



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

GLEICIÉLI STEINKE

**DETERMINAÇÃO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM AMOSTRAS DE
LEITE DE CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ.**

REALEZA

2016

GLEICIELI STEINKE

**DETERMINAÇÃO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM AMOSTRAS DE
LEITE DE CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ.**

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

Orientadora: Prof. Dra. Liziara da Costa Cabrera

REALEZA

2016

DGI/DGCI - Divisão de Gestão de Conhecimento e Inovação

Steinke, Gleiciéli

DETERMINAÇÃO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM AMOSTRAS
DE LEITE DE CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ. / Gleiciéli

Steinke. -- 2016.

25 f.:il.

Orientadora: Liziara da Costa Cabrera.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -

Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de

Química-Licenciatura , Realeza, PR, 2016.

1. Determinação de medicamentos veterinários em leite

cru. I. Cabrera, Liziara da Costa, orient. II.

Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

GLEICIELI STEINKE

**DETERMINAÇÃO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM AMOSTRAS DE
LEITE DE CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ**

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

Orientadora: Profa. Dra. Liziara da Costa Cabrera

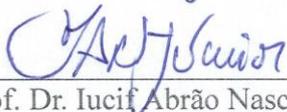
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 30/01/2015

BANCA EXAMINADORA



Prof.ª. Dr.ª. Liziara da Costa Cabrera (orientadora) – UFFS

Prof.ª. Dr.ª. Fernanda Oliveira Lima - UFFS



Prof. Dr. Iucif Abrão Nascif Junior - UFFS

Dedico este trabalho a todas as pessoas que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando em todas as situações: minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

A minha família pelo apoio, compreensão, incentivo e amor em todos os momentos de minha vida.

Ao meu amor Pedro Bressan Neto, pelo companheirismo e compreensão ao longo do curso.

A professora e amiga Liziara, pela orientação, compreensão, acolhimento e por sempre acreditar em meu potencial.

Ao meu amigo e companheiro de estudos Marcos Geraldo Vieira, pelo companheirismo, ajuda, amizade, incentivo e por dividir as alegrias e anseios ao longo da graduação.

As minhas amigas Daiana e Lindaiane, pelas longas conversas, choros, risadas, confiança e amizade de tantos anos.

Aos professores da UFFS, pelo conhecimento que nos auxiliaram a construir, amizade e conselhos.

Ao pessoal do LACOM, pelo acolhimento, aprendizagens e auxílio no desenvolvimento deste trabalho, em especial ao Jean, Antunielle, Augusto, Joana e Sergiane.

Aos colegas de turma, pela amizade e desabafos ao longo dos anos, muito obrigada Edenilson, Keli, Francislainy, Tatiane, Gecieli, Alexandra, Vanessa, Marcos, Katiane e Flávio.

DETERMINAÇÃO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM AMOSTRAS DE LEITE DE CIDADES DO SUDOESTE DO PARANÁ.

Gleiciéli Steinke^a, Marcos G. Vieira^a, Jean L.O. Arias^b, Ednei G. Primel^b, Liziara C. Cabrera^{a*}

^aUniversidade Federal da Fronteira Sul, 85.770-000 Realeza-PR, Brasil

^bEscola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, 96.203-900 Rio Grande-RS, Brasil

Resumo: O leite ocupa um lugar de destaque na alimentação humana, portanto existe uma grande demanda por sua produção. Para suprir essa demanda é necessário que os rebanhos leiteiros estejam em ótimas condições de saúde. No entanto sabe-se que para tratar e/ou evitar as diversas patologias que acometem os rebanhos leiteiros os pecuaristas utilizam diferentes fármacos. Porém, esses compostos podem deixar resíduos no leite, principalmente se houver uso inadequado, caracterizando-se como um problema de segurança alimentar. Uma vez que o consumo de resíduos de medicamentos veterinários podem causar diversos malefícios a saúde humana, ressalta-se a importância das boas práticas na produção desse alimento. Assim, este trabalho tem por objetivo verificar quantitativamente a contaminação de amostras de leite, provenientes dos municípios de Pérola D'Oeste, Planalto e Nova Prata do Iguaçu no Paraná, por resíduos de medicamentos veterinários. Para esse fim, coletou-se 20 amostras de leite que foram preparadas e determinados pelo método QuEChERS-LC-MS/MS proposto por Arias (2016). Dos 13 medicamentos veterinários analisados detectou-se a presença de albendazol, em concentração inferior ao limite máximo de resíduo (LMR), em uma única amostra. Destaca-se que esse resultado, mesmo dentro do limite máximo de resíduo, pode ser um indício de desrespeito ao período de carência do medicamento, o que não é indicado pelas boas práticas da pecuária leiteira.

