

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Lucia Helena Pinto Bastos

**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA AVALIAÇÃO
VISANDO A VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

Rio de Janeiro

2013

Lucia Helena Pinto Bastos

**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA AVALIAÇÃO
VISANDO A VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Vigilância Sanitária

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Silvana do Couto Jacob
Prof. Dr. Armi W. Nóbrega

Rio de Janeiro

2013

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Bastos, Lucia Helena Pinto Bastos

Resíduos de agrotóxicos em amostras de leite: uma avaliação visando a vigilância sanitária / Lucia Helena Pinto Bastos. Rio de Janeiro: INCQS /FIOCRUZ, 2013

266 p., il., tab.

Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária)– Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz 2013.

Orientadores: Dra Silvana do Couto Jacob e Dr. Armi Wanderley da Nóbrega.

1. Agrotóxicos. 2. Leite 3. Alimentação animal 4. Análise de Resíduos.
5. QuEChERS. 6. Avaliação da ingesta. I. Título

Lucia Helena Pinto Bastos

**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA AVALIAÇÃO
VISANDO A VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de
Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como
requisito parcial para obtenção do título de Doutor em
Vigilância Sanitária

Aprovado em ___ / ___ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr Josino Costa Moreira (FIOCRUZ)

Prof^a. Dr^a Izabela Miranda de Castro (EMBRAPA)

Prof^a. Dr^a Maria Helena W.M. Cardoso (INCQS)

Prof. Dr^a Silvana do Couto Jacob – orientadora (INCQS)

Prof^o. Dr. Armi W. Nóbrega - orientador (INCQS)

Dedico este trabalho a minha mãe Maria da Glória
a quem devo tudo que sou.

Com todo amor

A minha família: Eber, Livia e Lucas.

Obrigada pelo apoio de vocês.

Amo voces

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e saúde

A minha família, Eber, Livia e Lucas, pela compreensão e paciência na realização deste trabalho pelos diversos e longos períodos de ausência .

A minha irmã Ângela pelo apoio e cuidado com a nossa mãe, suprimindo minha ausência.

Aos sobrinhos Miguel, Simone e Diana pelo carinho e especialmente ao Miguel pelo apoio com a informática.

A Cristiane, pelo suporte em casa, sem o qual não conseguiria finalizar esse trabalho

A minha orientadora e grande amiga de longa data, Silvana do Couto Jacob , por todo apoio, carinho e amizade.

Ao meu orientador Armi Nóbrega pelo apoio e credibilidade no meu trabalho.

A Maria Helena, por sua ajuda, amizade, sugestões e companheirismo em todos os momentos deste trabalho.

A Adherlene, por toda ajuda e apoio técnico

A toda equipe do laboratório de resíduos de agrotóxicos do INCQS, do passado e do presente, que compartilharam das dificuldades e alegrias desta jornada.

A Raquel pelo apoio com as tabelas e carinho durante o período do trabalho.

Ao Dr. Eduardo Leal, diretor do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS / FIOCRUZ), pelo apoio no meu trabalho.

Ao Filipe Quirino e Maria Heloisa pelo apoio e compreensão e apoio em todas as etapas do trabalho.

As amigas de longa data : Elza, Marise e Marina obrigada pelo carinho e apoio

Ao amigo Roberto Cunha Carvalho engenheiro agrônomo pelo apoio na obtenção das amostras de alimentação animal e todo apoio técnico na área agronomica. Muito obrigada

A Eleonora pelo apoio nas traduções e amizade.

Aos funcionários da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária pela atenção dispensada.

A direção do Abrigo Teresa de Jesus pelo apoio a execução desse trabalho

A professora Lucília Caldas da UNIRIO pelo apoio e direcionamento no trabalho do Abrigo

Ao grupo da biblioteca especialmente ao Alexandre incansável no apoio as normas de formatação.

RESUMO

Leite - produto da secreção das glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos - encontra-se no topo da cadeia alimentar e pode ser contaminado por agrotóxicos provenientes de diversas fontes: pasto, água, subprodutos de hortifrutigranjeiros e de cereais, entre outros contaminantes. Os objetivos deste trabalho foram estudar estas contaminações e avaliar seu impacto para a Saúde Humana. Inicialmente foram estudadas e implementadas metodologias analíticas usando cromatografia a gás com detector fotométrico de chama – CG-DFC -, espectrometria de massa sequencial após a extração dos resíduos presentes com o método QuEChERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de leite e de alimentação animal (AA). Finalmente, foi avaliada preliminarmente a ingestão de resíduos de agrotóxicos provenientes do leite e de produtos lácteos consumidos por crianças de uma instituição pública na cidade do Rio de Janeiro. Os estudos concluíram que a AA deve ser monitorada por ser uma das mais importantes fontes de contaminação por agrotóxicos no leite. O método QuEChERS é uma técnica eficiente para extrair quantitativamente multiclasses de substâncias agrotóxicas das matrizes de interesse e o uso da CL-EM/EM responde ao desafio de analisar grande número de Ingredientes Ativos (IA) em matrizes complexas como AA, leite e produtos lácteos. Muitos resíduos de agrotóxicos foram identificados no leite, porém em concentrações inferiores aos LMRs estabelecidos pelo CODEX e Comunidade Européia, com exceção do carbendazim, que excedeu estes limites. Os programas nacionais de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite são insuficientes para garantir a segurança do seu consumo. Grande número de diferentes IA foram encontrados em níveis residuais em uma mesma amostra, sendo importante avaliar o risco desta presença múltipla em função do consumo de leite. É importante o estabelecimento de LMR nacionais para os agrotóxicos utilizados nos produtos consumidos pelos animais e a revisão dos limites estabelecidos para o leite.

Palavra chave: Alimentação animal. Ingesta aguda e crônica. Leite. QuEChERS Resíduo de agrotóxicos.

ABSTRACT

Milk – the product of the mammary glands of female mammals - is on top of the food chain and may be contaminated with pesticides originated from different sources: pasture, water, and subproducts of fruits, vegetables and cereals, among other contaminants. Since there are few data in Brazil about milk contamination with different chemical and agronomical classes of pesticides, permitted or not by Brazilian and international legislations, the aims of this study were the evaluation of these contaminations and their impact on Human Health. Initially, industrialized milk's probable pesticide contamination sources were investigated. Then, for the determination of pesticide residues in milk samples and Animal Food (AF), analytical methodologies were implemented and studied using gas chromatography with flame photometric detection – CG-DFC-, sequential mass spectrometry, after extraction of residues by the modified QuEChERS method and UPLC-ESI-MS/MS. Finally, the ingestion of pesticide residues in milk and dairy products consumed by children from an institution in Rio de Janeiro was preliminarily evaluated. The conclusion is that AF should be monitored, since it is one of the most important sources of milk contamination by pesticide; the QuEChERS method is an efficient technique to extract quantitatively multiclassed pesticides from matrices of interest and the use of CL-EM/EM made it possible to analyse a great number of AI in complex matrices, such as AF, milk and other dairy products. Many pesticide residues were identified in milk which were, nevertheless, below the MRL permitted by the CODEX and European Community (EC), except carbendazim, which was above these limits. It is important to establish MRL pesticide's national limits in AF and milk monitoring programs are insufficient to guarantee that the milk is safe for consumption. Many different AI were found in residual levels in the same milk sample and it is important that a risk evaluation be made due to this multiple presence.

Key-words: Feedstuff. Intake estimate. Milk .Pesticide residues.UPLC-MS/MS.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade anual per capita de leite, expressa em kg, em diferentes formas de apresentação, adquiridos para o consumo em domicílio, em grandes regiões brasileiras no período de 2008-2009.....	21
--	----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Comercialização dos agrotóxicos por classes agronômicas	21
Figura 2: Os dez ingredientes ativos mais comercializados no Brasil em toneladas	21
Figura 3: Produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil, de 2002 a 2011	22

LISTA DE SIGLAS

AA	Alimentação animal
ANDA	Associação Nacional para difusão de adubos
ANDEF	Associação Nacional de Defesa Vegetal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de perigos e pontos críticos de controle
ARfD	“ <i>Acute Reference Dose</i> ”.Dose de referência aguda
CA	Cana de açúcar
CAP	Capim pastejo direto
CODEX	Códex alimentarius
CG-DCE	Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons
CG-DFC	Cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama
DL ₅₀	Dose letal capaz de matar 50% da população testada
DP	Desvio padrão
D-SPE	Fase sólida dispersiva
EM	Efeito matriz
EM-AR	Efeito matriz com aumento de resposta
EM-DR	Efeito matriz com diminuição de resposta
EU	União Européia
FAO	Organização para alimentação e agricultura
FAL	Farelo de algodão
FAR	Farelo de arroz
FDA	Food Drug Administration
FL	Fórmula infantil
FS	Farelo de soja
FSOGM	Farelo de soja geneticamente modificada
FT	Farelo de trigo
IA	Ingrediente ativo

IDA	Ingestão diária aceitável
IDTM	Ingestão diária teórica máxima
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committe on Food Additives
JMPR	Comite de especialistas FAO/OMS sobre resíduos de pesticidas
LC	Cromatografia líquida
LC-ESI-EM/EM	Cromatografia líquida com fonte de ionização por eletronebulização acoplada à espectrometria de massa sequencial
L / ha	Litros por hectare
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências em Saúde
LDI	Limite de detecção do instrumento
LDM	Limite de detecção do método
LP	Leite em pó
LQI	Limite de quantificação do instrumento
LQM	Limite de quantificação do método
LMR	Limite máximo de resíduo
LMRs	Limites máximos de resíduo
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	Mercado comum do Sul
ME	Milheto
MO	Milho
MR	Material de referência
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
MS	Matéria Seca
OCL	Agrotóxicos da classe dos organoclorados
OP	Organofosforados
OPs	Agrotóxicos da classe dos organofosforados
OMS	Organização Mundial da Saúde
PARA	Programa Análise de Resíduos de Agrotóxicos

PBO	Butóxido de piperonila
pc	Peso corpóreo
PM	Peso médio
PNCR	Plano Nacional de controle nacional de resíduos
PNCRL	Plano Nacional de controle nacional de resíduos em leite
PO	Pó para preparo de bebida láctea
POF	Pesquisa de orçamentos familiares
PSA	<i>Primary secondary amine</i>
QA	Qualidade analítica
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged , Safe
QI	Quociente de inteligência
RA	Resíduo de Armazém
RC	Ração base cítrica
RF	Resíduo da Fazenda
RT	<i>Retention time</i> . Tempo de Retenção
RUC	Resíduo Úmido de cervejaria
SANCO	European Comission Health and Consumers
Scielo	Scientific Electronic Library Online
SE	Soja Extrusada
SE	Solução Estoque
S/N	Razão sinal ruído
SPE	Extração em fase sólida
SPE-D	Extração em fase sólida dispersiva
SIDRA	Sistema IBGE de recuperação automática
SINDAG	Sindicato Nacional das Industrias
SINITOX	Sistema Nacional de informações toxico-farmacológicas
SO	Soja
SOR	Sorgo
ST	Soja torrada
t _R (min)	Tempo de retenção em minutos
UAT	Ultra alta temperatura

UHT	Ultra High temperature
UPLC	Cromatografia Líquida de ultra eficiência
UPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de ultra eficiência com detecção massa-massa.
VR	Valor de referência

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 CONSUMO DE LEITE NO BRASIL	17
1.2 COMERCIALIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL.....	19
1.3 ORIENTAÇÃO AO PRODUTOR.....	22
1.4 AGROTÓXICOS E DANOS A SAÚDE.....	23
1.5 CONTAMINAÇÃO DO LEITE POR AGROTÓXICOS.....	24
1.5.1 Contaminação do leite por agrotóxicos através da alimentação animal e ou uso de produtos veterinários no gado	25
2 ESTABELECIMENTO DO LIMITE MÁXIMO RESIDUAL – LMR.....	25
2.1 LIMITES RESIDUAIS ESTABELECIDOS NA AA E PASTOS.....	26
3 MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM LEITE, NO BRASIL.....	27
3.1 MONITORAMENTOS DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL	28
4 OBJETIVO.....	29
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
5 RESULTADOS.....	30
5.1 MANUSCRITO 1 – Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional.....	32
5.2 MANUSCRITO 2 – Implementação de Método Analítico para determinação de Resíduos de Organofosforados em Leite por cromatografia a gás com Detector Fotométrico de Chama.....	43
5.2.1 Material Suplementar referente ao segundo manuscrito.....	51
5.3 MANUSCRITO 3 – Determinação de Resíduos de Agrotóxicos da Classe dos Organofosforados por CG-DFC em amostras de leite fluído e em pó.....	56
5.4 MANUSCRITO 4 – Uso da Espectrometria de Massa Seqüencial para avaliar Resíduos de Agrotóxicos em amostras de Alimentação Animal.....	75
5.5 MANUSCRITO 5 – Avaliação de resíduos de agrotóxicos na alimentação animal de subprodutos agroindustriais e cereais utilizando cromatografia líquida / espectrometria de massas.....	115
5.6 MANUSCRITO 6 – Otimização e Validação de método analítico de multirresíduos empregando QuEChERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em leite.....	137
5.6.1 Material Suplementar referente ao sexto manuscrito.....	166

5.7 MANUSCRITO 7 – Estimativa do consumo de leite e produtos afins entre crianças caracterizando a presença de possíveis resíduos de agrotóxicos.....	180
5.7.1 Material Suplementar referente ao sétimo artigo.....	233
6 DISCUSSÃO.....	247
6.1 No primeiro artigo.....	247
6.2 No segundo artigo.....	248
6.3 No terceiro artigo.....	249
6.4 No quarto artigo.....	251
6.5 No quinto manuscrito.....	252
6.6 No sexto manuscrito.....	253
6.7 No sétimo manuscrito.....	254
7 CONCLUSÃO.....	256
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	257
9 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	257
ANEXOS A –PARECER APROVADO.....	265
ANEXO B-Carta 078/11.....	266

1 INTRODUÇÃO

Leite é descrito como produto da secreção das glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos. A denominação leite, isoladamente, refere-se ao produto produzido pela vaca, os outros tipos de leite (cabra, ovelha e búfala), são nomeados de acordo com o animal de origem, sendo também comercializados no mercado nacional (BRASIL, 2002).

O leite assume papel importante na dieta devido ao alto valor biológico de seus nutrientes (proteínas, lipídios, glicídios, minerais e vitaminas). Entre esses nutrientes pode-se citar o cálcio, que além da importância na integridade óssea, participa da neurotransmissão, da contração muscular, da coagulação sanguínea e da regulação de enzimas como a tripsina (SANTOS et al., 2005).

Pesquisas tem demonstrado que o consumo de leite e seus produtos melhora a saúde cardiovascular, reduz os sintomas da síndrome metabólica em indivíduos obesos, promove a perda de peso mantendo a massa muscular do corpo e reduz a incidência de alguns tipos de câncer. A análise detalhada de estudos prospectivos em populações ocidentais duante longo período de tempo demonstra que maior consumo de produtos lácteos proporciona uma vantagem de sobrevivência global (PALMIST, 2010).

O leite possui vários tipos de classificação. Quanto à finalidade, o leite é classificado como leite de consumo (exposto à venda no estado natural) e leite para fins industriais (produção de produtos lácteos). Em relação a formas de consumo pode ser leite cru, pasteurizado e esterilizado conhecido como “longa vida” (MURADIAN, PENTEADO, 2007).

Na pasteurização o leite é submetido à temperatura de 72 a 75 °C, por um tempo de 15 a 20 segundos. No processamento UAT (Ultra Alta Temperatura), na embalagem identificada como UHT (Ultra High Temperatura), o leite homogeneizado é submetido a uma temperatura em torno de 130 °C durante 2 a 4 segundos por um processo térmico de fluxo contínuo imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 2002). Essas diferenças de processamento resultam em qualidade de produto semelhante, mas em diferentes formas de apresentação ao consumo. O

“leite longa vida”, após o processamento, pode ser estocado por até 180 dias, em temperatura ambiente. O leite pasteurizado tem o número de bactérias reduzido, com destruição das patogênicas e podendo ser armazenado por até 72 horas, desde que mantido e armazenado em temperaturas inferiores a 10 °C (BRASIL, 2002).

Quanto ao teor de gordura o leite se classifica em integral (teor total de gordura), padronizado (3%), semidesnatado (0,6 a 2,9%) e desnatado (max. 0,5%) (BRASIL, 2002).

Em relação ao teor médio de gordura, presente no leite cru, trabalho realizado em Goiânia mostrou valores médios na faixa de 3,82 a 3,90 (variação de aproximadamente 4%). Essas variações de teores de gordura estão relacionadas a fatores como: raça dos animais, variações climáticas, tipo de alimentação animal e horário de ordenha entre outras (COSTA et al., 1992). A comercialização do leite cru está proibida, no Brasil, desde 1950 (BADINI, 1996).

1.1 CONSUMO DE LEITE NO BRASIL

As fontes de dados que permitem avaliar, indiretamente, a tendência do consumo alimentar são as Pesquisas de Orçamentos Familiares - POF, realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (IBGE, 2009).

Essas pesquisas possibilitam tais análises por meio da estimativa de despesas efetuadas com a aquisição de alimentos para consumo no domicílio e os preços praticados no mercado local. Tais pesquisas têm algumas limitações, uma vez que não permitem informações sobre o consumo individual, a distribuição intra familiar dos alimentos e a quantidade consumida fora do domicílio. As POF foram realizadas nos seguintes períodos: 1961-63; 1987-88; 1995-96; e 2001-03 (IBGE, 2009) e a última correspondendo ao período de 2008-2009.

Na pesquisa POF 2008-2009, foram coletadas pela primeira vez, para uma subamostra de domicílios, as informações sobre ingestão alimentar individual de todos os moradores com 10 anos ou mais de idade de 13569 domicílios selecionados que corresponderam a 24,3% dos 55970 domicílios investigados. Para este período a POF foi reestruturada para considerar em destaque o estudo sobre o consumo alimentar efetivo e o estudo exploratório alimentar real dos alimentos dentro e fora do domicílio,

considerando a faixa etária infantil, escolar e aleitamento familiar (IBGE, 2009). Os resultados do consumo anual per capita de leite por regiões brasileiras encontram-se descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Quantidade anual *per capita* de leite, expressa em Kg, em diferentes formas de apresentação, adquiridos para o consumo em domicílio, em grandes regiões brasileiras no período de 2008-2009.

Produtos	Brasil (Kg)	Grandes Regiões (expressos em Kg)				
		Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
Leite e creme de leite	38,433	21,143	23,537	44,362	60,221	37,661
Creme de leite	0,384	0,272	0,204	0,414	0,712	0,385
Leite de vaca fresco	9,792	11,804	12,858	5,671	14,178	10,737
Leite de vaca pasteurizado	25,641	6,017	7,517	35,698	43,062	24,831
Leite em pó sem gordura	0,110	0,122	0,199	0,080	0,058	0,036
Leite em pó integral	0,800	1,837	1,551	0,386	0,248	0,236
Leite em pó não especificado	0,083	0,201	0,151	0,036	0,036	0,054

Fonte: IBGE, 2011. Diretoria de pesquisas, coordenação de índices de preços, estudo nacional de despesas de orçamentos familiares. Pesquisa POF 2008-2009, Regiões Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-oeste.

Nesta nova pesquisa (POF 2008-2009), o maior consumo de leite pasteurizado continuou a ser observado na região Sul (118 g) seguido da região Sudeste (97,8 g) correspondendo a 93 mL e 77 mL de leite pasteurizado respectivamente. Entretanto os valores obtidos neste período sofreram decréscimo quantitativo quanto aos obtidos na POF-2002-2003.

Ambos os valores (POF 2002-2003 e 2008-2009) encontram-se bem abaixo das expectativas nutricionais brasileiras, pois segundo a Organização Mundial de Saúde devem ser consumidas três porções de leite (considerando 100 mL por porção) e seus derivados por dia. Os adultos devem escolher leite e derivados com menores quantidades de gorduras, entretanto crianças, adolescentes e mulheres gestantes devem consumir preferencialmente leite integral (OMS, 2005).

Dados do POF têm sido utilizados para acessar a disponibilidade de nutrientes na população brasileira e para avaliar a exposição a substâncias químicas na dieta (CALDAS et al., 2006.a).

Heck e colaboradores (2002) avaliaram o consumo de leite, por alunos de escola de ensino médio em Santa Maria-RS. Os consumos obtidos foram 303 mL/dia e 425 mL/dia, respectivamente para leite cru e UHT.

1.2 COMERCIALIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL

No segundo semestre de 2010 e primeiro semestre de 2011, o mercado nacional de venda de agrotóxicos movimentou 936 mil toneladas de produtos, sendo 833 mil toneladas produzidas no País, e 246 mil toneladas importadas. Em 2010, o mercado nacional movimentou cerca de US\$ 7,3 bilhões e representou 19% do mercado global de agrotóxicos em 2011 houve um aumento de 16,3% das vendas, alcançando US\$ 8,5 bilhões (ANVISA, UFPR, 2012; SINDAG, 2011)

As lavouras de soja consumiram o maior volume de agrotóxicos com 44% do total, seguida do algodão (13%), cana de açúcar (12%), milho (9%), café (4%) e citros (3%) demais lavouras responderam pelos 15 % restantes (SINDAG, 2011).

Quanto à classificação toxicológica os agrotóxicos são classificados em quatro classes toxicológicas, definidas principalmente pela DL 50 oral, para ratos (toxicidade oral aguda capaz de matar 50% da população testada) dos produtos formulados sendo: classe I – extremamente tóxico - classe II - altamente tóxico – classe III – medianamente tóxico e classe IV - pouco tóxico (ANVISA, 2013).

Estão registrados, no Brasil, 1500 produtos comerciais com um total de 424 ingredientes ativos (IAs), sendo 476 herbicidas (100 IA), 398 inseticidas (98 IA), 383 fungicidas (106 IA), 160 acaricidas (52 IA), 26 nematocidas (10 IA), 15 bactericidas (6 IA), 18 inseticidas biológicos (7 IA) e 6 cupinícidas (3 IA). Destes, cerca de 673 estão no mercado; 56% são moderadamente ou pouco tóxicos (classes III e IV, faixas azul e verde, respectivamente) (SINDAG, 2011).

Em 2009, foram comercializadas 725 mil toneladas de produtos formulados. As principais classes são os herbicidas com 59% (429.693 toneladas), seguido por inseticidas e acaricidas com 21% (150.189 toneladas), fungicidas com 12% (89.889 toneladas) e outros com 8% (55.806 toneladas). Considerando os ingredientes ativos, foram comercializadas 335.816 toneladas, das quais 61% (202.554 toneladas) foram

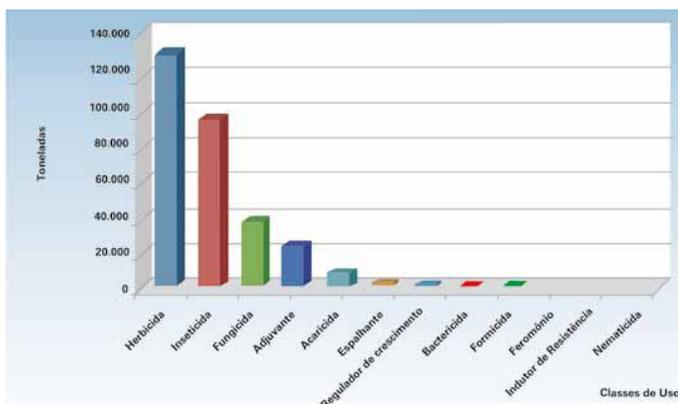
herbicidas, 18% (61.254 toneladas) inseticidas e acaricidas, 11% (37.934 toneladas) fungicidas e 10% (34.074 toneladas) outras classes (SINDAG, 2011).

O art. 41 do Decreto nº 4.074 de 2002 estabelece que as empresas que possuem registros de produtos agrotóxicos no Brasil ficam obrigadas a apresentar semestralmente aos órgãos registrantes relatório de comercialização desses produtos (BRASIL,2002). Os relatórios são enviados pelas empresas fabricantes semestralmente e quando divulgados permitem o acompanhamento das quantidades de agrotóxicos comercializados no país, bem como das importações e exportações realizadas desses produtos. O primeiro relatório de comercialização de produtos agrotóxicos produzidos mostrou dados de 2009 (IBAMA, 2009). Até a presente data não foi divulgado pelo IBAMA nenhum outro relatório.

O relatório consolidado do IBAMA informa os valores totais de ingredientes ativos comercializados no País nos períodos estipulados por lei. Os dados apresentados em 30 de janeiro contêm a comercialização do período de julho a dezembro do ano anterior e o relatório apresentado em 30 de julho contém os dados de janeiro a junho do ano vigente.

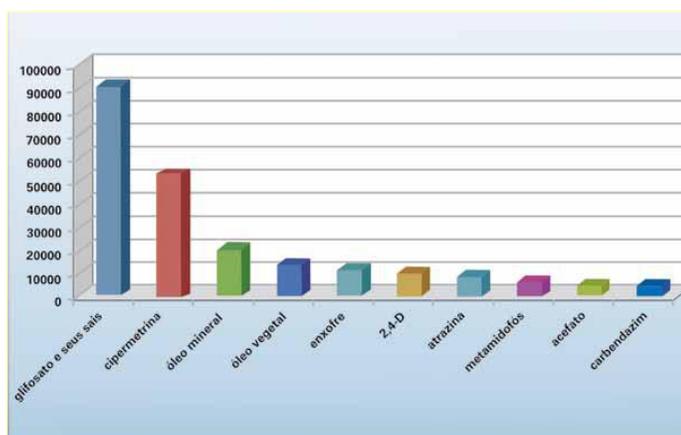
No ano de 2009, 90 empresas registrantes de produtos agrotóxicos e afins declararam informações no sistema do IBAMA. Na Figura 1 estão descritos os dez ingredientes ativos mais consumidos no Brasil no ano de 2009. A classe dos herbicidas continua sendo a mais vendida no Brasil, seguida pelo inseticida e fungicida. Na Figura 2 está descrito dados de comercialização dos agrotóxicos distribuídos por classes agronômicas.

Figura 1: Comercialização dos agrotóxicos por classes agronômicas



Fonte: IBAMA 2009

Figura 2: Os dez ingredientes ativos mais comercializados no Brasil em toneladas



Fonte:IBAMA, 2009

Em relação aos estados brasileiros que mais consomem agrotóxicos o relatório fornece uma classificação territorial por consumo. A ordem decrescente de consumo dos agrotóxicos por estado foram: Mato Grosso, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Maranhão.

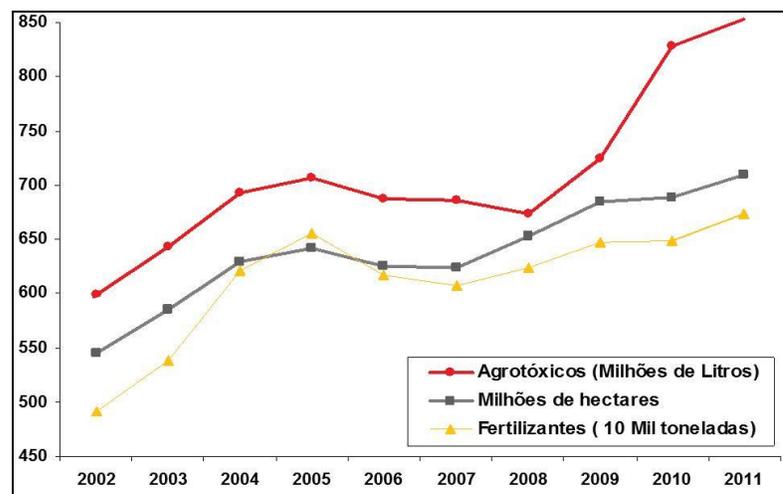
O consumo médio de agrotóxicos vem aumentando em relação à área plantada, passou-se de 10,5 litros por hectare (L/ha) em 2002, para 12,0 L/ha em 2011 (SINDAG, 2011; IBGE/SIDRA, 2011).

Atribui-se o aumento desse consumo a vários fatores: como a expansão do plantio da soja transgênica que amplia o consumo de glifosato, a crescente resistência

das ervas “daninhas”, dos fungos e dos insetos, demandando maior consumo de agrotóxicos e/ou o aumento de doenças nas lavouras, como a ferrugem asiática na soja que aumenta o consumo de fungicidas. Outro importante estímulo ao consumo advém da diminuição dos preços e isenção de impostos dos agrotóxicos, possibilitando aos agricultores utilização de maior quantidade do produto por hectare (PIGNATI, MACHADO, 2011).

Quanto aos fertilizantes químicos, a média de consumo por hectare continuou no mesmo nível no período. Na Figura 3 encontra-se representada a produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil, no período de 2002 a 2011 (IBGE-SIDRA, 2011).

Figura 3: Produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil, de 2002 a 2011.



Fonte: SINDAG, 2009 e 2011; ANDA 2011; IBGE/SIDRA, 2011; MAPA, 2012.

1.3 ORIENTAÇÃO AO PRODUTOR

Quanto a orientação técnica oferecidas aos agricultores o censo agropecuário brasileiro (IBGE, 2006) identificou que a maioria dos estabelecimentos onde houve utilização de agrotóxicos não recebeu orientação técnica (785 mil ou 56,3%), e apenas 21,1% (294 mil) a receberam regularmente. Há pouca rotação de culturas nas

propriedades (641 mil ou 12,4%) e outras práticas alternativas como: controle biológico (67 mil ou 1,3 %), queima de resíduos agrícolas e de restos de cultura (45 mil ou 0,9%), uso de repelentes, caldas, iscas entre outros (405 mil ou 7,8%), responsáveis pela diminuição do uso de agrotóxicos foram pouco utilizadas.

Nos estabelecimentos onde houve aplicação de agrotóxicos, 77,6% dos responsáveis (1,06 milhão) declararam ter ensino fundamental incompleto (1º grau) ou nível de instrução menor e 15,7% não sabem ler e escrever (216 mil). Como as orientações de uso de agrotóxicos que acompanham estes produtos são de difícil entendimento, o baixo nível de escolaridade, está entre os fatores socioeconômicos que potencializam o risco de intoxicação (IBGE, 2006) e uso inadequado dos produtos gerando entre outras conseqüências a contaminação dos alimentos produzidos.

Trabalho de Silva TPP e colaboradores (2012) identificaram a ausência de percepção de perigo no uso de medicamentos veterinários por trabalhadores da pecuária leiteira, os autores também identificaram a falta de percepção de possível contaminação dos produtos quando uso em desacordo as recomendações dos fabricantes.

1.4 AGROTÓXICOS E DANOS A SAÚDE

A incidência de problemas de saúde relativos à utilização de agrotóxicos com contaminação por organoclorados – OCL – começou a ser notificada a partir dos anos sessenta. Os organoclorados, salvo exceções, tiveram seu uso proibido no Brasil em 1985 (Brasil, 1985) quando a partir deste período os organofosforados – OPs – e carbamatos passaram a ser os agrotóxicos mais utilizados no mundo (ARAÚJO et al., 2007).

A partir deste período tem aumentado o relato de intoxicações por OPs, por efeitos tóxicos pela exposição aguda ou crônica, mesmo a baixas doses (KAN et al., 2007)

O Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas – SINITOX, criado em 1980 e vinculado à Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, possui a função de fornecer informação e orientação sobre intoxicações, assim como sobre a toxicidade

das substâncias. A partir de 1999 o SINITOX considera casos de intoxicação causados por 17 agentes tóxicos, dentre eles os agrotóxicos (SINITOX, 2013).

A categorização dada pelo SINITOX para o registro é: uso agrícola, agrotóxicos de uso doméstico, produtos veterinários e raticidas; entretanto, dentro de uma classificação única, os agrotóxicos, no período de 1999 a 2003, são o terceiro principal agente tóxico em relação ao número de casos de intoxicação humana registrada no Brasil. Os resultados apresentam perfis diferentes para as intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola e por produtos veterinários. No ano de 2007 este cenário se modifica passando os agrotóxicos para o segundo lugar em agentes de intoxicação (SINITOX, 2013) e se mantendo nessa posição até o ano de 2010 quando foram registrados 4785 casos de intoxicação por agrotóxicos de uso agrícola, 2099 agrotóxicos de uso doméstico e 811 produtos veterinários (SINITOX, 2013).

O efeito crônico dos agrotóxicos na saúde humana não tem sido caracterizado de forma adequada tendo em vista que os efeitos tardios de alguns desses componentes podem surgir após anos de exposição (PORTO, SOARES, 2012). Vários trabalhos associam efeitos nocivos a saúde com exposição crônica a agrotóxicos relacionando a casos de depressão, suicídios, desreguladores endócrinos, vários tipos de câncer entre outras doenças (FREIRE, KOIFMAN, 2013; INIGO-NUÑEZ et al., 2010, PIRES et al., 2005).

1.5 CONTAMINAÇÃO DO LEITE POR AGROTÓXICOS

Entre outros alimentos o leite encontra-se no topo da cadeia alimentar sendo um marcador da contaminação ambiental (RODRIGUES et al., 2011). A utilização indiscriminada de agrotóxicos em alimentos, na medicina veterinária, no tratamento de ectoparasitos, bem como a contaminação do meio ambiente, especificamente da água e dos pastos, tem provocado um aumento na quantidade de resíduos no leite. A contaminação alimentar tem sua origem nos tratamentos e produtos aplicados às plantas através de pulverizações ou indiretamente através de produtos residuais no solo como herbicidas (combate ervas daninhas), nematicidas (combate nematóides) e acaricidas (combate ácaros) (GONZÁLEZ-RODRIGUES, 2005). Outra possível fonte de

contaminação são os domissanitários utilizados nos currais e estabelecimentos de produção leiteira.

