a Lucila Cendon Ribeiro (UFSM)

Prof. Dr. Lucif Abílio Nascif Junior (UFFS)



Prof. Dr. André Gallina (UFFS)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, aos meu pais Loreni e Marisete da Silva, a minha irmã Luana ~~Cristina~~, pelo apoio durante esses anos de formação.

Agradeço a minha namorada Juliana Paula da Silva, que me incentivou a nunca desistir.

Agradeço a minha orientadora Liziara da Costa Cabrera, pela paciência em me orientar por inúmeros encontros, me direcionando a fazer um bom trabalho.

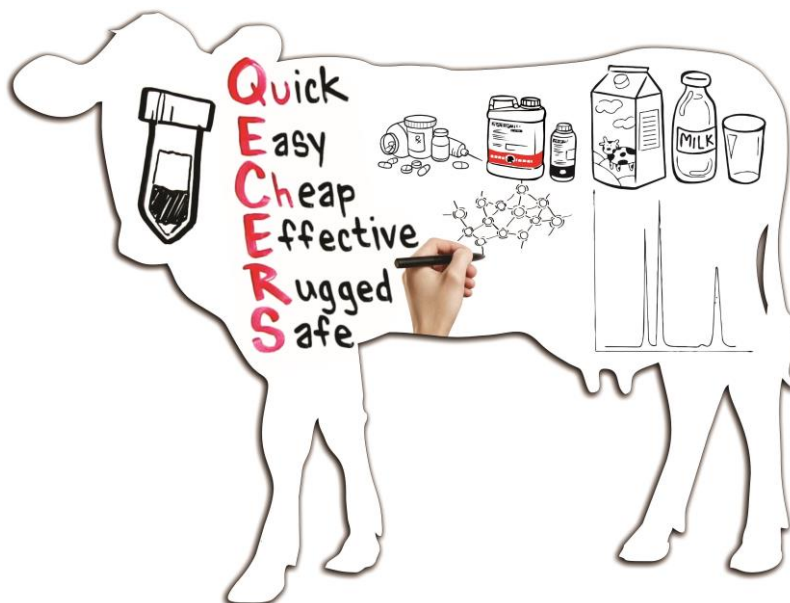
Agradeço aos professores André Gallina e Iucif Abrão Nascif Junior, e Lucila Cedon Ribeiro, por aceitarem o convite de avaliar e contribuir com o meu trabalho.

Agradeço aos meus amigos do curso, que foram responsáveis por deixar a trajetória menos cansativa, fornecendo coragem nos momentos mais difíceis.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO | 3 |
| MATERIAIS E MÉTODOS..... | 8 |
| Materiais, reagentes e padrões: | 8 |
| Coleta das amostras:..... | 8 |
| Análises físico-químicas: | 9 |
| Preparo de amostra: (método QuEChERS)..... | 9 |
| Determinação cromatográfica: | 9 |
| Dados de validação do método utilizado | 10 |
| RESULTADOS E DISCUSSÕES | 10 |
| CONCLUSÕES | 14 |
| REFERÊNCIA..... | 14 |

Graphical Abstract



LEVANTAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS NO LEITE BOVINO EM CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ

Edenilson da Silva^a, Lucila Cendon Ribeiro^b, Renato Zanella^b, Liziara da C. Cabrera^{a,*}

^aUniversidade Federal Da Fronteira Sul – *Campus Realeza*, 85770-000 Realeza – PR, Brasil

^bDepartamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria – RS, Brasil

Manuscrito com material suplementar

Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: liziara.cabrera@uffs.edu.br

LEVANTAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS NO LEITE BOVINO EM CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ

Considerando o consumo de leite na sociedade, assegurar a qualidade desse alimento é de extrema importância, principalmente por este ser essencial na dieta de crianças. Em 2014, o Brasil ficou em quinto lugar na produção leiteira mundial, no entanto, este grande rendimento pode não está relacionado com a qualidade do produto. Para manter a integridade e a produção do rebanho leiteiro podem ser empregadas substâncias como, medicamentos veterinários e agrotóxicos, que se utilizados indiscriminadamente e não respeitados os períodos de carência podem contaminar o leite, causando vários prejuízos a saúde dos consumidores. Nesse sentido, este trabalho tem como objetivo analisar contaminantes orgânicos no leite bovino. As amostras foram coletados nas cidades de Realeza-PR e Santa Izabel do Oeste-PR. Foi utilizado o método de preparo de amostra QuEChERS e análise por LC-MS/MS proposto por Ribeiro (2016)²⁵. Das 15 amostras analisadas, 80% estavam contaminadas, sendo os princípios ativos encontrados: carbofuran, cialotrina, cipermetrina, clorpirifós, nicarbazin e trimetoprima.

Keywords: agricultura, contaminação e saúde.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento que faz parte do consumo diário de boa parte da população, especialmente crianças, sendo considerado de alto valor nutritivo, portanto, a qualidade desse alimento é de suma importância.^{1,2}

A produção leiteira se destaca como atividade econômica no país, segundo SEAB DERAL³ o Brasil em 2014 assumiu o quinto lugar como um dos maiores produtores de leite no mundo, atrás da União Europeia, Índia e Estados Unidos. Os estados que mais contribuíram para essa colocação foram: Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás. O leite no Brasil está entre os seis primeiros produtos agropecuários mais importantes. Além disso, a bovinocultura de leite contribui para geração de emprego e de renda no país.⁴