Palavras-Chave: Medicamentos Veterinários. Contaminação do Leite. QuEChERS. LC-ESI-MS/MS.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Trabalhos que determinaram medicamentos veterinários em leite e derivados.....	11
Tabela 2. Procedência e número de amostras obtidas	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cromatogramas do RMR (a) albendazol no padrão no extrato $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (b) amostra positiva para o albendazol	18
Figura 2. Estrutura do albendazol	18

LISTA DE SIGLAS

ACN	Acetonitrila
CC α	Limite de decisão
CC β	Capacidade de detecção
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
FURG	Universidade Federal do Rio Grande
LACOM	Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais
LC-ESI-MS/MS	Cromatografia Líquida com Ionização por Electrospray acoplado a Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Liquid Chromatography equipped Electrospray ionization Tandem Mass Spectrometry</i>
LD _i	limite de detecção instrumental
LMR	limite máximo de resíduos
LQ _i	limite de quantificação instrumental
LQ _m	limite de quantificação do método
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PAMvet	Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos
PAMvet-PR	Programa Estadual de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal
PNCRC	Plano Nacional de controle de Resíduos e Contaminantes
QuEChERS	Método Rápido, Fácil, Barato, Efetivo, Robusto e Seguro, do inglês <i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i>
RIISPOA	Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de produtos de origem Animal
rRNA	Ácido ribonucleico ribossômico, do inglês, <i>ribonucleic acid ribosomal</i>
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês, <i>Relative Standard Deviation</i>
UHT	Ultrapasteurização, do inglês, <i>Ultra High Temperature</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. Medicamentos veterinários e saúde humana	13
2. MATERIAIS E MÉTODOS	14
2.1. Amostragem.....	14
2.2. Materiais e reagentes utilizados	15
2.3. Analitos determinados	15
2.4. Método analítico utilizado	16
2.5. Preparo de amostra.....	16
2.6. Determinação cromatográfica.....	16
2.7. LDi, LQi,, LQm , CC α e CC β do método.....	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO.....	19
4. REFERÊNCIAS	20
5. ANEXO.....	23

1. INTRODUÇÃO

O leite caracteriza-se como uma importante fonte de nutrientes, pois, é rico em proteínas, vitaminas e sais minerais que são importantes para a nutrição humana. Destaca-se que em 1908 durante o Primeiro Congresso Internacional para a Repressão de Fraudes, em Genebra, o leite foi definido como um produto integral, sem alterações e adulterações, que deve ser obtido através de uma ordenha higiênica de fêmeas domésticas em boas condições de saúde.¹

Mundialmente o Brasil destaca-se na produção de leite, no ano de 2014 nosso país ficou em 5º lugar no ranking com uma produção de 33,3 bilhões de litros.² Essa elevada produtividade está relacionado a diversos fatores, dentre os quais pode-se citar o melhoramento genético do rebanho leiteiro, uso de tecnologias de manejo além de maiores investimentos na qualidade da alimentação e saúde dos animais.³ A produção leiteira é uma atividade de destaque no país, pois, o leite está incluído entre os seis produtos agropecuários mais importantes.⁴

Entende-se que para suprir a demanda e produzir leite de qualidade é necessário que o rebanho leiteiro esteja em ótimas condições de saúde. Para combater as patologias que acometem os animais, é utilizada uma enorme variedade de medicamentos veterinários. Porém, a aplicação de medicamentos veterinários em animais que produzem alimento (leite, carne e ovos) pode deixar resíduos nesses alimentos, esses resíduos devem estar dentro do LMR recomendado.⁵ Se forem encontrados resíduos de medicamentos veterinários, em alimentos de origem animal, acima desse limite isso é uma evidência de que o composto não foi utilizado de acordo com as boas práticas de uso de medicamentos veterinários ou ainda pode mostrar o uso de medicamentos proibidos.⁶ No Brasil, adota-se os LMRs recomendados pelo Mercosul, Codex Alimentarius, União Européia ou Estados Unidos.⁵

Nos últimos anos há uma grande preocupação dos órgãos de saúde sobre a segurança e qualidade dos alimentos consumidos pela população, nesse sentido entende-se que devido a grande importância do leite, este produto deve ter a sua qualidade avaliada constantemente. Pois, o leite contaminado por medicamentos veterinários, em níveis acima do LMR, é considerado impróprio para o consumo. Ressalta-se que a contaminação do leite por esses compostos tem sido relatada por diversos autores em amostras de leite *in natura*, pasteurizado, UHT e em pó, como pode ser visualizado na Tabela 1.

Tabela 1. Trabalhos que analisaram medicamentos veterinários em leite e derivados.

Tipo de leite	Analitos detectados	Classe terapêutica	Níveis detectados ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referência
UHT	Tilosina e fenbendazol	Antibiótico Antiparasitário	<LQ	7
Leite <i>in natura</i>	Sulfamerazina e sulfadiazina	Quimioterápicos	55-56	8
Leite <i>in natura</i>	Penicilina G, amoxicilina e tetraciclina	Antibióticos	12-1671	9
Leite <i>in natura</i>	oxitetraciclina e sulfametazina	Antibiótico Quimioterápico	<LQ	10
Em pó	ciprofloxacino, mepenterol e mebendazol	Antibiótico Antiparasitários	0,5-7,1	11
Pasteurizado e UHT	tetraciclina, sulfanamidas, sulfametazina e quinolonas	Antibiótico Quimioterápicos Antibiótico	14,62-47,4	12
Leite <i>in natura</i>	flumequina, sulfapiridina, sulfametoxazol e lincomicina	Antibiótico Quimioterápicos Antibiótico	1,77-11,25	13
Iogurte e leite	Moxidectina	Antiparasitário	2,2	14