1.5.1 Contaminação do leite por agrotóxicos através da alimentação animal e ou uso de produtos veterinários no gado.

Estudos de “*carry-over*” (quantidade excretada por dia através do leite ou depositada em tecido animal / quantidade em diferentes épocas) estão descritos em leite de vaca, para 10 agrotóxicos da classe dos organoclorados, 2,4-D, deltametrina e diazinona. Nesses trabalhos foi observada a presença residual destas substâncias no leite, após ingestão animal (KAN, MEIJER, 2007).

A transferência de contaminantes da alimentação animal (AA) ocorre e deve ser evitada utilizando-se as Boas Práticas Agrícolas ou de fabricação. A remoção de um alimento contaminado pode ser tecnicamente viável, mas raramente o será economicamente. Incidentes poderão ocorrer, pois manter o controle sobre o grande número de substâncias em todas as circunstâncias é uma ilusão (KAN, 2009).

2 ESTABELECIMENTO DO LIMITE MÁXIMO RESIDUAL – LMR

No Brasil a ANVISA é responsável pela condução da avaliação de risco da exposição humana a substâncias que possam deixar resíduos em alimentos. Internacionalmente, procedimentos de avaliação do risco são conduzidos pela Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) para subsidiar o estabelecimento de padrões alimentares pelo *Codex Alimentarius*.

O JECFA (*Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives*) avalia questões relativas a drogas veterinárias e o JMPR (*Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues*) as relacionadas a resíduos de agrotóxicos (JARDIM; CALDAS, 2009).

Os agrotóxicos podem deixar resíduos em alimentos gerando a necessidade do estabelecimento desses LMRs. O LMR é a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico, expresso em ppm ou mg.kg^{-1} , que pode estar legalmente presente nos alimentos em decorrência da aplicação adequada numa fase específica desde sua produção até o consumo (BRASIL, 2002).

Os critérios para estabelecer o LMR de resíduos de agrotóxicos em alimentos estão relacionados a estudos supervisionados de campo, de acordo com as boas práticas agrícolas. Estudos desse tipo fornecem dados de resíduos de agrotóxicos e drogas veterinárias durante o processo de registro para o estabelecimento de LMR nacionais ou ao JMPR para recomendação de LMR ao *Codex Alimentarius* (JARDIM; CALDAS, 2009).

A competência para estabelecer LMRs em alimentos seja de agrotóxicos, medicamentos veterinários, contaminantes e aditivos, são do Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013). No caso destes não estarem estabelecidos por esse Ministério, utiliza-se os internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes nas Diretivas da União Européia e os utilizados pelo FDA/USA (BRASIL, 1999).

O *Codex Alimentarius* (CODEX) (CODEX, 2012) e a Comunidade Européia (EU, 2012) estabelecem limites residuais de agrotóxicos no leite. No Brasil esses limites são estabelecidos para um número restrito de agrotóxicos pertencentes as classes químicas dos carbamatos (total 7), organoclorados (total 11), organofosforados (total 12) e piretróides (total 6). Esses estabelecidos somente para fins de monitoramento em programa de resíduos em leite (BRASIL, 2011).

2.1 LIMITES RESIDUAIS ESTABELECIDOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL E PASTOS

A alimentação animal (AA), uma das grandes fontes de contaminação do leite, está surgindo como um ponto crítico de controles nos processos da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC, desta forma vários países já possuem limites e controle de resíduos de agrotóxicos estabelecidos para a alimentação animal (KAN; MEIJER, 2007).

O CODEX possui LMR especificado para um grande grupo de alimentos com uso em AA entre essas culturas forrageiras, leguminosas, frutas, palhas e subprodutos de cereais, correspondendo a um total de cerca de 200 produtos (CODEX, 2013). Na EU diferentemente dos outros produtos hortifrutigranjeiros, o LMR não está unificado e regulamentado em todos os países do bloco para resíduos de AA. Assim, como

exemplo, agrotóxicos permitidos em torta de canola dentro dos 17 países membros podem variar, quanto ao número de IA permitidos, entre 5 a 10 países do bloco com quantidades de IA permitidas a torta de canola de até 41 diferentes resíduos de agrotóxicos de diferentes classes químicas. Para o milho são permitidos até 28 diferentes resíduos de agrotóxicos dentro dos países pertencentes a CE (EU, 2010).

3 MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM LEITE, NO BRASIL

Uma revisão sobre os trabalhos de monitoramento realizados em leite, no Brasil no período de maio de 2002 a 2010, encontra-se publicado no artigo: *“Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional”*, publicado no Caderno de Saúde Coletiva, ano 2011 (primeiro trabalho publicado) (BASTOS et al., 2011).

Depois desse período as análises de resíduo de agrotóxicos continuaram sendo realizadas no programa nacional de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem animal (PNCR). O quantitativo de amostras de leite por classes químicas avaliadas foram: 79 amostras da classe dos carbamatos (7 IA) e 81 amostras de leite para a classe dos organofosforados (12 IA).

Os IA da classe dos carbamatos avaliados foram: Carbaril, carbofurano, metomil, propoxur, aldicarbe, oxamil e metiocarbe e os IA da classe dos organofosforados foram: acefato, azinfós-etílico e metílico, clorpirifós-metil, diazinona, metamidofós, mevinfós, parationa, pirimifós-metílico, pirimifós-etílico e metidationa. Não foi reportada a presença de nenhum resíduo para as substâncias avaliadas, dentro do LMR estabelecido, para o programa no ano de 2010 (BRASIL, 2011).

Trabalho de Fagnani e colaboradores (2011) avaliaram por CG-DCE , 30 amostras de leite cru provenientes de 28 propriedades leiteiras e dois tanques de resfriamento comunitários onde são recolhidos o leite de determinado grupo de fazendeiros. Os agrotóxicos da classe dos organofosforados avaliados foram: clorpirifós, diazinona, diclorvós, dimetoato, disulfotom, etiona, fentiona, forato, fosadona, malationa, metamidofós, mevinfós, parationa metílica, monocrotofós e triclorfom da

classe dos carbamatos foram avaliados: aldicarbe, bendiocarbe, carbaril, carbofurano, carbosulfan, metomil, propoxur e tiodicarbe.

Foram identificados em (%) de amostras analisadas os seguintes agrotóxicos: fentiona (33,3), dimetoato (25), coumafós (8,33) e malationa (8,33). Em algumas amostras foram identificadas mais de um resíduo por amostra. As concentrações obtidas de agrotóxicos nas amostras, foram inferiores ao LMR estabelecido pelo CODEX e EU. Os autores não reportaram a validação do método utilizado e a confirmação dos analitos encontrados.

Trabalho de Avancini e colaboradores (2013) avaliaram cerca de 20 organoclorados e isômeros em 100 amostras de leite cru proveniente do Mato Grosso do Sul. O método foi validado e os analitos obtidos, por CG-DCE, foram confirmados utilizando uma segunda coluna cromatográfica com polaridade diferente. Foram reportados resultados acima do LMR estabelecido pelo MAPA e Codex para os agrotóxicos: aldrin + dieldrin; dieldrin, Σ clordane. Em 1985 os organoclorados tiveram o seu uso proibido no Brasil, exceção ao endosulfam permitido em café e outras culturas somente até 2013, quando também terá o seu uso descontinuado (BRASIL, 1985).

3.1 MONITORAMENTOS DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL.

AA podem ser misturas complexas que incluem constituintes proveniente de moagem de cereais como subprodutos constituídos de cascas, sementes e rejeitos de produtos da alimentação humana. A esses podem ser adicionado vitaminas, sais minerais, gorduras, e outras fontes nutricionais e de energia. Mesmo as matrizes à base de cereais, menos complexas contêm muitos subprodutos atípicos com grande conteúdo de água, tais como frutas e vegetais. As dificuldades com a análise de amostras de AA são causadas pelo fato que essas matrizes são sobrecarregadas com grande quantidade de interferentes no extrato (EU, 2010).

No Brasil não há programas oficiais para monitoramento de resíduos em amostras de AA. Foi feita uma revisão bibliográfica de artigos publicados nos últimos 05 anos nas fontes de busca : SciElo, LILACS e a rede mundial de computadores (internet). Foi obtido como resultado a pesquisa o trabalho de Fagnani e colaboradores

(2011) que avaliou 12 diferentes tipos de AA quanto a presença de nove agrotóxicos da classe dos organofosforados e carbamato utilizando CG-DCE. Os autores encontraram nas amostras de AA resíduos dos agrotóxicos: dimetoato, diazinona, parationa metílica, malationa, fentiona e malationa. Não foi reportado pelos autores a validação e confirmação dos resultados obtidos nas amostras de AA.

4 OBJETIVO

Estudar a contaminação do leite, por resíduos de agrotóxicos de diferentes classes químicas e agrônômicas de uso permitido ou não na legislação nacional e internacional avaliando o impacto para a Saúde humana.

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Selecionar agrotóxicos a serem avaliados considerando a possibilidade da presença de seus resíduos no leite.
2. Validar e implementar métodos analíticos para a avaliação desses resíduos em leite, buscando níveis de quantificação compatíveis com os LMRs estabelecidos no Brasil, *Codex alimentarius* e Comunidade Européia; utilizando requisitos de qualidade analítica estabelecidos em órgãos acreditadores nacionais e normas internacionais para amostras de leite e AA.
3. Analisar amostras de leite disponíveis no mercado local quanto à presença de resíduos de agrotóxicos de diferentes classes químicas para as quais as técnicas analíticas foram validadas.
4. Avaliar o risco proveniente da ingestão de resíduos de agrotóxicos presentes em amostras de leite, consumidas por uma população específica, em um abrigo para crianças. Estudo de caso.
5. Sugerir ações de vigilância sanitária a luz dos resultados obtidos.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesse trabalho de tese são apresentados em formato de coletânea de artigos científicos, com a apresentação de sete Manuscritos incluindo uma parte da introdução. O primeiro (Manuscrito 1): **Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional** (BASTOS et al., 2011) (publicado)¹; o segundo (Manuscrito 2): **Implementação de Método Analítico para determinação de Resíduos de Organofosforados em Leite por Cromatografia a gás com Detector Fotométrico de Chama** (BASTOS et al., 2012) (publicado)²; o terceiro (Manuscrito 3) **Determinação de resíduos de agrotóxicos, em amostras de leite, da classe dos organofosforados por CG-DFC** (BASTOS et al., 20xx) (a ser submetido)³; O quarto (Manuscrito 4): **Uso da Espectrometria de massa seqüencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal** (BASTOS et al., 2013) (publicado)⁴; o quinto (Manuscrito 5): **Avaliação de resíduos de agrotóxicos na alimentação animal em subprodutos agroindustriais e cereais utilizando cromatografia líquida / espectrometria de massas** (BASTOS et al., 20xx) (em elaboração)⁵; o sexto (Manuscrito 6): **Otimização e Validação de método analítico de multiresíduos empregando QuEChERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em leite** (BASTOS et al., 20xx) (em elaboração)⁶; o sétimo (Manuscrito 7): **Avaliação infantil da ingesta de resíduos de agrotóxicos em leite: Estudo de caso em instituição pública na cidade do RJ** (BASTOS et al., 20xx) (em elaboração)⁷.

¹ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., publicado no periódico “Cadernos de Saúde Coletiva”, 19 (1): p. 51-60, em 2011.

² Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., publicado no periódico “Química Nova”, v. 35, n° 8, p. 1657-1663 em 2012.

³ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico “Química Nova”.

⁴ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., aprovado para publicação no periódico “Revista Analytica”, v 64, p. 79-88 em 2013.

⁵ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico da área agrícola.

⁶ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico

⁷ Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico

5.1 MANUSCRITO 1 - Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional.

Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., publicado no periódico “Cadernos de Saúde Coletiva”, 19 (1): p. 51-60, em 2011.

Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional

Possible contamination sources of milk by agrotoxics and studies on monitoring their residues: a Brazilian national review

Lucia Helena Pinto Bastos¹, Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso²,
Armi W. Nóbrega³, Silvana do Couto Jacob⁴

Resumo

O presente estudo abordou o uso intensivo dos agrotóxicos no Brasil e sua influência na qualidade do leite consumido pela população brasileira. Através de revisão bibliográfica de 2001 a 2010 as principais substâncias utilizadas com diferentes finalidades na agropecuária foram identificadas, e seus perfis toxicológicos discutidos, com ênfase nos princípios ativos e seus produtos de degradação que possam estar presentes e contaminar o leite e os produtos lácteos. Mais de 477 substâncias ativas possuem uso permitido em produtos agrícolas e domissanitários pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Quanto aos produtos de uso veterinário, 380 formulações foram identificadas contendo 15 ingredientes ativos equivalendo a 9 classes químicas diferentes. Resultados de programas de monitoramento nacionais e outros trabalhos constatarem a presença de diversos princípios ativos em amostras de leite, e teores acima do limite máximo de resíduos (LMR) para a substância ivermectina. O estudo concluiu serem escassos os dados analíticos nacionais sobre substâncias provenientes das práticas agrícola e veterinária. Para maior eficiência os órgãos fiscalizadores deveriam se unir para a aprovação dos produtos a serem utilizados na agropecuária e na formação de redes laboratoriais de controle dessas substâncias em leite, de modo a garantir o produto alimentício de qualidade ao brasileiro e melhorias da saúde pública.

Palavras-chave: Leite, pesticidas, drogas veterinárias

Abstract

The present research aimed at investigating the intensive use of pesticides in Brazil and its influence in the quality of the milk consumed by the Brazilian population. Through a review of the literature from 2001 to 2010 the main substances used for different purposes have been identified and their toxicological profiles discussed with emphasis on their active agents and degradation products, which may be present and contaminate milk and dairy products. In Brazil more than 477 active substances are allowed to be used in agriculture and sanitary facilities by National Agency for Sanitary Vigilance (Anvisa). Regarding to the products for veterinary use, 380 formulations were identified containing 15 active ingredients equivalent to 9 different chemical groups. Results of national monitoring programs and other works have established the presence of several active ingredients in milk samples and levels above the maximum residue limits (MRLs) for ivermectin. This research concluded that the analytical data about substances from national agricultural and veterinary practices are rare. In order to improve their efficiency the supervising agencies should join for the approval of products to be used in agriculture as well as for the formation of laboratory networks to control these substances in milk and, thus to ensure a quality food product and improvements to the Brazilian public health.

Key words: Milk, pesticides, veterinary drugs

¹ Doutoranda em Vigilância Sanitária pelo Instituto Nacional de controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Tecnologista Pleno II do INCQS/Fiocruz. End.: Laboratório de resíduos de agrotóxicos em alimentos, bloco 2, sala 117 – Departamento de Química do INCQS/Fiocruz – Avenida Brasil, 4.365 – Mangueiras – 21040-900. Rio de Janeiro, Brasil.

² Doutora em Ciências. Analista Especializada II no INCQS/Fiocruz.

³ Doutor em Química. Professor-Associado II da Universidade Federal Fluminense (UFF). Assessor técnico do INCQS/Fiocruz.

⁴ Doutora em Química Analítica. Tecnologista Sênior do INCQS/Fiocruz.

Introdução

O uso de agrotóxicos é intensivo no Brasil, sendo um dos maiores mercados mundiais para esses produtos. No ano de 2009, cerca de 720 mil toneladas de produtos comerciais formulados foram vendidos, correspondendo a 330 mil toneladas de ingredientes ativos (Sindag, 2010). Dentre as classificações que recebem, os agrotóxicos são categorizados com relação à finalidade a que se destinam ou segundo os tipos de pragas que combatem. Quanto à finalidade de uso, encontram-se subdivididos para o uso na agricultura na erradicação de vetores transmissores de doenças contagiosas (agentes fitossanitários), uso como medicamentos veterinários e no uso doméstico (agrotóxicos domissanitários).

Quanto aos tipos de pragas que combatem são subdivididos para o uso nos animais invertebrados (insetos – inseticidas; ácaros – acaricidas; nematoides – nematicidas e moluscos – molusquicidas), nos animais vertebrados (roedores – rodenticidas e/ou raticidas; aves – avicidas e peixes – piscicidas), nos vegetais superiores (ervas daninhas – herbicidas culturais – reguladores de crescimento vegetal, desfolhantes e dessecantes) e nos vegetais inferiores (fungos – fungicidas e algas – algicidas) (Mídio & Martins, 2000).

A Tabela 1 apresenta o quantitativo de ingredientes ativos, utilizados no país por classes agronômicas de uso no período de 2005 a 2009. Dentre as classes com maior comercialização estão os herbicidas seguidos dos inseticidas e fungicidas.

Outra classificação dada aos agrotóxicos refere-se a sua classificação química, sendo as principais: os organoclorados (OCs), organofosforados (OFs), carbamatos (CARs), triazinas (TRIs) e piretroides (PIRs). Na classe dos OFs destacam-se principalmente os inseticidas e alguns herbicidas, entre os CARs os herbicidas e fungicidas; nas TRIs, os herbicidas e nos PIRs, os inseticidas (Mckinlay *et al.*, 2008).

A incidência de problemas de saúde relativos à utilização de agrotóxicos começou a ser notificada a partir dos anos 1960 com a contaminação por OCs. Esses tiveram seu uso proibido no Brasil em 1985 e a partir deste período os OFs e CARs passaram a ser os agrotóxicos mais utilizados no mundo (Araújo *et al.*, 2007) excetuando-se algumas substâncias

como: Endossulfan (culturas de café, cacau, algodão, soja e como preservante de madeira) e dicofol (cítricos e algodão).

Os herbicidas também tiveram um grande aumento de uso no Brasil como substituição à mão de obra humana no processo de capina. Agrotóxicos de várias classes químicas como organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretroides e outros, associam-se a efeitos neurológicos agudos quando em exposição a altas doses (Lacasanã *et al.*, 2010).

O Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX), criado em 1980 e vinculado à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) possui a função de fornecer informação e orientação sobre a toxicidade das substâncias e a incidência de intoxicações. Somente a partir de 1999 o SINITOX passou a considerar casos de intoxicação causados por 17 agentes tóxicos, dentre eles os agrotóxicos.

A categorização dada pelo SINITOX para o registro das intoxicações é: uso agrícola, agrotóxico de uso doméstico, produtos veterinários e raticidas, entretanto dentro de uma classificação única os agrotóxicos, no período de 1999 a 2007, são o segundo principal agente tóxico em relação ao número de casos de intoxicação humana registrada no Brasil. Os resultados apresentam diferentes perfis para as intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola e por produtos veterinários (Bochner, 2007). Para o ano de 2007 foi registrado um total de 6.260 casos de intoxicação com agrotóxicos de uso agrícola e 395 casos com produtos veterinários. Esses registros referem-se à contaminação aguda refletindo em sua maioria casos de exposição ocupacional de trabalhadores rurais, suicídios e acidentes domésticos envolvidos principalmente com crianças (SINITOX, 2010).

Envenenamento por resíduos de agrotóxicos em altos níveis de concentração em alimentos é relativamente raro (SINITOX, 2010), mas o efeito acumulativo, oriundo desses resíduos em alimentos em baixos níveis é responsável por diversos efeitos crônicos.

Os efeitos crônicos estão relacionados à possibilidade de associação entre exposição a agrotóxicos e doenças como cânceres (Jobim *et al.*, 2010), endocrinopatias, neuropatias entre outras (Waissmann, 2007). Dentre os cânceres mais proeminentes

Tabela 1 - Principais classes agronômicas de agrotóxicos comercializadas no Brasil.

Classes Agronômicas	Ingrediente ativo (t)				
	2005	2006	2007	2008	2009
Herbicidas	136.853	144.986	189.101	185.665	201.554
Inseticidas	36.347	33.750	42.838	51.118	37.934
Fungicidas	26.999	24.707	27.734	32.881	53.286
Acaricidas	7.416	11.685	14.583	14.524	7.968
Outras classes	24.617	23.588	29.775	28.449	34.074
Somatório das classes:	232.232	238.716	304.031	312.637	335.816

Fonte: SINDAG (2010)

encontram-se os info-hematopoiéticos, os hormônios dependentes (Ossondo *et al.*, 2009; Mckinlay, *et al.*, 2008) e o câncer na infância (Carozza *et al.*, 2009). Exposições crônicas a baixas doses também têm sido associadas a sintomas neuropsíquicos (Genius, 2008) e ao desenvolvimento de doenças degenerativas do sistema nervoso central (Colosio *et al.*, 2009). O uso dos agrotóxicos na agricultura moderna é a principal estratégia para o combate e prevenção de pragas agrícolas e consequente aumento da produção de alimentos, apesar disso os resíduos e traços desses princípios ativos, bem como seus produtos de degradação podem ficar nos alimentos.

Para que os agrotóxicos sejam utilizados, mantendo a segurança no alimento, é necessário que sejam seguidos padrões toxicológicos internacionais considerados seguros ao homem. Um desses parâmetros é a ingestão diária aceitável (IDA) também denominada dose de referência pela Environmental Protection Agency (EPA). Esses parâmetros sugerem a quantidade de substância presente em um dado alimento ou água que pode ser ingerida diariamente ao longo da vida sem que ocorram efeitos adversos à saúde (Jardim *et al.*, 2009). Cabe ressaltar que as fontes de alimentos devem representar todos os tipos de alimentos consumidos compreendendo tanto os da área vegetal, animal e bebidas.

Compete a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o acompanhamento das IDAs para os agrotóxicos registrados no Brasil para a condução da avaliação da possível exposição da população brasileira por tais substâncias, em alimentos. Internacionalmente, procedimentos de avaliação do risco são conduzidos pela Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) para subsidiar o estabelecimento de padrões alimentares pelo *Codex Alimentarius*.

O *Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) avalia questões relativas a drogas veterinárias e o *Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues* (JMPR) as relacionadas a resíduos de agrotóxicos (Jardim & Caldas, 2009).

O estabelecimento e a regulamentação de limites máximos de resíduos (LMR) em alimentos por agências governamentais de diversos países e da União Europeia têm sido frequentes na última década. Esses limites em geral são para garantir a segurança alimentar do consumidor e a regulamentação do comércio externo (Jardim *et al.*, 2009). Sendo assim, a competência para estabelecer LMRs em alimentos seja de agrotóxicos, medicamentos veterinários, contaminantes e aditivos, são do Ministério da Saúde (MS) por meio da ANVISA. No caso de estes não estarem estabelecidos por esse Ministério, utiliza-se os internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes nas Diretivas da União Europeia e os utilizados pelo FDA/USA (Brasil, 1999).

O alimento leite

Leite é o produto oriundo da ordenha ininterrupta de vacas sadias bem-alimentadas e descansadas. É descrito como produto da secreção das glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos (Brasil, 2002). Assume papel importante na dieta devido ao alto valor biológico de seus nutrientes (proteínas, lipídios, glicídios, minerais e vitaminas). Entre esses nutrientes destaca-se o cálcio, que além de possuir grande importância na integridade óssea, participa da neurotransmissão, da contração muscular, da coagulação sanguínea e da regulação de enzimas como a tripsina (Santos *et al.*, 2005).

O leite é um produto de alto consumo nacional, quando comparado a outros alimentos. As fontes de dados mais atuais que permitem avaliar, indiretamente, a tendência do consumo alimentar são as Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF), realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Essa pesquisa indicou que no período de 2002 a 2003 o consumo *per capita* nas regiões Sul e Sudeste foi de 110 e 109 mL respectivamente, sob a forma de leite pasteurizado (IBGE, 2010). Esse valor encontra-se bem abaixo das expectativas nutricionais brasileiras, pois segundo a Organização Mundial de Saúde devem ser consumidas três porções de leite (considerando 100 mL por porção) e seus derivados por dia (Brasil, 2005).

Outro estudo do Ministério da Saúde demonstrou que cerca de 50% de adultos da região Sudeste na faixa etária de 18 a 24 anos, consomem leite do tipo integral (Brasil, 2009).

Contaminação do leite

O produto leite pode sofrer contaminação por agrotóxicos por meio de diferentes fontes: a) contaminação de pastos, rações e cereais; b) contaminação do meio ambiente; c) uso de domissanitários nos currais e estabelecimentos de produção leiteira; d) uso de produtos veterinários no gado leiteiro (Kan, 2009; Kan & Meijer, 2007).

A contaminação de pastos e da alimentação animal como cereais tem sua origem nos tratamentos e produtos aplicados às plantas que podem ser contaminadas durante as pulverizações ou indiretamente por meio de produtos residuais no solo como herbicidas, nematicidas e acaricidas (González-Rodrigues, 2005). Os cereais mais utilizados na preparação de rações são o milho, a soja, sementes de algodão entre outras.

No Brasil existem hoje regulamentados pela ANVISA, 477 ingredientes ativos com o uso permitido em produtos agrícolas e domissanitários. Desses, 23 são agrotóxicos de diferentes classes químicas, com o uso permitido no pasto como herbicidas, para o combate a ervas daninhas, com seu LMR especificado (ANVISA, 2010).

Nas Tabelas 2 e 3 estão descritos os herbicidas, inseticidas e fungicidas respectivamente, com seus grupos químicos e LMRs permitidos em pastagens.

Em relação aos produtos veterinários utilizados no gado para o combate aos parasitos animais (antiparasitários), hoje são registrados pelo Ministério da Agricultura (MAPA) cerca de 380 diferentes produtos veterinários formulados contendo agrotóxicos, correspondentes a 15 diferentes ingredientes ativos de 9 diferentes classes químicas.

Os agrotóxicos presentes nos produtos veterinários estão distribuídos em 30 diferentes classes de uso terapêutico em animais, sendo que 6 dessas classes contém em sua composição um ou mais agrotóxico. As classes que os contém são: endectocidas (ação em endoparasitas e ectoparasitas), endoparasiticidas, ectoparasiticidas, hidratação e estimulante e medicação suporte, otimizadores das condições ambientais e outros (SINDAN, 2010). Endoparasitas são parasitos internos dos animais podendo ser nematódeos gastrointestinais e pulmonares.

Ectoparasitos são parasitos externos que infestam os animais como: larvas de insetos, piolhos, sarnas, carrapatos comuns ou piolhos mastigadores. Dentre esses ectoparasitas o carrapato *boophilus microplus* é um dos maiores obstáculos na pecuária bovina dos países localizados em áreas tropicais (Campos Júnior & Oliveira, 2005), e o seu controle está quase

exclusivamente relacionado ao tratamento químico com ectoparasiticidas de contato (Nolan, 1994).

A falta das boas práticas na aplicação de produtos veterinários levou ao uso inadequado desses, gerando populações de carrapatos com resistência a diferentes classes de agrotóxicos e a necessidade do uso de outros produtos químicos em curto espaço de tempo, dentro de uma mesma propriedade (Santos *et al.*, 2009). Na Tabela 4, estão relacionados os tipos de agrotóxicos, suas classes químicas e o número de produtos formulados que os contém com uso tanto na área animal como na vegetal.

No Brasil, havia em setembro de 2009 cerca de 10 ingredientes ativos com LMRs estabelecidos para a matriz leite, pela ANVISA. Atualmente não existem limites máximos residuais nacionais estabelecidos nesse alimento por essa instituição (ANVISA, 2010).

O MAPA estabelece LMRs em alimentos da área animal, para cerca de trinta agrotóxicos de diferentes classes químicas como: carbamatos, organoclorados e organofosforados. Os LMRs estabelecidos nessa legislação são em sua maioria aqueles referenciados pelo *Codex Alimentarius*, entretanto diferenças acontecem nas regulamentações para agrotóxicos com uso não permitido, no Brasil, valores de LMRs superiores aos sugeridos pelo *Codex Alimentarius* são estabelecidos para os agrotóxicos: mevinfós, pirimifós metil, pirimifós etil (classe dos organofosforados), carbofuran, oxamil e metiocarbe (classe dos carbamatos). Esses valores de LMRs estabelecidos

Tabela 2 - Herbicidas com uso permitido em pastagens.

Ingrediente ativo	Pastagens - LMR (mg/Kg)	Grupo químico
2,4D	300	Ácido ariloxialcanólico
Aminopiralde	300	Ácido piridiniloxialcanoico
Dicloreto de paraquate	5	Bipiridílico
Fluoxir-metilico	400	Ácido piridiniloxialcanoico
Glifosato	0,2	Glicina substituída
Metsulfurom-metilico	0,1	Sulfonilureia
Picloram	50	Ácido piridinocarboxílico
Tebutiurum	20	Ureia
Triclorpir-butotílico	52	Ácido piridinocarboxílico

LMR: limite máximo de resíduos.
Fonte: ANVISA, 2010.

Tabela 3 - Inseticidas e fungicidas com uso permitido em pastagens.

Ingrediente ativo	Pastagens - LMRs (mg/Kg)	Grupo químico
Carbaril	100	Metilcarbamato de naftila
Clorpirifós	2	organofosforado
Deltametrina	1	Piretroide
Fipronil	0,1 (semente)	Pirazol
Lambda-cialotrina	2	Piretroide
Malationa	135	organofosforado
Timetoxam	0,7 (foliar)	Neonicotinoide
*Triclorfom	60	organofosforado
*Carboxina	0,05 (sementes)	Carboxanilida

LMR: limite máximo de resíduos.
Fonte: ANVISA, 2010.

no Brasil podem variar de duas a cinco vezes dos valores recomendados pelo *Codex Alimentarius* (Brasil, 2010), podendo ser um problema de saúde pública.

Para que a avaliação de risco proveniente da exposição a tais substâncias através do leite possa ser efetuada com maior precisão são necessárias informações como:

a) se a substância deixa resíduo no leite; b) se substâncias com uso comum em outros produtos, como área vegetal, possuem seus resíduos monitorados; c) a toxicidade desse resíduo na saúde do consumidor; d) o potencial de exposição da população ao resíduo, relativo ao consumo do produto; e) o emprego de medicamentos veterinários e outros agro-

tóxicos de uso vegetal, dentro das boas práticas agrícolas (Brasil, 1999); f) disponibilidade de metodologias analíticas adequadas, dentro das normas de qualidade, com capacidade de gerar resultados analíticos do conteúdo de seus resíduos, no alimento, imediatamente após a liberação do registro do uso do agrotóxico.

Monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite no Brasil

O monitoramento consciencioso e completo de resíduos de agrotóxicos em alimentos é crucial para a avaliação dos riscos proveniente da contaminação alimentar é imprescindível para

Tabela 4 - Relação de agrotóxicos de uso permitido em produtos veterinários com uso permitido em gado.

Agrotóxicos	Classe (s) química	Usos na área vegetal	Produtos formulados na área animal com uso em bovinos por classe terapêutica
Abamectina	Avermectinas	Hortifrutigranjeiros	48 (endectocida)3 (ectoparasiticida)
Amitraz	Bis (arilformamidina)	algodão	2 (ectoparasiticidas)
Alfáclipermetrina	Piretroide	Citros e maça	26 (ectoparasiticidas)
		Batata, café, milho, soja e tomate	4 (ectoparasiticidas)
		Domissanitário	
Carbarila	Metilcarbamato de naftila	Hortifrutigranjeiros	6 (ectoparasiticidas)
Cipermetrina	Piretroide	Algodão, soja e milho	80 (ectoparasiticidas)/
Σ Π, Π e ζ			1 (endectocida)
Ciromazina	Triazinamina	Hortifrutigranjeiros.	1 (ectoparasiticidas)
		Domissanitários	
Clorfenvinfós	Organofosforado	Uso não permitido	6 (ectoparasiticidas)
Clorpirifós	Organofosforado	Algodão, cevada, milho, soja, sorgo.	26 (ectoparasiticidas)
		Hortifrutigranjeiros	
Cumafós	Organofosforado	Uso não permitido	5 (ectoparasiticidas)
Deltametrina	Piretroide	Hortifrutigranjeiros. Algodão, amendoim, cevada e soja	4(ectoparasiticidas)/
			1 (endoparasiticidas)
Diazinona	Organofosforado	Citros, maça.	9 (ectoparasiticidas)
		Domissanitários	
Didorvós	Organofosforado	Domissanitário	29 (ectoparasiticidas)
Diflubenzurom	Benzoilureia	Hortifrutigranjeiros.	2 (ectoparasiticidas)
		Domissanitário	
Etiona	Organofosforado	Hortifrutigranjeiros	3 ectoparasiticidas)
Fenitrothiona	Organofosforado	Maça, soja, trigo, algodão e cebola.	5 (ectoparasiticidas)
		Domissanitário	
Fluazurom	Benzoilureia	Não permitido	2 (ectoparasiticidas)
Flumetrina	Piretroide	Não permitido	2 (ectoparasiticidas)
Ivermectina	Avermectinas	Não permitido	2 (ectoparasiticidas)/
			57 (endectocida)
Metomil	Metilcarbamato de oxima	Hortifrutigranjeiros	3(ectoparasiticidas)
Permetrina	Piretroide	Hortifrutigranjeiros	6 (ectoparasiticidas)
		Domissanitários	
Propoxur	Metil-carbamato de fenila	Domissanitários	6 (ectoparasiticidas)
Spinosad	Biológico	Não permitido	2 (ectoparasiticidas)
Triclorfom	Organofosforado	Abacate, abacaxi, abóbora pastagens (60 mg/kg), carne 0,1 mg/kg	24 (ectoparasiticidas)
Zetacipermetrina	Piretroide	Arroz, batata, cebola, couve, milho, tomate. Domissanitários.	2 (ectoparasiticidas)

Fonte: SIDAN, 2010.

que ações da vigilância sanitária, na prevenção e controle dos riscos à saúde por meio do consumo de alimentos contaminados, sejam colocadas em prática (Jardim *et al.*, 2009). Monitoramentos de amostras de alimentos coletadas aleatoriamente no comércio são analisados e, quando os resultados são comparados aos LMRs, podem refletir melhor os níveis das substâncias presentes nos alimentos comercializados e consumidos.