No estado do Paraná, a região do Sudoeste destaca-se pela produção leiteira e cultivo de cereais, como soja, milho e trigo. Atualmente, a região possui a maior bacia leiteira do Estado, em termos de volume de leite produzido. Nesta a produção de leite é realizada principalmente por pequenos produtores com uma estrutura essencialmente familiar, o que confere a atividade um importante aspecto social e econômico na região. Porém a produção de leite neste sistema enfrenta desafios, principalmente relacionados a aspectos de qualidade do produto final.⁵

As principais fontes de contaminação no leite bovino podem ser microbiológica, metais, toxinas, micotoxinas, resíduos de medicamentos veterinários e agrotóxicos, que quando presentes no leite acima dos limites permitidos podem representar um risco à saúde pública.^{6,7} Dentre esses, os resíduos de agrotóxicos podem chegar até o leite através da alimentação do animal por pastos, cereais ou água contaminada, e pelo tratamento com agrotóxicos utilizados como domissanitários no gado para controle de parasitas.^{8,9} Já os resíduos de medicamentos veterinários, empregados no tratamento e prevenção de doenças, podem estar presentes no leite devido a administração indiscriminada destes produtos, falta de orientação dos produtores, desrespeito do período de carência, utilização de medicamentos proibidos, via de aplicação inadequada e das combinações dessas substâncias que são aplicadas no rebanho.^{10,11}

A presença de resíduos de agrotóxicos deve-se a sua utilização em larga escala destes produtos, geralmente na agricultura, em razão da expansão da população, levando a necessidade do aumento da produtividade agrícola do país.¹² Devido ao crescimento do agronegócio da região, o uso de agrotóxicos e medicamentos veterinários tem atingido níveis alarmantes. Segundo dados da ADAPAR¹³ o município de Realeza, por exemplo, aumentou o consumo de agrotóxicos em 1104%,

de 2011 à 2013, sendo o município com maior consumo no sudoeste do Paraná. O Brasil lidera, desde 2009, o uso excessivo de agrotóxicos que ultrapassa as quantidades normalmente utilizadas, ficando na frente dos Estados Unidos e da China.¹⁴

Os agrotóxicos podem ser classificados segundo sua composição química, sendo divididos em organoclorados (OCs), organofosforados (OFs), carbamatos (CARs), triazinas (TRIs) e piretroides (PIRs). Os OFs são principalmente inseticidas e herbicidas, CARs herbicidas e fungicidas, TRIs herbicidas e PIRs inseticidas.¹⁵ Devido ao grande número de problemas de saúde, envolvendo a contaminação por OCs, esses foram proibidos no Brasil em 1985, desde então os OFs e CARs, passaram a ser os agrotóxicos mais utilizados no mundo, este fato tem aumentado, drasticamente, o relato de casos de intoxicação por OFs, causados pelos efeitos tóxicos decorrente da exposição aguda ou crônica, mesmo a baixas doses.¹²

Para uma produção leiteira de qualidade, é necessário que o rebanho esteja saudável, livre de doenças e com uma boa alimentação. Visando essas condições, além do uso de agrotóxicos na produção de alimentos para o rebanho, torna-se necessário o uso de medicamentos veterinários no tratamento e prevenção de doenças ou como promotores de crescimento do animal quando incorporados à ração.¹⁶ Os medicamentos com ações terapêuticas como antibiótica, antiparasitária, inseticida, fungicida e sedativa, expressam a complexidade da análise química, sendo os antibióticos (b-lactâmicos, aminoglicosídeos e tetraciclina) e antiparasitários (avermectinas, carbamatos, piretróides e organofosforados) os compostos mais comercializados no Paraná.^{17,18}

Segundo dados da MAPA (2014)¹⁹, são comercializados cerca de 6.573 medicamentos veterinários com licença vigente no Brasil. Programas como o Programa de Análises de Resíduos e Medicamentos Veterinários em Alimentos (PAMVet),²⁰ realizam o monitoramento de 607 medicamentos com ação antimicrobiana, antibiótica e antiparasitária, dentre as classes com mais número de registros de resíduos são: avermectinas (26,0%); b-lactâmicos (15,0%); aminoglicosídeos (14,5%); tetraciclina (13,2%); e sulfonamidas (8,2%). A utilização desses medicamentos de forma inadequada, pode resultar em resíduos desses compostos no leite bovino. Logo, limites máximos de resíduos destes produtos são estabelecidos por organizações nacionais e internacionais, visando assegurar a segurança alimentar.¹⁸

O monitoramento de resíduos em alimentos de origem animal é feito pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal (PNCRC/Animal), instituído pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).¹⁹ Esse Plano tem como finalidade gerenciar o risco de contaminação, promovendo a garantia na qualidade na

produção de alimentos de origem animal, incluindo o leite bovino. Atualmente também existe o programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos (PAMvet) realizado pela ANVISA,²⁰ que visa analisar contaminantes oriundos de medicamentos veterinários. O limite máximo de resíduos (LMR) no Brasil, são estabelecidos pela ANVISA. Quando não se tem LMRs a ANVISA adota os do Mercosul, Codex Alimentarius, União Européia ou Estados Unidos.^{21,19}

A contaminação do leite deve ser encarada como um problema de saúde pública. A ingestão de alimentos lácteos que possuam resíduos acima dos limites estabelecidos podem acarretar danos à saúde, como lesões renais, hepáticas, reações alérgicas, etc. Além do consumidor, a indústria leiteira pode ter prejuízos com alto nível de resíduos, podendo ocasionar presença de metabólitos que interfere na qualidade do leite, resultando no desinteresse do consumidor pelo produto. Incluindo prejuízos tecnológicos à indústria, como a inibição de culturas lácteas, acidificação do leite, que podem alterar o produto em sua aparência, odor, etc.²²