Destaca-se que a classe terapêutica dos antibióticos é a que têm sido mais comumente encontrada em amostras de leite, seguido dos quimioterápicos. Ambas as classes são antimicrobianas, porém os quimioterápicos possuem origem sintética, enquanto os antibióticos são de origem não sintética.¹⁵ No Brasil em 1986 foi instituído pela Portaria nº51 de 6 de maio o Plano Nacional de controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), sob a coordenação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com o objetivo de monitorar de medicamentos veterinários e contaminantes ambientais em produtos de origem animal, visando a adequação as normas sanitárias do comércio internacional.¹⁶

Após dezesseis anos, em 2002 criou-se o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos (PAMvet), com o objetivo de avaliar os riscos de contaminação de alimentos por medicamentos veterinários. Na implantação do programa, elegeu-se o leite como primeiro alimento a ser pesquisado, além disso, foi definido que os

princípios ativos a serem analisados seriam: benzilpenicilina, estreptomicina, neomicina, eritromicina, ampicilina, amoxicilina, ceftiofur, tetraciclina, sulfametazina, sulfadimetoxina, sulfatiazol abamectina, doramectina e ivermectina. A escolha desses fármacos justifica-se pelo fato de que os mesmos são utilizados no rebanho leiteiro, podendo deixar resíduos no leite. Esses resíduos oferecem um risco potencial a saúde do consumidor além disso há disponibilidade de metodologia analítica reconhecida internacionalmente para análise desses princípios ativos.¹⁷

No Paraná, em 2003 foi criado o Programa Estadual de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMvet-PR), sendo que uma das primeiras atividades desenvolvidas neste programa foi um levantamento dos medicamentos veterinários mais usados no rebanho leiteiro do estado. Pelo levantamento, concluiu-se que os quimioterápicos e os antiparasitários são os medicamentos veterinários mais utilizados na terapêutica das patologias que acometem frequentemente o rebanho leiteiro no Estado do Paraná.¹⁸

A preocupação com a contaminação do leite por medicamentos veterinários deve-se ao fato de que esses resíduos podem ocasionar problemas à saúde do consumidor, como por exemplo, resistência à antimicrobianos, alergias, intoxicações, entre outros.^{6,19-22} Além disso, a presença de resíduos de medicamentos veterinários, como os antibióticos, no leite ocasiona problemas tecnológicos relacionados aos laticínios, pois interferem na fermentação, devido ao fato de que as bactérias usadas nesse processo são sensíveis aos antibióticos.^{21, 22}

Destaca-se que a contaminação do leite por medicamentos veterinários ocorre de diferentes formas, podendo ser resultado da adição de medicamentos diretamente no leite (fato ilegal) com objetivo de suspender o desenvolvimento bacteriano, ou da aplicação de medicamentos no rebanho leiteiro para evitar e/ou tratar doenças.²¹ Porém, a permanência dos resíduos de medicamentos veterinários no leite depende de vários fatores, como o número de doses, o veículo, via de aplicação e concentração.²³

Sabe-se que o regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) proíbe a adição de substâncias químicas ao leite que será usado na alimentação humana.¹⁹ Porém, percebe-se que na região não existem dados sobre o monitoramento da contaminação do leite por resíduos de medicamentos veterinários. Considerando que o leite contaminado por esses compostos se caracteriza como um risco a segurança alimentar, enfatiza-se a importância de estudos que busquem compreender a qualidade do leite produzido na região.

1.1. Medicamentos veterinários e saúde humana

No Brasil existem cerca de 6.674 compostos veterinários com registro no MAPA. Os medicamentos veterinários são divididos em classes, sendo os antibióticos, quimioterápicos e antiparasitários os mais comercializados.⁶

Os antibióticos encontram-se divididos em β -lactâmicos; tetraciclina; macrolídeos; anfenicóis; aminoglicosídeos.^{5,24} Em relação aos β -lactâmicos, estes são compostos que possuem um anel de nitrogênio que contém o β -lactam, esses compostos afetam a síntese de peptidoglicanos. Os β -lactâmicos inibem a transpeptidase bacteriana (através de uma ligação covalente) impedindo a formação da parede celular da bactéria.^{5, 25}

As tetraciclina caracterizam-se pela estrutura de quatro anéis parcialmente conjugados e o grupo funcional carboxiamido. O mecanismo de ação desses compostos deve-se ao fato destes ligarem-se aos ribossomos, inibindo a síntese protéica bacteriana. As tetraciclina agem em muitas bactérias gram-positivas e gram-negativas.⁵ Destaca-se que as tetraciclina podem prejudicar o desenvolvimento ósseo de crianças, principalmente quando ingeridas por gestantes, pois, interferem na reabsorção do cálcio.²⁶ Ressalta-se que contaminação do leite por antibióticos representa um risco à saúde humana, pois podem ocasionar reações alérgicas geralmente associadas aos antibióticos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos).^{19, 26}