No Brasil, o MAPA possui um programa que monitora resíduos de agrotóxicos em produtos de origem animal. Esse programa de monitoramento do MAPA (PNCR) analisa amostras de origem animal inclusive o leite (PNCRL). Para o ano de 2010 está previsto o monitoramento dos resíduos de agrotóxicos das classes dos carbamatos (carbaril, metomil, propoxur, aldicarbe, oxamil e metiocarbe), dos organofosforados (acefato, clorpirifós etil e metil, diazinona, metamidofós, mevinfós, pirimifós etil e metil, parationa, metidationa), das ivermectinas (abamectina, doramectina, ivermectina, epiromectina e moxidectina) e dos organoclorados (aldrin, alfa-HCH, lindano, HCB, dieldrin, endrin, heptacloro, DDT e metabólitos, clordane, mirex, metoxicloro) (Brasil, 2009).

Mais recentemente e como consequência do grande número de agrotóxicos a serem avaliados, da necessidade de rapidez analítica e das demandas restritas de qualidade, que envolvem metodologias analíticas que permitam avaliar um maior número possível de analitos de diferentes classes químicas simultaneamente por meio da implantação de determinações analíticas multirresiduais.

Considerando toda a problemática envolvendo as inúmeras substâncias químicas utilizadas com finalidades diversas na agropecuária, pretendeu-se, neste estudo, realizar uma avaliação crítica do que se tem feito de efetivo no país relacionando as substâncias que direta ou indiretamente podem chegar até o leite e causar danos à saúde da população brasileira.

Metodologia

Inicialmente, de acordo com a legislação vigente dos Ministérios da Saúde e da Agricultura, foram levantados os agrotóxicos com uso permitido em alimentação animal prioritariamente em pastos (Tabela 2 e 3), uso em cereais, uso em produtos veterinários e indicação em multiusos (área animal e vegetal) (Tabela 4).

Na segunda etapa foi feita uma revisão bibliográfica por meio de levantamento retrospectivo de artigos científicos publicados entre 2001 a abril de 2010 dos resíduos de agrotóxicos avaliados em leite sob diferentes formas de consumo. As fontes de busca utilizadas foram: coleção *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *National Library of Medicine* (Medline). Também foi consultada a rede mundial

de computadores (internet) e relatórios oficiais com resultados analíticos de programas de monitoramento dos Ministérios da Agricultura e Saúde, bem como trabalhos acadêmicos da área (teses e dissertações).

As publicações foram analisadas e categorizadas com vista à classificação e ao objetivo do estudo, observando-se: ano de publicação, fonte, formação e origem do autor/ pesquisador, objeto de estudo, população estudada, tempo considerando o objetivo da presente discussão dos artigos científicos foram avaliados considerando os dados de resíduos de agrotóxicos em leite com uso permitido pela legislação nacional.

Assim como o MAPA, o MS por meio da ANVISA promove um programa de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos comercializados no país. Esse programa não contempla a categoria de leite e seus derivados. Embora outro programa da ANVISA para monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários esteja em andamento, somente a classe das avermectinas, citada neste estudo, estão sendo avaliadas.

Dados do monitoramento de resíduos de agrotóxicos realizados em leite, no Brasil, no período de 2002 a abril de 2010 são apresentados na Tabela 5.

Resultados e discussão

Foram identificados os ingredientes ativos de agrotóxicos com maior chance de contaminar o leite, suas classes agronômicas e químicas, bem como a quantidade de produtos formulados como drogas veterinárias.

Os herbicidas, classe agrônômica mais comercializada no Brasil, com uso permitido frequentemente em pastagens, cereal (caroço de algodão, cevada, milho, sorgo *etc.*) além de outras fontes de alimentação como cana de açúcar, não possuem avaliações dos resíduos em amostras de leite mesmo havendo possibilidade de chegarem a esse alimento.

Quanto aos agrotóxicos com uso permitido em produtos veterinários como ectoparasitas, existem hoje nove classes químicas, presentes em produtos formulados ectoparasitários, mas somente quatro (avermectinas, organoclorados, organofosforados e carbamatos) tiveram avaliações quanto aos seus resíduos, em leite, entretanto, essas avaliações não incluem todos os analitos pertencentes à classe, nem engloba todos com uso permitido na legislação nacional.

As avermectinas são de uma classe de produtos veterinários cujos resíduos no leite tem sido avaliados dentro do programa de monitoramento do MAPA, desde o ano de 2007. Resultados desse programa identificaram em 2008 presença de cerca de 5% de amostras acima do LMR (10 µg/mL) para a ivermectina, com resultados encontrados em amostras de

Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional

Tabela 5 - Dados de resíduos de agrotóxicos em diferentes tipos de leite obtidos em trabalhos nacionais no período de 2002 a 2010.

Período (1)	Número de amostras - Tipo de leite (2)	Grupo de substâncias monitoradas (número de analitos)	Não conformes (%) (3)	Metodologia utilizada	Referência	Observações
2008	24 (cru)	Avermectina (4)	4,39	CG (DFC, DCE, EM)	Brasil, 2009	Programa de monitoramento MAPA. Amostra não conforme presença ivermectina acima do LMR. Valores encontrados (22 a 60) µg/mL.
	54 (cru)	Organoclorados (11)	Zero			
	53 (cru)	Organofosforados (12)	Zero			
	114 (cru)	Carbamatos (7)	Zero			
2007	157 (UHT)	Abamectina	35	CLAE (EM, EM)	Jesus, 2007	Amostras continham algum resíduo (75%) de uma das avermectinas, com LDM e LQM na faixa de (0,05 e 0,2 µg/mL) respectivamente
		Doramectina				
		Ivermectina				
		Epiromectina				
2007	18 (cru)	Organoclorados (5)	32	CG-mDCE	Heck <i>et al.</i> , 2007	Percentual não conforme, considerando todos os tipos de leite. LDM (0,06 a 0,40 ng/g) LQM (0,2 a 0,6 ng/g)
	13 (past)					
	10 (UHT)					
2007	56 (cru)	Organoclorados (11)	Zero	CG (DCE, DFC)	Brasil, 2008	Programa de monitoramento do MAPA. Amostras não conforme presença ivermectina
	86 (cru)	Avermectina (4)	1,16			
2007	29(cru)	Carbamatos (5)	93,8	Cromatografia em camada delgada	Nero <i>et al.</i> , 2007	Avaliação qualitativa feita por classe química.
		Organofosforados (4)				
2006	20 (UHT)	Organoclorados (21)	75	CG-DFC-DM	Rangel, 2006	Resíduos DDE (10%) das amostras, metoxicloro (75%) das amostras com clorpirifós acima do LMR
		Clorpirifós etil e metil				
2006	17 (cru)	Organofosforado (2)	Zero	CG-NPD	Cardeal & Paes, 2006	Resíduos em 100% das amostras analisadas em limites inferiores ao de quantificação do método. LD e LQ diclorvós (0,06 e 0,086 µg/mL) e LD e LQ cumafós (0,052 e 0,066 µg/mL)
		Diclorvós e cumafós				
2005	Não definido	Organoclorados (3)	Zero	CG-DCE	Santos <i>et al.</i> , 2005	Resíduos em 100% das amostras analisadas com valores (1,7 a 68,7 ng/g). LDM (0,05 a 0,20 ng/g) LQM (0,2 a 1,2 ng/g)
	Leite UHT	Lindano, HCB e PP'				
		DDE				
2004	301	Avermectina (4)	6	CLAE-DFL	ANVISA, 2004	Resíduos de ivermectina presente em 56% das amostras, resíduo abaixo LMR <i>Codex</i> . Avermectinas com LD e LQ (0,6 e 1 µg/mL) respectivamente.
		Abamectina				
		Doramectina	0,7 (UHT)			
		Ivermectina				
2002	38 (cru)	Organoclorados (9)	18,2	CG (DCE, DFC)	Ciscato <i>et al.</i> , 2002	LD=0,002 a 0,05 (mg/kg)
	94 (past.)	Organofosforados (5)	Zero			
		Piretroides (4)	Zero			
		Carbamatos (1)	Zero			

(1) Período de publicação dos resultados; (2) tipo de leite; (3) considerado LMR na época da publicação do trabalho.

CG: Cromatografia gasosa; CLAE-DFL: cromatografia líquida de alta resolução por detecção por fluorescência. DCE: detector por captura de elétrons; DFC: detector por fotometria em chama; EM: detector por espectrometria de massa; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; LDM: limite de detecção do método; LQM: limite de quantificação do método; NPD: detector por nitrogênio e fósforo.

leite variando de 22 a 60 µg/mL. No ano de 2007 o mesmo programa identificou cerca de 1% de amostras não conformes para a mesma substância. Em ambos os períodos deste estudo foram analisadas amostras de leite cru.

Trabalho de Jesus em 2007 constatou a presença, de resíduos, da classe das avermectinas em 65% das amostras analisadas de leite cru pasteurizado, mas todas abaixo do LMR. As amostras em desacordo (35%) foram reprovadas por apresentarem avermectinas (abamectina e doramectina) não permitidas para vacas lactantes no Brasil.

Dentre estas, o grupo da abamectina, ingrediente ativo com uso permitido na área animal (48 produtos veterinários) e uso na área vegetal (uso em hortifrutigranjeiros e cereais) vem apresentando constantes resíduos no leite abaixo do LMR estabelecido na legislação nacional. Para a ivermectina as amostras se encontram dentro do LMR permitido pelo *Codex alimentarius*, entretanto no Brasil esse produto não tem o seu uso indicado pelos fabricantes dos produtos veterinários em animais em lactação, demonstrando a falta das boas práticas veterinárias (Jesus, 2007, ANVISA, 2010).

Além das avermectinas, alguns outros agrotóxicos também possuem seu uso permitido na área animal, vegetal (hortifrutigranjeiros, cereais e pastagens) e domissanitários. O uso concomitante dessas substâncias aumenta o risco à saúde pública, pois os seus resíduos podem chegar ao leite e, portanto, deveriam também ser priorizados nos programas de monitoramento da área de produtos vegetais.

Os agrotóxicos alfacipermetrina, amitraz, ciromazina, deltametrina, fenitrotona, fipronil, permetrina, triclorfom e cipermetrina técnico (Σ , \square , \square e ζ) possuem o uso permitido para a área vegetal, área animal e como domissanitário podendo representar até três diferentes meios de contaminação residual do leite. Especialmente a cipermetrina técnica possui o maior número de produtos formulados em drogas veterinárias (total de 81) além de seu uso ser permitido em cereais como algodão, soja e milho (fontes de alimentação animal).

A zetacipermetrina (ζ), um dos isômeros da cipermetrina, também possui uso permitido em drogas veterinárias (dois produtos formulados), na alimentação animal (cereais), domissanitário e hortifrutigranjeiros. Não existem estudos nacionais de avaliações de resíduos, dessas substâncias, em leite no Brasil. Para a classe dos piretroides somente um estudo de avaliação dos seus resíduos no leite é descrito por Ciscato e

colaboradores (2002) que não encontrou resíduos dos quatro piretroides avaliados. Ainda nesse trabalho encontraram-se resíduos do agrotóxico endossulfam em leite. Esse agrotóxico, apesar de ser da classe dos organoclorados, ainda possui o seu uso permitido em caroço de algodão que é uma das fontes de alimentação do gado e assim com possibilidade de seus resíduos chegarem ao leite.

Os agrotóxicos diclorvós e cumafós têm seu uso permitido em produtos veterinários em uso animal e domissanitários. Estudo de Cardeal e Paes (2006) demonstrou a presença de resíduo desses agrotóxicos em amostras de leite cru. Após este trabalho, os dois agrotóxicos citados não foram mais avaliados em amostras de leite e ainda não estão entre os ingredientes ativos a serem monitorados no PNCRL de 2010.

Os agrotóxicos fipronil e triclorfom possuem seu uso permitido nas áreas animal, vegetal, pastagens e domissanitários e para estes não há avaliação residual no leite produzido no Brasil.

O agrotóxico diflubenzurom utilizado em produtos veterinários é amplamente utilizado na pecuária no combate a mosca do chifre. O seu uso nos animais é por via oral, sendo amplamente conhecida a capacidade dos seus resíduos de chegarem ao leite. Para essa substância também não foram encontrados dados de seus resíduos em leite e também não estão contemplados dentro do programa de monitoramento do Ministério da Agricultura.

Conclusão

Do estudo realizado pode-se concluir que poucos são os dados analíticos nacionais sobre teores de resíduos de substâncias agrotóxicas provenientes das práticas agrícolas e veterinárias. Muitos são os princípios ativos, como agrotóxicos, que precisam ser monitorados e para maior eficiência os órgãos fiscalizadores deveriam se unir para a aprovação dos produtos a serem utilizados na agropecuária, por meio de estudos conjuntos da possibilidade do perigo e risco na ingestão destes contaminantes indesejáveis e também para a formação de redes laboratoriais de controle dessas substâncias em leite.

No caso específico do leite na sua forma fluida, para a avaliação de risco, a determinação dos resíduos de agrotóxicos, seria mais fidedigna se fosse realizada na forma final de consumo, tal como: processo de fervura, pasteurização ou esterilização (leite UHT).

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). [on-line]. 2010. Disponível em sítio da instituição em: <http://websphere.anvisa.gov.br>. Buscar em: agrotóxicos e Toxicologia / monografia de agrotóxicos / monografias autorizadas: Acesso em: março de 2011;

ARAUJO, J. A.; LIMA, S., J.; MOREIRA, C., J.; JACOB, C. S.; SOARES, O. M.; MONTEIRO, M., C., M.; *et al.* Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n. 1, p. 115-130, 2007.

- BOCHNER, R. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas-SINTOX e as intoxicações humanas por agrotóxicos no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n. 1, p. 73-89, 2007.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 8 de 29 de abril de 2010. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, p. 13, 18 set. 2002. Seção 1.
- _____. Instrução Normativa nº 15 de 28 de maio de 2009. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Publica os resultados do monitoramento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Suína, Aves e Equina), Leite, ovos, Mel e Pescado do exercício de 2008. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília p. 31, 28 mai. 2009. Seção 1.
- _____. Instrução Normativa nº 9 de 10 de abril de 2008. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes, leite, ovos, mel e pescado do exercício de 2007, na forma do anexo à presente Instrução normativa 9, de 30/03/2007. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília p. 28, abr. 2008. Seção 1.
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Vigil-Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*. Brasília, 112 p.II (Série G. estatística e informação em saúde), 2009.
- _____. Ministério da Saúde. *Guia alimentar para a população brasileira. Promovendo a alimentação saudável?* Ministério da saúde. Secretaria de atenção à Saúde, Coordenação geral da Política de Alimentação e Nutrição-Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- _____. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, p. 13, 18 set. 2002. Seção 1.
- _____. Instrução Normativa nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em carne-PNCRC, mel-PCRL, Leite-PNCRL e Pescado-PCRP. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília p. 213, 22 dez. 1999. Seção 1.
- CAMPOS JÚNIOR, D. A.; OLIVEIRA, P. R. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1987) (Acarí: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. *Ciência Rural*, v. 35, n.6, p. 1386-1392, 2005.
- CARDEAL, L. Z.; PAES, D. M. C. Analysis of Organophosphorous Pesticides in Whole Milk by Solid Phase Microextraction Gas Chromatography Method. *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, v. 41, p. 369-375, 2006.
- CAROZZA, E. S.; WANG, Q.; HOREL, S.; COOPER, S. Agricultural pesticides and risk of childhood cancers. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 212, p. 186-195, 2009.
- CISCATO, P. H. C. C.; GEBARA, B. A.; SPINOSA, S. H. Pesticides Residues in cow milk consumed in São Paulo city (Brazil). *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, v. B37, n. 4, p. 323-329, 2002.
- COLOSIO, C.; TIRMANI, M.; BRAMBILLA, G.; COLOMBI, A.; MORETTO, A. Neurobehavioural effects of pesticides with special focus on organophosphorus compounds: which is the real size of the problem? *NeuroToxicology*, v. 30, p. 1155-1161, 2009.
- GENIUS, J. S. Toxic Causes of Mental Illness are Overlooked. *NeuroToxicology*, v. 29, p. 1147-1149, 2008.
- GONZÁLEZ-RODRIGUES, F.; LIÉBANAS, A. J. F.; FRENCH, G. A.; LÓPEZ, S. J. F. Determination of pesticides and some metabolites in different kinds of milk by solid-phase microextraction and low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, v. 382, p. 164-172, 2005.
- HECK, C. M.; SANTOS, S. J.; JUNIOR, B. S.; COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Estimation of children exposure to organochloride compounds through milk in Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Chemistry*, v. 102, p. 288-294, 2006.
- INDAN — Compêndio de produtos veterinários em parceria com a CPV/DDA/DAS/MAPA. *Edição eletrônica de produtos veterinários de uso permitido no Brasil*. Disponível em: <http://www.cpv.com.br/cpv/index.html> Acesso em: 10 mar. 2010.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. *Aquisição alimentar domiciliar per capita, por Unidades da Federação*. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/sipd/quarto_forum/Informe_POF_2008-2009.pdf. Acesso em: 10 mar. 2010.
- JARDIM, F. S. C. I.; ANDRADE, A. A.; QUEIROZ, N. C. S. Resíduos de Agrotóxicos em alimentos: Uma preocupação ambiental Global - Um enfoque às maçãs. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.
- JARDIM, O. N. A.; CALDAS, D. E. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. *Química nova*, v. 32, n. 7, p. 1898-1909, 2009.
- JESUS, A. D. *Determinação de resíduos de avermectinas no leite por CLAE-EM/EM*. Dissertação. (Mestrado em Ciência) – Instituto de Ciências Exatas. Prof. Brás Heleno de Oliveira. Universidade Federal do Paraná, 2007.
- JOBIM, C. F. P.; NUNES, N. L.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, M. B. I. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 15, n. 1, p. 277-288, 2010.
- KAN, A. C. Transfer of toxic substances from feed to food. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 423-431, 2009.
- KAN, A. C.; MEIJER, L. A. G. The risk contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Animal Feed Science and terminology*, v. 133, p. 84 -108, 2007.
- LACASAÑA, M.; LOPES-FLORES, I.; RODRIGUEZ-BARRANCO, M.; AGUILLAR-GARDUÑO, C.; MUÑOZ-BLANCO, J.; PÉREZ-MÉNDEZ, O.; *et al.* Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 243, p. 19-26, 2010.
- MCKINLAY, R.; PLANT, J. A.; BELL, J. N.; VOULVOULIS, N. Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment. *Environment International*, v. 34, p. 168-183, 2008.
- MÍDIO, A. E.; MARTINS, D. I. *Toxicologia de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2000.
- 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 Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 201-204, Campinas, 2007.
- NOLAN, J. Acaricide resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* In: *Report of Workshop Leader-FAO/UN consultant*. Porto Alegre, RS, Brazil. Abstract. Porto Alegre, 1994, p. 21-25.
- OSSONDO-LANDAU, M.; RABIA, N.; JOS-PELAGE, J.; MARQUET, L. M.; ISIDORE, Y.; SAINT-AIMÉ, C.; *et al.* Why pesticides could be a common cause of prostate and breast cancers in the French Caribbean Island, Martinique. Ann overview on key mechanisms of pesticide-induced cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 63, p. 383-395, 2009.

Lucia Helena Pinto Bastos, Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso, Armi W. Nóbrega, Silvana do Couto Jacob

SANTOS, T. R. B.; FARIAS, N. A. R.; Cunha Filho, N. A.; PAPPEN, F. G.; VAZ JUNIOR, V. S. I. Abordagem sobre o controle do carrapato *hipicephalus (Boophilus) microplus* no Sul do Rio Grande do sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 29, n. 1, p. 65-70, 2009.

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*, v. 15, p.85-92, 2005.

SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE AGROTÓXICOS (SINDAG). *Publicação eletrônica gerente de informação da SINDAG* (Sampaio, I. A.). [mensagem pessoal].

Mensagem recebida por lucia.bastos@incqs.fiocruz.br. Acesso em: 10 mar. 2010.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÃO TÓXICO-FARMACOLÓGICAS (SINITOX). Disponível em: http://www.fiocruz.br/sinitox_novo. Buscar em: Registros de intoxicações/ dados por agentes tóxicos / agrotóxicos. Acesso em: 10 mar. 2010.

WAISSMANN, W. Agrotóxicos e doenças não transmissíveis. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, p. 15-24, 2007.

Recebido em: 16/08/2010

Aprovado em: 16/01/2011

5.2 MANUSCRITO 2 – Implementação de Método Analítico para determinação de Resíduos de Organofosforados em Leite por Cromatografia a gás com Detector Fotométrico de Chama

Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., publicado no periódico “Química Nova”, v. 35, nº 8, p. 1657-1663 em 2012.

IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE ORGANOFOSFORADOS EM LEITE POR CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR FOTOMÉTRICO DE CHAMA

Lucia Helena Pinto Bastos*, Adherlene Vieira Gouvêa, Fabíola Málaga, Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso, Silvana do Couto Jacob e Armi Wanderley da Nóbrega

Departamento de Química, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21045-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 23/9/11; aceito em 14/2/12; publicado na web em 30/4/12

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD FOR ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHATE RESIDUES IN MILK USING GAS CHROMATOGRAPHY WITH FLAME PHOTOMETRIC DETECTION. This paper regards the implementation of the QuEChERS method for the analysis by GC-FPD of 53 different pesticides from the organophosphate class, in whole UHT and pasteurized milk. Selectivity, linearity, repeatability, recovery and limits of detection and quantification were evaluated. Of all pesticide recoveries, 51 were considered satisfactory since the values ranged from 70 to 120% with RSD < 20%. The quantification limits ranged from 0.005 to 0.4 mg kg⁻¹. The QuEChERS method was suitable for determination of 52 pesticides, presenting several advantages – quick, cheap, easy, effective, rugged and safe - with regard to other traditional methodologies.

Keywords: pesticides; milk; QuEChERS.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores países em relação à utilização de agrotóxicos. Em 2009, cerca de 720.000 t de produtos comerciais formulados foram vendidos, correspondendo a 330.000 t de ingredientes ativos.¹ O estudo da classe dos organofosforados tem grande importância, devido ao seu uso intensivo e sua alta toxicidade.²

Os agrotóxicos são usados como a principal estratégia no combate e prevenção de pragas agrícolas e no aumento da produção de alimentos. Contudo, resíduos e traços desses princípios ativos e de seus produtos de degradação podem ficar nos alimentos e precisam ser monitorados para avaliação da ingestão do agente químico residual.³

O leite tem grande consumo nacional e pode conter resíduos de agrotóxicos provenientes de diferentes fontes, como contaminação de pastos, rações e cereais; contaminação do meio ambiente; uso de domissanitários nos currais e estabelecimentos de produção leiteira e, emprego de produtos veterinários no gado leiteiro.⁴

Neste trabalho foi avaliada a implementação de método analítico para determinação na matriz leite de resíduos de 49 agrotóxicos e 4 produtos de degradação da classe dos organofosforados. Dentre os organofosforados avaliados, 75% são permitidos para utilização na agricultura de cereais e hortifrutigranjeiros, aproximadamente 15% estão presentes em medicamentos veterinários e cerca de 20% possuem o seu uso permitido como domissanitário.⁵

Apesar de 15% dos organofosforados estudados não possuírem uso permitido no Brasil, foram incluídos na validação do método por necessidades nacionais de avaliação das boas práticas agrícolas. Os agrotóxicos clorfenvífós, clorpirifós, diazinona, diclorvós, etiona e fenitrotiona são utilizados em medicamentos veterinários para o combate a ectoparasitas e, exceto o diclorvós, são também utilizados em hortifrutigranjeiros, cereais e domissanitários, representando quatro possíveis meios de deixarem seus resíduos no leite.⁶

A complexidade da composição dos alimentos acarreta dificuldades para a quantificação dos agrotóxicos, sendo necessária uma etapa de limpeza do extrato (*clean up*) para reduzir as interferências após

a extração com solvente. Estas dificuldades foram minimizadas após o desenvolvimento de métodos multiresíduos, que possibilitaram a análise de um grande número de substâncias com altos percentuais de recuperação (exatidão) dos analitos e a remoção dos possíveis interferentes da amostra; apresentaram boa precisão e robustez e reduziram o trabalho técnico e o uso de solventes.^{7,8}

Tendo em vista que a legislação brasileira permite o uso de mais de 200 ingredientes ativos, na agricultura e como domissanitários, a utilização de métodos multiresíduos é importante para agilizar o trabalho analítico e, assim, responder às demandas de saúde pública.³

Foi introduzido um novo método⁹ de preparo de amostra para extração de resíduos de agrotóxicos, que recebeu o nome fantasia de QuEChERS. Esse método busca refletir as suas maiores vantagens (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), isto é, rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. As etapas envolvidas no método são extração com acetonitrila seguida de partição, promovida pela adição de sais (sulfato de magnésio-MgSO₄), cloreto de sódio (NaCl) e/ou acetato de sódio (NaC₂H₃O₂) e limpeza da amostra com sorventes, como C₁₈, alumina, PSA (*primary secondary amine*) e carbono grafitado (para uso em amostras com clorofila).

A utilização do solvente acetonitrila permite a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e, quando acidificada, favorece a extração de substâncias que apresentam problemas de estabilidade em meio básico. O uso da acetonitrila, contudo, não é adequado para análises em cromatografia a gás no modo *splitless*, devido a sua grande expansão de volume durante a vaporização, o que pode vir a interferir nos detectores seletivos e favorecer a degradação de alguns agrotóxicos.¹⁰ Em função disto, neste estudo, após o processo de extração com acetonitrila, na etapa final o extrato orgânico foi seco e o solvente substituído por acetato de etila, mais adequado à cromatografia a gás com detecção por fotometria de chama (CG-DFC).

A utilização do sal secante sulfato de magnésio tem como objetivo a remoção de água e o favorecimento da recuperação dos agrotóxicos polares. Em contrapartida, a hidratação do sulfato de magnésio gera uma reação exotérmica que aquece a amostra a temperaturas de 40 a 45 °C na etapa de extração/partição, favorecendo a recuperação dos agrotóxicos apolares.¹¹

*e-mail: lucia.bastos@incqs.fiocruz.br

O método QuEChERS introduziu uma nova denominação ao procedimento de limpeza da amostra, chamada de extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) no qual, diferentemente do procedimento de limpeza tradicional (SPE) que utiliza cartuchos ou colunas, os sorventes são adicionados diretamente ao extrato orgânico e permitem que a limpeza da amostra e a redução da água residual sejam realizadas concomitantemente.⁹ O método mostrou-se adequado também para amostras com baixos teores de gordura (< 2% de gordura) com o leite¹² Ultra-alta temperatura (UAT).

O objetivo do trabalho foi a implementação de método de extração dispersiva QuEChERS em leite integral UAT em embalagem Tetra Pak e pasteurizado em embalagem plástica, para determinação de resíduos de agrotóxicos da classe dos organofosforados. Foram avaliados 49 agrotóxicos da classe dos organofosforados e 4 produtos de degradação, totalizando 53 substâncias.

PARTE EXPERIMENTAL

Amostras branco do leite (matriz)

Duas amostras de leite integral provenientes do estado de Minas Gerais – uma em embalagem Tetra Pak (UAT) e outra em embalagem plástica (leite pasteurizado tipo A) – foram analisadas na etapa de implementação do método. Como nos respectivos rótulos constava a informação de que ambas eram de procedência orgânica, foi feita uma análise prévia para confirmar a ausência dos agrotóxicos em estudo.

Padrões e reagentes

A maioria dos padrões de agrotóxicos certificados, da classe dos organofosforados, possuía grau de pureza superior a 95% (Dr. Ehrenstorfer – Augsburg, Alemanha), exceto os agrotóxicos tiometona (48%), profenofós (92%), mevinfós (91%), etoprofós (93%), terbufós (93%), etrinfós (60%), fosfamidona (92,5%), formotiona (92%), fenamifós (92,5%) e triazofós (78%).

Foram utilizados acetonitrila, iso-octano e acetato de etila, solventes orgânicos de alta pureza e grau cromatográfico (Merck e Tedia); MgSO₄ PA (Merck); sorvente Bondesil-PSA 40 µm (Varian); C₁₈ 35-75 µm (Alltech); Al₂O₃, 90, neutro 70-230 # ASTM (Merck), previamente mufado a 550 °C por 3 h e Na(C₂H₃O₂) anidro (Spectrum), seco a 220 °C por 3 h antes do uso.

Soluções estoque

Foram preparadas 53 soluções estoque (SE) dos agrotóxicos e/ou derivados a serem avaliados em solvente acetato de etila na concentração nominal de 100 µg mL⁻¹.

Soluções intermediárias

A partir das SE, foram preparadas duas soluções distintas (S1 e S2) intermediárias de trabalho. A escolha dos agrotóxicos de cada solução foi feita em função do tempo de retenção de cada substância, de modo que não houvesse duas com o mesmo tempo de retenção em min (t_R min), possibilitando, dessa forma, uma separação inequívoca de todos os organofosforados avaliados. Quando na determinação analítica em uma amostra desconhecida ocorrer a presença de agrotóxicos com o mesmo t_R min, a identidade do analito deverá ser confirmada pelo emprego de, pelo menos, um dos seguintes procedimentos:¹³ outra coluna com fase estacionária de polaridade diferente; outro detector ou espectrometria de massas com identificação pela biblioteca de espectros dos agrotóxicos.

A S1 foi composta dos seguintes agrotóxicos e de produtos de degradação, ordenados em ordem crescente de t_R min entre parênteses: naledo (3,694), metamidofós (4,322), acefato (7,287), demetom-S-metilico (10,228), ometoato (11,482), tiometona (12,403), diazinona (13,291), dissulfotom (14,770), isazofós (17,123), clorpirifós-metil (19,805), parationa-metilica (21,560), pirimifós-metilico (22,053), paraoxon etílico (22,440), fenitrotiona (24,385), parationa-etílica (24,945), bromofós-metilico (29,762), bromofós-etílico (29,762), protiofós (33,690), profenofós (37,002), dissulfotom-S-sulfurona (40,815), etiona (40,950), metidationa (44,849), carbofenotona (48,435), fosalona (66,500), pirazofós (69,337) e azinifós-Etílico (72,718). O paraoxon-etílico e a dissulfotom-S-sulfurona são produtos de degradação da parationa-etílica e dissulfotom, respectivamente.

A S2 foi composta dos seguintes agrotóxicos e de dois produtos de degradação, também ordenados em ordem crescente de t_R min: diclorvos (3,699), mevinfós (5,710), etoprofós (9,105), forato (11,315), terbufós (12,411), tebufpirinifós (12,571), monocrotofós (14,589), etrinfós (15,241), dimetoato (16,403), paraoxon-metilico (20,634), fosfamidona (21,813), formotiona (22,180), malaoxon (23,509), clorpirifós (24,646), malationa (25,545), pirimifós-etílico (27,276), fentiona (27,803), clorfenvinfós (30,705), tetraclorvinfós (35,711), iodofenofós (37,429), fenamifós (38,004), vamidoionona (41,968), sulprofós (47,676), triazofós (55,106), piridafentiona (63,645), fosmete (66,536), azinifós-metilico (71,084). O paraoxon-metilico e o malaoxon são produtos de degradação da parationa-metilica e malationa, respectivamente.

As Figuras 1 e 2 apresentam os cromatogramas das S1 e S2 dos agrotóxicos estudados na matriz leite.

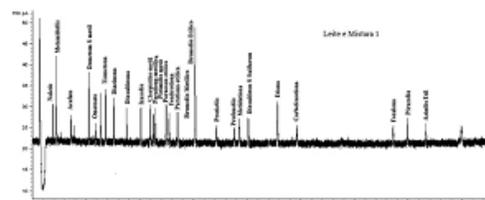


Figura 1. Cromatograma com os organofosforados estudados na S1 em matriz leite na concentração nominal de 0,01 µg mL⁻¹.

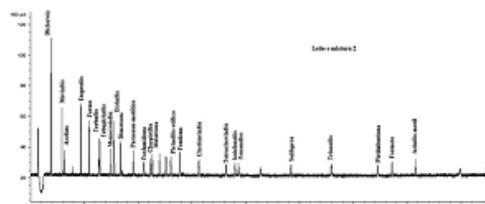


Figura 2. Cromatograma com os organofosforados estudados na S2 em matriz leite na concentração nominal de 0,01 µg mL⁻¹.

As S1 e S2 foram utilizadas para preparo das curvas analíticas em acetato de etila, no extrato de leite orgânico branco e na fortificação do leite branco no estudo da taxa de recuperação.

Soluções intermediárias utilizadas na qualidade assegurada

Para garantir o controle individual do processo analítico e a validade dos resultados, foram utilizadas duas soluções intermediárias (QA1 e QA2): clorpirifós-metil, na concentração nominal de 0,3 µg mL⁻¹ em solvente acetato de etila (QA1), foi escolhido por

representar adequadamente as características físicas e químicas da classe dos organofosforados.¹⁴

Os resultados analíticos da amostra são considerados válidos se a recuperação do clorpirifós-metil estiver entre 70 e 120%. Caso contrário, deve-se verificar todo o procedimento realizado e, se necessário, repetir o processo de extração e limpeza da amostra.¹³

Para o controle do equipamento, a parationa-metflica, na concentração nominal de 1 µg mL⁻¹ em acetato de etila (QA2), foi inserida no início de cada sequência de injeção, com o objetivo de monitorar o sistema cromatográfico no momento da análise das amostras.