Para a realização de uma análise de possíveis contaminantes no leite bovino, é necessário levar em conta a complexidade de matrizes alimentares, muitas vezes os analitos se encontram em pequenas concentrações, com propriedades químicas distintas, além de haver muitos interferentes na amostra. Esses fatores exigem uma etapa prévia de preparo da amostra.^{23,24}

A matriz leite geralmente possui de 3 à 4% de gordura, cerca de 3,5 de proteína e 5% de lactose, dependendo da raça do animal. O objetivo principal no preparo da amostra é remover esses constituintes antes da cromatografia.²⁵

Várias técnicas têm sido utilizadas para a extração de contaminantes do leite, tais como: extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*),²⁶ microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*),²⁷ dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, do inglês *matrix solid phase dispersion*)²⁸ e QuEChERS (rápido, fácil, econômico, eficaz, robusto e seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*).^{4,29,25}

O método de preparo de amostra QuEChERS, foi proposto por Anastassiades et al, em 2003,³⁰ como método de preparo de amostra para determinação de agrotóxicos por cromatografia em matrizes alimentícias. No entanto, no decorrer dos anos, o método já foi utilizado para análise de diferentes compostos em diversos tipos de matrizes.²³

Na literatura científica é possível encontrar trabalhos que relatam a presença de resíduos de agrotóxicos e ou medicamentos no leite bovino e casos que não foram identificados resíduos, nas amostras analisadas. Bastos et al, (2015),²⁹ analisou amostras de leite fluido e em pó por várias regiões do Brasil, durante três anos e, usando o método QuEChERS e CG-DFC, identificou

resíduos de organofosforados em amostras de leite fluido. Fagnani et al, (2011),³¹ utilizou a extração líquido-líquido e extração em fase sólida como preparo de amostra, e CG-ECD para determinação dos compostos organofosforados e carbamato em amostras de leite cru, das 30 amostras analisadas, seis possuíam resíduos de OF, cinco possuíam resíduos de CB e uma possuía resíduos dos dois compostos. Em outros trabalhos analisados, como mostra a Tabela 1, foram encontradas resíduos de contaminantes.

Tabela 1. Levantamento bibliográfico de análises de contaminante em leite

| Autores/ ano/ local | Amostra/ analitos | Método de extração e determinação | Contaminantes encontrados |
|--|--|--|--|
| BANDEIRA et al, (2014), ⁴ RS | Leite UHT integral 51 agrotóxicos | QuEChERS CG-MS/MS | Não foram encontrados contaminantes |
| BASTOS et al, (2015), ²⁹ RJ | Leite fluido e em pó, organofosforados | QuEChERS CG-DFC | Resíduos de organofosforados em amostras de leite fluido |
| FAGNANI et al, (2011), ³¹ PE | 30 amostras leite cru, organofosforados e carbamatos | Extração líquido-líquido, extração em fase sólida CG-ECD | Resíduos de organofosforados e carbamatos |
| LEMES et al, (2004), ⁹ SP | 73 amostras de leite UHT, organoclorados | CCD / CG E CLAE | Não foram encontrados contaminantes |
| SANTOS et al, (2005), ³² RS | 512 amostras, organoclorados lindano, HCB e P,P'DDE | CCD / CG-ECD | Resíduos de lindano, HCB e P,P'-DDE |
| GOULART et al, (2008), ³³ MG | Leite UHT, piretróides | Extração líquido-líquido a baixas temperaturas / CG-ECD | Resíduos de deltametrina |
| NERO et al, (2007), ³⁴ MG, SP, PR, RS | 209 amostras de leite cru, organofosforados e carbamatos | CCD – Kit imunológico | Resíduos de pelo menos um composto foi encontrado em 196 (93,8%) |

| | | | |
|--|---|--|---|
| BARROS et al, (2001), ³⁵ SSA | 26 amostras de leite pasteurizado tipo C, Antibióticos | ADM (Antimicrobial Diffusion Method) | 38,5% das amostras apresentaram desacordo com as normas estabelecidas pelo RIISPOA |
| NERO et al, (2007), ³⁶ MG, SP, PR, RS | 210 amostras de leite cru, β -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos | <i>Charm-test</i> TM (charm sciences, inc., USA) | Resíduos foram detectados em 24 amostras, 13 de PR, 4 de SP, 4 de MG e 3 de RS |
| VIEIRA et al, (2012), ¹⁰ PR | 79 amostras de leite pasteurizado tipo b, Estreptomicina, cloranfenicol, β - lactâmicos, tetraciclina e gentamicina | Kits imunológicos | Resíduos de cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, estreptomicina, β -lactâmicos |
| FURLANE et al, (2015), ³⁷ SP | 103 amostras de leite e 104 de iogurte, lactonas macrocíclicas | QuEChERS LC- detector de fluorescência | Resíduos de Moxidectina |
| RIBEIRO, (2016), ²⁵ RS | 14 amostras de leite cru, medicamentos e agrotóxicos | QuEChERS, LLE- LTP; LC-MS/MS | Resíduos de 4 compostos |

Levando em conta a possível exposição da população aos contaminantes no leite, o objetivo do trabalho foi utilizar o método QuEChERS modificado, proposto por RIBEIRO (2016),²⁵ para analisar medicamentos veterinários e agrotóxicos, em amostras de leite bovino das cidades de Realeza e Santa Izabel do Oeste, no Sudoeste do Paraná. Sendo uma maneira de apresentar informações a respeito do nível desses contaminantes que a população está exposta. Ressalta-se que segundo LEMES (2004),⁹ o leite bovino é utilizado em alguns países como indicador para medir a persistência de contaminantes na agricultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais, reagentes e padrões:

As principais vidrarias utilizadas foram: frascos Âmbar de 250 mL; tubos Falcons com tampa de rosquear, capacidade de 15 e 50 mL; tubos *ependorf* de 2 mL; micropipetas - Brand, Alemanha; pipetas de Pasteur; dispensador – Brand, Alemanha. Os equipamentos utilizados para o preparo de amostra foram: agitador Vortex - Biotek Internacional, Brasil; centrifuga – Sigma, Alemanha; balança analítica - Gehaka, Brasil. Os reagentes utilizados: acetonitrila (MeCN) grau HPLC - J.T. Baker, México; Ácido Acético Glacial (CH₃COOH) - Alphatec, Brasil; Sulfato de Magnésio Anidro Polvo (MgSO₄) - J.T. Baker, México; Acetato de Sódio (CH₃COONa) - Synth, Brasil; sorventes amina primária secundária (PSA) Varian 40 µm e octadecilsilano (C18) 40 µm Bondesil - Agilent Technologies, EUA; ácido fórmico (CH₂O₂) - Sigma-Aldrich, EUA; formiato de amônio (NH₄HCO₂) - Tedia, Brasil; ácido tricloroacético (TCA), Alemanha; água ultrapura - Millipore, França.

Os padrões dos compostos analisados foram: ciromazina, metamidofos, sulfadiazina, metronidazol, ronidazol, levamisol, diaveridina, trimetoprima, dimetridazol, metomil, clopidol, monocrotofos, tiabendazol, imidacloprido, dimetoato, sulfadimetoxina, aldicarbe, oxfendazol, etiona, ethopobate, pirimicarbe, diclorvós, propoxur, carbofurano, carbaril, mebendazol, albendazol, azinfós metil, fosmete, praziquantel, metiocarbe, robenidina, malationa, fenbendazole, nicarbazina, febantel, diflubenzurom, diclazuril, espinosade, paration etílico, clorfenvinfos, fention, diazinona, toltrazuril, forato, piretrina II, triclabendazol, emamectina, lufenurom, teflubenzurom, clorpirifós-etílico, carbofention, ciflutrina, piretrina I, cialotrina, cipermetrina, eprinomectina, closantel, monensina, abamectina, cis e trans permetrina, doramectina, moxidectina, maduramicina e salinomicina, todos adquiridos de Dr. Ehrenstorfer (Alemanha). deltametrina, fipronil e ivermectina foram adquiridos de Sigma Aldrich (USA). Todos apresentam pureza entre 85,5 a 99,7%.

Coleta das amostras:

As amostras foram coletadas de 15 propriedades, sendo nove do município de Realeza e seis do município de Santa Izabel do Oeste. As amostras foram escolhidas por conveniência de produtores que participam de outros projetos do *Campus*. Foram coletados cerca de 100 mL de leite, com

frascos Âmbar de 250 mL, diretamente do tanque de leite de cada propriedade, representando toda a produção. As amostras foram transportadas refrigeradas para a universidade, onde foram submetidas à análises físico-químicas e ao preparo de amostra pelo método QuEChERS.

Análises físico-químicas:

As amostras refrigeradas, foram submetidas à análises físico-químicas no Analisador Master Complete – AKSO, Europa. Onde foram determinados teores de gordura, extrato seco desengordurados, proteínas, lactose, minerais, crioscopia e densidade do leite.

Preparo de amostra: (método QuEChERS)

O método de preparo de amostra foi baseado no trabalho de RIBEIRO (2016),²⁵ durante a etapa de extração, uma alíquota de 10 g da amostra de leite foi transferida para um tubo Falcon de 50 mL, adicionou-se 0,1 mL de ácido acético e 10 mL de MeCN. Agitou-se manualmente por 15 segundos e, em seguida, em Vortex durante 1 minuto. Após, foram adicionados 4 g de MgSO₄ e 1,7 g CH₃COONa. Repetiu-se as agitações vigorosamente e centrifugou-se durante 8 min a 2369 g. Na etapa final, para o passo de limpeza, 2 mL do sobrenadante foram transferidos para um tubo Falcon de 15 mL contendo 100 mg de C18, 100 mg de PSA e 300 mg de MgSO₄. A mistura foi agitada durante 1 minuto e centrifugada durante 8 min a 1500 g. Em seguida, coletou-se com micropipeta o sobrenadante, que foram guardados em tubos *ependorf*. As amostras previamente preparadas foram encaminhadas, estando refrigeradas, para o Laboratório de Análise de Resíduos em Pesticidas, (LARP) Universidade Federal de Santa Maria – RS, onde, posteriormente, o sobrenadante foi filtrado e diluído na fase móvel antes da análise cromatográfica utilizando LC-MS / MS, como descrito a seguir.