Em relação aos anfenicóis, estes possuem ação bacteriostática inibindo a síntese de polipeptídios bacterianos. Dentro deste grupo encontra-se o cloranfenicol, que tem seu uso proibido em animais produtores de alimentos no Brasil. Já os aminoglicosídeos são usados principalmente para tratar infecções causadas por bactérias gram-negativas, esses bactericidas ligam-se ao rRNA e produzem efeito sobre a síntese protéica. E os macrolídeos são bacteriostáticos que bloqueiam a translocação da síntese protéica, esses compostos caracterizam-se por possuir em sua estrutura anéis de lactona no qual encontra-se fixados um ou mais desoxiaçúcares.²⁵

Os quimioterápicos também possuem ação bactericida e bacteriostática. Dentro desta classe estão as sulfonamidas, nitrofuranos e quinolonas.⁵ O mecanismo de atuação das sulfonamidas deve-se ao fato de que esses compostos competem com o ácido p-aminobenzóico, que é utilizado pelos microrganismos na síntese do ácido fólico (usado na síntese de ácidos nucléicos). As reações adversas mais observadas em humanos são febre, dermatites, exantemas cutâneos, fotossensibilidade, vômitos e diarreia.^{25, 26} Os nitrofuranos (cuja venda é proibida no Brasil) são usados para tratar infecções gastrointestinais e

dermatológicas, além do tratamento da salmonelose. As quinolonas inibem a síntese do DNA bacteriano ao bloquear a topoisomerase II e IV.^{5, 25, 26} Destaca-se que alguns quimioterápicos estão relacionados ao desenvolvimento de tumores em animais de laboratório, como por exemplo, sulfametazina e nitrofuranos.^{5, 22}

Dentro da classe dos antiparasitários, as avermectinas e os benzimidazóis são os medicamentos veterinários mais utilizados para tratamento de doenças causadas por parasitas. As avermectinas pertencem à classe das lactonas macrocíclicas, essas substâncias são usadas no tratamento de infecções causadas por endo e ectoparasitas. Já os benzimidazóis possuem ação anti-helmíntica, sua estrutura caracteriza-se por um anel benzênico condensado a um grupo imidazol.^{5, 26, 27}

Em relação aos antiparasitários, ressalta-se que a ivermectina possui maior eficiência na eliminação de parasitas (em relação às demais avermectinas) e elevada persistência no animal, o que pode ocasionar presença de resíduos desses compostos no leite, inclusive acima do LMR.^{5, 25, 26}

Devido ao fato de que o leite contaminado por resíduos de medicamentos veterinários caracteriza-se como um risco a saúde do consumidor, o presente trabalho tem por objetivo determinar a presença de resíduos desses fármacos em amostras de leite provenientes de cidades do sudoeste do Paraná.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Realizou-se coleta de 20 amostras de leite, em janeiro de 2016, nas cidades de Pérola D'Oeste, Planalto e Nova Prata do Iguaçu no Paraná (Tabela 2), a amostragem realizada foi por conveniência, devido a trabalhos que já estavam sendo realizados nesses locais. Cabe ressaltar, que as amostras foram coletadas diretamente dos tanques de expansão das propriedades, em frascos âmbar de 50 mL.

As amostras foram transportadas em caixa térmica com gelo até chegar ao Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM) da Universidade Federal do Rio Grande- FURG.

Tabela 2. Procedência e número de amostras obtidas

Procedência das amostras	Número de amostras
Nova Prata do Iguaçu	4
Pérola D'Oeste	9
Planalto	6

2.2. Materiais e reagentes utilizados

Os materiais e reagentes utilizados foram: acetonitrila (ACN) grau HPLC; ácido acético (CH₃COOH) glacial 96%; ácido fórmico (HCOOH) pureza ≥ 98%; água destilada; água ultrapura; detergente Extran® neutro; dispenser 10-50 mL; frascos de vidro (vial) 2,0 mL; gás argônio analítico 5.0 usado como gás de colisão no sistema Cromatografia Líquida com fonte de ionização por electrospray acoplada a espectrometria de massa (LC-ESI-MS/MS, do inglês, *Liquid Chromatography equipped Electrospray ionization Tandem Mass Spectrometry*); membrana filtrante de nylon 0,45 µm de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro; padrões analíticos de pureza 99% para os medicamentos veterinários; quitosana produzida no Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos da FURG; sulfato de magnésio anidro (MgSO₄); tubos Falcon de polipropileno com tampas rosqueáveis, com capacidade de 15 a 50 mL; vidrarias em geral como, béquer, frascos âmbar; balões volumétricos; pipetas.

2.3. Analitos determinados

Os medicamentos veterinários selecionados para o estudo foram: cloranfenicol; trimetoprima; albendazol; mebendazol; tiabendazol; claritromicina; eritromicina; haloperidol; sulfadiazina; sulfametazina; sulfametoxazol; amoxicilina e penicilina G. Os LMRs desses compostos e suas estruturas podem ser visualizados na tabela 1S, que encontra-se no material suplementar.