O critério de avaliação adotado foi o CV de 10% para a área obtida no QA2. Contudo, um novo CV poderá ser determinado com base em uma série histórica de sucessivas avaliações.

Condições cromatográficas

Equipamento: cromatógrafo a gás HP 7890 (Agilent), equipado com detector por fotometria de chama (CG-DFC) em modo fósforo (P); sistema de injeção automático e estação de trabalho - ChemStation. Temperaturas do injetor e detector de 230 e 250 °C, respectivamente. Coluna 50% fenil-metil siloxano (DB-17MS) com 30 m de comprimento; 0,25 mm de d.i. e 0,25 µm de espessura de filme. Programação de temperatura do forno de 100 °C (0 min), 25 °C/min a 170 °C (1 min), 1 °C/min a 180 °C (1 min), 1 °C/min até 230 °C (0 min), 5 °C/min até 260 °C (5 min), 20 °C/min até 280 °C (10 min). Fluxo de gás carreador (hélio) = 1,5 mL min⁻¹, fluxo da purga do septo = 3,0 mL min⁻¹, fluxo total = 61,5 mL min⁻¹, fluxo do gás make-up (nitrogênio) = 60 mL min⁻¹, modo de injeção splitless = 1,0 min, volume injetado = 1,0 µL.

O tempo total de corrida foi de 80 min e a integração foi feita pelo parâmetro da área dos picos.

Procedimento analítico multirresíduos

O método multirresíduos utilizado foi baseado em metodologia⁹ desenvolvida em 2003, denominada QuEChERS.

Extração dos agrotóxicos

Cerca de 15 g da amostra, após homogeneização por 5 min em liquidificador de copo de vidro, foram pesadas e colocadas em frasco de 50 mL para uso em centrífuga. Em seguida, foi adicionado 1 mL do QA1 (clorpirifós-metil) e homogeneizado. Após 25 min, foi iniciada a extração, com a adição de 15 mL de acetonitrila (1% ácido acético) e agitação em vortex. Foram realizadas duas etapas de limpeza da amostra com extração em fase sólida dispersiva (SPE-D): na primeira, foram adicionados MgSO₄ + 1,5 g Na(C₂H₃O₂) e na segunda, foram estudadas várias combinações de sorventes, listados abaixo. O diagrama das duas etapas de extração dispersiva encontra-se apresentado na Figura 3.

Critérios utilizados na avaliação do método

O primeiro critério a ser avaliado foi o da seletividade, após este se avaliou a melhor combinação de sorventes em fase estacionária para a segunda etapa da SPE-D, o efeito matriz, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação.

Seletividade

As amostras branco matriz de leite foram submetidas ao método de extração de organofosforados e a seletividade foi confirmada pela ausência de picos nos tempos de retenção das substâncias estudadas presentes nas S1 e S2.¹⁴

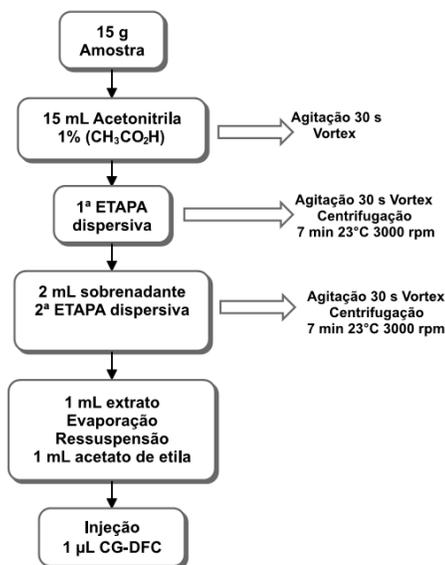


Figura 3. Diagrama do método QuEChERS empregado na validação de resíduos de organofosforados na matriz leite

Avaliação da melhor combinação de sorventes para extração em fase sólida dispersiva (SPE-D)

As amostras branco foram fortificadas, respectivamente, com concentrações que variaram de 0,050 a 0,100 mg kg⁻¹ das S1 e S2, de acordo com os organofosforados estudados. Após 25 min da fortificação, que permitiu a interação entre o agrotóxico e a matriz, iniciou-se o processo de extração. Foram utilizadas seis diferentes combinações de sorventes para avaliação da melhor taxa de recuperação dos organofosforados adicionados na S1 e S2: A) 50 mg PSA + 150 mg MgSO₄; B) 50 mg C₁₈ + 150 mg MgSO₄; C) 50 mg alumina + 150 mg MgSO₄; D) 50 mg PSA + 50 mg C₁₈ + 150 mg MgSO₄; E) 50 mg PSA + 50 mg alumina + 150 mg MgSO₄; F) 50 mg PSA + 50 mg C₁₈ + 50 mg alumina + 150 mg MgSO₄.

Em seguida, as recuperações dos 53 analitos presentes na S1 e S2 foram avaliadas e comparadas com a concentração real das amostras fortificadas (leite com S1 ou S2).

Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz branco do leite

A natureza da matriz ("efeito matriz") - solventes orgânicos¹⁵ ou extrato da amostra - que contém os analitos pode aumentar ou diminuir a resposta do detector.

Para se avaliar este efeito, seguiu-se o procedimento¹⁶ que identificou a resposta cromatográfica de cada organofosforado em solvente e na matriz tomate. Utilizou-se a matriz leite integral UAT e foram analisadas as soluções S1 e S2 em cinco diferentes níveis, correspondentes às concentrações nominais de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05 µg mL⁻¹.

Estudo da linearidade da faixa de trabalho

Para o estudo da linearidade da faixa de trabalho, 1 mL do extrato

orgânico do branco de leite, colocado em frascos de vidro de 3 mL, foi seco sob a atmosfera de N_2 . Em seguida, adicionou-se 1 mL dos extratos orgânicos S1 e S2, respectivamente, nas concentrações correspondentes aos pontos da curva analítica (0,01 a 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

O volume de 1 μL de cada concentração foi injetado em triplicata no sistema CG-DFC e, para os cálculos estatísticos, utilizou-se o valor médio dos resultados obtidos.

A linearidade da faixa de trabalho foi verificada através da leitura da curva analítica, utilizando o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO).¹⁶

Limites de detecção e de quantificação do instrumento e do método

Os limites de detecção e quantificação do instrumento (LDI e LQI) e do método (LDM e LQM) foram estabelecidos com base no método da relação sinal/ruído (S/R), no qual se aceita a estimativa de 3:1 para o LD e de 10:1 para o LQ, ou seja, o ruído produzido pela resposta da injeção de concentrações conhecidas dos analitos de interesse deve ser três vezes maior do que o ruído produzido pelo sistema cromatográfico da linha de base para o LD e dez vezes para o LQ.¹⁶ Esta relação (S/R) foi calculada pela *ChemStation* do cromatógrafo HP-7890.

Para estabelecer esta relação para os valores dos LDI e LQI utilizou-se uma concentração conhecida com aproximadamente 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de todos os agrotóxicos em matriz (extrato branco da polpa de leite em acetato de etila), analisados em três replicatas genuínas ($n = 3$).

Para o cálculo de LDM e LQM, seis replicatas genuínas da amostra branco de leite foram fortificadas com a concentração de aproximadamente 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e analisadas pelo método de ensaio. Os resultados obtidos foram utilizados para estabelecer a relação (S/R). Em seguida, calcularam-se as médias, os desvios padrão dos resultados e os valores dos limites LDI, LQI, LDM e LQM.

Para confirmação dos resultados dos analitos foram preparadas seis replicatas da amostra branco do leite nas concentrações obtidas dos LQM, calculados de cada analito analisado de acordo com o método de ensaio. No caso dos analitos cujos valores S/R não foram iguais ou superiores a 3:1, as concentrações individuais foram aumentadas, o que permitiu a obtenção de valores mais próximos do LDM e LQM.

Recuperação e repetitividade

O mesmo procedimento utilizado para cálculo do LDM e do LQM foi usado para o cálculo da taxa de recuperação e repetitividade dos 53 analitos e os critérios de aceitação foram os indicados pelo *Codex Alimentarius*¹⁷ e SANCO¹³: para a faixa de concentração deste estudo ($>0,01$ e $\leq 0,1$ mg kg^{-1}), o intervalo de recuperação deve ser de 70 a 120% e os coeficientes de variação (CV) devem ser inferiores a 20%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seletividade

As duas amostras branco de leite utilizadas como matriz foram adequadas para a avaliação do método, por não terem apresentado t_R min iguais aos dos agrotóxicos em estudo.

Avaliação da melhor combinação de sorventes para utilização na segunda fase dispersiva

Dentre as seis combinações de sorventes testadas, apenas as com 50 mg PSA + 50 mg alumina + 150 mg MgSO_4 e com 50 mg PSA + 50 mg C_{18} + 50 mg alumina + 150 mg MgSO_4 demonstraram

maior uniformidade nas recuperações para o conjunto de agrotóxicos avaliados nas misturas S1 e S2, considerando a faixa estipulada pelo SANCO¹³ (70 a 120%). A combinação 50 mg PSA + 50 mg alumina + 150 mg MgSO_4 foi a escolhida, para ser utilizada na segunda fase dispersiva, por apresentar um desempenho melhor para os organofosforados acefato e clorfenvinfós (99 e 81%, respectivamente), quando comparada à com 50 mg PSA + 50 mg C_{18} + 50 mg alumina + 150 mg MgSO_4 (65 e 63%), e por utilizar uma fase dispersiva a menos (C_{18}).

Em trabalho anterior,¹² o método Quechers em leite (tipo de leite não especificado) foi avaliado por CG-MS para diferentes agrotóxicos, dentre esses o acefato. Foi obtida uma recuperação para o agrotóxico estudado de 107% ($n = 3$), na concentração de 0,05 mg kg^{-1} , utilizando a fase dispersiva 50 mg PSA + 50 mg C_{18} + 150 mg MgSO_4 . Neste estudo somente foi avaliada essa combinação, não tendo sido também avaliado o agrotóxico clorfenvinfós.

Para os agrotóxicos estudados (S1 e S2), as concentrações utilizadas para fortificar a matriz e os resultados das recuperações obtidas com as seis diferentes combinações de sorventes estão descritas na Tabela 2S, material suplementar, na qual é possível verificar as melhores taxas de recuperação (70 a 120%) em um maior número de agrotóxicos avaliados. O agrotóxico diclorvós - também denominado DDVP - não apresentou recuperação adequada com nenhuma das combinações estudadas, o que pode estar relacionado a vários fatores, como a integridade do material de referência utilizado ou à extração da molécula.

Trabalho de monitoramento realizado na Espanha² mostrou a presença de resíduos de diclorvós em 5,78% das amostras avaliadas de leite cru.

Como o DDVP está presente em 39 medicamentos veterinários antiparasitários e é também um produto de degradação de 21 produtos cujo ingrediente ativo é o triclorfom (não avaliado neste método), ambos utilizados no gado leiteiro, conforme registros no MAPA¹⁸ novos estudos deverão ser feitos para adequar um método para análise deste organofosforado.

Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz branco do leite

Em 30% de todos os agrotóxicos analisados - acefato, azinfós-etílico, demetom-S-metilico, dimetoato, fenamifós, formotiona fosfamida, fosmete, malaaxon, metamidofós, ometoato, paraoxon-metilico, profenofós, monocrotofós, piridafentona, tetraclorvinfós, triazofós e vamidotona - o efeito matriz foi significante nos cinco níveis testados.

Em 12% - azinfós-metilico, etoprofós, nalede, protiofós, fentona, pirimifós-etílico, terbufós - não foi demonstrado efeito matriz em nenhum dos níveis avaliados (0,01; 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Nos 58% restantes, correspondentes a 28 agrotóxicos, o efeito matriz foi observado em pelo menos um nível. O detalhamento da presença do efeito matriz em diferentes níveis encontra-se representado na Tabela 1S, material suplementar.

Tendo em vista que o efeito matriz branco do leite foi significante para a maioria dos organofosforados testados, utilizou-se curva com matriz para determinar a linearidade e faixa de trabalho.

Estudo da linearidade e faixa de trabalho

A correlação da curva analítica, representada pelo modelo matemático entre os valores numéricos de x e de y , é indicada pelo coeficiente de Pearson - 'r'. O quadrado deste coeficiente é chamado de coeficiente de determinação ou simplesmente R^2 . Os valores aceitos foram $R^2 \geq 0,95$ e $r \geq 0,98$.

Em 40 dos 53 organofosforados avaliados foi possível observar que a regressão foi significativa e não demonstrou desvio da linearidade na faixa avaliada (0,01 a 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Tabela 1. Limites de detecção (LDM) e de quantificação do método (LQM), calculados a partir da razão sinal/ruído, para os agrotóxicos referentes a S1

Agrotóxico	Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Relação sinal/ruído	Áreas	Desvio padrão áreas	Limites do método ($\mu\text{g g}^{-1}$) (mg kg^{-1})	
					LDM	LQM
Acefato	0,015	3,8	36,44	11	0,014	0,051
Azinfós-etílico	0,014	3,3	44,49	4	0,004	0,012
Bromofós-etílico	0,052	11,4	189,43	10	0,008	0,030
Bromofós-metilico	0,014	3,2	46,98	3	0,003	0,010
Carbafentiona	0,070	9,9	210,07	1	0,010	0,033
Clorpirifós-metil	0,012	3,9	51,07	2	0,001	0,005
Demeton-S-metil	0,011	6,8	50,68	2	0,001	0,005
Diazinona	0,014	6,6	62,17	3	0,002	0,003
Dissulfotona	0,011	4,8	50,56	3	0,002	0,006
Dissulfotona-S-sulfurona	0,021	3,5	67,08	3	0,003	0,009
Etiona	0,015	4,1	77,38	1	0,003	0,011
Fenitrotiona	0,011	4,0	58,66	2	0,001	0,004
Fosalona	0,067	12,2	204,32	6	0,006	0,020
Izasofós	0,010	3,7	45,38	2	0,001	0,004
Metidationa	0,017	3,2	59,12	3	0,007	0,010
Metamidofós	0,014	10,9	69,76	3	0,002	0,006
Naledo	0,010	4,9	16,94	1	0,002	0,007
Ometoato	0,075	11,4	105,32	9	0,019	0,069
Paraoxon-etílico	0,012	3,6	49,61	1	0,001	0,004
Parationa-etílica	0,010	3,1	43,92	1	0,001	0,002
Parationa-metilica	0,010	4,2	55,44	2	0,001	0,006
Pirazofós	0,014	3,6	44,25	3	0,003	0,011
Pirimifós-metilico	0,011	3,4	47,77	4	0,002	0,006
Profenofós	0,077	9,3	179,59	10	0,013	0,030
Protiofós	0,066	10,2	190,05	13	0,014	0,048
Tiometona	0,010	5,5	47,16	3	0,020	0,080

Tabela 2. Limites de detecção (LDM) e de quantificação do método (LQM), calculados a partir da razão sinal/ruído, para os agrotóxicos referentes a S2

Agrotóxico	Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Relação sinal/ruído	Áreas	Desvio padrão áreas	Limites do método ($\mu\text{g g}^{-1}$) (mg kg^{-1})	
					LDM	LQM
Azinfós-metilico	0,011	3,0	28,56	2	0,008	0,010
Clorfenvinfós	0,100	13,1	233,13	13	0,016	0,053
Clorpirifós	0,010	3,9	56,27	2	0,001	0,003
Diclorvós	0,015	22,8	74,19	1	0,001	0,002
Dimetoato	0,010	5,0	57,29	3	0,002	0,006
Etoprofós	0,052	10,4	71,91	2	0,001	0,004
Etrinifós	0,011	7,7	84,55	2	0,001	0,003
Fenamifós	0,060	9,4	199,21	13	0,012	0,040
Fentiona	0,011	3,6	57,01	3	0,002	0,006
Forato	0,013	8,0	62,92	1	0,001	0,003
Formotiona	0,010	3,4	47,50	2	0,001	0,004
Fosmete	0,071	11,0	189,31	9	0,011	0,037
Fosfamidom	0,072	10,9	157,58	3	0,004	0,013
Iodofenifós	0,663	8,2	162,17	10	0,129	0,430
Malaoxon	0,020	3,02	38,13	3	0,005	0,017
Malationa	0,011	3,1	46,74	2	0,002	0,006
Mevinfós	0,012	9,5	41,78	2	0,001	0,005
Terbufós	0,012	6,0	55,69	4	0,002	0,008
Tebupirifós	0,011	5,0	46,26	2	0,002	0,005
Monocrotofós	0,013	3,6	39,77	4	0,004	0,006
Paraoxon-metilico	0,010	3,8	47,39	2	0,002	0,006
Piridafentiona	0,072	9,6	217,95	11	0,011	0,040
Pirimifós-etílico	0,010	3,0	47,25	4	0,003	0,008
Sulprofós	0,069	9,7	208,16	11	0,011	0,039
Tetraclorvinifós	0,068	8,8	172,06	9	0,010	0,072
Triazofós	0,066	10,8	234,27	11	0,009	0,029
Vamidotiona	0,087	4,7	99,19	5	0,013	0,042

Tabela 3. Valores de recuperação (%), desvio padrão e coeficiente de variação (CV, %) calculados para as seis replicatas genuínas (representadas de 1 a 6) na concentração (conc.) variando de 0,01 a 0,10 mg kg⁻¹, para as S1 e S2

Agrotóxico	Conc. (mg kg ⁻¹)	1	2	3	4	5	6	Média	Desvio padrão	CV %
Acefato	0,070	108	98	107	94	110	134	109	13	12
Azinfós-etílico	0,070	98	108	110	101	98	102	103	5	5
Bromofós-etílico	0,070	97	96	94	91	91	94	94	2	2
Bromofós-metílico	0,018	98	108	110	101	98	102	103	5	5
Carbofentiona	0,070	101	99	103	101	99	113	103	5	5
Clorfenvinfós	0,100	107	111	110	101	104	115	108	5	4
Clorpirifós	0,014	90	77	78	86	78	83	82	5	6
Clorpirifós-metílico	0,016	104	101	106	101	106	110	105	3	3
Demeton-S-metílico	0,014	107	97	103	94	93	95	98	5	5
Diazinona	0,019	99	98	97	95	95	97	97	1	2
Diclorvos*	0,019	48	47	47	46	41	46	46	2	5
Diclorvos*	0,097	42	42	46	56	43	59	48	7	14
Dimetoato	0,014	112	103	95	100	97	93	100	6	6
Dissulfotona	0,014	90	91	91	89	90	89	90	1	1
Dissulfoton-S-Sulforom	0,100	104	103	115	109	104	123	110	7	7
Etiona	0,020	95	95	93	86	93	92	92	3	3
Etoprofós	0,018	104	87	94	93	93	89	93	5	6
Etrinós	0,014	105	94	92	95	94	90	95	5	5
Fenamifós	0,100	106	122	115	105	115	127	115	8	7
Fenitrotiona	0,015	104	100	100	100	104	101	102	2	2
Fentiona	0,015	100	84	87	81	91	84	88	6	7
Formotona	0,013	78	66	79	73	69	66	72	5	7
Forato	0,018	95	85	81	79	78	76	82	6	8
Fosalona	0,010	88	92	86	79	77	79	84	6	7
Fosfamídom	0,060	108	111	111	100	104	111	108	4	4
Iodofenfós	0,070	99	103	97	92	87	94	95	5	5
Izasofós	0,013	112	106	109	103	109	106	108	3	3
Malaaxon	0,020	96	95	88	89	94	99	94	3	9
Malationa	0,015	109	89	91	98	96	83	94	8	9
Metamidofós	0,018	83	80	97	80	85	88	86	6	7
Metidationa	0,080	108	100	114	106	107	122	110	7	6
Mevinfós	0,016	98	83	84	87	81	78	85	6	7
Monocrotofós	0,018	102	98	100	91	87	86	94	6	7
Naledo	0,013	86	81	89	79	69	70	79	7	9
Ometoato	0,070	107	101	104	102	111	132	110	11	10
Paraoxon-etil	0,015	121	108	108	98	110	106	109	7	6
Paraoxon-metil	0,016	94	95	87	90	86	92	91	3	4
Parationa-etílica	0,014	102	85	96	88	85	88	91	6	7
Parationa-metfílica	0,013	111	104	103	101	96	108	104	5	5
Pirazofós	0,070	97	100	108	104	104	119	105	7	7
Piridafentiona	0,070	107	118	116	104	111	119	113	6	5
Pirimifós-etílico	0,070	99	104	98	91	98	106	99	5	5
Pirimifós-metílico	0,010	111	99	102	95	97	97	100	5	5
Protiofós	0,060	93	89	98	97	94	104	96	5	5
Profenofós	0,070	92	103	115	108	104	117	107	8	8
Sulprofós	0,070	95	106	99	97	93	99	98	4	4
Terbufós	0,016	98	83	82	84	84	81	85	6	7
Tebupirinfós	0,015	99	78	80	83	80	83	84	7	8
Tetraclorvinfós	0,070	107	113	111	96	104	105	106	5	5
Tiometona	0,013	94	92	100	91	94	95	94	3	3
Triazofós	0,070	109	120	111	99	105	118	110	7	7
Vamidotiona	0,070	111	126	115	111	121	121	118	6	5

*Recuperações fora da faixa do SANCO.

Para os agrotóxicos diclorvós, etrinfos, forato, mevinfós, nalede e terbufós a faixa de ajuste linear somente foi obtida para um intervalo menor ($0,02$ a $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$), pois esses agrotóxicos não apresentaram uma boa sensibilidade no primeiro ponto da curva ($0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Na Tabela 3S, material suplementar, estão representadas as equações da reta de regressão empregada para verificação da significância da regressão, do desvio da linearidade e da avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica da matriz branco do leite, para os 49 agrotóxicos estudados e os 4 produtos de degradação. Na mesma tabela também consta o teste estatístico utilizado para avaliar a variância dos resíduos provenientes do ajuste da curva analítica e está demonstrado que todos os agrotóxicos testados apresentaram comportamento homoscedástico (Ccalculado < Ctabelado).

Todos os agrotóxicos avaliados apresentaram o valor de R^2 dentro da faixa aceitável ($R^2 \geq 0,95$ e $r \geq 0,98$).

Limites de detecção e de quantificação do método

Os valores de LDM e LQM, obtidos por S/R, encontram-se nas Tabelas 1 e 2. Os agrotóxicos de S1 (acefato, azinfós-etílico, carbofenotona, dissulfotom-S-sulfurom, fosadona, metidationa, ometoato, pirazofós, profenofós e protiofós) e os de S2 (fosfamidona, malaixon, pirimifós-etílico, clorfenvinfós, tetraclorvinfós, iodofenofós, fenamifós, vamidotona, sulprofós, triazofós, piridafentona, fosmete, sulprofós, triazofós, piridafentona e fosmete) não apresentaram S/R na proporção 3:1 na concentração de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. Por esta razão, aumentou-se a concentração desses agrotóxicos, de modo a se obter S/R 3:1. As etapas de recuperação e repetitividade foram também avaliadas com esta mesma concentração.

Valores de LQM na faixa de $0,002$ a $0,009 \text{ mg kg}^{-1}$ foram obtidos para a maioria dos agrotóxicos avaliados (cerca de 57%) para a faixa de $0,01$ a $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ (cerca de 44%). O agrotóxico iodofenofós apresentou LQM de $0,430 \text{ mg kg}^{-1}$, valor muito acima do LQM adequado a uma análise de resíduos, fato que deve estar relacionado à baixa seletividade do detector FPD, no modo fósforo (P), ao agrotóxico que possui somente um P em sua molécula. Novas avaliações poderão ser feitas para a substância no mesmo sistema de detecção (FPD) no modo enxofre (S), pois o agrotóxico possui dois S em sua molécula.

O iodofenofós tem uso permitido em produtos domissanitários, não sendo indicado para uso em currais e/ou instalações leiteiras.

Considerando que alguns agrotóxicos (Tabela 1) apresentaram valores de LQM inferiores ao menor ponto da curva analítica, adotou-se o valor de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ como LQM, para todos os analitos avaliados na determinação rotineira desta matriz.

Recuperação e repetitividade

Os resultados da recuperação e da repetitividade das seis replicatas dos agrotóxicos presentes nas S1 e S2 nas concentrações $0,01$ e $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ encontram-se na Tabela 3. Os valores de recuperação referentes à média das replicatas foram adequados para todos os agrotóxicos avaliados (faixa 70 a 120%), exceto para o diclorvós. Ainda para o diclorvós foi testada a concentração de $0,097 \text{ mg kg}^{-1}$; nesta concentração os valores de recuperação também não se mostraram adequados.

Com essa avaliação foi possível demonstrar que os LQM obtidos para os organofosforados são adequados, pois os valores dos desvios padrão e os coeficientes de variação obtidos, na recuperação e repetitividade, foram compatíveis com os parâmetros da SANCO.¹³

CONCLUSÃO

O método QuEChERS mostrou-se eficiente para 52 agrotóxicos

e/ou derivados dentre os 53 avaliados nas matrizes leite integral e pasteurizado. Os LQM obtidos mostraram-se capazes de atender às especificações do MAPA¹⁹ no que se refere aos LMRs. Como não foram obtidos resultados satisfatórios para o diclorvós e, tendo em vista ser um agrotóxico muito utilizado em medicina veterinária e que seus resíduos podem contaminar o leite consumido pela população, estudos deverão ser feitos para a implantação de um método analítico adequado à sua análise.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre. A Tabela 1S apresenta o efeito matriz identificado na matriz leite por organofosforados para os 5 níveis de concentração estudados. A Tabela 2S apresenta resultados de recuperação (%) obtidos no leite em 6 diferentes combinações de sorventes, para os organofosforados estudados. A Tabela 3S apresenta a representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite para os agrotóxicos estudados.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e à Fundação de Estudos e Projetos do Ministério da Ciência e Tecnologia (FINEP).

REFERÊNCIAS

1. Sampaio, I. A.; comunicação pessoal.
2. Melgar, M. J.; Santaefemia, M.; Garcia, A. M. J.; *J. Environ. Sci. Health, Part B* **2010**, *45*, 595.
3. Jardim, A. N. O.; Caldas, E. D.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1898.
4. Kan, A. C.; *R. Bras. Zootec.* **2009**, *38*, 423.
5. Bastos, L. H. P.; Cardoso, M. H. W. M.; Nóbrega, A. W.; Jacob, S. C.; *Cad. Saúde Colet.* **2011**, *19*, 51.
6. <http://www.anvisa.gov.br>, acessada em Abril 2012.
7. Prestes, D. O.; Adaiame, M. B.; Zanella, R.; *Scientia Chromatographica* **2011**, *3*, 51.
8. Prestes, D. O.; Friggi, C. A.; Adaiame, M. B.; Zanella, R.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1620.
9. Anastasiades, M.; Lehotay, S. J.; Stajnbaher, D.; Schenck, F. J.; *J. AOAC Int.* **2003**, *86*, 412.
10. Lehotay, S. J.; Mástovská, K.; Lightfield, R.; *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 615.
11. Jeong, I.-S.; Kwak, B.-M.; Jeong, S.-H.; *Food Chem.* **2012**, *133*, 473.
12. Lehotay, S. J.; Mástovská, K.; *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 630.
13. European Community; *Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed*. Document N° SANCO/ 2009/10684, Sweden, 2009.
14. United States Department of Agriculture; *Chemical Compounds, PDP Commodity Grouping, Method Validation and Quality Control SOP No PDP-QC. 2010*, Rev 01, Washington, 2010.
15. Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R.; *Pure Appl. Chem.* **2006**, *78*, 145.
16. Cardoso, M. H. W.; Gouvêa, A. V.; Nóbrega, A. W.; Abrantes, S. M. P.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2010**, *30*, 63.
17. Codex Alimentarius Commission; *Pesticide residues in food: methods of analysis and sampling*, 2nd ed., 2000, vol. 2A, part 1, Rome.
18. <http://www.sindan.org.br>, acessada em Abril 2012.
19. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Instrução Normativa n° 24, *Diário Oficial da União*, 11 de agosto de 2011, n° 154.

5.2.1 Material Suplementar referente ao segundo Manuscrito.

Quim. Nova, Vol. 35, No. 8, S1-S5, 2012

IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE ORGANOFOSFORADOS EM LEITE POR CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR FOTOMÉTRICO DE CHAMA

Lucia Helena Pinto Bastos*, Adherlene Vieira Gouvêa, Fabíola Málaga, Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso, Silvana do Couto Jacob e Armi Wanderley da Nóbrega
Departamento de Química, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, 21045-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Material Suplementar

Tabela 1S. Efeito matriz identificado na matriz leite, por organofosforados, para os 5 níveis avaliados

Agrotóxicos	Níveis $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
Carbofenotiona, e dissulfotom				X	X
Clorpirifós e malationa		X			X
Clorpirifós metil, dissulfotom					X
Diazinona, etiona, fenitrotiona, izasofós e parationa-metilica			X		
Diclorvós (DDVP), etrinfos, forato					X
Dissulfotom-S- sulfurom			X	X	
Fosalona e iodofenós		X	X	X	
Mevinfós e sulfoprofós		X	X		X
Pirazofos	X		X	X	X
Tebupirifós		X			
Metidationa	X		X	X	
Bromofós-etílico e metílico, pirimifós-metil e tiometona				X	
Clorfenvinós	X			X	X
Iodofenós		X	X		X

X: indica presença de efeito matriz no nível estudado em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

*e-mail: lucia.bastos@incqs.fiocruz.br

Tabela 2S. Resultados de recuperação (%), obtidos no leite, dos agrotóxicos estudados, em 6 diferentes combinações de sorventes estudadas (representadas de A a F)

Agrotóxico	Conc. adicionada $\mu\text{g kg}^{-1}$	A %	B %	C %	D %	E %	F %
Acefato	0,068	69	72	83	54	99	65
Azinfós-etílico	0,066	76	89	92	69	108	85
Azinfós-metilico	0,066	70	81	77	59	93	74
Bromofós-etílico	0,065	72	65	81	62	97	76
Bromofós-metilico	0,104	70	72	84	65	98	82
Carbofenotiona	0,066	83	70	94	68	99	83
Clorfenvinfós	0,071	67	67	65	56	81	63
Clorpirifós	0,076	82	84	84	68	98	86
Clorpirifós metílico	0,073	75	83	93	65	104	88
Demetom-S-metilico	0,079	70	72	87	62	102	77
Diazinona	0,089	68	68	82	60	93	76
Diclorvós* (DDVP)	0,091	41	43	43	20	42	35
Dimetoato	0,063	83	66	66	68	76	78
Disulfotom	0,090	65	63	77	59	90	71
Disulfotom-S-sulfuron	0,054	70	78	87	65	96	79
Etiona	0,096	68	68	81	62	95	77
Etoprofós	0,085	65	66	64	52	76	68
Etrinfós	0,070	Na	Na	Na	Na	101	Na
Fenamifós	0,056	90	92	90	63	110	88
Fenitrotiona	0,073	75	79	89	70	104	81
Fentiona	0,081	63	66	66	53	84	68
Forato	0,081	62	61	61	49	73	65
Fosalona	0,063	87	93	118	82	114	100
Fosfamidona	0,084	92	97	97	71	108	95
Fosmete	0,067	64	79	76	51	95	76
Fomotiona	0,075	55	116	116	36	87	68
Iodofenfós	0,062	84	85	86	73	110	99
Iodofenfós	0,062	84	85	86	73	110	99
Izasofós	0,095	83	80	98	72	112	89
Malaoxon	0,063	81	86	86	63	96	84
Malationa	0,076	66	73	73	56	89	72
Metamidofós	0,085	65	70	81	53	83	60
Metidationa	0,046	72	76	84	63	101	84
Mevinfós	0,108	73	73	73	55	83	69
Monocrotofós	0,058	91	89	89	62	101	79
Naledo	0,074	64	52	66	56	86	87
Ometoato	0,071	66	66	86	56	88	70
Paraoxon etílico	0,089	90	94	109	79	112	100
Paraoxon metílico	0,103	77	48	86	51	91	70
Parationa-etílica	0,064	74	79	91	69	102	86
Parationa-metílica	0,064	150	153	179	130	111	176
Pirazofós	0,077	77	82	91	72	110	88
Piridafentiona	0,067	82	84	84	68	104	86
Pirimifós-etílico	0,065	75	75	75	67	99	79
Pirimifós-metilico	0,069	98	88	104	84	111	148
Profenofós	0,060	70	76	83	58	90	245
Protiofós	0,069	113	108	126	103	104	129
Sulfoprós	0,065	77	77	77	70	90	75
Terbufós	0,063	91	91	91	76	118	97
Tebupirinfós	0,085	77	77	77	64	95	81
Tetraclorvinfós	0,063	79	75	75	63	106	72
Tiometona	0,067	64	68	79	58	95	74
Triazofós	0,063	95	101	97	83	95	101
Vamidotona	0,088	116	133	116	66	111	116

Na: Não avaliado.* Recuperação baixa todas as combinações.