Determinação cromatográfica:

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando um cromatógrafo líquido acoplado a um detector de massa tipo triplo-quadrupolo (Varian 320 LC-MS / MS - Walnut Creek, EUA). A separação ocorreu em uma coluna Pursuit XRs Ultra C18 (100 x 2,0 mm, tamanho de partícula 2,8 µm) de Agilent (Santa Clara, EUA). A temperatura da coluna foi mantida a 30 ° C e o volume de injeção foi de 10 µL⁻¹. A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de formiato de 5 mmol L⁻¹ de amônio com 2% (v / v) de metanol e solução aquosa de ácido fórmico a 0,1% (v / v) (eluente A) e 5

mmol L⁻¹ de formiato de amônio em metanol com ácido fórmico a 0,1% (v / v) (eluente B), a uma vazão de 0,150 mL min⁻¹. O tempo total de corrida cromatográfica foi de 30 minutos, utilizando o seguinte gradiente: 0,0-2,0 min (90% A), 2,0-4,0 min (90-55% A), 4,0-16 min (55-10% A), 16-19 min (10-5% A) mantida 4 min, 23-23,5 min (5-2% A) mantida 4 min e 27,5-30 min (2-90%). Estas condições foram mantidas durante mais 2,5 minutos antes da próxima corrida para retornar às condições iniciais. O volume de injeção foi de 10 µL⁻¹. O aparelho de espectrometria de massa quadrupolo sequencial foi operado utilizando um fonte de electrospray (ESI) no modo positivo e negativo. A temperatura da fonte foi de 50 °C, utilizado nitrogênio como gás de dessolvatação (40 psi a 250 °C) e gás de secagem (20 psi). Como gás de colisão foi utilizada argônio pressão de 1,8 mTorr na célula de colisão.

Dados de validação do método utilizado

O método utilizado nesse trabalho, validado por RIBEIRO (2016),²⁵ apresentou os limites de quantificação (LOQ) de 1 a 20 µg L⁻¹. Limites de decisão (CC α) e detecção (CC β), obtidas com base em cada limite máximo de resíduos, foram de 3 a 203 µg L⁻¹ e de 4 a 208 µg L⁻¹, respectivamente. Nos ensaios de recuperação os resultados aceitáveis estavam na faixa de 70 a 120% para no mínimo 0,5 vezes o LMR. A precisão e a precisão intermediária foram avaliadas por RSD com resultados aceitáveis inferiores a 20%. O método apresentou bom desempenho quando aplicado em amostras reais. Para analitos sem referência de LMR, foi considerado os níveis mais baixos com resultados aceitos dentro dos limites de precisão e exatidão, ou seja, o LOQ do método, ao invés do CC α e CC β .

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados físico-químicos das amostras podem ser observados na Tabela 2, sendo a amostra 01 à 09 de Realeza e 10 à 15 de Santa Izabel do Oeste.

Tabela 2. Análises Físico-químicas das amostras

| Propriedades | Gordura (g/100g) | ESD | Proteínas (g/100g) | Lactose (g/100g) | Minerais (g/100g) | Crioscopia (°C) | Densidade (Kg/m ³) |
|--------------|------------------|-----|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|--------------------------------|
|--------------|------------------|-----|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|--------------------------------|

| | | | | | | | |
|-----------|------|------|------|------|------|--------|---------|
| 01 | 4 | 8,42 | 3,12 | 4,71 | 0,8 | -0,558 | 1030,3 |
| 02 | 3,43 | 8,1 | 3 | 4,51 | 0,78 | -0,528 | 1029,42 |
| 03 | 3,53 | 7,72 | 2,86 | 4,31 | 0,73 | -0,503 | 1027,86 |
| 04 | 1,17 | 8,07 | 2,97 | 4,40 | 0,68 | -0,496 | 1030,87 |
| 05 | 4,31 | 8,65 | 3,2 | 4,89 | 0,83 | -0,584 | 1030,73 |
| 06 | 3,27 | 8,09 | 2,99 | 4,50 | 0,75 | -0,525 | 1029,50 |
| 07 | 4,05 | 8,6 | 3,19 | 4,81 | 0,82 | -0,571 | 1030,96 |
| 08 | 3,52 | 7,66 | 2,84 | 4,28 | 0,72 | -0,499 | 1027,64 |
| 09 | 3,46 | 8,35 | 3,09 | 4,64 | 0,78 | -0,545 | 1030,36 |
| 10 | 3,94 | 8,10 | 3,02 | 4,53 | 0,77 | -0,538 | 1029,19 |
| 11 | 4,16 | 8,31 | 3,08 | 4,65 | 0,80 | -0,552 | 1029,72 |
| 12 | 4,15 | 8,55 | 3,17 | 4,78 | 0,81 | -0,568 | 1030,68 |
| 13 | 3,48 | 8,07 | 2,99 | 4,49 | 0,75 | -0,526 | 1029,26 |
| 14 | 4,10 | 8,25 | 3,06 | 4,62 | 0,79 | -0,547 | 1029,56 |
| 15 | 4,71 | 8,35 | 3,10 | 4,70 | 0,82 | -0,562 | 1029,50 |

ESD: Extrato Seco Desengordurados.

Pode-se perceber ao analisar as amostras, que a maioria está dentro do padrão de composição do leite. A amostra 06 apresentou níveis baixos de gordura (1,17%), já a amostra 14 apresentou um nível alto (4,71%), pois o padrão é de 3 à 4% de gordura.²⁵ Isso deve ser levado em consideração ao realizar a análise em leite, pois parte dos contaminantes lipofílicos permanecem dissolvidos na gordura durante a etapa de partição do preparo de amostra, podendo resultar numa menor recuperação no extrato de MeCN.⁴

A partir do levantamento bibliográfico, percebe-se que em relação as análises de resíduos de agrotóxicos, os carbamatos e organofosforados, são os mais encontrados.^{29,31,34} Em análises de resíduos de medicamentos, os antibióticos são os mais encontrados, destacando os β -lactâmicos.^{35,36,10}

As propriedades estudadas, segundo dados de outros projetos do *Campus*, fazem a maior utilização de medicamentos como ivermectina, sulfonamidas, fluazuron, abamectina, diclofos e cipermetrina. Das 15 amostras de leite cru analisadas, 12 (80%) apresentaram alguma contaminação. Os princípios ativos encontrados nas amostras foram: carbofuran, cialotrina, cipermetrina, clorpirifós,

nicarbazin e trimetoprima. As concentrações podem ser observadas na Tabela 3 e suas estruturas na Figura 1.