2.4. Método analítico utilizado

O método de preparo de amostra adotado trata-se de uma modificação do método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) e determinação cromatográfica por LC-ESI-MS/MS proposto por Arias.²⁸

2.5. Preparo de amostra

O método consistiu numa primeira etapa de pesagem de 10 g da amostra e adição do surrogate sulfametoxazol-D4 $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$. Em sequência foi acidificado a amostra com $100 \mu\text{L}$ ácido acético (CH_3COOH), logo a seguir foi adicionado 10 mL de ACN; seguido de agitação manual por 15s e agitação em vórtex por 1min. Em seguida foi adicionado 4 g de MgSO_4 e repetidas as agitações; logo após o material foi centrifugado por 5 min a 7000 rpm. Foi transferido uma alíquota de 2 mL do sobrenadante para um tubo de polipropileno, com capacidade para 15 mL, contendo 50 mg de quitosana e 150 mg de MgSO_4 e foi repetidas as agitações e centrifugação. Em seguida 1 mL do extrato foi transferido para vial, sendo que apenas $10 \mu\text{L}$ foram injetados no sistema cromatográfico.

2.6. Determinação cromatográfica

O equipamento utilizado nas análises foi um Cromatógrafo a líquido Alliance Separations modelo 2695 Waters, equipado com amostrador automático, bomba quaternária, sistema de degaseificação, separador de massas, Micromass® Quatro Micro™ API Waters, com fonte API, utilizando o modo de ionização por Electrospray, sistema de aquisição de dados através do software Masslynx 4.0 Waters.

A separação cromatográfica foi realizada em uma Coluna analítica XTerra® MS C18 $3,5 \mu\text{m}$ 144 \AA (50x 3mm d.i) (Waters, EUA). Os componentes da fase móvel foram ACN e água ultra-pura, ambas acidificadas à 0,1% com ácido fórmico, com eluição no modo de gradiente, as condições foram 95% de água ultra-pura, com vazão de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$, manteve-se essas condições por 12 minutos, em seguida alterou-se para 95% de ACN, com vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, por 1 minuto, após retornou-se para as condições iniciais até completar-se 20 minutos.

2.7. LDi, LQi,, LQm , CCa e CCβ do método

O método validado por Arias²⁸ possui um limite de detecção instrumental no intervalo de 0,3 á 16,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (LD_i) e um limite de quantificação instrumental no intervalo de 1 á 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (LQ_i). O limite de quantificação do método (LQ_m) representa a menor concentração avaliada com recuperação entre 70 e 120%, com RSD<20%. Os valores de LQ_m e LQ_i foram os mesmos para todos os analitos. Destaca-se que somente para a amoxicilina e a penicilina G obteve-se um LQ_m superior ao LMR estabelecido pela legislação. No método obteve-se um LQ_m para o cloranfenicol de 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.²⁷

Destaca-se que para os compostos que não apresentam LMR ou que apresentam um LQ inferior ao LMR, não realizou-se o processo de avaliação CCa e CCβ, visto que para isso é necessário a fortificação das amostras nos níveis do LMR²⁸. Os CCa determinados encontra-se no intervalo de 45,8 á 112,8, em relação ao CCβ os valores estão no intervalo de 51,7 á 125,6.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise realizada detectou-se a presença de Albendazol, acima do LQ_m, em uma única amostra oriunda de Nova Prata do Iguaçu (PR), na concentração de 49 $\mu\text{g kg}^{-1}$, como pode ser visualizado na Figura 1. Porém, ressalta-se que a concentração de albendazol detectada é inferior ao LMR de 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Sendo a amostra própria para comercialização e consumo, segundo a legislação.⁵

Destaca-se que outros trabalhos já detectaram esse composto em amostras de leite e derivados, no ano de 2012 Aguilera e colaboradores detectaram o albendazol, em alimentos para bebes em níveis traço com uma concentração <3,5 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.²⁹ Já no ano de 2013 Tsiboukis e colaboradores determinaram o composto em leite cru nas concentrações de 5,0-71,8 $\mu\text{g Kg}^{-1}$.³⁰

Ressalta-se que o albendazol (carbamato de benzimidazol) é um antiparasitário, de amplo espectro, pertencente a classe dos benzimidazóis, cuja estrutura pode ser observada a seguir.