Tabela 3S. Representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite para os 53 organofosforados estudados

Agrotóxico e estatísticas	Faixa linear µg mL ⁻¹	Equação da regressão	R ²	C _{calculado}	C tabelado k=5, n= 2	Resultados
Acefato	0,011 a 0,056	y = 3608,6907 - 14,5872	0,976	0,595	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (525,9873) > valor p (6,708 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Azinfós-etílico	0,011 a 0,053	y = 2579,4604x - 2,7606	0,984	0,431	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (775,2435) > valor p (5,651 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
Azinfós-metilico	0,011 a 0,053	y = 2529,6020x + 0,2548	0,978	0,431	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (591,2248) > valor p (3,188 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Bromofós-etílico	0,052 a 0,2620	y = 4003,1161x + 4,1636	0,983	0,566	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (767,4118) > valor p (6030 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
Bromofós-metilico	0,014 a 0,068	y = 3749,6160x + 1,9106	0,976	0,580	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (519,5733) > valor p (7,252 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Carbofenotiona	0,011 a 0,053	y = 3032,5727x - 0,0650	0,972	0,450	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (456,0078) > valor p (1,659 * 10 ⁻¹¹)				Significante
Anova falta de ajuste						
Clorfenvífós	0,015 a 0,075	y = 2590,2060x + 3,6448	0,984	0,381	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (824,2578) > valor p (3,816 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
*Clorpirifós (3 pontos)	0,020 a 0,041	y = 4286,684033x + 19,381250	0,978	0,597	K=3, n=2 0,871	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (306,5369) > valor p (4,882 * 10 ⁻⁷)				Significante
Anova falta de ajuste						
Clorpirifós-metil	0,012 a 0,060	y = 40378,575x + 8,4351	0,985	0,607	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (855,0984) > valor p (1,659 * 10 ⁻¹¹)				Significante
Anova falta de ajuste						
*Demeton S metil	0,011 a 0,054	y = 5502,0713x + 1,7845	0,978	0,724	K=3, n=2 0,871	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (0,72428) > valor p (1,659 * 10 ⁻¹¹)				Significante
Anova falta de ajuste						
Diazinona	0,014 a 0,071	y = 4771,2734x + 2,1427	0,976	0,664	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (529,3397) > valor p (6,442 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Dissulfotom S, Sulfurom	0,015 a 0,0077	y = 3267,3889x + 0,7105	0,984	0,604	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (823,4276) > valor p (3,841 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
*Diclorvós (3 pontos)	0,029 a 0,058	y = 4888,355843x + 7,243346	0,980	0,498	K=3, n=2 0,871	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (348,9783) > valor p (3,127 * 10 ⁻⁷)				Significante
Anova falta de ajuste						
Dimetoato	0,010 a 0,051	y = 5512,6832x + 2,7054	0,986	0,606	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (891,6945) > valor p (2,305 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
Dissulfotom	0,011 a 0,053	y = 5001,9994x + 1,5532	0,981	0,566	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (660,5998) > valor p (1,571 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Etiona	0,015 a 0,077	y = 5691,6645x + 2,6960	0,980	0,546	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (636,2618) > valor p (1,997 * 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Etoprofós	0,014 a 0,068	y = 5281,221x + 2,3842	0,984	0,662	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (786,5748) > valor p (5,149 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						
*Etrifós (3 pontos)	0,026 a 0,042	y = 9740,973163x - 72,139209	0,987	0,395	K=3, n=2 0,871	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (521,4785) > valor p (7,824 * 10 ⁻⁸)				Significante
Anova falta de ajuste						
Fenami fós	0,009 a 0,045	y = 3735,5422x + 1,4283	0,971	0,358	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (432,3369) > valor p (2,325 * 10 ⁻¹¹)				Significante
Anova falta de ajuste						
Fenitrotona	0,012 a 0,058	y = 5106,7708x + 1,1467	0,984	0,664	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (823,8957) > valor p (3,827 * 10 ⁻¹³)				Significante
Anova falta de ajuste						

Tabela 3S. continuação

Agrotóxico e estatísticas	Faixa linear $\mu\text{g mL}^{-1}$	Equação da regressão	R ²	C _{calculado}	C tabelado k=5, n=2	Resultados
Fentiona						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,057	$y=4523,6247x + 2,0826$	0,981	0,510	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (650,0337) > \text{valor } p (1,742* 10^{-12})$				Significante
*Forato (3 pontos)						Homoscedástico
Anova teste F	0,026 a 0,051	$y= 4691,4285x + 5,415957$	0,992	0,481	K=3, n=2 0,871	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (883,5896) > \text{valor } p (1,257* 10^{-8})$				Significante
Formotiona						Homoscedástico
Anova teste F	0,010 a 0,050	$y= 4323,5736x + 1,3794$	0,986	0,473	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (955,6693) > \text{valor } p (1,478* 10^{-13})$				Significante
Fosfamidona						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,054	$y= 2590,3503x + 0,3034$	0,982	0,510	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (702,0656) > \text{valor } p (1,065* 10^{-12})$				Significante
Fosalona						Homoscedástico
Anova teste F	0,010 a 0,051	$y= 2716,957x + 0,6514$	0,982	0,491	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (653,2523) > \text{valor } p (1,688* 10^{-12})$				Significante
Fosmete						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,053	$y= 2843,8585x + 2,9419$	0,977	0,319	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (550,247) > \text{valor } p (5,032* 10^{-12})$				Significante
Iodofenóis						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,050	$y= 3222,1890x - 0,0156$	0,971	0,510	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (444,3066) > \text{valor } p (1,956* 10^{-11})$				Significante
Isazofós						Homoscedástico
Anova teste F	0,01 a 0,048	$y= 4684,4303x + 8,1952$	0,975	0,631	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (516,1696) > \text{valor } p (7,561* 10^{-12})$				Significante
Malaaxon						Homoscedástico
Anova teste F	0,010 a 0,050	$y= 3251,5715x + 6,0906$	0,986	0,543	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (893,0895) > \text{valor } p (2,282* 10^{-13})$				Significante
Malationa						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,057	$y= 3719,5395x + 3,2411$	0,982	0,528	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (720,0988) > \text{valor } p (9,059* 10^{-13})$				Significante
Mediotiona						Homoscedástico
Anova teste F	0,012 a 0,062	$y= 3619,1177x + 5,5137$	0,983	0,485	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (764,5637) > \text{valor } p (6,175* 10^{-13})$				Significante
Metamidofós						Homoscedástico
Anova teste F	0,014 a 0,068	$y= 7131,7611x - 21,7667$	0,973	0,529	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (467,7296) > \text{valor } p (1,413* 10^{-11})$				Significante
*Mevinfós (3 pontos)						Homoscedástico
Anova teste F	0,023 a 0,047	$y= 3153,872083x + 13,814593$	0,990	0,433	K=3, n=2 0,871	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (700,6748) > \text{valor } p (2,812* 10^{-8})$				Significante
Monocrotofós						Homoscedástico
Anova teste F	0,013 a 0,067	$y= 3168,3171x - 2,2303$	0,976	0,643	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (521,8643) > \text{valor } p (7,052* 10^{-12})$				Significante
*Naleda (3 pontos)						Homoscedástico
Anova teste F	0,02 a 0,041	$y= 2114,138897x - 13,403303$	0,971	0,859	K=3, n=2 0,871	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (235,9571) > \text{valor } p (1,195* 10^{-6})$				Significante
Ometoato						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,056	$y= 2058,9907x - 4,9230$	0,981	0,981	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (672,7437) > \text{valor } p (1,399* 10^{-12})$				Significante
Paraoxon etílico						Homoscedástico
Anova teste F	0,012 a 0,061	$y= 4051,5172x + 9,0458$	0,962	0,495	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (333,4792) > \text{valor } p (1,193* 10^{-10})$				Significante
Parationa etílica						Homoscedástico
Anova teste F	0,01 a 0,051	$y= 4368,3081x + 20,1605$	0,957	0,562	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (286,3763) > \text{valor } p (3,092* 10^{-10})$				Significante
Parationa-metílica						Homoscedástico
Anova teste F	0,01 a 0,05	$y= 5282,2749x + 4,8874$	0,973	0,674	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (472,3859) > \text{valor } p (1,327* 10^{-11})$				Significante
Pirazofós						Homoscedástico
Anova teste F	0,01 a 0,051	$y= 2508,7874x + 1,8800$	0,980	0,387	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (472,3859) > \text{valor } p (1,327* 10^{-11})$				Significante
Piridafentiona						Homoscedástico
Anova teste F	0,011 a 0,054	$y= 2896,6361x + 0,5592$	0,976	0,398	0,684	
Anova falta de ajuste		$F_{calculado} (536,9533) > \text{valor } p (5,883* 10^{-12})$				Significante

Tabela 3S. continuação

Agrotóxico e estatísticas	Faixa linear $\mu\text{g mL}^{-1}$	Equação da regressão	R ²	C _{calculado}	C tabelado k=5, n=2	Resultados
Pimifós-etílico	0,010 a 0,052	y= 3899,2294x + 6,5209	0,977	0,666	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (547,5987) > valor p (5,193* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Pimifós-metílico	0,01 a 0,053	y= 4123,0249x + 4,3524	0,975	0,470	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (506,2561) > valor p (8,551* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Profenofós	0,011 a 0,053	y= 2622,2221x + 5,2219	0,976	0,638	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (532,4880) > valor p (6,204* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Protiofós	0,01 a 0,05	y= 3256,1213x + 1,1661	0,987	0,508	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (1023,6405) > valor p (9,507* 10 ⁻¹⁶)				Significante
Anova falta de ajuste						
Sulprofós	0,01 a 0,052	y= 3218,7019x + 1,9930	0,979	0,268	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (615,1118) > valor p (2,477* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
*Terbufós (3 pontos)	0,024 a 0,049	y= 3906,192569x + 17,206566	0,995	0,747	K=3, n=2 0,871	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (1409,8103) > valor p (2,472* 10 ⁻⁹)				Significante
Anova falta de ajuste						
Tebupirinfós	0,011 a 0,056	y= 4188,5914x + 0,4940	0,979	0,462	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (617,3235) > valor p (2,421* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Tetraclorvinfós	0,01 a 0,051	y= 2787,7877x + 4,9800	0,980	0,457	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (631,8844) > valor p (2,087* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Tiometona	0,01 a 0,048	y= 5279,9076x - 1,6444	0,972	0,644	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (459,5848) > valor p (1,579* 10 ⁻¹¹)				Significante
Anova falta de ajuste						
Triazofós	0,01 a 0,051	y= 2508,7874x + 1,8800	0,980	0,583	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (643,5612) > valor p (1,857* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						
Triazofós	0,01 a 0,051	y= 2508,7874x + 1,8800	0,980	0,583	0,684	Homoscedástico
Anova teste F		F _{calculado} (643,5612) > valor p (1,857* 10 ⁻¹²)				Significante
Anova falta de ajuste						

5.3 MANUSCRITO 3 - Determinação de Resíduos de Agrotóxicos da Classe dos Organofosforados por CG-DFC em Amostras de Leite Fluído e em pó

Artigo Científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico “Química Nova”.

“DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS DA CLASSE DOS ORGANOFOSFORADOS POR CG-DFC” EM AMOSTRAS DE LEITE FLUÍDO E EM PÓ”.

Os Organofosforados (OPs) agem fosforilando a enzima acetilcolinesterase (AChase) e bloqueando de forma irreversível, ou apenas lentamente reversível, a sua atividade catalítica; inibem a ação da acetil-colinesterase, enzima responsável pela inativação do neurotransmissor acetilcolina (CASARETT, DOULL'S, 2007). Em virtude desse fato, o bloqueio irreversível da acetil-colinesterase pelos OPs desencadeia um quadro neurotóxico agudo. Além do quadro neurotóxico agudo, a toxicidade resultante dessas substâncias pode se manifestar de outras formas como na exposição crônica a longo prazo com o aparecimento de efeitos neuropsicológicos ou neuropsiquiátricos (ANVISA, 2008).

Estudos experimentais sugerem que crianças (organismos em desenvolvimento) possam ser mais vulneráveis aos efeitos dos OPs. Esses foram detectados em fluido amniótico devido à facilidade dessas substâncias atravessarem a barreira placentária. Trabalho de Rauh e colaboradores (2012) mostrou anomalias no desenvolvimento do cérebro de crianças expostas no pré-natal ao organofosforado clorpirifós.

Estudos de três diferentes grupos de pesquisa concluíram uma redução do quociente de inteligência (QI) em crianças expostas aos organofosforados antes do nascimento (BOUCHARD et al., 2011; ENGEL et al., 2011; RAUH et al., 2011).

Considerando os efeitos tóxicos dessas substâncias, mesmo em níveis residuais é de suma importância que os seus resíduos sejam avaliados em alimentos, principalmente aqueles de alto consumo e de consumo infantil. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar resíduos de organofosforados em amostras de leite fluido e em pó utilizando o método de extração QuEChERS e a detecção por cromatografia gasosa com detecção por fotometria de chama (CG-DFC).

Avaliação de resíduos de agrotóxicos em leite foram realizadas no Brasil em programa de monitoramento do MAPA denominado PNCRL para 12 dentre 30 agrotóxicos pertencentes a classe dos organofosforados (BRASIL-PNCR, 2011) com uso permitido pela legislação brasileira (BRASIL-AGROFIT, 2013).

Alguns desses ingredientes ativos (IA) possuem grande importância toxicológica e devem ser avaliados devido a alta toxicidade, como exemplo: cadusafós, tolclorfós metílico, coumafós e diclorvós entre outros (ANVISA, 2008).

Método experimental

Foram analisadas amostras de leite UHT e em pó quanto à presença de resíduos de agrotóxicos da classe dos organofosforados utilizando o método QuEChERS (PRESTES et al., 2009) com detecção por CG-DFC, previamente validado em outro trabalho (BASTOS et al., 2012). Foram avaliados quarenta e nove agrotóxicos da classe dos organofosforados e quatro produtos de degradação, totalizando cinquenta e três substâncias. Os agrotóxicos avaliados, divididos em duas misturas distintas de organofosforados S1 e S2. A escolha dos agrotóxicos de cada solução foi feita em função do tempo de retenção de cada substância.

A S1 foi composta dos seguintes agrotóxicos e de produtos de degradação, ordenados em ordem crescente de t_R (min): nalede, metamidofós, acefato, demetom-S-metílico, ometoato, tiometona, diazinona, dissulfotom, isazofós, clorpirifós-metil, parationa-metílica, pirimifós-metílico, paraoxon etílico, fenitrothion, parationa-etílica, bromofós-metílico, bromofós-etílico, protiofós, profenofós, dissulfotom-S-sulfurona, etiona, metidationa, carbofenotiona, fosalona, pirazofós e azinfós-etílico. O paraoxon-etílico e a dissulfotom-S-sulfurona são produtos de degradação da parationa-etílica e dissulfotom, respectivamente.

A S2 foi composta dos seguintes agrotóxicos e de dois produtos de degradação, também ordenados em ordem crescente de t_R (min): diclorvós, mevinfós, etoprofós, forato, terbufós, tebupirinfós, monocrotofós, etrinfos, dimetoato, paraoxon-metílico, fosfamidona, formotiona, malaoxon, clorpirifós, malationa, pirimifós-etílico, fentiona, clorfenvinfós, tetraclorvinfós, iodofenfós, fenamifós, vamidotona, triazofós, piridafentiona, fosmete, azinfós-metílico. O paraoxon-metílico e o malaoxon são produtos de degradação da parationa-metílica e malationa respectivamente.

Como garantia da qualidade dos resultados obtidos foram usados dois padrões analíticos o QA 1 - parationa metílica usado como controlador do equipamento e o QA 2

- clorpirifós-metílico usado como surrogate. Como consequência ao uso desse, as amostras não puderam ser avaliadas quanto à presença da substância clorpirifós-metílico (BASTOS et al., 2012).

Corroborando na garantia de qualidade um terceiro controle analítico – QA 53 - foi inserido em cada sequência de injeção. Esse continha todos os agrotóxicos em avaliação na corrida e como critério de aceitação foi utilizada a taxa de recuperação de 60 a 140% (SANCO, 2012).

Amostras analisadas

Amostras de leite fluído e em pó ambas na forma integral foram coletadas e analisadas. As amostras de leite fluído pasteurizado se encontravam em embalagens plásticas e UHT (ultra-alta temperatura) em tetra Pack, já as amostras de leite em pó estavam acondicionadas em embalagens poliéster metalizado / polietileno e em lata metálica. Essas foram adquiridas em diferentes estabelecimentos da cidade do Rio de Janeiro, exceção a amostras provenientes dos estados do Nordeste e Mato Grosso adquiridas naqueles estados.

As amostras de leite fluído foram pesadas ($m=15g$) e analisadas conforme procedimento anteriormente descrito (BASTOS et al., 2012). As amostras de leite em pó foram diluídas, em água deionizada, conforme recomendações de consumo expressas na rotulagem e analisadas com o mesmo procedimento do leite fluído. Na validação anteriormente efetuada, foram obtidos os limites de quantificação (LQM) e detecção do método (LDM), além de outros parâmetros de validação.

Leite fluído UHT e pasteurizado integral

Foram analisadas 222 amostras de leite fluído com datas de fabricação compreendidas em 01/07/2009 a 27/08/2011. O maior número de amostras coletadas ao longo do período (88) foi processada em cooperativas do Estado do Rio de Janeiro e as demais em diferentes estados brasileiros. A Tabela 1 especifica o quantitativo de amostras de leite fluído, expressa entre parênteses, por estado e ano de produção.

Tabela 1: Quantitativo de amostras de leite pasteurizado e UHT coletadas, por ano, estado de Federação brasileira e número de amostras em parênteses.

Ano produção	Quant.	Amostras por Estado
2009	98	RJ (48), MG (26), PR (7), RS (7), GO (6), SP (3), ES (1)
2010	34	RJ (16), MG (6), RS (4), SP (5), GO (2), SC (1)
2011	90	RJ (24), MG (15), RS (12), MT e MS (8) GO (6), SP (4), ES (4), SC (4), PR (4), BA (2), CE (2), AL (1), SE (1), PE (1), RO (1), RR (1)

As amostras coletadas, ao longo do período (2009 a 2011) também variaram quanto ao período de fabricação. O quantitativo de amostras coletadas por mês e ano encontra-se especificado na Tabela 2, onde estão descritas as variações do quantitativo de amostras por data de fabricação identificada por meses e ano amostrado.

Tabela 2: Distribuição das amostras coletadas de **leite UHT e pasteurizado**, por mês de fabricação, ano de coleta e seu percentual por mês de coleta.

Ano produção	Meses	Quantitativo de amostras	% amostrado mês (es) de fabricação
2009	outubro e novembro	74	75
	agosto e setembro	16	22
	julho	2	2
	abril	1	1
2010	maço	15	44
	dezembro	10	29
	agosto e setembro	4	12
	novembro	3	9
	outubro	1	3
	janeiro	1	3
2011	janeiro e fevereiro	24	27
	agosto e setembro	21	23
	junho	14	16
	março e abril	11	12
	outubro	10	11
	julho	6	7
	dezembro	1	1

Leite em pó integral

Foram analisadas 107 amostras de leite em pó integral e duas de leite desnatado, acondicionadas em embalagens flexíveis de poliéster metalizado/polietileno ou lata metálica. As amostras coletadas foram produzidas em diferentes áreas de produção do Brasil e duas delas na Argentina. Foram consideradas as áreas de produção especificadas nas embalagens das amostras. A Tabela 3 especifica o quantitativo de amostras de leite em pó integral, expresso entre parênteses, coletadas por ano de produção, estado brasileiro e Argentina.

Tabela 3: Distribuição do quantitativo de amostras de leite em pó, pelos estados produtores e Argentina.

Ano produção	Quant.	Amostras por Estado
2009	69	MG (27); RS (12); GO (10); RJ (9); SP (6); BA (2); Argentina (2); ES (1)
2010	10	MG (7); GO (1); SP (1)
2011	30	MG (13); GO (10); RS (1); SP (2); BA (2); MA (2)

O maior número de amostras de leite pó coletada foi produzido no estado de MG (47), a qual correspondeu a cerca de 47% das amostras por estado em todo o período, essas também variaram quanto ao período de fabricação, pois foram fabricadas no período de 11/04/2009 a 23/09/2012. O quantitativo de amostras coletadas por mês e ano encontra-se especificado na Tabela 4.

Tabela 4: Distribuição das amostras coletadas de leite UHT e pasteurizado, por mês de fabricação, ano de coleta e seu percentual por mês de coleta.

Ano produção	Meses	Quantitativo de amostras	Amostras por mês de fabricação (%)
2009	julho e agosto	28	41
	setembro e outubro	27	39
	abril	5	7
	junho	4	6
	novembro	3	4
	maio	2	3
2010	março	3	30
	setembro	3	30
	fevereiro	1	10
	abril	1	10
	outubro	1	10
	dezembro	1	10
2011	maio, junho e julho	14	47
	agosto	6	20
	janeiro	3	10
	abril	2	7
	fevereiro	2	7
	setembro	2	7
	março	1	3

Resultados e discussão

Resultados dos controles de qualidade

Na avaliação do surrogate cerca de 90% das amostras de leite fluído estiveram dentro da faixa de recuperação adequada (60 a 140 %) conforme recomendação do SANCO (2012), exceção para duas amostras de leite fluído, uma delas em embalagem plástica produzida no estado do RJ (ano de 2009) e a outra amostra de leite fluído UHT produzida no RS (ano 2010), as quais apresentaram recuperações ligeiramente superiores a 100% havendo, portanto nessas amostras a possibilidade da presença do clorpirifós metílico (SANCO, 2012).

Nas amostras de leite em pó três amostras, embalagens flexíveis de poliéster metalizado/polietileno, também apresentaram recuperações superiores a 100%. Duas produzidas em MG (anos 2009 e 2010) e uma no RS (ano 2010).

A avaliação da presença do clorpirifós-metílico poderá ser feita com uma nova extração, por CG-DFC, sem a adição do surrogate e com confirmação por espectrometria em massas (EM).

A confirmação da presença de um analito é possível com a combinação de duas ou mais análises idealmente com o uso de métodos ortogonais - cromatografia líquida e gasosa - onde pelo menos um deles satisfaça os critérios de identificação (SANCO, 2012; LEHOTAY, et al., 2005). Os resíduos dos analitos clorpirifós, fentiona e parationa metilica foram confirmados em amostras de leite por LC-EM/EM e os outros organofosforados não puderam ser confirmados.

Leite Fluído

Foi obtido pelo menos um resíduo de agrotóxico, por amostra, em 50 amostras de leite fluído analisadas dentre as 222 amostras correspondendo à presença de resíduos em cerca de 23% das amostras avaliadas nos três anos de monitoramento. Todos os resultados obtidos foram em níveis residuais e inferiores aos LQM do método anteriormente validado, estando próximos aos valores do LDM .(BASTOS et al., 2012).

Foi observada diferença, em número de resíduos de organofosforados encontrados nas amostras analisadas ao longo do período de análise das amostras (2009 a 2011). No primeiro ano da avaliação (2009) foi observado a presença de cerca de 56% de resíduos; no segundo ano (2010) 32% e no terceiro ano 9% (2011).

O agrotóxico presente em maior número de amostras foi o acefato, encontrado com maior freqüência em amostras coletadas no ano de 2009 e menor presença no ano de 2010 e não identificada a presença no ano de 2011

Algumas amostras de leite fluído apresentaram mais de um resíduo por amostra. Nos cromatogramas também foram observados picos não identificados em relação aos agrotóxicos testados (S1 e S2) estes estavam presentes em grande número de

amostras, mas não foi observado no leite orgânico, branco usado na validação do método.

Um resíduo com t_R (min) = 2 a 2,5 foi encontrado em 63 amostras de leite fluído dentre as 222 amostras analisadas correspondendo a 28% das amostras analisadas, a identidade deste resíduo não foi conhecida neste trabalho. A presença dessa substância sugere ser um produto de degradação de algum IA usado.

Leite em pó

Em 109 amostras de leite em pó analisadas, nos três anos de monitoramento, 30 delas apresentaram pelo menos um resíduo correspondendo a cerca de 27% nas amostras avaliadas. Esse resíduo foi o mesmo identificado no leite fluído t_R (min) = 2 a 2,5.

Agrotóxicos identificados nas amostras analisadas

Foram encontrados resíduos de acefato, clorpirifós, etiona, fentiona, fosmete, malaoxon, pirazofós nas amostras de leite fluído. Foi possível observar que todos os agrotóxicos presentes no leite fluído também foram encontrados no leite em pó, porém a recíproca não foi verdadeira, pois vários ingredientes ativos (IA) somente foram observados no leite em pó.

Os IAs identificados no leite em pó foram: bromofós-metílico e etílico, carbofenotona, dissulfotom, azametifós ou iodofenós parationa-metílica, pirazofós, profenofós, terbufós e tiometona. Na Tabela 5 encontra-se sumarizado o número de amostras avaliadas, o número de amostras com resíduos e seu percentual (%), os IA presentes por número de amostras e amostras que apresentaram mais de um resíduo de agrotóxico em uma mesma amostra. Todas as informações são para o leite em pó e fluído.

Tabela 5: Resultados obtidos no monitoramento das amostras de leite fluído (pasteurizado e UHT) e em pó.

Amostras	Leite Fluído	Leite em Pó
Ano	2009	2009
Amostras analisadas	98	84
Número e % amostras com resíduos	31(32%)	12 (14%)
Número de amostras com resíduos representado entre parênteses	Acefato (21) clorpirifós (6)	acefato (1); azametifós (2), bromofós-etílico (2), bromofós-metílico (1), carbofenotiona (2), clorpirifós (1), dissulfotom (1), etiona (1), fosmete (1), iodofenós (1), parationa-metílica (1), pirazofós (1), profenofós (1), terbufós(1); tiometona (3)
Número de amostras com dois ou mais resíduos na mesma amostra.	1(clorpirifós e acefato); 1(acefato e etiona)	1 (carbofenotiona e dissulfotom) 1 (fosmete, bromofós-etílico, profenofós, azametifós. 1 (clorpirifós, azametifós) 1 (azametifós e fosmete) 1 (tiometona e terbufós) 1 (carbofenotiona, fosmete e acefato)
Ano	2010	2010
Amostras analisadas	34	21
Número e % amostras com resíduos	11 (32%)	2 (9,5%)
Organosforados encontrados	Acefato (11), fosmete (1) e malaoxon	Acefato (2) e malaoxon (1)
Número de amostras com dois resíduos na mesma amostra.	nenhuma	1(acefato e malaoxon)
Ano	2011	2011
Amostras analisadas	90	30
Número e % amostras com resíduos	8 (9%)	13 (35%)
Organosforados encontrados	fosmete, malaoxon e pirazofós	Acefato (9),malaoxon (4); metamidofós (2); terbufós (1).
Amostras com dois resíduos	1 (pirazofós e fosmete)	2 (acefato e malaoxon) 1 (acefato e metamidofos)

Resíduos de acefato foram encontrados em um maior número de amostras de leite fluído nos anos de 2009 e 2010 e em algumas amostras de leite em pó (18) no número total de amostras analisadas. Resíduos de acefato foram observados em cerca de 90% das amostras analisadas de leite pasteurizado acondicionadas em embalagens plásticas, produzidos no período de outubro e novembro de 2009 e março de 2010.

A presença de acefato em níveis residuais, bem abaixo do LQM, deve ser avaliada quanto à segurança do consumo de leite principalmente no público infantil, pois há suspeitas de que o agrotóxico em exposição crônica possa resultar em efeitos adversos a saúde em longo prazo. Efeitos neuropsicológico ou neuropsiquiátrico são

sugeridos e estudos experimentais indicam que crianças possam ser mais vulneráveis a esses efeitos (ANVISA-ACEFATO, 2008).

A RDC 48 de 7 de julho de 2008 (ANVISA, 2013) estabeleceu procedimentos administrativos para a reavaliação do acefato entre outros agrotóxicos. Durante o processo de reavaliação foi elaborada pela ANVISA e colaboradores uma nota técnica sobre o produto sugerindo mudanças da IDA para $0,0008 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo/dia (atual 0,03) e a proibição do uso do produto em culturas como soja e algodão (importantes na AA) até 31 de outubro de 2013 (ANVISA-ACEFATO, 2008).

Essa reavaliação ainda não foi concluída e os novos parâmetros para o IA aguardam implementação. Seria desejável que fosse realizada uma avaliação da ingesta dos resíduos do acefato em público infantil utilizando a nova proposta da IDA ($0,0008 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo/dia) como forma de avaliação se a presença desses resíduos iria impactar a IDA da substância. O agrotóxico tem seu LMR ($1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$) estabelecido para soja e citrus, produtos de grande impacto na AA (Manuscrito 5).

O clorpirifós tem seu uso permitido em diferentes tipos de cereais com uso na AA como: algodão, cevada, milho, pastagem, sorgo, soja e trigo com LMR variando de 0,01 a 2 mg.kg^{-1} e sendo permitido também para 25 medicamentos veterinários. O seu valor de IDA é de $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}\text{pc/dia}$.

A fentiona tem seu uso permitido em hortifrutigranjeiros com limites variando de ($0,05$ a 1 mg.kg^{-1}) e uso aprovado como domissanitários no combate a formigas e cupins. O agrotóxico fosmete com uso permitido em citros, maçã e pêsego (LMR 1 a $3,0 \text{ mg.kg}^{-1}$) e 11 produtos veterinários, foi reavaliado recentemente tendo a sua IDA alterada para $0,005 \text{ mg.kg}^{-1} .\text{p.c/dia}$, tem seu uso também permitido em domissanitários (SINDAN, 2013; ANVISA 2012) e medicamentos veterinários (11 produtos uso no gado). O agrotóxico também foi identificado em amostras de ração animal em base cítrica ($0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$) (Manuscrito 5).

O malaoxon é o produto de degradação da malationa, essa tem seu uso permitido em produtos armazenados e pastagens (LMR 3 a 135 mg.kg^{-1}) e citrus ($3,0 \text{ mg.kg}^{-1}$). A malationa foi identificada em ração animal com base cítrica em concentrações de $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$ e tem seu permitido também como domissanitário com o valor de IDA é $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{pc}$ (BASTOS et al.,2011; ANVISA, 2013).

Carbofenotiona foi identificada em três amostras de leite em pó, mas esses valores não puderam ser confirmados por uma segunda técnica analítica. Como o produto não tem o seu uso permitido pela legislação nacional é imprescindível essa confirmação da presença nas amostras identificadas. O pirazofós tem seu uso permitido para hortifrutigranjeiros e trigo cuja semente é utilizada na AA com LMR de 0,01 a 0,2 mg.kg⁻¹. Seu valor de IDA é 0,004 mg.kg⁻¹.pc

Pirazofós foi identificado em uma amostra de leite em pó e tem o seu uso permitido para a cultura do trigo (LMR 0,02 mg.kg⁻¹). Terbufós foi identificado em duas amostras de leite em pó (ano 2009 e 2011) e tem o seu uso permitido para a cultura do café, cana de açúcar, algodão e milho (LMR 0,05 mg.kg⁻¹) sendo seus subprodutos utilizados na AA. O IA foi avaliado em trabalho de Bastos (Manuscrito 5), em amostras de milho e ração animal entre outras, não tendo sido encontrado os seus resíduos dentro do LQM (0,05 mg.kg⁻¹) estabelecido pelo método. Apesar da sua presença em níveis residuais e em poucas amostras analisadas (2 em 222) a sua avaliação e monitoramento em amostras de leite merece atenção por possuir um valor de IDA extremamente baixo (0,0002 mg.Kg⁻¹ mg.kg⁻¹ pc/dia).

Outros IA foram observados em somente uma amostra, dentre as 357 amostras avaliadas, considerando leite fluído e pó (2009 a 2011), fato que pode representar menor risco de ingestão, porém em termos de saúde torna-se importante a sua identificação pela possibilidade da presença de mais de um resíduo em uma mesma amostra de substâncias com o mesmo mecanismo de ação. Os agrotóxicos observados em uma única amostra foram: etiona, dissulfotom, iodofenós, parationa-metílica e profenofós,

A etiona tem seu uso permitido para abacaxi, citros, e tomate (LMR 2,0 mg.kg⁻¹), produtos cujo subproduto são utilizados na AA (AZEVEDO, et al., 2011; ANVISA, 2012). Em trabalho de monitoramento anterior, Bastos (Manuscrito 5) identificou a presença da etiona em amostras de AA de ração para gado leiteiro, farelo de soja e grãos de soja, no qual seu uso não é permitido. A substância também tem seu uso permitido em medicamentos veterinários para o gado leiteiro para três produtos formulados ectoparasitários (BASTOS et al., 2011; SINDAN 2013).

Dissulfotom possui seu uso autorizado a sementes de algodão e café (LMR 0,1 e 0,2 mg.kg⁻¹). O LMR estabelecido para o IA considera o somatório dos seus produtos de degradação: demeton-S e seus sulfóxidos e sulfonas. Trabalho de monitoramento de resíduos do produto em subprodutos do algodão, para AA, não identificaram a presença da substância nas amostras avaliadas. Neste trabalho foi avaliado somente o demeton-S e o dissulfotom (Manuscrito 5). A presença de resíduos da substância em uma única amostra pode ter sido originada da AA proveniente das sementes de algodão.

Parationa-metílica foi identificada, mas não confirmada, na amostra de leite em pó, esse é permitido em alguns cereais (LMR 0,5 a 0,3 mg.kg⁻¹).

O IA profenofós encontrado no leite em pó, também foi identificado por Bastos (Manuscrito 5) em amostras de AA de Resíduo de armazém e ração comercial sugerindo ser essa a via de contaminação no leite.

Resíduos dos IAs: azametifós (1 em 84) e bromofós etílico e metílico foram encontrados em amostras de leite em pó (6 em 84) sugerindo o uso desses produtos em instalações de processamento de leite. Não há na legislação brasileira o estabelecimento de LMR para produtos domissanitários. Alguns analitos não puderam ser confirmados por uma segunda técnica analítica como o azametifós (não validado), bromofós-metílico e etílico, carbofenotiona, dissulfotom, profenofós, terbufós, tiometona e iodofenfós.