Tabela 3. Concentração de resíduos de contaminantes ($\mu\text{g L}^{-1}$)

| Amostras | carbofurano | λ -cialotrina | cipermetrina | clorpirifós | nicarbazin | trimetoprima |
|-----------------------------|-------------|-----------------------|--------------|-------------|------------|--------------|
| LOQ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 10 | 2 | 10 | 5 | 2 | 1 |
| 01 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 02 | n.d. | 16,2 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 03 | < LOQ | n.d. | 22,3 | n.d. | n.d. | n.d. |
| 04 | n.d. | 7,2 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 05 | n.d. | 11,7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 06 | n.d. | 11,6 | 1,2 | n.d. | n.d. | n.d. |
| 07 | n.d. | 43,5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 08 | n.d. | 8,4 | < LOQ | n.d. | n.d. | 4,2 |
| 09 | n.d. | 1,0 | 25,6 | n.d. | n.d. | n.d. |
| 10 | n.d. | 8,4 | n.d. | n.d. | < LOQ | n.d. |
| 11 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | < LOQ | n.d. |
| 12 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 13 | n.d. | n.d. | n.d. | 23,5 | n.d. | n.d. |
| 14 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 15 | n.d. | 22,3 | n.d. | n.d. | < LOQ | n.d. |

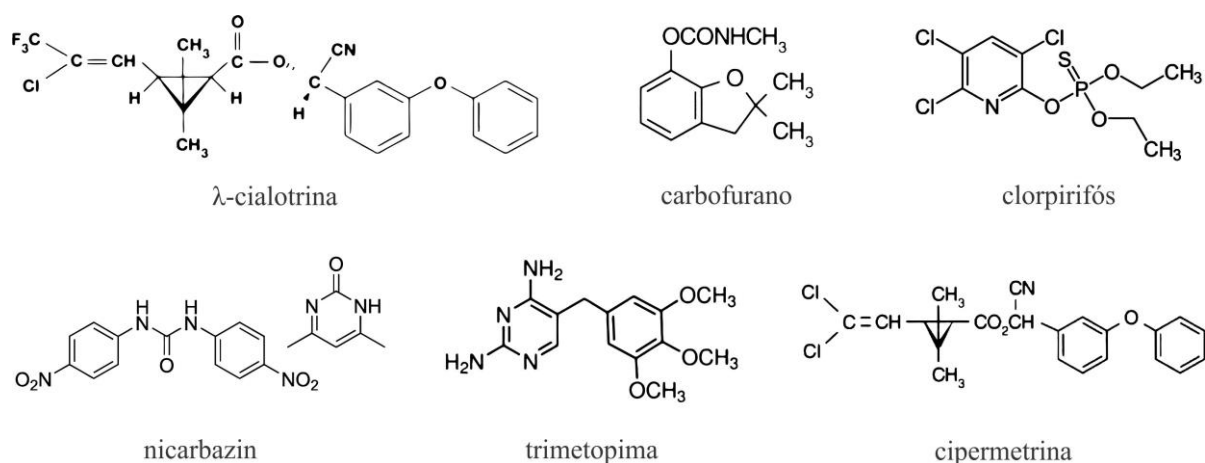


Figura 1. Estruturas dos compostos detectados

A λ -cialotrina apresentou concentrações em maior número de amostras (09), e na amostra 07, do município de Realeza/PR, a concentração ($43,5 \mu\text{g L}^{-1}$) estava acima dos LMRs recomendados pelo

Cordex Alimentarius ($30,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Esse contaminante pertence ao grupo dos piretróides, na classe de inseticidas.^{19,21}

A cipermetrina apresentou concentrações em 04 amostras, em uma ficou abaixo dos limites de quantificação, a maior concentração foi de $25,6 \mu\text{g L}^{-1}$, estando abaixo dos LMRs recomendados pelo Cordex Alimentarius ($100,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Esse contaminante pertence ao grupo dos piretróides, na classe de inseticidas e formicidas.^{19,21}

O clorpirifós apresentou concentração de $23,5 \mu\text{g L}^{-1}$ em uma amostra do município de Santa Izabel do Oeste, os limites recomendados pela ANVISA na gordura do leite é de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Esse contaminante pertence ao grupo dos organofosforados, na classe de inseticida, formicida e acaricida.²¹

O carbofurano foi detectado a baixo dos limites de quantificação em apenas uma amostra. Esse contaminante pertence ao grupo dos metilcarbamato de benzofuranila, na classe de inseticida, cupinicida, acaricida e nematicida. Seu uso pode ser banido no Brasil, sendo que já é proibido em outros países.²¹

Os princípios ativos λ -cialotrina, cipermetrina, clorpirifós e carbofurano, são compostos com maior aplicação na produção vegetal, como fumo, soja e trigo.²¹ Uma vez que seu uso não é apenas na classe terapêutica, a contaminação também pode ter sido causada através de pastagem ou água contaminada pelo agrotóxico, fornecida ao animal.