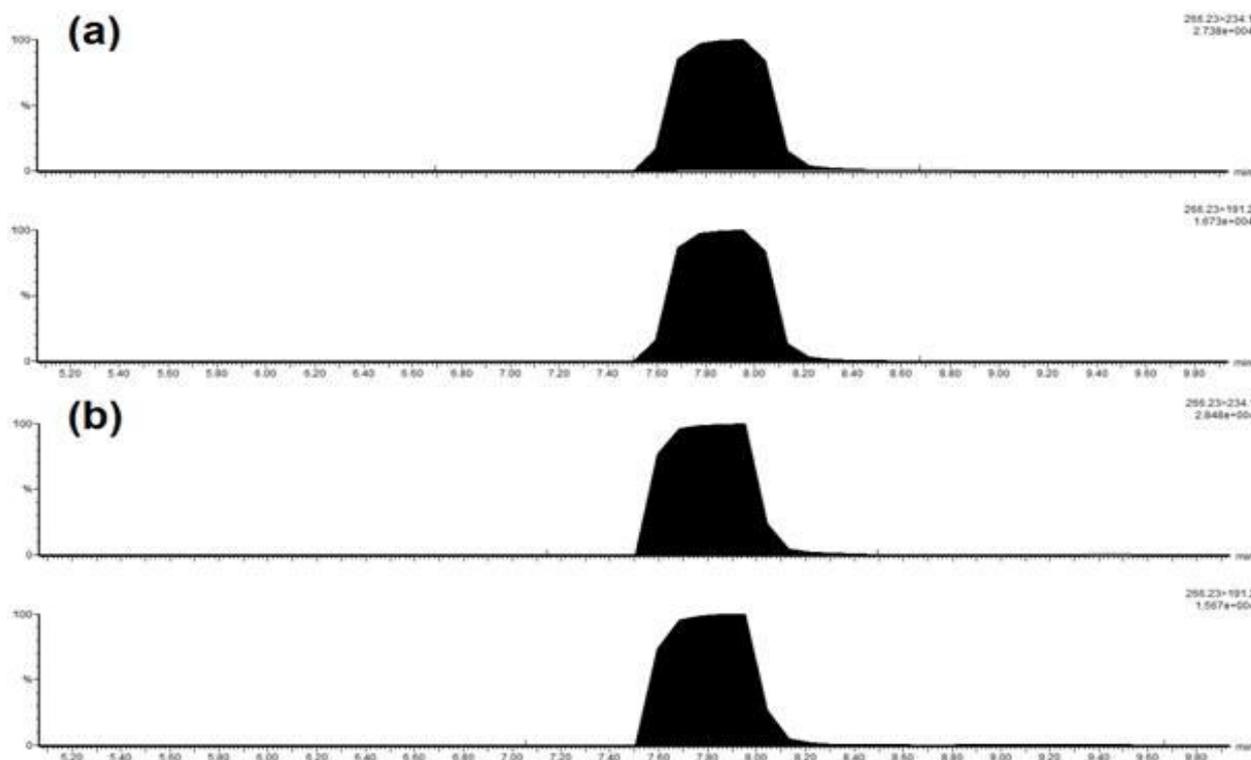


Figura 1. Cromatogramas do RMR (a) albendazol no padrão no extrato $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (b) amostra positiva para o albendazol.

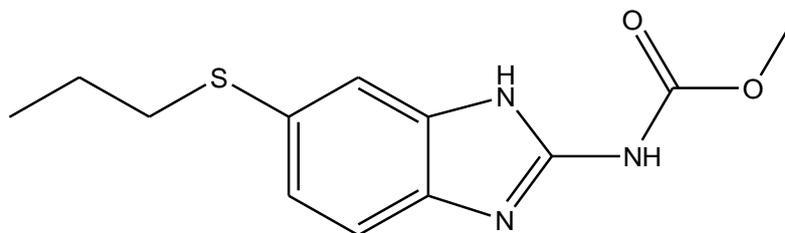


Figura 2. Estrutura do albendazol.

Esse fármaco é amplamente utilizado em gados, aves e na aquicultura devido à eficácia e baixa toxicidade para o hospedeiro.²¹ O albendazol tem seu uso aprovado nos EUA para tratar cisticercose e doença hidática. Destaca-se que esse fármaco é utilizado no tratamento de parasitos gastrinestestinais em diversas espécies de animais, entre eles os bovinos.

Este composto é responsável por uma série de alterações metabólicas, que resultam na morte dos helmintos, principalmente nematódeos e larvas de céstodeos. O mecanismo de ação desse princípio ativo é a inibição da glicose para o parasito (impedindo a metabolização) por meio da interrupção da polimerização da turbulina. Esse fármaco inibe também a enzima

fumarato redutase mitocondrial, o desacoplamento da respiração e da síntese de ATP, não ocorrendo produção energética para o parasito.^{25, 26}

Casos de intoxicações humanas ocasionam desconfortos gástricos, diarreia, cefaleia e tonturas, febre, e fadiga. Além disso, destaca-se que a ingestão desse composto por gestantes pode ocasionar abortos ou contaminação do leite materno.^{26, 31, 32}

Destaca-se que as cidades em que realizou-se a coleta das amostras, localizam-se em regiões de fronteira o que pode facilitar o uso de produtos não licenciados no Brasil. Além disso, na região predomina a agricultura familiar, na qual normalmente os produtores de leite não recebem orientações sobre as boas práticas da pecuária leiteira.

CONCLUSÃO

A determinação de resíduos de medicamentos veterinários no leite é um fator que desempenha um importante papel para estimar-se a exposição da população e do ambiente a estes compostos. Destaca-se a necessidade de uma legislação que garanta a qualidade do leite produzido. Uma vez, que o consumo de resíduos de fármacos veterinários pode ocasionar danos a saúde humana.

Porém, observa-se que o monitoramento da contaminação do leite por medicamentos veterinários é incipiente em nossa região, fato que mostra a necessidade de trabalhos que tenham como objetivo compreender a contaminação por fármacos veterinários do leite produzido. O método se mostrou adequado para análise de resíduos de medicamentos veterinários em leite cru, pois foi possível quantificar o albendazol em concentração inferior ao LMR, além disso, o método utilizado mostrou-se simples, rápido e econômico.