A presença de resíduos no leite como: acefato, fosmete, etiona, parationa-metílica foram confirmadas por LC/EM/EM em amostras de leite em pó, mas não foi possível a confirmação em todas as amostras analisadas de leite em pó e nem tampouco em leite fluído pasteurizado acondicionado em embalagens plásticas devido as confirmações somente serem possíveis após um grande período de tempo da análise inicial (1 ano).

Comparando as amostras de leite fluído e leite em pó quanto à presença de resíduos de agrotóxicos foi possível observar que:

As amostras de leite fluído apresentaram um maior número de amostras com resíduos de organofosforados quando comparada as amostras de leite em pó nos anos de 2009 e 2010, sendo os percentuais de resíduos obtidos, no primeiro ano, de 32 e 14% respectivamente para o leite fluído e em pó e 32 e 9,5% no segundo ano.

Entretanto no ano de 2011 foram identificados um maior número de amostras de leite em pó com resíduos (8 amostras 35%) comparadas ao leite fluído, esta diferença pode estar relacionada a diferença nos meses de produção do leite das amostras coletadas (Tabelas 2 e 4) e no pequeno espaço amostral das amostras de leite em pó comparadas ao leite fluído (8 e 13).

Todos os resíduos de organofosforados analisados se encontravam muito abaixo do limite de quantificação do método validado e dentro do LMR para os IAs: acefato, clorpirifós. Para o clorpirifós e acefato, o método validado não conseguiu obter níveis de LQM compatíveis ao LMR, sendo desejável a utilização de um método de detecção mais sensível para a avaliação e confirmação desses níveis, possivelmente a cromatografia gasosa ou líquida ambas com detecção por EM/EM. Os agrotóxicos: dissulfotom, etiona, fosmete, parationa-metílica, pirazofós e terbufós não possuem LMR especificado para produtos de origem animal no Brasil, CODEX, EU e EUA. (CODEX, 2013; EU, 2013; USDA 2013).

Os LMR especificados no Brasil, EU (Comunidade Européia), Codex e EUA dos IA encontrados nas amostras de leite avaliadas e os LQM do método previamente validado encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5: LMR especificados para os agrotóxicos obtidos nas amostras de leite no Brasil, Codex, EU, e USA. LQM obtidos na validação do método por CG-DFC.

Agrotóxico	LQM ¹ (mg.kg ⁻¹)	Resultados (mg.kg ⁻¹)	LMR ² Brasil	LMR ³ Codex	LMR ⁴ EUR	LMR ⁵ USA
acefato	0,05	<0,05	0,02	0,02	0,02	0,1
azametifós	Não validado	-----	DS	DS	0,01	DS
bromofós-metílico	0,01	<0,01	DS	NE	DS	DS
carbofenotiona	0,07	<0,05	P	P	0,01	P
clorpirifós	0,01	< 0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
dissulfotom	Não validado	-----	NE	0,01	P	NE
etiona	0,02	< 0,02	NE	NE	0,01	NE
fosmete	0,04	<0,04	NE	0,02	0,05	0,1
iodofenós	0,07	<0,07	DS	P	0,01	DS
malationa	0,02	<0,02	NE	NE	0,02 ^b	0,5 ^b

parationa-metíllica	0,02	<0,02	0,02	NE	0,01	NE
pirazofós	0,01	<0,01	NE	NE	0,02	NE
profenofós	0,09	<0,09	NE	0,01	0,01	0,01
terbufós	0,01	<0,01	NE	0,01	0,01	NE

1: BASTOS et al., 2012; 2: PNCRL, 2010; 3:CODEX (1987); 4: EU (2013); 5:USDA, 2013; 6: Σ Malationa e malaaxon; NE: Não especificado para produtos animais; DS: domissanitário; P: proibido. Os agrotóxicos azametifós e dissulfotom não apresentaram recuperações adequadas na validação.

No Brasil os LMRs especificados são para o leite cru e processado (BRASIL-PNCR, 2009). No programa de monitoramento do MAPA foram avaliadas 61 amostras de leite cru, no ano de 2009, tendo sido reportado a não identificação de resíduos nas amostras acima do LMR ($0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$) (BRASIL, 2009).

O programa de monitoramento de leite do MAPA (PNCRL) avalia leite in natura, processado e em pó onde todos são amostrados diretamente no produtor ou na usina de beneficiamento. Os agrotóxicos avaliados no programa PNCRL, nos anos de 2009, 2010 e 2011, com seus valores de LMR (mg.kg^{-1}) especificados em parênteses foram: azinfós-etílico e metílico (0,05); acefato (0,01), clorpirifós-etílico e metílico (0,01), diazinona (0,01), metamidofós (0,01), parationa (0,02), pirimifós-etil e metil (0,02), mevinfós (0,05) e metidationa (0,02) no ano de 2011. O quantitativo de amostras analisadas foram: 81 amostras em 2010, 75 amostras em 2009 e 53 amostras em 2008, não tendo sido reportada nenhuma violação em todas as amostras avaliadas, não foi reportado resíduo abaixo do LMR. Para o ano de 2011 foram previstas 90 amostras para os mesmos analitos e com os mesmos LMR especificados, esse ultimo resultado ainda não foi publicado (BRASIL, 2013, 2010, 2009).

O PNCR é direcionado a avaliação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) na qual o LMR é suficiente, entretanto, devido a importância do produto leite torna-se interessante a elaboração de um programa de monitoramento mais abrangente onde fossem avaliados toda a classe dos organofosforados permitidas pela legislação brasileira e seus metabólitos.

Considerando também os valores residuais obtidos neste trabalho e a presença inclusive de mais de um resíduo em uma mesma amostra é fundamental uma avaliação da ingesta dos agrotóxicos pertencentes a classe dos organofosforados, no leite

considerando a soma dos seus resíduos e metabólitos, o consumo e peso infantil nacional.

Conclusão

Resíduos de organofosforados foram encontrados em amostras de leite fluído demonstrando que esses podem chegar ao leite e permanecer inclusive após processamento de pasteurização, esterilização e secagem. O trabalho também sugere que alguns produtos domissanitários, em níveis residuais, possam entrar na cadeia de produção do leite em pó. Diante desta constatação é importante e desejável que seja feita uma avaliação da ingestão dos resíduos desses agrotóxicos e seus metabólitos em leite considerando o público alvo infantil mais vulnerável ao produto. A presença de resíduo não identificado em cerca de 30% das amostras de leite em pó e fluído sugere a necessidade de avaliação de produtos de degradação da classe dos organofosforados nesses produtos.

Referências Bibliográficas

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias com LMR para os agrotóxicos autorizados. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias>. Acessado em março de 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Reavaliação de agrotóxicos. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 10/ 2008. Estabelece sobre a reavaliação de diferentes agrotóxicos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Reavaliacoes+de+Agrotoxicos/W+Reavaliacao+de+Agrotoxicos++Resolucao+RDC+n+10+2008>. Acessado em março 2013.

ANVISA-ACEFATO. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica sobre a reavaliação toxicológica do ingrediente ativo acefato [2008]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eb9c6a8047458ac4941dd43fbc4c6735/Nota+t%C3%A9cnica+do+acefato.pdf?MOD=AJPERES>. Acessado em março de 2013

AZEVEDO, J. A. S.; VALADARES, S. C. F.; PINA, D. S.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; PEREIRA, L. G. R.; PAIVA, N. K. S., SILVA, L. F. C. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas com subprodutos de frutas para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40 (5), p. 1052-1060, 2011.

BASTOS, L. H. P.; CARDOSO, M. H. W. M., GOUVÊA, V. A.; MÁLAGA, F.; NÓBREGA, A. W. N.; JACOB, S. C. Implementação de Método Analítico para Determinação de Resíduos de Organofosforados em Leite por Cromatografia a gás com detector fotométrico de chama. **Química Nova**, v. 35(8), p. 1657-1653, 2012.

_____. L. H. P.; CARDOSO, M. H. W. M.; NÓBREGA, A. W. ; JACOB, S. C. Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cadernos de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 19 (1), p. 51-60, 2011.

_____.L. H. P.; CARDOSO, M. H. W. M., GOUVEA, A.; REIS, M.; NÓBREGA, A. W. ; JACOB, S. C. Uso da espectrometria de massa sequencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal. **Revista Analytica**, v 64, p. 79 – 88, 2013

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Agrofit. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em março 2013.

_____.Instrução Normativa nº 6 de 25 de fevereiro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária. Publicar os resultados dos programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes (bovina), leite, ovos, mel e pescado do exercício de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília fev. 2011. Seção 1;

_____.Instrução Normativa SDA/ MAPA nº 8, de 29 de abril de 2010: Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Publicar os resultados dos programas de controle de monitoramento e exploratório em carnes (bovina, suína, aves e eqüina), leite, ovos, mel e pescado no exercício de 2009. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 03 de maio de 2010 - Seção 1.

_____.Instrução Normativa MAPA nº 15, de 25 de maio de 2009: Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Publicar os resultados dos programas

de controle de monitoramento e exploratório em carnes (bovina, suína, aves e eqüina), leite, ovos, mel e pescado no exercício de 2008. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 28 de maio de 2009, p. 31- Seção 1.

BOUCHARD M. F.; CHEVRIE, J.; HARLEY, K.G. ; KOGUT, k.; VEDAR, M.; CALDRON, N.; TRUJILLO, C.; JOHNSON, C.; BRADMAN. A., BARR, B.D.; BRENDA, E. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7 year old children **Environmental Health Perspectives**, 119, p. 1189-1195, 2011.

CASARETT and DOULL's. The Basic Science of Poisons.7th ed. EUA: Ed. Mc Graw Hill. p 1309, 2007.

CODEX 1997. FAO- Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, [on line]1997. Codex Pesticides residues in Food on Line Database. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/index.html;jsessionid=F69B84653B2661D0A8C3588497734E41>. Acessado em março de 2013.

ENGEL, S. M.; WETMUR; J.; CHEN, J.; ZHU, C.; BOYD, MARY S, D. B.; WOLFF C.L. Prenatal exposure to organophosphates, paraonase 1 and cognitive development in childhood. **Environmental .Health Perspectives**, 119, p.1182-1188, 2011.

EU-EUROPEAN UNION COMMISSION. [on-line] 2008 a 2013. Pesticides Database. Disponível em: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=homepage&CFID=8058081&CFTOKEN=106e67ba1cfeb326-8E892B2F-B763-3EA3-2077A7A20D36D934&jsessionid=24053b452f9e054546f7TR. Acessado em março de 2013.

DG SANCO, EUROPEAN UNION COMMISSION, Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis in Food and Feed. Document n° SANCO/12495/2011, 01 janeiro 2012.

LEHOTAY, S., J.; MATOVSKÁ, K. Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrixes. **Journal of AOAC International**. vol.88 n°2, p. 630-638, 2005.

MAPA 2012. Instrução Normativa N 7 de 04 de abril de 2012. Diário Oficial da União. Seção 1 N° 67, quinta feira 05 de abril de 2012. p 12-15.

RAUH, V.; ARUNAJADAI, S.; HORTON, M.; PERERA, F.; HOEPNER, L.; BARR, D. B.; WHYATT, R. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. **Environmental Health Perspectives**, 119, p. 1196-1201 2011.

PRESTES, D. O., FRIGGI, A., C.; ADAIME, B. M. ; 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**, v. 32, n°6, p. 1620-1634, julho 2009.

SINDAN - Compêndio de produtos veterinários em parceria com a CPV/DDA/DAS/MAPA. Edição eletrônica de produtos veterinários de uso permitido no Brasil. Disponível em: <http://www.cpv.com.br/cpv/index.html>. Acessado em março de 2013.

USDA. United States Department of Agriculture. Fasoline. International Maximum Residue Level Database. Disponível em : <http://www.mrl-database.com/>. Acessado em março de 2013.

5.4 MANUSCRITO 4: Uso da espectrometria de massa sequencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal.

Artigo científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., aprovado para publicação no periódico “**Revista Analytica**”, v 64, p 79 – 88, 2013.

USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSA SEQUENCIAL PARA AVALIAR RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL

*Lucia Helena Pinto Bastos; Adherlene Vieira Gouvêa, Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso; Michele Reis da Silva, Armi Wanderley Nóbrega e Silvana do Couto Jacob.

[*lucia.bastos@incqs.fiocruz.br](mailto:lucia.bastos@incqs.fiocruz.br)

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)/Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Laboratório de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Departamento de Química. Bloco 2 sala 117. Avenida Brasil, 4365, Rio de Janeiro-CEP: 21040-900. Tel: (21) 3865.5187.

RESUMO

A alimentação animal (AA) pode ser uma das fontes de contaminação do leite e carnes e por essa razão vários países estabelecem limites máximos residuais (LMR) em agrotóxicos e os monitoram nessas matrizes. O *Codex Alimentarius* especifica LMR para diferentes AA. No Brasil, a legislação vigente prevê o uso de 26 ingredientes ativos de diferentes classes agronômicas e químicas em pastos, forragem e cereais sem especificar a utilização se para consumo humano ou animal.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o método QuEChERS para a determinação analítica de resíduos de agrotóxicos no milho e soja, principais matérias primas utilizadas na produção de AA. Foram estudados 173 agrotóxicos de multiclassas químicas e agronômicas, sendo sua determinação efetuada em cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas. Foram avaliados os parâmetros: seletividade, efeito matriz, recuperação, repetibilidade e limites de detecção e quantificação. Os testes realizados demonstraram que o método proposto é viável para determinar e quantificar 140 das 173 substâncias estudadas em amostras de milho e soja.

Palavras-chave: alimentação animal, QuEChERS, resíduos de agrotóxicos

ABSTRACT

Animal feed (AF) has been identified as one of the sources of pesticide contamination in milk and meat and, thus, many countries have established maximum residual limits (MRL) for these matrices based on the *Codex Alimentarius* recommendations. Brazilian legislation concerns 23 different chemical and agronomical classes in feed and cereals, without discriminating if they are to be consumed by humans or animals.

This study aims at evaluating the suitability of the QuEChERS method for the analytical determination of pesticide residues in corn and soy. These cereals are the main raw materials of AF used to feed bovine. 172 pesticides belonging to different chemical and agronomical classes were studied using high performance liquid chromatography with mass spectrometry. The following parameters were studied: selectivity, matrix effect, recovery, repetitivity and limits of detection and quantification. The tests performed demonstrated that the QuEChERS method is suitable for the determination of 140 of the total pesticides studied.

Keywords: Pesticides; QuEChERS; LC-MS/MS; animal feed; LC-ESI-MS/MS.

USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSA SEQUENCIAL PARA AVALIAR RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL.

INTRODUÇÃO

A alimentação animal (AA) pode ser uma das fontes de contaminação do leite e carnes - surge como um ponto crítico de controle em processos de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC nas indústrias alimentícias, e, por essa razão, vários países já possuem limites estabelecidos e controlam os resíduos de agrotóxicos em AA (KAN, MEIJER, 2007).

O *Codex Alimentarius* especifica LMR em diferentes produtos usados em AA considerando separadamente os de forragem, os provenientes de resíduos agroindustriais de frutas e cereais entre outros (CODEX, 2008). No Brasil, a legislação vigente permite o uso de 26 diferentes ingredientes ativos em pastos e forragem, de diferentes classes agrônômicas e químicas (ANVISA, 2012; BASTOS, 2011)

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o método QuEChERS para a determinação analítica de resíduos de agrotóxicos no milho e soja, principais matérias primas utilizadas na produção de AA. Foi estudado um grupo representativo de agrotóxicos de multiclassas químicas e agrônômicas, sendo sua determinação efetuada em cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas (HPLC-MS/MS) utilizando a cromatografia líquida com fonte de ionização por eletronebulização acoplada à espectrometria de massa sequencial (LC-ESI-EM/EM).

Em determinações analíticas de multirresíduos é necessário escolher uma matriz para representar uma categoria de produtos alimentícios de modo a minimizar o número de experimentos necessários para estabelecer os parâmetros de validação do método analítico. O *Codex Alimentarius* (CODEX, 2003) estabelece critérios para esta representação, sendo o milho representante do grupo cereal. Assim, neste trabalho o milho triturado foi usado representando os cereais com baixo teor de gordura e a soja aqueles com alto teor de gordura.

O método de extração QuEChERS (ANASTASSIADES et al., 2003) e parâmetros de validação foram estudados para as matrizes milho e soja

Neste trabalho foram avaliados parâmetros de validação e critérios de aceitação comumente presentes em trabalhos nacionais e internacionais: seletividade, efeito matriz, recuperação, repetibilidade, limites de detecção e quantificação (QUEIROZ et al., 2012; SANCO, 2012; ANVISA, 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

Foram utilizados: a) acetonitrila, álcool metílico e acetato de etila - solventes orgânicos de alta pureza e grau cromatográfico (Merck e Tedia); b) $MgSO_4$ PA (Merck); c) sorvente BONDESIL-PSA 40 μm (Varian); d) C_{18} 35-75 μ (Alltech); e) Al_2O_3 , 90, neutro 70-230 # ASTM (Merck), previamente muflado a 550 °C por 3 horas antes do uso e f) $Na(C_2H_3O_2)$ anidro (Spectrum), seco a 220°C por 3 horas antes do uso.

Agrotóxicos avaliados e materiais de referência (MR) utilizados

A escolha dos agrotóxicos utilizados neste trabalho foi feita através dos seguintes critérios:

- a) Possuírem limites máximos residuais permitidos - LMR, em produtos vegetais potencialmente importantes para a produção de AA como: milho, soja, cevada, sorgo, café (cascas), semente de algodão, arroz, cana, feijão, cevada, trigo, citros, girassol. Para essa gama de produtos os LMRs variam de 0,01 a 10 $mg.kg^{-1}$.
- b) De uso permitido em culturas de hortifrutigranjeiros, dentre os quais os cítricos que são comuns pelo uso de seus resíduos na produção de rações.
- c) Serem avaliados por método multirresíduos e por LC-ESI-EM/EM e estarem disponíveis no laboratório.
- d) De uso proibido de modo a avaliar a aplicação de boas práticas agrícolas no campo.

Soluções estoque de MR

Soluções estoque foram individualmente preparadas pela dissolução do MR, considerando o grau de pureza, na concentração nominal de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em solvente acetato de etila. As soluções foram armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração.

Soluções intermediárias de MR

A partir das soluções estoque de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ foram preparadas misturas de soluções intermediárias de trabalho em concentrações que variaram de 1 a $0,001 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em solvente metanol grau cromatográfico. O estudo do método foi feito com quantificação pontual do MR, dentro de uma variação de medição não superior a 30% conforme referenciado em documento SANCO (2012).

Para preparação do ponto de calibração na matriz, 1 mL do extrato orgânico do branco de milho e soja separadamente foram evaporados sob atmosfera de N_2 em bloco de aquecimento a temperatura de 40°C e, após a secagem, dissolvido em 1 mL da solução intermediária do agrotóxico com concentração correspondente ao ponto da curva analítica.

Solução intermediária para controle do equipamento

Foi utilizada uma solução da substância quinalfós na concentração de $0,04 \mu\text{g.mL}^{-1}$ preparada em solvente metanol.

Soluções intermediárias para estudo do método

Para este estudo foi utilizada uma mistura dos 173 MR de agrotóxicos (**S173**) de diferentes classes químicas na concentração nominal de $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ preparada em solvente metanol. Essa mistura foi fornecida pelo laboratório de resíduos de agrotóxicos do ITEP-PE. Os agrotóxicos avaliados encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1: Agrotóxicos estudados nas matrizes milho e soja pertencentes a mistura **S173**

Agrotóxicos avaliados			
Acefato	dimetomorfe	hexitiazoxi	pirazofós
Acetamiprido	diclorvós	imazalil	piridabem
Aldicarbe	dimoxistrobina	imidacloprido	piridafentiona
Aldicarbe sulfona	diniconazol	indoxacarbe	piridato
Aldicarbe sulfóxido	dissulfotom	iprovalicarbe	pirifenox
Ametrina	diurom	isoprotilona	pirimetanil
Azaconazol	dodemorfe	isoxaflutol	pirimicarbe
Azametifós	epoxiconazol	isoxationa	pirimicarbe desmetil
Azinfós-etílico	espinosade A	linurom	pirimifós-etílico
Azinfós- metílico	espiroxamina	malationa	pirimifós-metílico
Azoxistrobina	etiofencarbe-sulfona	mefenacete	piriproximem
Benalaxil	etiofencarbe-sulfóxido	mefosfolan	procloraz
Bitertanol	etiona	mepanipirim	profenofós
Boscalida	etiprole	mepronil	propargito
Bromuconazol	etirimol	metalaxil	propiconazol
Bupirimato	etofenproxi	metamidofós	propizamida
Buprofenzina	etoprofós	metconazol	propoxur
Butocarboxim	etrinfós	metidationa	quinalfós
Butocarboxim sulfoxido	famoxadona	metiocarbe	tebuconazol
Carbaril	fenamidona	metiocarbe sulfona	tebufenosida
Carbendazim	fenamifós	metiocarbe sulfóxido	tebufenpirade
Carbofurano	fenarimol	metobromuron	terbufós
Carbosulfano	fenazaquina	metomil	tetraconazol
Carpropamida	fenbuconazol	metoxifenosida	tiabendazol
Ciazofamida	fenhexamida	metoxurom	tiacloprido
Cimoxanil	fostiazato	mevinfós	tiametoxam
Ciproconazol	fenoxicarbe	miclobutanil	tiobencarbe
Ciprodinil	fenpiroximato	monocrotófós	tiodicarbe
Ciromazina	fenpropimorfe	monolinuron	tiofanox sulfona
Clofentezina	fentiona	muarimol	tiofanox sulfóxido
Clorbromuron	fentiona sulfóxido	nitempiram	tolclófós metílico
Clorfenvinfos	fentoato	ometoato	tolifluanida
Clorpirifos	fluazifope-p-butílico	oxadixil	triadimefom
Clotianidina	flufenacete	oxamil	triadimenol
Cresoxim-metílico	fluquinconazol	oxamil oxima	triazofós
Demetom-S-metílico	flusilazol	oxicarboxina	triclozol
Desmedifam	flutriafol	paclobutrazol	triclórforon
Diazinona	fosalona	pencicuum	trifloxistrobina
Diclofluanida	fosmete	penconazol	triflumizol
Dicrotófós	fostiazato	picoxistrobina	triticonazol
Dietofencarbe	furatiocarbe	pimetrozina	vamidotiona
Difenoconazol	halofenosideo	piperonil butóxido	zoxamida
Dimetoato	hexaconazol	piraclostrobina e *metabólito	3-OH-carbofurano

*Metabolito da piraclostrobina : N[1-(4-clorofenil)pirazol-3-il]oxil-o-tolil]carbamato

No desenvolvimento do trabalho, outras quatro misturas de agrotóxicos (**S141**, **S148** e **S150**) foram utilizadas com inserções e retiradas de analitos em relação à mistura **S173**. As misturas foram identificadas ao longo do trabalho para cada teste realizado.

A **S141** não continha os seguintes MR: butocarboxim, carpropamida, diclofluanida, dicrotofós, dietofencarbe, dimoxistrobina, diuron, etofenproxi, fentoato, halofenosídeo, hexaconazol, mepamirim, metoxurom, monolinurom, nuarimol, nitempiram, oxamil, oxicarboxina, penconazol, pirifenox, pirimicarbe desmetil, pirimifós-etílico, tebuconazol, tebufenosídeo, tiobencarbe, tiofanós-sulfóxido, tolclófós-metílico, tolifluanida, triadimefom, triadimenol, triciclozol e vamidotiona.

A **S148** não continha os seguintes MR: bitertanol, butocarboxim, carpropamida, diclofluanida, dicrotofós, dietofencarbe, dimoxistrobina, diuron, espiroxamina, fentoato, halofenosídeo, hexaconazol, mepanipirim, metoxurom, monolinurom, nitempiram, nuarimol, oxamil, oxicarboxina, penconazol, pirifenox, pirimicarbe desmetil, tiobencarbe, tiodicarbe, tiofanox sulfóxido, tolclófós metílico, tolifluanida, triadimenol, triadimefon, triciclozol. Foram incluídos nesta mistura os agrotóxicos: abamectina, cadusafós, carbosulfano, coumafós e fentiona.

A **S150** não possui os seguintes MR: bitertanol, butocarboxim, carpropamida, diclofluanida, dicrotofós, dietofencarbe, dimoxistrobina, espiroxamina, etofenproxi, fentoato, halofenosídeo, hexaconazol, imazalil, mepanipirim, metoxurom, monolinurom, nitempiram, nuarimol, oxamil, oxicarboxina, penconazol, pirifenox, pirimicarbe desmetil, tiobencarbe, tiofanox sulfóxido, tolclófós metílico, tolifluanida, triadimefom, triadimenol, triciclozol. Foram incluídos nesta mistura os agrotóxicos: abamectina, cadusafós, carbosulfano, coumafós, fentiona.

A maioria dos MR presentes nas misturas foram preparados com padrões da marca Dr. Ehrenstorfer-Augsburg (Alemanha), exceto os MR - difenoconazol, cresoxim-metílico, metomil e flutriafol da Sigma Aldrich, aldicarbe, procloraz e tiodicarbe da ChemService e o metabólito da piraclostrobina fornecido pela Bayer. A pureza dos MR utilizados nas misturas foi superior a 97% para a maioria das substâncias utilizadas.

Equipamentos utilizados

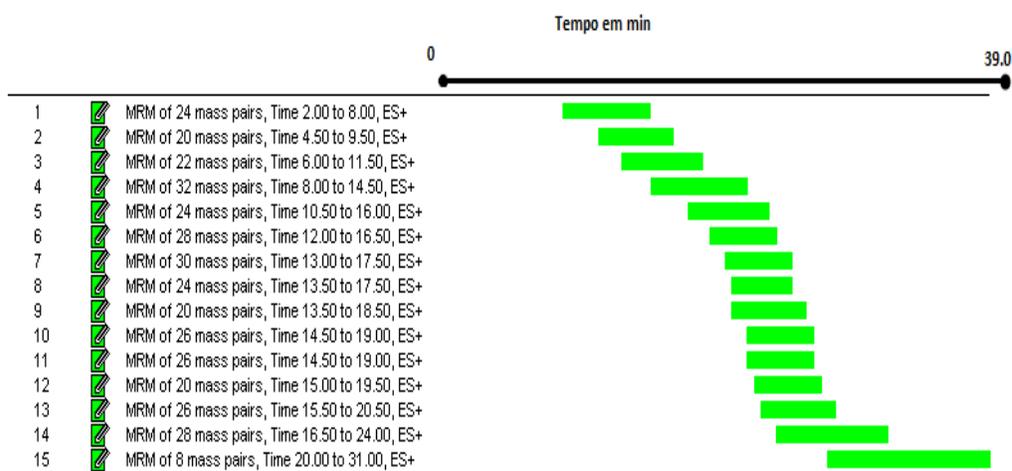
Foram utilizados o moinho de faca marca Brabender® Duisburg e o liquidificador industrial, a centrífuga Hitachi-himac CF7D2 e o Agitador rotatório marca IKA® modelo Ms3 digital, balança analítica, com resolução de 10^{-5} g e o evaporador de N_2 , cromatógrafo de ultra-eficiência acoplado ao espectrômetro de massas tipo triplo quadrupolo por eletronebulização (HPLC-ESI-MS/MS) modelo Quattro Premier XE, Waters.

Otimização das condições do espectrômetro de massas e HPLC

As condições de operação do espectrômetro de massas, voltagens de cone e colisão foram otimizadas no modo MRM, através da indicação dos íons precursores e íons fragmento obtidos em diferentes trabalhos analíticos (AGUILERA-LUIZ et al., 2011; HIEMSTRA & KOK, 2007; LEDOUX, 2011; PAREJA et al., 2011, PIZZUTTI et al., 2007) e ajustados com a mistura para diferentes programas de gradiente. Os íons foram separados em 15 janelas de tempo contendo no máximo 32 transições por janela, por MRM e o íon de maior e menor abundância selecionados para a quantificação e confirmação, respectivamente.

Na Figura 1 está descrita a distribuição MRM em janelas de tempo baseada no tempo de retenção dos agrotóxicos avaliados.

Figura 1: Representação das 15 diferentes janelas de tempo programado para aquisição de dados no método LC-ESI-MS/MS.



Os íons precursores, os íons de quantificação, o valor do cone e colisão para os analitos estudados foram ajustados no HPLC-MS/MS e encontram-se descritos na Tabela S1. Apresentada no material suplementar.

O equipamento foi operado em MRM com ionização por eletrospray no modo íon positivo. A Tabela 2 mostra as condições utilizadas para o estudo das matrizes milho e soja em resíduos de agrotóxicos em (ES⁺).

Tabela 2: Condições utilizadas para o estudo das matrizes milho e soja em resíduos de agrotóxicos em (ES⁺).

Cromatógrafo líquido	
Coluna analítica	Alltima C ₁₈ , 5 µm, 150 x 3,2 mm
Temperatura da coluna	40 °C
Fluxo da fase móvel	0,3 mL/min
Volume de injeção	5 µL
Fase móvel A	5mmol/L formato de amônio em água (10% metanol)
Fase móvel B	Metanol
MS/MS	Fonte (ES +)
Voltagem capilar	0,98 kV
Temperatura da fonte	100°C
Interface	eletctrospray (Z-Spray) TM
Fluxo do gás do cone	50 L/h de nitrogênio
Temperatura de dessolvatação	400°C
Gás de dessolvatação	Nitrogênio ultra puro
Gás de colisão e pressão	Argônio (3,5 x10 ⁻³) mbar

O gradiente de eluição utilizado foi: Fase móvel A (5mmol/L formato de amônio em água (10% metanol) inicialmente com 82,5%(v/v) com rampa linear até atingir 5,5% da mesma fase em curva linear. O tempo total de análise foi trinta nove minutos.

MÉTODO DE EXTRAÇÃO QuEChERS

As etapas envolvidas neste método são: extração com acetonitrila seguida de partição, promovida pela adição de sais (sulfato de magnésio-MgSO₄), cloreto de sódio (NaCl) e ou acetato de sódio (Na(C₂H₃O₂)) e limpeza da amostra com sorventes como C₁₈, alumina, PSA (*primary secondary amine*) e carbono grafitado (para uso em amostras com clorofila) (ANASTASSIADES et al., 2003).

A utilização do solvente acetonitrila permite a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e quando acidificada favorece a extração de

substâncias que apresentam problemas de estabilidade em meio básico. A utilização do método surgiu com amostras de frutas e hortifrutigranjeiros, amostras com alto teor de água, necessária para permitir a etapa de partição.

Para a utilização deste método em amostras secas, como cereais, foi efetuada a introdução de água ao meio com a formação de uma lama (*slurry*) na amostra de milho e soja. A quantidade de água utilizada foi de 2,5 e 2,0 mL para o milho e a soja, respectivamente. Para ambas as matrizes foram pesadas cerca de um grama do produto moído, adicionou-se água mantendo contato por 30 minutos, suficiente para permitir a hidratação da amostra.

Após o período de descanso, iniciou-se o processo de extração que consistiu em duas etapas dispersivas. Na primeira etapa foi adicionado 6,0g de $MgSO_4$ + 1,5g $Na(C_2H_3O_2)$ homogeneizado por cerca de 30s em agitador de tubo vortex e posteriormente centrifugado durante 7 minutos a temperatura ambiente. Para a segunda etapa foi retirado 2 mL do sobrenadante e adicionado 300mg $MgSO_4$ + 100mg de alumina sendo novamente homogeneizado em agitador *vortex*, 1 mL do extrato orgânico foi retirado seco sob atmosfera de nitrogênio e ressuspensão na fase móvel A.

ESTUDOS PRELIMINARES REALIZADOS NO MÉTODO QuEChERS

Para a determinação do método multirresíduos de agrotóxicos em milho e soja foram avaliados: branco de amostra para a avaliação da seletividade, efeito matriz, recuperação, repetibilidade e limites de quantificação e detecção.

Branco de amostra na avaliação da seletividade

Produtos orgânicos de milho e soja foram adquiridos no comércio do RJ para serem usados como branco nos estudos do método.

O critério de aceitação utilizado para considerar as amostras branco foi conter uma concentração igual ou inferior a $0,001 \text{ mg.kg}^{-1}$ do agrotóxico estudado na matriz., nas condições analíticas estabelecidas. Além do limite da concentração foram utilizados outros critérios de confirmação dos analitos estipulados no documento SANCO (2012). As amostras branco de milho e soja foram avaliadas em relação aos agrotóxicos contidos na mistura **S173**.