A trimetoprima apresentou concentração de $4,2 \mu\text{g L}^{-1}$ em uma amostra, trata-se de um medicamento que geralmente é administrado em combinação com um antibiótico da classe sulfonamida, como por exemplo o sulfametoxazol. Esses medicamentos tem atividade antibacteriana sinérgica. Normalmente são usadas no tratamento de doenças do gado leiteiro, como infecções respiratórias e mastite. A administração desses medicamentos podem resultar em resíduos no leite. A Agência Europeia de Medicamentos recomenda o LMR de trimetoprima na carne e no leite em $50 \mu\text{g L}^{-1}$.^{38,39}

O nicarbazin, antimicrobiano, sendo complexo de dois compostos, foi detectado a baixo dos limites de quantificação em três amostras. Esse medicamento é comumente utilizado na veterinária em tratamento de coccidiose intestinal em aves capoeira.^{40,41} O LMR recomendados pelo Cordex Alimentarius na carne de frango é de ($200,0 \mu\text{g L}^{-1}$).¹⁹ Probabilidades para a sua presença no leite, é a utilização da cama de frango na alimentação de bovinos ou por água contaminada.

CONCLUSÕES

Se torna importante o estudo das análises realizadas no controle de agrotóxicos no leite bovino, para que sejam realizadas ações de controle na utilização dos agrotóxicos. Programas de monitoramento do leite para controle de qualidade e de níveis de resíduos presentes, devem ter continuidade, pois no Brasil essas avaliações são escassas. A análise das 15 amostras, de propriedades da região, detectou contaminação em 80%, identificando os princípios ativos: carbofuran, cialotrina, cipermetrina, clorpirifós, nicarbazin e trimetoprima. Mesmo com alguns resultados em níveis baixos de resíduos, podem ser realizadas medidas de controle, antes que a contaminação resulte em maior risco a população.

Outros trabalhos já foram realizados na região, que identificam resíduos de medicamentos e agrotóxicos em leite e água.⁴²⁻⁴⁴ Que destacam a necessidade de acompanhamento e monitoramento das propriedades na região, continuando análises com outros projetos que permitiram identificar possíveis melhoras.

REFERÊNCIA

1. Silva, R. M.; Silva, R. C.; Ribeiro, A. B. Resíduos de Antibióticos em Leite. *SaBios: Rev. Saúde e Biol.* **2012**, v.7, p.30-44.
2. Nascimento, G. G.; Maestro, V.; Campos, M. S. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Rev. Nutr.* **2001**. v.14, p.119-124.
3. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rural. Análise da conjuntura agropecuária – leite. Paraná, 2014. http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf, acessada em Setembro de 2016.
4. Bandeira, D.D.; Munaretto, J. S.; Rizzetti, T. M.; Ferronato, G.; Prestes, O. D.; Martins, M. L.; Zanella, R.; Adaime, M. B. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando método QuEChERS modificado e gc-ms/ms. *Química. Nova* **2014**, v.37, p.900-907.

5. Toscan, A.; Rodrigues, M. B. Resíduos de antimicrobianos em leite na região sudoeste do Paraná. *Synergismus scyentifica* UTFPR. Pato Branco **2015**, v.1, p.131-139.
6. Granella, V.; Ventorini, C. G.; Pigatto, G. M.; Nornberg, J. L.; Costabeber, I. H. Pesticide residues in organic and conventional pasteurized milks. *Semina: Ciências Agrárias* Londrina **2013**, v.34, p.1731-1740.
7. Okada, I. A.; Sakuma, A. M.; Maio, F. D.; Dovidauskas, S.; Zenebon, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo **1997**, v. 31, p.104-3.
8. Kan, C. A.; Meijer, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam **2007**, v.133, p.84-108.
9. Lemes, V. R. R.; Kussumi, T. A.; Rocha, S. O. Monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite consumido pela população do estado de São Paulo, Brasil, 2000 e 2002. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2004**, v.63, p.24-30.
10. Vieira, T. S. W. J.; Ribeiro, M. R.; Nunes, M. P. N.; Machinski, J. R. M.; Netto, D. P. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias* **2012**, v.33, p.791-796.
11. Pontes-Netto, D.; Lopes, M.O.; Oliveira, M.C.S.; Nunes, M.P.; Machinski JR, M.; Bosquioli, S.L.; Benatto, A.; Benini, A.; Bombardelli, A.L.C.; Vedovello Filho, D.; Machado, E.; Belmonte, I.L.; Alberton, M.; Pedroso, P.P.; Scucato, E.S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá **2005**, v.27, p.145-151.
12. Araujo, A. J.; Lima, J. S.; Moreira, J. C.; Jacob, S. C; Soares, M. O.; Monteiro, M. C.; Amaral, A. M.; Kubora, A.; Meyer, A.; Cosenza, C. A.; Neves, C.; Markowitz, S. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro **2007**, v.12, p.115-130.

13. ADAPAR. Agência de Defesa Agropecuária do Paraná GRISA, F. *Sinal do avanço do agronegócio no Sudoeste do Paraná*. Revista Cambota ASSESOAR. nº 269 – Dez. 2015. http://www.assesoar.org.br/dados/Revista_Cambota269.pdf, acessado em Março de 2016.
14. BRASIL. Posicionamento do Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva acerca dos Agrotóxicos. Ministério da Saúde, INCA, 2015. http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inca_sobre_os_agrotoxicos_06_abr_15.pdf, acessado em Novembro de 2016.
15. Mckinlay, R.; Plant, J. A.; Bell, J. N.; Voulvoulis, N. Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment. *Environment International*, **2008**, v.34, p.168-183.
16. Sarmah, A.K.; Meyer, M.T. & Boxall, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere*, 2006, v.65, p.725-759.
17. Andrée, S.; Jira, W.; Schwind, K. H.; Wagner, H.; Schwägele, F. Chemical safety of meat and meat products. *Meat Science*, 2010, v.86, p.38-48.
18. Pacheco-Silva, E.; Souza, J. R.; Caldas, E. D. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. *Química Nova* **2014**, v.37, p.111-122.
19. <http://www.agricultura.gov.br/>, acessada em Setembro de 2016.
20. <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/395364/PAMVET.pdf/4777c371-e5b5-42e0-9c3f-43670009a802>, acessada em Novembro de 2016.
21. <http://portal.anvisa.gov.br/>, acessada em Novembro de 2016.
22. Feijó, L.D. Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes – PNCRS/Leite. In: Barbosa, S.B.P., Batista, A.M.V., Monardes, H. *III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite*.

Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, v.1, p.201-202.

23. Prestes, O. D.; Friggi, C. A.; Adaime, M. B.; Zanella, R. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. *Química Nova*, **2009**, v.32, p.1620-1634.

24. Wilkowska, A.; Biziuk, M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, **2011**, v.125, p.803–812.

25. Ribeiro, L. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria – RS, Brasil, 2016.

26. Stolker, A. A. M.; Rutgers, P.; Oosterink, E.; Lasaroms, J. J. P.; Peters, R. J. B.; Van Rhijn, J. A.; Nielen, M. W. F. Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC–ToF-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, v.391, p.2309–2322.

27. Fernandez-Alvarez M.; Llompart, M.; Lamas, J. P.; Lores, M.; Garcia-Jares, C.; Cela, R.; Dagnac, T. Development of a solid-phase microextraction gas chromatography with microelectron-capture detection method for a multiresidue analysis of pesticides in bovine milk. *Analytica Chimica Acta*, **2008**, v.617, p.37-50.

28. Dési, E.; Kovács, A.; Palotai, Z.; Kende, A.; Analysis of dexamethasone and prednisolone residues in bovine milk using matrix solid phase dispersion-liquid chromatography with ultraviolet detection. *Microchemical Journal*, **2008**, v.89, p.77–81.

29. Bastos, L. H. P.; Gouvêa, A. V.; Ortiz, N. D.; Cardoso, M. H. W. M.; Jacob, S. C.; Nóbrega, A. W. Monitoramento de resíduos de agrotóxicos da classe dos organofosforados por CG-DFC em amostras de leite fluído e em pó. *Química Nova*, **2015**, v.38, p.178-184.

30. Anastassiades, M.; Mastovská, K.; Lehotay, S. J. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, **2003**, v.1015, p.163-184.

31. Fagnani, R.; Batiaglini, A. P. P.; Tamanini, R.; Seixas, F. N.; Beloti, V. Análise de risco de praguicidas em leite cru e caracterização do uso em propriedades leiteiras. *Rev. Inst. Lactc. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, **2011**, v.66, p.20-26.
32. Santos, J. S.; Heck, M. C.; Costabeber, I. H.; Bogusz Júnior, S.; Emanuel, T. Ingesta diária dos organoclorados lindano, hexaclorobenzeno e p,p'- diclorodifenil dicloroetileno a partir de leite esterilizado. *Pesticidas. Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, **2005**, v.15, p.85-92.
33. Goulart, S. M.; Queiroz, M. E. L. R.; Neves, A. A.; Queiroz, J. H. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. *Talanta*, **2008**, v.75, p.1320-1323.
34. Nero, L. A. Mattos, M. R.; Beloti, V.; Barros, M. A. F.; Pontes-Netto, D.; Franco, B. D. G. M. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e ação sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **2007**, v.27, p.201-204.
35. Barros, G. M. S.; Jesus, N. M. de; Silva, M. H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo c, comercializado na cidade de salvador. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EMV-UFBA. *Rev. Bras. Saúde Prod.* **2001**, v.2, p.69-73.
36. Nero, L. A.; Matos, M. R.; Beloti, V.; Barros, M. A. F.; Franco, B. D. G. M. Resíduos de Antibióticos em leite Cru de quatro regiões leiteiras do Brasil. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **2007**, vol.27, p.391-393.
37. Furlani, R. P. Z.; Dias, F. F. G.; Nogueira, P. M.; Gomes, F. M. L.; Tfouni, S. A.V.; Camargo, M. C. R. Occurrence of macrocyclic lactones in milk and yogurt from Brazilian market. *Food Contr.* **2014**, v.48, p.43-47.
38. Andrade, L. S.; Moraes, M. C.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O.; Cass, Q. B. A multidimensional high performance liquid chromatography method coupled with amperometric

detection using a boron-doped diamond electrode for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk. *Analytica Chimica Acta*. **2008**, v.654, p.127–132.

39. Pereira, A. V.; Cass, Q. B. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk using an on-line clean-up column. *Journal of Chromatography B*, **2005**. v.826, p.139–146.

40. <http://tecingre.com.br/pdf/ANTIBIOTICOS.pdf>, acessado em Dezembro de 2016.

41. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v041je10.htm>, acessado em Dezembro de 2016.

42. Sachet, A. P.; Schlemper, V. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite pasteurizado comercializado no município de Realeza – PR. *VI Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica*, Chapecó-PR, Brasil, 2016.

43. Vieira, M. C.; *Trabalho de conclusão de curso*, Universidade Federal da Fronteira Sul – Realeza, Brasil, 2016.

44. Steinke, G.; *Trabalho de conclusão de curso*, Universidade Federal da Fronteira Sul – Realeza, Brasil, 2016.