Destaca-se que os dados desse trabalho servem como um alerta, pois, encontrou-se contaminação do leite por albendazol, que mesmo estando em uma concentração abaixo do LMR, pode ser um indício de desrespeito ao período de carência do medicamento, o que vai ao encontro das boas práticas da pecuária leiteira.

4. REFERÊNCIAS

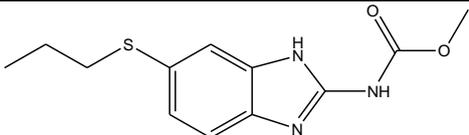
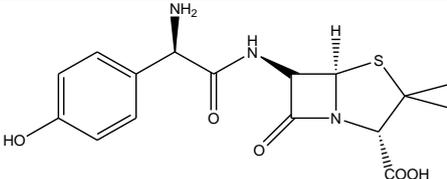
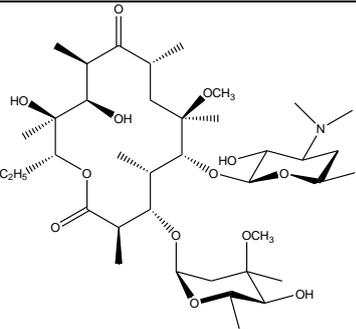
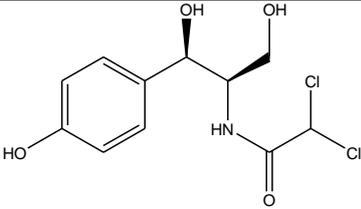
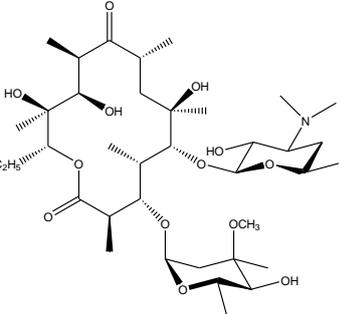
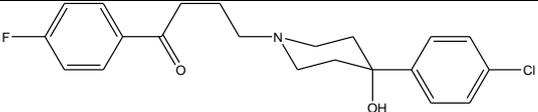
- ¹PEREDA, J.O. **Tecnologia de alimentos**: alimentos de origem animal 1^a ed. São Paulo: Ed. Artmed, p.279, 2005.
- ²PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da conjuntura agropecuária- leite**, 2014. Acesso em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf>. Acesso: 15/06/16.
- ³BANDEIRA, D.D. et al. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando método QuEChERS modificado e GC-MS/MS. **Química Nova**. 2014, v. 37, n. 5, p.900-907.
- ⁴EMBRAPA. Importância econômica. 2015. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/importancia.html>. Acesso em: 18 fev.2016.
- ⁵ANVISA (Agencia de Vigilância Sanitária). **Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal (pamvet)**. 2009. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 jan.2016.
- ⁶PACHECO-SILVA, É; SOUZA, J.R.D; CALDAS, E.D. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. **Química Nova**.2014, v. 37, p.111-122.
- ⁷AGUILERA-LUIZ, M. M. et al. Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**.2008, v. 1205, n. 1-2, p. 10-16.
- ⁸GAMBA, V. et al. Development and validation of a confirmatory method for the determination of sulphonamides in milk by liquid chromatography with diode array detection. **Analytica Chimica Acta**. 2009, v. 637, n. 1-2, p. 18-23.
- ⁹BILANDŽIĆ, N. et al. Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. **Food Control**. 2011, v. 22, n. 12, p. 1941-1948.
- ¹⁰LOPES, R. P. et al. Development and validation of an efficient and innovative method for the quantification of multiclass veterinary drugs and milk by using LC-MS/MS analysis. **Analytical methods**, 2013, v. 5, n.10, p. 5121.
- ¹¹KANG, J. et al. Multi-residue screening of 100 multi-class veterinary drugs in milk powder by liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Analytical Methods**. 2014, v.28, n.6, p.729-744.
- ¹²ZHANG,Y. D. et al Ocorrência de tetraciclina, sulfonamidas, sulfametazina e quinolonas em leite pasteurizado e leite UHT no mercado da China. **Food Control**. 2014, v.36,n.1, p.238-242.
- ¹³HAN, R. W. et al. Simultaneous determination of 38 veterinary antibiotic residues in raw milk by UPLC–MS/MS. **Food Chemistry**.2015, v. 181, p. 119-126.