Critérios para a confirmação dos agrotóxicos avaliados nas amostras

Os critérios de identidade para a técnica LC-ESI-EM/EM discutidos no documento SANCO (2012) e avaliados foram:

1. O tempo de retenção obtido nas amostras em relação ao tempo de retenção dos ~~{MR}~~ em matriz. O critério de tolerância entre o tempo de retenção (t_r) do MR e amostra ser de $\pm 2,5\%$.
2. A intensidade relativa dos íons detectados na amostra avaliada e no material de referência, expresso como percentagem de intensidade do íon mais abundante com o íon correspondente do MR, medido na mesma concentração e condições analíticas foi a tolerância máxima permitida para a intensidade íons detectados na amostra e no MR e estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Padrão de tolerâncias máximas permitidas para a intensidade de íons em CLAE-EM/EM

Intensidade Relativa (% do pico base)	Varição aceitável (%)
> 50%	$\pm 20\%$
> 20 a 50 %	$\pm 25\%$
> 10 a 20%	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$

Fonte: SANCO, 2012

3. Razão S/N maior que 3:1 adotados para brancos e amostras analisadas.

Estudo do efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz

O efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida (efeito matriz - EM) observado pode causar aumento (EM-AR) ou diminuição da resposta (EM-DR) do detector de um analito presente no extrato da amostra, quando comparado ao mesmo analito presente em solvente orgânico gerando erros na determinação analítica (CARDOSO, 2010). Especificamente na técnica de LC-ESI-EM/EM, o EM é observado provavelmente devido à quantidade de interferentes presentes na amostra, ocasionando influência na ionização dos analitos (RODRIGUES et al., 2011) Para a avaliação do efeito matriz do milho e soja foi

realizada uma comparação entre as áreas obtidas dos agrotóxicos contidos na mistura preparados em metanol e em extrato branco, de milho e soja respectivamente, anteriormente testado. O estudo foi realizado com o extrato em matriz pós-extração com ressuspensão da mistura do MR.

Para os cálculos das recuperações obtidas utilizou-se a equação 1:

$$\text{Efeito matriz (\%)} = \frac{(X_1 - X_2) \times 100}{X_2}$$

Equação 1

Onde:

X_1 = Média das áreas da solução analítica dos agrotóxicos em extrato orgânico na matriz milho ou soja.

X_2 = Média das soluções analíticas dos agrotóxicos em metanol.

Através dessa avaliação na concentração estudada é possível verificar se a matriz exerce algum efeito no nível analítico positivo (aumento de sinal) ou negativo (perda de sinal). Resultados de efeito matriz superior ou inferior a 20% foram considerados (KRUIVE et al., 2008; PIZZUTTI et al., 2007).

A avaliação do EM foi realizada com a mistura **S150** na concentração nominal de 0,06 mg.kg⁻¹. A solução utilizada continha 51 diferentes classes químicas, a distribuição do número de agrotóxicos, pelas principais classes químicas, representada entre parênteses são: organofosforados (40), carbamatos e metil carbamatos (25), triazol (17), estrobilurina (5), neonicotinóide (5), uréia (4), estrobilurina (4); imidazol (3), anilino pirimidina (2); benzamida (2); benzimidazol (2); espinosinas (2); fosforotioato (2), morfolina (2), piretróide (2), pirimidina (2), oxiacetamida (2) e oxazolidinone (2). Os analitos restantes pertencem a 33 diferentes classes químicas.

Estimativa do limite de detecção e de quantificação para as matrizes

Os limites de detecção e quantificação do instrumento (LDI e LQI) e do método (LDM e LQM) foram estabelecidos com base na relação sinal/ruído (S/R), no qual se aceita a estimativa de 3:1 para o LD e de 10:1 para o LQ. Esta relação (S/R) foi calculada pelo software MassLynx, versão 4.0 Waters do equipamento ultra-eficiência acoplado ao espectrômetro de massas tipo triplo quadrupolo por eletronebulização (HPLC-ESI-MS/MS) modelo Quattro Premier XE, Waters (Milford, MA.USA).

Para estabelecer essa relação para os valores dos LDI e LQI utilizou-se uma concentração conhecida com aproximadamente $0,02 \mu\text{g.mL}^{-1}$ dos agrotóxicos pertencentes à mistura **S150** em matriz (extrato branco de milho e soja em metanol), analisados em seis replicatas ($n = 6$).

Os resultados obtidos foram utilizados para estabelecer a relação (S/R). Em seguida, foram calculadas as médias, os desvios padrão dos resultados e os valores dos limites LDI, LQI, LDM e LQM.

Para confirmação dos LQM calculados utilizou-se um branco da amostra contendo concentração de cada analito referente aos LQM calculados. Os analitos cujos valores S/R não foram iguais ou superiores a 3:1, tiveram suas concentrações individuais aumentadas, o que permitiu valores mais fidedignos para o LDM e LQM.

Determinação da recuperação e da repetibilidade dos analitos presentes nas matrizes milho e soja

O estudo buscou verificar, dentro de uma faixa de concentrações compatíveis com os LMRs de cereais (Tabela S4), a recuperação e repetibilidade dos agrotóxicos em diferentes misturas citadas em cada estudo realizado.

Matriz milho

As concentrações consideradas para a avaliação do método foram:

- ✓ Para a matriz milho, com a mistura **S173**, foram estudados dois níveis de fortificação $0,25$ e $0,50 \text{ mg.kg}^{-1}$ em 4 replicatas e 2 injeções de cada amostra.
- ✓ Com a mistura **S141** o estudo foi realizado com nível de fortificação e duas repetições de injeções na concentração $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$.
- ✓ Utilizando a **S162** foi feita a fortificação na concentração de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$.

- ✓ Durante o processo de avaliação de amostras (*on-going*), foram feitas seis replicatas em diferentes dias na concentração de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$. Estas recuperações com concentrações mais baixas visam a confirmação do LQM obtido pelo critério sinal ruído.

Matriz soja

Foram feitas duas replicatas de fortificação com a mistura **S148** na concentração nominal de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Como critério de aceitação utilizou-se o documento SANCO (2012), o qual indica recuperações de 70 a 120% e reprodutibilidade avaliada como $CV(\%) < 18\%$.

GARANTIA DA QUALIDADE DOS RESULTADOS ANALÍTICOS

Como garantia da qualidade dos resultados analíticos obtidos foi utilizado um controlador do equipamento LC-ESI-MS/MS - o agrotóxico quinalfós. Este foi adicionado à amostra a ser analisada na concentração de $0,02 \mu\text{g.mL}^{-1}$ quantificado pontualmente. Foi avaliada a razão de íons obtida entre o quinalfós adicionado e a razão obtida no MR em cada amostra analisada. O critério de aceitação da razão de íons obtida para o quinalfós é de $<15\%$ e caso esta condição não seja obtida dentro do procedimento analítico, o sistema deverá ser avaliado e a amostra reavaliada.

Outro controle dos dados analisados (QA) foi feito usando as matrizes fortificadas com os agrotóxicos avaliados. Estas amostras analisadas no mesmo intervalo de tempo do QA, são consideradas adequadas quando recuperações na faixa de 60 a 130 % e repetibilidade inferior a 20% foram obtidas (SANCO, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Determinações multirresíduos representam um meio efetivo de avaliar um grande número de agrotóxicos em um período de tempo relativamente pequeno. Entretanto, devido às grandes diferenças das propriedades físico-químicas dos analitos avaliados torna-se praticamente impossível obter recuperações adequadas para todos os componentes da mistura avaliada (HASJSLOVÀ et al., 1998) sendo necessária sempre a avaliação de fortificada nas matrizes em estudo.

Resultados do estudo do branco na matriz milho e soja

O branco de milho e soja mostraram-se eficientes na avaliação do método para todos os agrotóxicos pertencentes à mistura, exceção aos agrotóxicos propargito, confirmado nas amostras branco de milho e soja e tebuconazol para a soja. Os analitos identificados foram confirmados dentro dos critérios de qualidade SANCO (2012) conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4: Avaliação da identidade dos agrotóxicos propargito e tebuconazol nas amostras branco de milho e soja

Agrotóxico	matriz	RT (%)	S/N	Abundância Amostra	Faixa de Abundância	ng.mL ⁻¹	conclusão
propargito	milho	0,05	16	74	51,86 a 77,8	5	Atende critérios
propargito	soja	0	31	61	49,85 a 74,77	1,6	Atende critérios
tebuconazol	soja	0,25	7	8	2,86 a 8,58	1,8	Atende critérios

S/N: sinal ruído

Como consequência, a presença do propargito nas amostras branco de milho e de soja e do tebuconazol na soja, os resultados das AA para estes agrotóxicos deverão ser avaliados com restrições e considerando concentrações em níveis superiores aos obtidos no branco de matriz. O agrotóxico propargito tem o seu uso permitido no Brasil não sendo permitido para cultura do milho e soja pela ANVISA - órgão responsável pelo estabelecimento do LMR. Entretanto, o MAPA, para fins de monitoramento, estabelece um LMR de 0,1 mg.kg⁻¹ para cultura do milho. O tebuconazol tem o seu uso permitido para cultura da soja (LMR = 0,1 mg.kg⁻¹). Com as amostras branco avaliadas foi possível dar prosseguimento aos testes de: avaliação de EM, recuperação, repetibilidade e estimativa dos LDM e LQM.

Resultados obtidos na avaliação do EM

Considerando o critério de aumento ou diminuição de resposta de 20%, foi observado EM, na mistura **S150** ($0,02 \mu\text{g.mL}^{-1}$) em 15 e 7% dos agrotóxicos avaliados nas matrizes milho e soja, respectivamente.

Na matriz milho (15% EM) foram observados, deste percentual, 34% EM-AR e 65 % com EM-DR. Para a soja (7% EM), foram observados 81% com EM-AR e 19% EM-DR.

O agrotóxico imazalil apresentou o maior EM-AR (74%) e o clorpirifós metil apresentou o maior EM-DR na matriz milho (-240%).

Na matriz soja, o maior EM-AR (25%) foi observado para o agrotóxico ciproconazol e o maior EM-DR (-60%) para o clorpirifós etil.

Uma maneira de atenuar os problemas de EM-AR nas determinações analíticas é a utilização de matriz branco na curva de calibração com o MR. Entretanto, esta estratégia não resolve a situação de EM-DR comumente observada em análises de LC-ESI-MS/MS. Outra estratégia é o aumento da limpeza da amostra (*clean-up*).

Nesta situação sugere-se que o método seja avaliado com cautela quanto à perda de sensibilidade para agrotóxicos que apresentem EM-DR. Essa avaliação deve ser efetuada durante a etapa de estudo da recuperação do método podendo também ser realizado concomitantemente à determinação analítica das amostras com a utilização de QA.

Devido à presença do EM observado para um grande número de agrotóxicos comprovando a interferência na ionização dos analitos, a quantificação de todos os agrotóxicos foi realizada através de superposição da matriz.

Estudos da recuperação do método Quechers em milho

Milho $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$

A média dos resultados das quatro replicatas da fortificação obtidas para a mistura mostrou-se adequada dentro dos critérios adotados, recuperação 70 a 120% e repetibilidade avaliada como CV(%) $<18\%$, para 153 substâncias entre os 173 estudados.

Os agrotóxicos que não atenderam a esses critérios de qualidade, com os valores de recuperação e CV representados entre parênteses, expressos em percentagem, foram: demeton-S-metílico (50, 32), diclofluanida (87, 24), diclorvós (55, 21), dimetomorfe (120, 21), dissulfotom (70, 36), etiofencarbe sulfóxido (210, 21), fosmete (207, 10), nitenpiram (49, 22),

tiodicarbe (86 19). Não foi observada resposta para os agrotóxicos: fenarimol, fentiona, imazalil, metiocarbe sulfona, pirifenox, procloraz, isoxaflutol e tiobencarbe.

Milho 0,5 mg.kg⁻¹

A média dos resultados das quatro replicatas da fortificação obtidas para a mistura **S173** mostrou-se adequada dentro dos critérios adotados, para 158 substâncias de um total de 173 estudados. Os agrotóxicos que não atenderam aos critérios de qualidade, com os valores de recuperação e CV representados entre parênteses expressos em percentagem foram: clofentezina (64, 71), diclorvós (46, 45), dimetomorfe (132, 23), etiofencarbe sulfóxido (164, 18), fosmete (81, 43), isoxaflutol (60, 46), nitenpiram (74, 42), piridato degradação (72, 29), tiodicarbe (67, 37). Não foi observada resposta para os agrotóxicos: fentiona, imazalil, metiocarbe sulfona, procloraz, e tiobencarbe.

Milho 0,1 mg.kg⁻¹

O valor médio das replicatas da fortificação obtidas para a mistura **S141** foi adequado quanto aos critérios de recuperação e reprodutibilidade para 137 agrotóxicos dentre os 141 avaliados. Os ingredientes ativos que não atenderam aos critérios, com os seus valores de recuperação e CV representados entre parênteses, expressos em percentagem foram: aldicarbe (62, 20), ciromazina (43, 5), demetom-S-metílico (36, 47), diclorvós (24, 18), dissulfotom (30, 22), fentiona (61, 10), imazalil (54, 0,5), mevinfós (60, 12) tebuconazol (93, 20), terbufós (62, 14) tiodicarbe (41,10). Não foi observada resposta para o agrotóxico carbosulfano.

Valores obtidos na avaliação para o LDM e LQM

Matriz milho

Os valores de LDM e LQM para os agrotóxicos presentes na mistura **S150** foram avaliados na matriz milho e obteve-se os menores valores para o agrotóxico acetamiprido (0,0004 e 0,001 mg.kg⁻¹) e os maiores valores para a vamidotiona (0,16 e 0,53 mg.kg⁻¹).

De uma forma geral, o maior número de agrotóxicos (115 em 150) exibiu valores de LD e LQ próximos ou inferiores a concentração de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Matriz soja

Utilizando a mistura **S150** foram obtidos menores valores de LDM e LQM para o agrotóxico acetamiprido ($0,001$ e $0,002 \text{ mg.kg}^{-1}$) e maiores valores para o tebuconazol ($0,11$ e $0,35 \text{ mg.kg}^{-1}$).

De uma forma geral, o maior número de agrotóxicos, 113 agrotóxicos em 150 avaliados, obteve valores de LDM e ou LQM próximos ou inferiores à concentração de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Resultados obtidos nas recuperações para a confirmação dos LDM e LQM

Matriz milho

Para confirmar os valores de LQM obtidos no teste de avaliação dos limites obtidos no S/N foi feito um estudo de recuperação utilizando a mistura S162 em milho na concentração de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Os valores de recuperação foram adequados em 126 dos 162 agrotóxicos avaliados. As substâncias que não atenderam ao critério de qualidade para valores de recuperação, representados em percentagem entre parênteses, foram: aldicarbe (55), bromoconazol (42), carpropamida (58), ciromazina (33), clorpirifós (128), cresoxim-metílico (39), diclofluanida (28), epoxiconazol (689), etiprole (181), etoprofós (49), etrinfós (146), fenamifós (52), fenarimol (136), fenhexamida (58), fenoxicarbe (43), fluquinconazol (51), flusilazol (46), fosmete (206), isoxationa (39), mepanipirim (60), nitenpiram (59), penconazol (50), picoxistrobina (58), pirifenox (1354), pirimetanil (58), tebuconazol (48), tolifluanida (33) e zoxamida (58).

Na concentração de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ nas condições analíticas estudadas um grande número de analitos não se mostrou adequado. Por essa razão, optou-se por realizar novos testes de recuperação em um maior nível de concentração. Foram feitas fortificações na matriz milho na concentração de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Resultados obtidos para matriz milho 0,05 mg.kg⁻¹

Os resultados obtidos com a mistura **S148** para as sete replicatas genuínas realizadas em quatro diferentes dias mostraram valores de recuperação (%) e de CV (%) adequados para 137 entre os 148 analitos avaliados. Agrotóxicos que apresentaram limites diferenciados a esses valores, expressos entre parênteses, foram: abamectina (103, 19), aldicarbe (61, 23), ciromazina (35, 19), demetom-S-metil (30, 26), diclorvós (26, 13), fluquinconazol (82, 22), metomil (148, 21), profenofós (102, 19), quinalfós (92, 21), tiodicarbe (29, 29), zoxamida (90, 21). Todos os resultados das recuperações efetuadas estão descritas na tabela S2 material suplementar Com este estudo de recuperação e repetibilidade obtida foi possível confirmar os valores de LQM para 137 agrotóxicos avaliados dentro da mistura **S148**.

Resultados obtidos na matriz soja 0,05 mg.kg⁻¹

Os resultados da fortificação obtidos foram adequados em relação à recuperação e ao CV para 141 analitos dentre os 148 avaliados. Os agrotóxicos que apresentaram limites diferenciados a esses valores, expressos entre parênteses, foram: abamectina (89 e 28), aldicarbe (76, 26), ciromazina (44, 3), diclorvós (25, 31), famoxadona (88, 32) e metomil (176, 2). O agrotóxico tiodicarbe não apresentou resposta nas condições avaliadas. Na Tabela S3 encontram-se todos os resultados das recuperações na matriz soja para S148.

DISCUSSÕES GERAIS

É conhecida pelos laboratórios da área de resíduos de agrotóxicos a dificuldade na obtenção de MR. Por essa razão, os autores acharam importante a divulgação dos resultados em diferentes misturas nos diferentes testes.

O estudo do método realizado mostrou ser viável a avaliação de um grande grupo de agrotóxicos pelo Método QuEChERS em cereais utilizando LC-ESI-MS/MS. Os agrotóxicos diclorvós e ciromazina apresentaram problemas em todas as etapas de recuperação realizadas. Isto se deve a possíveis perdas do diclorvós no processo de evaporação sob atmosfera de N₂ e problemas na solubilização do MR da ciromazina após estocagem. Estes analitos deverão ser avaliados em outras condições de trabalho.

Para os agrotóxicos de uso não permitido no país, a legislação do MAPA indica que os LQM devem ser de 0,01 mg.kg⁻¹ e esse limite não foi confirmado para 13 agrotóxicos. Os agrotóxicos que não cumpriram esses requisitos, bem como os valores das recuperações obtidas ou ausência de resposta, estão descritas na Tabela S4.

Para os agrotóxicos que possuem LMR estabelecidos foram observadas baixas recuperações (<70%) para os agrotóxicos: clofentezina e alta concentração (>120%) para o metomil Para a matriz milho baixas recuperações foram obtidas para aldicarbe, demetom-S-metil, dissulfotom e tiodicarbe. Nas mesmas condições analíticas estudadas, para a matriz soja, os agrotóxicos isoxaflutol e piridato também apresentaram um baixo desempenho.

Um quadro geral dos LQM e das recuperações encontradas para níveis na faixa de 0,01 e 0,05 mg.kg⁻¹ comparados aos LMRs permitidos encontram-se na Tabela S4.

CONCLUSÃO

Os testes realizados mostraram que a técnica de extração QuEChERS é viável para analisar matrizes de milho e soja e avaliar diferentes subprodutos da AA. A validação completa com todos os agrotóxicos em todos os requisitos de qualidade é desejável pois não foi feita neste trabalho por limitações de MR. Fica clara a necessidade da realização de estudos mais aprimorados com a matriz soja, dada a sua importância econômica nacional e ao grande uso na AA e humana.

REFERÊNCIAS

AGUILERA-LUIZ, M., M.; BOLANOS-PLAZA, P., GONZÁLEZ-ROMERO, R.; VIDAL, M., J., L.; FRENICH, G., A. comparison of efficiency of different extraciona methods for the simultaneous de termination of mycotoxins and esticides in milk samples by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, p. 2863-2875, 2011.

ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S.J.; STAJNBAER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [on-line]. 2009. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia>>. Acessado em 02 de dezembro de 2012.

_____, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [on-line]. 2007. Guia para o controle da qualidade para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para os laboratórios integrantes do PARA. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/reblas/publica.htm>>. Acessado em 02 de dezembro de 2012.

BASTOS, L, H, P; CARDOSO, M.W.; NÓBREGA, A. W. N.; JACOB, S. C. Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cadernos de. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 19 (1), p. 51-60, 2011.

CARDOSO, M.H.W.; GOUVÊA, A.V.; NÓBREGA, A.W.; ABRANTES, S.M.P. Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30 (1), p. 63-72, 2010.

CODEX 2011. Alimentarius FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, [on-line] 2008. Disponível em <<http://www.codexalimentarius.org/standards/pesticides-MRLs/en>>. Acessado em 02 de dezembro de 2012.

CODEX Alimentarius. Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis: CAC/GL 40-1993, Rev. 1-2003. Rome: FAO/WHO Joint Publications, 2003. V. 2A. Disponível em http://www.codexalimentarius.net/download/standards/378/cxg_040e.pdf. Acessado em 10 dezembro de 2012.

DG-SANCO, EUROPEAN UNION COMMISSION, Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis in Food and Feed. Document n° SANCO/10684/2009, 01 jan 2012.

HAIŠLOVA, J. Matriz-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticides residues. **Journal of Chromatography A**, v. 800, n° 2, p. 283-295, 1998.

HIEMSTRA, M.; KOK DE A. Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, v. 1154, p. 3-25, 2007.

LEDOUX, M. Analytical methods applied to the determination of pesticides residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 1021-1036, 2011.

PAREJA, L.; CESIO, V.; HEINZEN, H.; FERNANDES-ALBA, A. R. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS. **Talanta**, v. 83, p. 1613-1622, 2011.

PIZZUTTI, I. R. ; KOK, A.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B.; HIEMSTRA, M.; WICKERT, C.; PRESTES, O. D. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization. **Journal of Chromatography A**, v. 1142, p. 123-136, 2007.

QUEIROZ, S. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS e UPLC-MS/MS. **Química Nova**, v. 35, n.1, p. 185-192, 2012.

KAN, A. C.; MEIJER, L. A. G. The risk contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and terminology**, v. 133, p. 84-108, 2007.

KOVALCZUK, T.; LACINA, O.; JECH, M.; POUSTKA, J.; HAJSLOVÁ, J. Novel approach to fast determination of multiple pesticides using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Food Additives and Contaminants**, v. 25 (4), p. 444-457, July 2007.

KRUIVE, A.; KUNNAPAS, A.; HERODES, K.; LEITO, I. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1187, p. 58-65, 2008.

RODRIGUES, A. S.; CALDAS, S. S.; FURLONG, B. E.; PRIMEL, G. E. Otimização e validação de método empregando QuEChERS modificado e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em cebola. **Química Nova**, v. 34, (5), p. 780-786, 2011.

ROMERO-GONZÁLEZ, R.; FRENICH, G. A.; VIDAL, M. J. L.; PRESTES, O. D.; GRIO, S. L. Simultaneous determination of pesticides, biopesticides and mycotoxins in organic products applying a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction procedure and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 1477-1485, 2011.

MATERIAL SUPLEMENTAR. Referente ao artigo Uso da Espectrometria de massa sequencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal

Tabela S1: Agrotóxicos avaliados, íon precursor, íon transição quantificação, cone, colisão no modo ES⁺.

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Quant. transição	Cone	Colisão (eV)	Confirmação transição	Colisão (eV)
1	Abamectina	896[M+Na] ⁺	896→567	20	10	184→95	25
2	Acefato	184[M+H] ⁺	184→143	20	10	184→95	25
3	Acetamiprido	223[M+H] ⁺	223→90	35	35	223→126	22
4	Aldicarbe	213[M+Na] ⁺	213→116	30	12	213→89	15
5	Aldicarbe sulfona	223 [M+H] ⁺	223→76	25	10	223→86	14
6	Aldicarbe sulfóxido	207 [M+H] ⁺	207→89	20	14	207→132	10
7	Ametrina	228 [M+H] ⁺	228→186	30	20	228→96	25
8	Amitraz	292 [M+H] ⁺	292→275	20	10	292→107	13
9	Azaconazole	300[M+H] ⁺	300→159	30	25	300→231	16
10	Azametifós	325[M+H] ⁺	325→112	25	35	325→139	24
11	Azinfós-etílico	345[M+H] ⁺	345→132	15	18	345→160	10
12	Azinfós-metílico	318[M+H] ⁺	318→132	20	17	318→160	7
13	Azoxistrobina	404[M+H] ⁺	404→329	15	30	404→372	16
14	Benalaxil	326[M+H] ⁺	326→148	20	20	326→294	20
15	Bitertanol	338[M+H] ⁺	338→70	15	10	338→99	14
16	Boscalida	343[M+H] ⁺	343→271	30	30	343→307	20
17	Bromuconazol	376[M+H] ⁺	376→70	35	25	376→159	35
18	Bupirimato	317[M+H] ⁺	317→108	35	25	317→272	20
19	Butocarboxim sulfóxido	207[M+H] ⁺	207→75	20	10	207→88	10
20	Cadusafós	271[M+H] ⁺	271→159	25	15	271→215	10
21	Carbaril	219[M+Na] ⁺	219→127	10	35	219→141	16
22	Carbendazim	192[M+H] ⁺	192→132	25	30	192→160	16
23	Carbofurano	222[M+H] ⁺	222→123	25	25	222→165	12
24	3-hidroxi-carbofurano	255[M+NH ₄] ⁺	255→163	15	18	255→220	10
25	Carbosulfano	381[M+H] ⁺	382→160	30	15	381→118	20
26	Cartape	238 [M+H] ⁺	238→150	25	20	238→116	20
27	Carpropamida	334[M+H] ⁺	334→139	25	20	334→1956	10
28	Ciazofamida	325[M+H] ⁺	325→108	20	15	325→261	10
29	Cimoxanil	199[M+H] ⁺	199→111	20	18	199→128	10
30	Ciproconazol	292[M+H] ⁺	292→70	25	18	292→125	30
31	Ciprodinil	226[M+H] ⁺	226→93,0	45	35	226→108	25
32	Cromazina	167[M+H] ⁺	167→60	30	18	167→125	10
33	Clofentezina	303[M+H] ⁺	303→102	20	35	303→138	14
34	Clorbromurom	294[M+H] ⁺	295→182	25	20	295→206	20
35	Clorfenvinfós	359[M+H] ⁺	359→99	25	30	359→127	22
36	Clorpirifós	350[M+H] ⁺	350→98	20	30	350→198	21
37	Clotianidina	250[M+H] ⁺	250→132	20	14	250→169	14
38	Coumafós	363[M+H] ⁺	363→307	26	16	363→289	24
39	Cresoxim-metílico	314[M+H] ⁺	314→116	15	15	314→267	15
40	Demeton-S-Metílico	231[M+H] ⁺	231→61	12	30	231→90	12
41	Diazinona	305[M+H] ⁺	305→97	25	35	305→169	22
42	Diclofluanida	350[M+NH ₄] ⁺	350→123	10	30	350→224	18

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Quant. transição	Cone	Colisão (eV)	Confirmação transição	Colisão (eV)
43	Diclorvos	221[M+H] ⁺	221→127	25	18	221→109	18
44	Dicrotofós	238[M+H] ⁺	238→112	25	14	238→72	25
45	Dietofencarbe	268[M+H] ⁺	268→226	15	10	268→124	35
46	Difenoconazol	406[M+H] ⁺	406→188	35	40	406→251	25
47	Dimetoato	230[M+H] ⁺	230→199	20	10	230→125	22
48	Dimetomorfe	388[M+H] ⁺	388→301	35	20	388→165	30
49	Dimoxistrobina	327[M+H] ⁺	327→116	20	24	327→89	40
50	Diniconazol	326[M+H] ⁺	326→70	35	25	326→159	30
51	Dissulfotom	275[M+H] ⁺	275→61	12	35	275→89	10
52	Diurum	233[M+H] ⁺	233→72	25	18	233→160	25
53	Dodemorfe	282[M+H] ⁺	282→116	40	29	282→98	21
54	Epoxiconazol	330[M+H] ⁺	330→121	35	25	330→123	20
55	Espinosade A	733[M+H] ⁺	733→142	50	31	733→98	59
56	Espiroxamina	298[M+H] ⁺	298→100	30	30	298→144	20
57	Etiolfencarb sulfona	275[M+NH ₄] ⁺	275→107	15	22	275→201	10
58	Etiofencab sulfóxido	242[M+H] ⁺	242→107	15	25	242→185	10
59	Etiona	385[M+H] ⁺	385→199	20	10	385→143	25
60	Etiprole	414[M+H] ⁺	414→351	15	25	414→397	9
61	Etirimol	210[M+H] ⁺	210→98	40	25	210→140	22
62	Etofenproxi	394[M+NH ₄] ⁺	394→107	20	43	394,3→177	20
63	Etoprofós	243[M+H] ⁺	243→131	25	20	243→97	30
64	Etrinós	293[M+H] ⁺	293→265	35	15	293→125	25
65	Famoxadona	392[M+NH ₄] ⁺	392→331	15	10	392→238	18
66	Fenamidona	312[M+H] ⁺	312→92	25	14	312→236	14
67	Fenamifós	304[M+H] ⁺	304→217	30	24	304→202	35
68	Fenarimol	331[M+H] ⁺	331→268	30	25	331→81	25
69	Fenazaquina	307[M+H] ⁺	307→57	30	25	307→161	19
70	Fenebuconazol	337[M+H] ⁺	337→70	30	20	337→125	25
71	Fenhexamida	302[M+H] ⁺	302→97	35	25	302→55	40
72	Fenoxicarbe	302[M+H] ⁺	302→88	20	18	302→116	12
73	Fenpiroximato	422[M+H] ⁺	422→366	30	17	422→135	31
74	Fenpropimorfe	304[M+H] ⁺	304→147	45	31	304→130	25
75	Fentiona	279[M+H] ⁺	279→169	25	18	279→105	25
76	Fentiona sulfóxido	295[M+H] ⁺	295→109	30	30	295→280	15
77	Fentoato	321[M+H] ⁺	321→163	20	10	321→247	10
78	Fluazifope-P-butílico	384[M+H] ⁺	384→282	25		384→328	20
79	Flufenacete	364[M+H] ⁺	364→194	20	10	364→152	18
80	Fluquinconazol	376[M+H] ⁺	376→349	35	20	376→108	40
81	Flusilazol	316[M+H] ⁺	316→247	35	18	316→165	25
82	Flutriafol	302[M+H] ⁺	302→70	25	16	302→123	30
83	Fosalona	368[M+H] ⁺	368→182	25	15	368→111	45
84	Fosmete	318[M+H] ⁺	318→160	20	20	318→133	40
85	Fostiazato	284[M+H] ⁺	284→104	20	22	284→223	10
86	Furatiocarbe	383[M+H] ⁺	383→195	25	18	383→252	12
87	Halofenosideo	331[M+H] ⁺	331→105	10	20	331→275	5

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Quant. transição	Cone	Colisão (eV)	Confirmação transição	Colisão (eV)
88	Hexaconazol	314[M+H] ⁺	314→70	30	20	314→159	40
89	Hexitiazoxi	353[M+H] ⁺	353→228	20	15	353→168	25
90	Imazalil	297[M+H] ⁺	297→69	35	18	297→159	24
91	Imidacloprido	256[M+H] ⁺	256→175	25	20	256→209	12
92	Indoxacarbe	528[M+H] ⁺	528→203	30	40	528→218	25
93	Iprovalicarbe	321[M+H] ⁺	321→119	20	18	321→203	10
94	Isoprotirolona	291[M+H] ⁺	291→189	20	22	291→231	12
95	Isoxaflutol	359[M+H] ⁺	360→251	20	15	360→220	35
96	Isoxationa	313[M+H] ⁺	314→105	20	15	314→286	10
97	Linurom	249[M+H] ⁺	249→160	20	20	249→182	16
98	Malationa	331[M+H] ⁺	331→127	20	12	331→99	25
99	Mefenacete	299[M+H] ⁺	299→148	20	16	299→120	25
100	Mefosfolan	270[M+H] ⁺	270→140	35	25	270→196	14
101	Meipanipirim	224[M+H] ⁺	224→106	40	25	224→77	40
102	Mepronil	270[M+H] ⁺	270→119	30	25	270→91	40
103	Metalaxil	280[M+H] ⁺	280→220	25	12	280→192	18
104	Metamidofós	142[M+H] ⁺	142→94	30	12	142→125	14
105	Metconazol	320[M+H] ⁺	320→70	35	18	320→125	40
106	Metidationa	303[M+H] ⁺	303→85	20	22	303→145	12
107	Metiocarbe	226[M+H] ⁺	226→121	20	20	226→169	10
108	Metiocarbe sulfona	258[M+H] ⁺	275→122	15	24	275→201	14
109	Metiocarbe sulfóxido	242[M+H] ⁺	242→185	25	14	242→122	30
110	Metobromuron	259[M+H] ⁺	259→148	20	15	259→170	25
111	Metomil	163[M+H] ⁺	163→105	15	10	162,9→88	10
112	Metoxifenoazida	369[M+H] ⁺	369→149	15	15	369→313	10
113	Metoxurom	229[M+H] ⁺	229→72	20	18	229→156	25
114	Mevinfós	225[M+H] ⁺	225→193	20	10	225→127	15
115	Miclobutanil	289[M+H] ⁺	289→70	30	18	289→125	30
116	Monocrotofós	224[M+H] ⁺	224→127	20	16	224→98	14
117	Monolinurom	215[M+H] ⁺	215→148	25	15	215→99	35
118	Nitenpiram	271[M+H] ⁺	271→225	20	10	271→126	25
119	Nuarimol	315[M+H] ⁺	315→252	35	22	315→81	25
120	Ometoato	214[M+H] ⁺	214→125	25	22	214→183	10
121	Oxadixil	279[M+H] ⁺	279→219	20	12	279→132	25
122	Oxamil	237[M+NH ₄] ⁺	237→72	15	10	237→90	10
123	Oxicarboxina	268[M+H] ⁺	268→175	20	16	268→147	15
124	Paclobutrazol	294[M+H] ⁺	294→70	30	18	294, →125	30
125	Pencicuron	329[M+H] ⁺	329→125	30	30	329→218	16
126	Penconazol	284[M+H] ⁺	284→159	30	30	284→70	16
127	Picoxistrobina	368[M+H] ⁺	368→145	15	25	368→205	10
128	Pimetrozina	218[M+H] ⁺	218→105	30	18	218→79	35
129	Piperonil butóxido	356[M+NH ₄] ⁺	356→177	20	11	356→119	37
130	Piraclostrobina	388[M+H] ⁺	388→163	25	25	388→194	12
131	*Piraclostrobina metabólito	358[M+H] ⁺	358→132	23	30	358→163,5	10