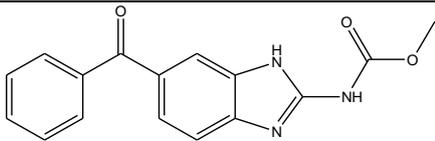
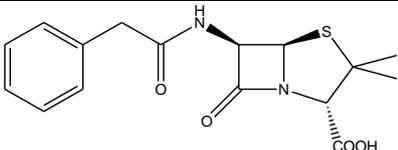
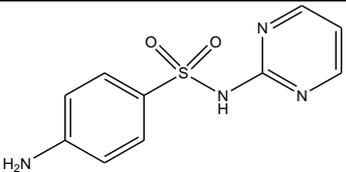
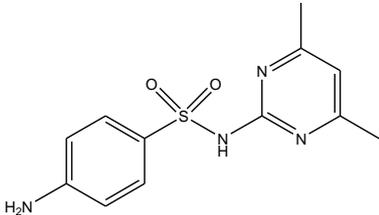
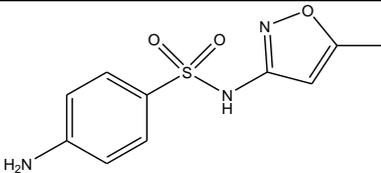
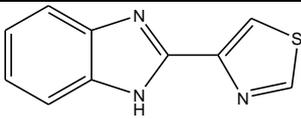
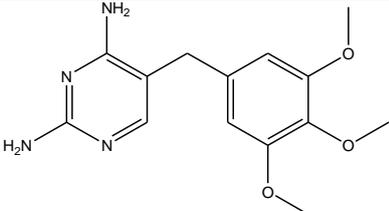
- ¹⁴FURLANI, R.P.Z. et al. Occurrence of macrocyclic lactones in milk and yogurt from Brazilian market. **Food Control**. 2015, v.48, p.43-47.
- ¹⁵MOTA, L. M. et.al. Uso racional de antimicrobianos. Medicina (Ribeirão Preto), 2010; v.43, n.2, p.164-72.
- ¹⁶MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> Acesso em: 20 jan.2016.
- ¹⁷ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária). **Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal (Pamvet)**. 2005. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 22 jan.2016.
- ¹⁸PARANÁ. Secretaria de saúde. Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal PAMvet/PR,2005. Disponível em:< <http://www.saude.pr.gov.br/> >. Acesso em: 20 jan.2016.
- ¹⁹PONTES -NETTO, D. et al. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná, **Acta Scientiarum**. 2005, v.27, n.1,p.145-151.
- ²⁰EVANGELISTA, T.J.; CRUZ, L.Z.; BRANDÃO, L.G.N. Resíduos de antibióticos no leite produzido na região do Quicé em Senhor do Bonfim, Bahia. **Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.** 2014, v. 1, n. 2, p. 119-124.
- ²¹FERREIRA, A.R.P. et al. Resíduos de antibióticos em leite in natura utilizado para processamento em laticínio localizado no município de Teresina – Piauí. **Acta Tecnológica**. 2014, v. 9, n.1, p. 30-49.
- ²²BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. **Resíduos de antibióticos no leite**. Comunicado Técnico. Minas Gerais, dezembro, 2005. Disponível em:< <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 23 jun.2016.
- ²³NASCIMENTO, G.G.F; MAESTRO,V; CAMPOS, M. S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos comercializado em Piracicaba, SP. **Rev. Nutr.** 2001, Campinas, v.14, n.2, p.119-124.
- ²⁴DI CORCIA, A.; NAZZARI, M. Liquid Chromatographic-mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. **Journal of Chromatography A**. 2002, v.974, n.1-2, p.53-89.
- ²⁵GOLAN, David E.et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- ²⁶KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**.10 ed . Porto Alegre: AMGHE,p.1060, 2010.
- ²⁷SHOOP, W.L; MROZIK, H; FISHER, M. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**. 1995, v.59, n.2, p.139-156.

- ²⁸ARIAS, J. L.O. **Emprego da quitosana no método QuEChERS para análise multirresíduo de medicamentos veterinários em leite**. 2016.139. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- ²⁹AGUILERA-LUIZ, M. M. et al. Multiclass method for fast determination of veterinary drug residues in baby food by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry . **Food Chemistry A**, v. 132, n.4, p. 2171-2180, 2012.
- ³⁰TSIBOUKIS, D. et al. Anthelmintics residues in raw milk. Assessing intake by a children population. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.6,n.1,2013.
- ³¹LI, L.et al. Determination of Albendazole and Metabolites in Silkworm Bombyx mori Hemolymph by Ultrafast Liquid Chromatography Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry. **PLoS One**. 2014, v.9, n.9, p.1-11.
- ³²ABDEL, A.M. T. et al. Albendazole and its metabolites in the breast milk of lactating women following a single oral dose of albendazole. **Br J Clin Pharmacol**. 2009, v. 68,n.5,p. 737-742.
- ³³CHEMSPIDER. The free chemical database. Disponível em:< <http://www.chemspider.com/>>. Acesso em: 15/07/2016.

5. ANEXO

Tabela 1S: Valores referentes aos LQ_m do método proposto por Arias(2016)²⁸ e LMR estabelecido pela legislação.³³

Princípio Ativo	Estrutura	LQ _m (μg Kg ⁻¹)	LMR (μg Kg ⁻¹)
Albendazol		1	100
Amoxilina		10	4
Claritromicina		1	-
Cloranfenicol		10	Proibido
Eritromicina		1	40
Haloperidol		1	-

Mebendazol		1	-
Penicilina G		5	4
Sulfadiazina		50	100
Sulfametazina		5	100
Sulfametoxazol		5	100
Tiabendazol		50	100
Trimetoprima		10	50