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Quant. transição	Cone	Colisão (eV)	Confirmação transição	Colisão (eV)
132	Pirazofós	374[M+H] ⁺	374→222	40	20	374→194	35
133	Piridabem	365[M+H] ⁺	365→309	25	13	365→147	27
134	Piridafentiona	341[M+H] ⁺	341→189	35	25	341→92	40
135	Piridato degração	206,5	206,5→104	50	20	206,5→68	30
136	Pirifenox	295[M+H] ⁺	295→93	35	22	295→66	40
137	Pirimetanil	200[M+H] ⁺	200→107	45	25	200→82	25
138	Pirimicarbe	239[M+H] ⁺	239→182	30	16	239→72	20
139	Pirimicarbe desmetil	225[M+H] ⁺	225→168	25	16	225→72	20
140	Pirimifós-etílico	333[M+H] ⁺	333→198	35	25	333→305	18
141	Pirimifós-metílico	306[M+H] ⁺	306→108	30	30	306→67	40
142	Piriproximem	322[M+H] ⁺	322→96	25	15	322→185	23
143	Procloraz	376[M+H] ⁺	376→308	20	15	376→266	15
143	Procloraz	376[M+H] ⁺	376→308	20	15	376→266	15
144	Profenofós	375[M+H] ⁺	375→305	25	20	375→347	15
145	Propargito	368[M+NH ₄] ⁺	368→231	20	11	368→175	15
146	Propiconazol	342[M+H] ⁺	342→159	35	30	342→69	20
147	Propizamida	256[M+H] ⁺	256→190	25	15	256→173	25
148	Propoxur	210[M+H] ⁺	210→111	15	12	210→93	25
149	Tebuconazol	308[M+H] ⁺	308→125	30	35	308→70	20
150	Tebufenozida	353[M+H] ⁺	353→133	10	20	353→297	20
151	Tebufenpirade	334[M+H] ⁺	334→117	45	35	334→145	25
152	Terbufós	289[M+H] ⁺	289→103	10	10	289→70	22
153	Tetraconazol	372[M+H] ⁺	372→159	35	35	372→70	22
154	Tiabendazol	202[M+H] ⁺	202→175	45	25	202→131	30
155	Tiacloprido	253[M+H] ⁺	253→126	35	20	253→90	40
156	Tiametoxam	292[M+H] ⁺	292→211	20	12	292→181	22
157	Tiobencarbe	257[M+H] ⁺	257→124	20	18	257→100	10
158	Tiodicarbe	355[M+H] ⁺	355→88	20	16	355→108	16
159	Tiofanox sulfona	268[M+NH ₄] ⁺	268→76	10	10	268→178	10
160	Tiofanox sulfóxido	252[M+NH ₄] ⁺	252→178	10	10	252→235	5
161	Tolclofós metílico	301[M+H] ⁺	301→125	30	20	301→175	25
162	Tolifluanida	364[M+NH ₄] ⁺	364→137	15	25	364→238	10
163	Triadimefom	294[M+H] ⁺	294→197	30	16	294→69	20
164	Triadimenol	296[M+H] ⁺	296→70	15	10	296→99	14
165	Triazofós	314[M+H] ⁺	314→162	25	18	314→119	35
166	Triciclazol	190[M+H] ⁺	190→136	40	25	190→163	22
167	Triclorfon	257[M+H] ⁺	257→109	25	20	257→127	18
168	Trifloxistrobina	409[M+H] ⁺	409→186	25	14	409→145	40
169	Triflumizol	346[M+H] ⁺	346→278	15	10	346→73	18
170	Triticonazol	318[M+H] ⁺	318→125	20	35	318→70	20
171	Vamidotiona	288[M+H] ⁺	288→146	20	12	288→118	12
172	Vamidotiona sulfona	320[M+H] ⁺	320→178	20	25	320→86	25
173	Zoxamida	336[M+H] ⁺	336→187	30	25	336→159	40

Metabolito da piraclostrobina : N[1-(4-clorofenil)pirazol-3-il]oxil-o-tolil]carbamato

Tabela S2: Recuperações obtidas na matriz milho ($0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$) para **S148**

Agrotóxico	Recuperações n=7 (%)							Média	DESPD	CV (%)
3-OH-Carbofurano	89	104	97	70	87	96	92	91	11	12
Abamectina	96	130	113	67	99	110	105	103	19	19
Acefato	87	92	90	67	88	88	88	86	8	10
Acetamiprido	99	102	100	76	95	90	92	94	9	9
Aldicarbe	66	83	74	44	47	59	53	61	14	23
Aldicarbe Sulfona	109	92	101	82	98	93	95	96	8	9
Aldicarbe Sulfóxido	109	115	112	96	119	128	124	115	11	9
Ametrina	95	98	96	71	94	91	92	91	9	10
Amitraz	97	105	101	108	91	94	92	98	7	7
Azaconazol	91	92	92	66	92	94	93	89	10	11
Azametifós	87	92	89	66	88	94	91	87	9	11
Azinfós Etil	97	108	103	73	90	95	92	94	11	12
Azinfós Metil	80	86	83	61	86	84	85	81	9	11
Azoxistrobina	94	95	95	67	94	97	96	91	11	12
Benalaxil	94	97	95	72	81	83	82	86	9	11
Boscalida	88	90	89	70	83	81	82	84	7	8
Bromoconazol	89	97	93	61	73	95	84	84	13	16
Bupirimato	90	107	99	61	85	92	88	89	14	16
Buprofezina	96	98	97	73	93	93	93	92	9	10
Butocarboxim Sulfóxido	115	119	117	97	128	137	132	121	13	11
Cadusafós	110	97	103	73	82	81	82	90	14	15
Carbaril	88	91	90	67	89	94	91	87	9	10
Carbendazim	85	100	92	65	84	92	88	87	11	13
Carbofurano	94	98	96	70	89	94	92	91	9	10
Carbosulfano	87	89	88	62	84	87	85	83	10	12
Ciazofamida	90	94	92	65	88	103	96	90	12	13
Cimoxanil	109	106	107	71	87	95	91	95	14	14
Ciproconazol	89	88	89	61	82	91	87	84	10	12
Ciprodinil	81	80	80	68	76	87	81	79	6	7
Ciromazina	36	44	40	22	35	35	35	35	7	19
Clofentezina	24	23	24	29	36	36	36	30	6	21
Clorbromuron	89	101	95	61	95	106	101	93	15	16
Clorfenvinfós	78	77	77	63	78	89	84	78	8	10
Clorpirifós	101	105	103	68	107	111	109	101	15	15
Clotianidina	86	100	93	78	90	89	90	89	7	7
Coumafós	115	117	116		94	83	89	102	15	15
Cresoxim Metílico	86	96	91	68	94	103	99	91	12	13
Demeton-S-Metil	37	40	39	25	24	23	24	30	8	26
Desmedifan	93	96	95	67	87	91	89	88	10	11
Diazinona	96	98	97	65	85	91	88	89	11	13
Diclorvós	22	26	24	25	24	32	28	26	3	13
Difenoconazol	88	95	92	64	82	89	85	85	10	12
Dimetoato	98	102	100	74	92	93	92	93	10	10

Tabela S2:Continuação

Agrotóxico	Recuperações n=7 (%)							Média	DESPD	CV (%)
Dimetomorfe	99	98	99	66	97	97	97	93	12	13
Diniconazol	79	81	80	59	71	75	73	74	8	10
Dissulfoton	18	24	21					21	3	14
Dodemorfe	81	89	85	61	86	90	88	83	10	12
Epoxiconazol	91			76				83	10	13
Espinosade	98	100	99	73	97	100	99	95	10	10
Etiofencarbe Sulfona	88	95	91	72	89	92	90	88	8	9
Etiofencarbe Sulfóxido	92	106	99	67	90	96	93	92	12	13
Etiona	96	101	98	70	99	105	102	96	12	12
Etiprole	100	101	101	72	105	106	106	99	12	12
Etimol	77	81	79	53	69	72	70	72	9	13
Etoprofós	123	109	116	72	96	93	95	101	17	17
Etrinós	114	104	109	74	97	93	95	98	13	13
Famoxadona	90	91	91	60	77	82	80	82	11	13
Fenamidona	100	105	102	70	85	96	90	93	12	13
Fenamifós	79	81	80	53	72	75	73	73	10	13
Fenarimol	71	79	75	54	67	72	70	70	8	11
Fenazaquina	90	98	94	61	87	94	91	88	12	14
Fenbuconazol	98	102	100	55	89	99	94	91	16	18
Fenhexamida	82	81	81	59	79	85	82	78	9	11
Fenoxicarbe	97	92	95	66	80	104	92	89	12	14
Fenproximoato	90	101	96	70	96	103	99	94	11	12
Fenpropimorfe	92	92	92	67	92	92	92	88	9	11
Fentiona Sulfóxido	104	112	108	76	105	110	108	103	12	12
Fluazifo-p-butyl	105	95	100	79	91	104	97	96	9	9
Flufenacete	86	92	89	68	75	83	79	82	8	10
Fluquinconazol	99	101	100	82	64	65	64	82	18	22
Flusilasol	100	107	103	67	88	97	92	93	13	14
Flutriafol	86	90	88	65	77	87	82	82	9	11
Fosalona	98	97	97	72	91	95	93	92	9	10
Fosmete	84	75	80	65	85	83	84	79	7	9
Fostiazato	98	99	98	67	95	97	96	93	11	12
Furatiocarbe	97	94	96	64	83	89	86	87	11	13
Hexitiazox	94	106	100	69	109	112	110	100	15	15
Imidacloprido	97	106	101	76	91	93	92	94	9	10
Indoxacarbe	90	94	92	60	76	92	84	84	12	15
Iprovalicarbe	86	94	90	65	87	96	92	87	11	12
Isoprotilona	92	97	94	68	91	91	91	89	9	11
Isoxaflutol	79	73	76	59	78	84	81	76	8	11
Isoxationa	95	98	97	63	89	105	97	92	14	15
Linurom	98	100	99	67	88	91	90	91	11	12
Malationa	93	97	95	71	88	92	90	89	9	10

Tabela S2: Continuação

Agrotóxico	Recuperações n=7 (%)							Média	DESPD	CV (%)
Mefenacetate	85	87	86	64	85	86	85	83	8	10
Mefosfolan	95	100	98	73	97	99	98	94	9	10
Mepronil	96	100	98	70	94	95	94	92	10	11
Metalaxil	102	100	101	75	94	97	96	95	9	10
Metamidofós	76	84	80	58	73	72	72	73	8	11
Metconazol	93	98	96	60	83	90	87	87	13	15
Metidationa	94	97	95	63	88	99	93	90	12	14
Metiocarbe	96	91	93	69	92	91	92	89	9	10
Metiocarbe Sulfona	95	101	98	70	92	94	93	92	10	11
Metiocarbe Sulfóxido	95	101	98	71	92	97	94	93	10	11
Metobromuron	84	93	89	62	87	99	93	87	12	14
Metomil	123	131	127	113	167	193	180	150	32	21
Metoxifenosídeo	89	93	91	62	85	92	89	86	11	12
Mevinfós	76	78	77	62	75	76	75	74	6	7
Miclobutanil	98	111	104	69	90	99	95	95	13	14
Monocrotófós	88	92	90	74	96	109	102	93	11	12
Ometoato	100	105	103	61	90	93	91	92	15	16
Oxadixil	100	101	100	78	95	95	95	95	8	8
Oxamil Oxima	92	102	97	69	90	86	88	89	10	12
Paclobutrazol	90	94	92	64	92	98	95	89	12	13
Pencicuum	93	96	94	65	89	95	92	89	11	12
Picoxistrobina	92	94	93	67	88	93	91	88	9	11
Pimetrozina	74	80	77	58	75	76	76	74	7	10
Piperonil Butóxido	92	96	94	66	89	94	92	89	10	12
Piraclostrobina	98	105	101	69	86	94	90	92	12	13
Piraclostrobina Metábólito	97	99	98	62	89	93	91	90	13	14
Pirazofós	98	104	101	77	95	94	94	95	8	9
Piridaben	93	101	97	67	97	99	98	93	12	13
Piridafentiona	95	100	97	66	91	98	94	92	12	13
Piridato	81	97	89	57	85	91	88	84	13	16
Pirimetanil	89	86	88	64	83	77	80	81	9	11
Pirimicarbe	95	97	96	73	92	96	94	92	8	9
Pirimifós Etilico	83	101	92	59	83	103	93	88	15	17
Pirimifós Metil	81	81	81	64	83	89	86	81	8	10
Piriproxifen	105	112	109	71	100	99	100	99	13	13
Procloraz	92	88	90	57	80	78	79	80	12	15
Profenofós	126	110	118	67	95	101	98	100	19	19
Propargito	107	111	109	84	104	104	104	103	9	9
Propiconazol	99	98	99	62	80	83	81	86	14	16
Propizamida	85	99	92	60	81	88	85	84	12	15
Propoxur	96	100	98	70	91	92	91	91	10	11
Quinalfós	107	118	112	73	77	78	77	92	20	21
Tebuconazol	80	108	94	60	92	96	94	89	15	17

Tabela S2:Continuação

Agrotóxico	Recuperações n=7 (%)							Média	DESPD	CV (%)
Tebufenosídeo	98	88	93	65	86	91	89	87	11	12
Tebufenpirade	91	102	96	59	90	90	90	88	14	15
Terbufós	87	74	80	59	-----	-----	-----	75	12	16
Tetraconazol	83	85	84	71	85	82	84	82	5	6
Tiabendazol	96	94	95	72	85	87	86	88	8	9
Tiacloprido	85	93	89	70	81	80	80	83	7	9
Tiametoxam	100	99	99	78	95	101	98	96	8	8
Tiodicarbe	37	39	38	20	23	24	24	29	8	30
Tiofanox Sulfona	99	105	102	75	92	90	91	94	10	11
Triazofós	91	93	92	69	91	96	94	90	9	10
Triclorfon	95	98	97	70	89	96	92	91	10	11
Trifloxistrobina	94	99	97	71	88	94	91	90	9	10
Triflumizol	87	87	87	59	71	81	76	78	10	13
Triticonazol	83	85	84	57	70	91	81	79	11	15
Vamidotiona	81	89	85	61	74	80	77	78	9	11
Zoxamida	102	117	109	68	79	78	78	90	19	20

Tabela S3: Recuperações obtidas na matriz soja ($0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$) para S148

Agrotóxico	%	%	Média	DP	CV	Agrotóxico	%	%	Média	DP	CV
3-OH-Carbofurano	93	97	95	3	3	Coumafós	117	107	112	7	6
Abamectina	106	71	89	25	28	Cresoxim Metílico	86	96	91	7	8
Acefato	81	87	84	4	5	Demeton-S-Metil	80	86	83	4	5
Acetamiprido	106	100	103	4	4	Desmedifan	96	98	97	1	1
Aldicarbe	62	90	76	20	26	Diazinona	92	95	93	2	2
Aldicarbe Sulfona	92	97	95	4	4	Diclorvós	19	30	25	8	31
Aldicarbe Sulfóxido	102	110	106	6	5	Difenoconazol	96	93	95	2	2
Ametrina	96	92	94	3	3	Dimetoato	100	98	99	1	1
Amitraz	114	105	109	6	6	Dimetomorfe	94	101	98	5	5
Azaconazol	97	92	95	4	4	Diniconazol	88	94	91	4	5
Azametifós	84	87	85	2	2	Dissulfoton	74	74	74	0	0
Azinfós Etil	82	101	92	13	15	Dodemorfe	72	72	72	0	0
Azinfós Metil	105	107	106	1	1	Epoconazol	95	102	98	5	5
Azoxistrobina	100	98	99	1	1	Espinosade	99	92	96	5	5
Benalaxil	94	97	95	2	2	Etiofencarbe Sulfona	93	92	93	1	1
Boscalida	103	97	100	4	4	Etiofencarbe Sulfóxido	94	94	94	0	0
Bromoconazol	114	95	104	13	13	Etiona	84	81	82	2	3
Bupirimato	87	103	95	11	12	Etiprole	90	102	96	8	9
Buprofezina	86	84	85	1	2	Etirimol	72	77	74	4	5

Butocarboxim Sulfóxido	102	90	96	8	9	Etoprofós	97	95	96	1	1
Cadusafós	107	93	100	10	10	Etrinfós	97	95	96	1	1
Carbaril	88	93	91	4	4	Famoxadona	68	108	88	28	32
Carbendazim	95	103	99	6	6	Fenamidona	80	83	82	2	3
Carbofurano	100	101	100	1	1	Fenamifós	91	95	93	3	3

Tabela S4: Recuperações obtidas na matriz soja ($0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$) para **S148**

Agrotóxicos	%	%	Média	DP	CV	Agrotóxicos	%	%	Média	DP	CV
Carbosulfano	70	65	67	4	5	Fenarimol	88	91	90	2	2
Ciazofamida	88	98	93	7	8	Fenazaquina	73	70	71	2	3
Cimoxanil	97	86	91	8	9	Fenbuconazol	81	101	91	14	16
Ciproconazol	90	90	90	0	0	Fenhexamida	85	88	87	2	2
Ciprodinil	81	88	84	5	6	Fenoxicarbe	97	98	98	1	1
Ciromazina	43	45	44	1	3	Fenpiroximato	89	73	81	11	14
Clofentezina	22	18	20	3	14	Fenpropimorfe	82	80	81	1	2
Clorbromuron	91	95	93	3	3	Fentiona	92	89	90	2	2
Clorfenvinfós	83	89	86	4	5	Fentiona Sulfóxido	102	101	101	1	1
Clorpirifós	82	77	79	4	4	Fluazifo-p-butil	92	90	91	1	1
Clotianidina	97	97	97	0	0	Picoxistrobina	92	100	96	6	6
Flufenacete	95	98	97	2	2	Pimetrozina	81	79	80	1	2
Fluquinconazol	91	98	94	5	5	Piperonil Butóxido	87	88	88	1	1
Flusilazol	93	99	96	4	4	Piraclostrobina	93	95	94	1	2
Flutriafol	91	100	95	6	7	Piraclostrobina metabólito	84	92	88	6	6
Fosalona	95	95	95	0	0	Pirazofós	96	98	97	1	1
Fosmete	73	44	59	21	35	Piridaben	79	72	76	5	7
Fostiazato	95	97	96	1	1	Piridafentiona	94	93	94	1	1
Furatiocarbe	84	86	85	1	2	Piridato	45	43	44	1	3
Hexitiazox	85	74	79	8	10	Pirimetanil	90	92	91	1	2
Imazalil	96	98	97	1	1	Pirimicarbe	99	98	98	1	1
Imidacloprido	96	97	96	1	1	Pirimifós Etilico	73	82	77	6	8
Indoxacarbe	101	96	99	4	4	Pirimifós Metil	85	89	87	3	3
Iprovalicarbe	89	99	94	7	8	Piriproxifen	80	73	76	5	7
Isoprotiolona	95	97	96	1	1	Procloraz	94	91	93	2	2
Isoxaflutol	26	33	30	5	16	Profenofós	92	81	86	8	9
Isoxationa	88	93	90	4	4	Propargito	96	82	89	10	11
Linurom	89	90	90	1	1	Propiconazol	90	95	92	4	4
Malationa	95	99	97	3	3	Propizamida	79	99	89	14	16
Mefenacete	93	97	95	3	3	Propoxur	98	95	96	2	2

Tabela S4: Recuperações obtidas na matriz soja ($0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$) para **S148** - continuação

Agrotóxicos	%	%	Média	DESPAD	CV	Agrotóxicos	%	%	Média	DESPAD	CV
Mefosfolan	99	99	99	0	0	Quinalfós	103	104	103	1	1
Mepronil	98	97	98	1	1	Tebuconazol	79	76	77	2	3
Metalaxil	95	96	96	1	1	Tebufenosídeo	86	94	90	6	6
Metamidofós	75	80	78	4	5	Tebufenpirade	83	79	81	3	3
Metconazol	86	93	89	5	6	Terbufós	98	77	88	15	17
Metidationa	93	96	94	2	2	Tetraconazol	93	100	96	5	5
Metiocarbe	100	95	98	4	4	Tiabendazol	97	95	96	1	1
Metiocarbe Sulfona	88	89	89	1	1	Tiacloprido	93	98	96	4	4
Metiocarbe Sulfóxido	97	99	98	1	1	Tiametoxam	98	99	99	1	1
Metobromuron	86	93	89	5	6	Tiofanox Sulfona	102	101	101	1	1
Metomil	174	178	176	3	2	Triazofós	94	97	96	2	2
Metoxifenosídeo	88	92	90	3	3	Triclorfon	92	95	93	2	2
Mevinfós	88	81	85	5	6	Trifloxistrobina	95	96	96	1	1
Miclobutanil	100	104	102	3	3	Triflumizol	93	92	92	1	1
Monocrotofós	108	98	103	7	7	Triticonazol	81	88	85	5	6
Ometoato	89	88	89	1	1	Vamidotiona	94	97	96	2	2
Oxadixil	105	100	102	4	3	Zoxamida	102	104	103	1	1
Oxamil Oxima	84	86	85	1	2						
Paclobutrazol	95	96	95	1	1						
Pencicurom	89	92	90	2	2						

Tabela S5: LMR estipulados pela ANVISA (2013), resultados de validação de milho e soja.

Agrotóxico	ANVISA LMR		Outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	Milho		Soja		Milho
	(mg.kg ⁻¹)			Milho mg.kg ⁻¹	Soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	Milho	Soja				0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
abamectina	0,005	0,01	algodão (0,05), café (0,002)	0,18	0,18	91	12	89	16	NA
acefato	NPC	1	algodão (0,2)	0,01	0,003	86	10	84	3	76
acetamiprido	NPC	NPC	algodão e trigo (1)	0,001	0,002	94	9	103	2	88
aldicarbe	NPC	NPC	café (0,1), cana, citros (0,02)	0,01	0,007	61	23	76	15	55
aldicarbe sulfona	NPC	NPC		0,01	0,007	96	9	95	2	80
aldicarbe sulfóxido	NPC	NPC		0,007	0,01	115	9	95	2	106
ametrina	0,04	NPC	cana (0,05); algodão (0,05)	0,004	0,004	91	10	94	2	86
azaconazol	P	P	p	0,007	0,006	89	11	95	2	78
azametifós	NPC	NPC	NPC	0,003	0,003	87	11	85	1	89
azoxistrobina	0,01	0,5	cana (0,01), cevada (0,05)	0,004	0,003	94	12	99	1	87
benalaxil	NPC	NPC	NPC	0,05	0,116	86	11	95	1	63
bitertanol	NPC	NPC	amendoim (0,2)	Não avaliado						78
boscalida	NPC	NPC	café (0,05)	0,02	0,03	84	8	100	2	105
bromuconazol	NPC	0,05	amendoim (0,1)	0,06	0,03	84	16	104	7	42
bupirinato	P	P	P	0,04	0,009	89	16	95	7	67
buprofenzina	NPC	0,02	algodão (0,05)	0,001	0,008	92	10	85	1	99
butocarboxim	P	P	P	Sem resposta						
butocarboxim sulfóxido	P	P	P	0,022	0,015	120	11	96	5	75
carbaril	NPC	NPC	pastagem (100)	0,002	0,008	87	10	91	2	94
carbendazim	0,05	0,5	trigo (0,1)	0,002	0,008	87	13	99	3	120
3-hidroxi-carbofurano	0,1	NPC	trigo(0,1)	0,002	0,046	91	12	95	2	78
carbofurano	0,1	NPC		0,01	0,005	91	10	100	0	110
carpropamida	NPC	NPC	arroz (0,02)	Não avaliado						58
ciazofamida	NPC	NPC	NPC	0,02	0,02	90	13	93	4	85
cimoxanil	NPC	NPC	NPC	0,06	0,049	95	14	91	5	90
ciproconazol	0,01	0,05	algodão (0,02)	0,02	0,013	84	12	90	0	87

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	ANVISA LMR		Outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	Milho		Soja		Milho
	(mg.kg ⁻¹)			Milho	Soja	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	Milho	Soja		mg.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹	0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
ciprodinil	NPC	NPC	NPC	0,02	0,012	79	7	84	3	97
clorpirifós	0,1	0,01	pastagem (2)	0,05	0,038	101	15	79	3	128
clotianidina	0,02	0,02	algodão (0,1), feijão (0,02)	0,02	0,011	89	7	97	0	65
cresoxim metílico	NPC	0,05	algodão(0,05)	0,01	0,019	91	13	91	8	NA
demetom-S-metílico	P	P	P	0,05	0,044	30	26	83	3	87
desmedifam	P	P	P	0,01	0,008	88	11	97	1	85
diazinona	NPC	NPC	NPC	0,04	0,011	89	13	93	1	78
diclofluanida	P	P	P			Não avaliado				28
diclorvós	NPC	NPC	NPC	0,10	0,104	26	13	25	18	20
dicrotofós	P	P	P			Não avaliado				85
dimoxistrobina	P	P	P			Não avaliado				73
diniconazol	P	P	P	0,07	0,025	74	10	91	3	96
dissulfotom	NPC	NPC	algodão (0,2)	0,10	0,145	21	14	74	0	93
diuron	0,05	0,2	alfafa (2); trigo (0,05);	0,01	0,009	Não avaliado				120
dodemorfe	P	P	P	0,002	0,004	83	12	72	0	89
epoxiconazol	0,05	0,05	trigo (0,1)	0,06	0,061	83	13	98	3	689
espinosade A	0,01	0,01	sorgo (1)	0,03	0,021	95	10	96	3	85
espinosade D				NA	0,009	Não avaliado				NA
espiroxamine	P	P	P			Não avaliado				111
etiofencarbe-sulfona	P	P	P	0,02	0,015	88	9	93	1	84
etiofencarbe-sulfóxido	P	P	P	0,02	0,008	92	13	94	0	118
etiona	NPC	NPC	algodão (0,5)	0,04	0,018	96	12	82	2	96
etiprole	NPC	NPC	cana, arroz (0,005)	0,10	0,086	99	12	96	5	181
etirimol	P	P	P	0,06	0,092	72	13	74	3	71
etofenproxi	0,05	1	arroz (3)			Não avaliado				87
etoprofós	NPC	NPC	NPC	0,03	0,052	101	17	96	1	49
etrinfós	P	P	P	0,02	0,024	98	13	96	1	146
famoxadona	NPC	NPC	feijão (0,02), citros (0,05)	0,10	0,128	82	13	88	19	66
fenamidona	NPC	NPC	NPC	0,09	0,059	93	13	82	2	108

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	LMR (mg.kg ⁻¹)		outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		Milho
	ANVISA			milho mg.kg ⁻¹	soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	milho	soja				milho		0,01 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
fenamifós	NPC	NPC	algodão (0,05), café (0,1)	0,07	0,071	73	13	93	2	52
fenarimol	NPC	0,05	NPC	0,14	0,11	70	11	90	1	140
fenazaquina	P	P	P	0,01	0,013	88	14	71	2	90
fenbuconazol	P	P	P	0,03	0,046	91	18	91	9	89
fenhexamida	P	P	P	0,04	0,018	78	11	87	1	58
fostiazato	P	P	café (0,1)	0,012	0,015	93	12	96	1	83
fenoxicarbe	P	P	P	0,03	0,027	89	14	98	0	43
fenproximato	NPC	NPC	café (0,05), citros (0,5)	0,04	0,028	94	12	81	8	98
fenpropimorfe	NPC	NPC	trigo (0,03)	0,01	0,012	88	11	81	1	84
fentiona	NPC	NPC	algodão (0,05), citros (0,5)	0,06	0,06	Não avaliado		90	1	NA
fentiona-sulfóxido				Não avaliado		103	12	101	1	89
fentoato	NPC	NPC	Tomate (0,05)			Não avaliado				93
fluazifope-p-butílico	NPC	0,3	Citros (0,05), algodão (0,04)	0,12	0,009	96	9	91	1	99
flufenacete	P	P	P	0,12	0,044	82	10	97	1	61
fluquinconazol	NPC	0,05	trigo(0,05)	0,27	0,236	82	22	94	3	51
flusilazol	P	P	P	0,10	0,104	93	14	96	3	46
flutriafol	NPC	0,1	algodão e cevada (0,1)	0,04	0,029	82	11	95	4	78
fosalona	NPC	NPC	NPC	0,04	0,038	92	10	95	0	81
fosmete	NPC	NPC	citros (1)	0,06	0,03	79	9	59	20	200
fostiazato	NPC	NPC	café (0,5)	0,01	0,015	93	12	96	1	83
furatiocarbe	0,03	NPC	algodão e arroz (0,03)	0,03	0,025	87	13	85	1	90
halofenosídeo	P	P	P			Não avaliado				84
indoxacarbe	0,2	NPC	algodão (0,02)	0,18	0,114	84	15	99	2	76
iprovalicarbe	NPC	NPC	NPC	0,02	0,021	87	12	94	4	82
isoprotilona	P	P	P	0,04	0,031	89	11	96	1	91
isoxaflutol	0,01	NPC	algodão (0,01), cana (0,08)	0,20	0,151	76	11	30	10	NA
isoxationa	P	P	P	0,04	0,100	92	15	90	2	39
linurom	0,3	1	-----	0,12	0,122	91	12	90	1	104

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	LMR (mg.kg ⁻¹)		outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		Milho
	ANVISA			milho mg.kg ⁻¹	soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	milho	soja				milho		0,01 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
malationa	8	0,01	algodão (2), cereais arm. (8,0)	0,02	0,025	89	10	97	2	81
mefenacete	P	P	P	0,02	0,03	83	10	95	2	61
mefosfolan	P	P	P	0,02	0,016	94	10	99	0	97
mepanipirim	P	P	P			Não avaliado				60
mepronil	P	P	P	0,01	0,029	92	11	98	0	89
metalaxil	0,05	0,05	algodão, cana de açúcar, arroz, feijão (0,01) e sorgo(0,05)	0,03	0,024	Não avaliado		96	0	103
metamidofós	NPC	0,01	algodão (0,05), feijão (0,01)	0,05	0,063	73	11	78	3	70
metconazol	NPC	NPC	algodão (0,2)	0,02	0,099	87	15	89	3	75
metidationa	NPC	NPC	algodão (0,2) e citros (2,0)	0,03	0,038	90	14	94	1	85
metiocarbe			tomate (1)	0,08	0,022	89	10	98	2	91
metiocarbe sulfona	NPC	NPC		0,07		92	11	89	1	SR
metiocarbe sulfóxido				0,02	0,033	93	11	98	1	88
metobromuron	P	P	P	0,04	0,042	87	14	89	3	84
metomil	0,1	0,1	algodão, trigo (0,1), tomate (1)	0,07	0,172	150	21	180	1	92
metoxifenosida	0,5	0,05	algodão (0,5)	0,13	0,04	86	12			77
metoxurom	P	P	P			Não avaliado				91
mevinfós	NPC	NPC	feijão (0,1)	0,02	0,041	74	7	85	13	91
miclobutanil	NPC	0,02	arroz (0,5)	0,07	0,034	95	14	102	2	86
monocrotofós	P	P	P	0,07	0,085	93	12	103	4	85
monolinurom	P	P	P			Não avaliado				69
nuarimol	P	P	P			Não avaliado				93
nitempiram	P	P	P			Não avaliado				60
ometoato	P	P	P	0,07	0,066	92	16	89	1	79
oxadizil	P	P	P	0,01	0,017	95	8	Não avaliado		93

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	ANVISA LMR		Outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	Milho		Soja		Milho
	(mg.kg ⁻¹)			Milho mg.kg ⁻¹	Soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	Milho	Soja				0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
oxamil	P	P	P			Não avaliado				76
oxamil oxima				0,07	0,107	89	12	85	1	81
oxicarboxina	NPC	NPC	feijão (0,4)			Não avaliado				84
paclobutrazol	NPC	NPC	NPC	0,08	0,185	89	13	95	0	104
pencicrom	NPC	NPC	algodão (0,1), feijão (0,01)	0,15	0,051	89	12	90	1	73
penconazol	P	P	P			Não avaliado				50
picoxistrobina	0,01	0,02	algodão, arroz, cana, feijão (0,01), arroz (0,07)	0,13	0,116	88	11	96	3	60
pimetrozina	NPC	NPC	algodão (0,1)	0,04	0,048	74	10	80	1	70
piperonil butóxido	P	P	P	0,02	0,019	89	12	88	1	97
piraclostrobina			algodão (0,2), amendoim, cana (0,1), aveia, cevada (1) café, trigo (0,5)	0,06	0,048	92	13	94	1	75
*piraclostrobina	0,1	0,1		0,054	0,048	90	14	88	4	72
piridato	P	P	P	0,06	0,036	84	16	44	2	NA
*piridato										80
pirifenoxi	P	P	P	0,22	0,141	Não avaliado				NA
pirimetanil	NPC	NPC	Tomate (1,0)	0,07	0,044	81	11	91	1	60
pirimicarbe	NPC	NPC	Trigo (0,05)	0,03	0,035	92	9	98	0	88
pirimicarbe desmetil										94
pirimifós-etílico	P	P	P	0,03	0,032	88	17	77	5	74
pirimifós-metílico	10	NPC	cereais armazenados:(10)	0,06	0,038	81	10	87	2	83
piriproxifem	NPC	0,05	algodão (0,1); citros:1,0	0,06	0,053	99	13	76	4	89
procloraz	NPC	NPC	cevada (0,5), trigo (0,5)	0,17	0,117	80	15	93	1	SR
profenofós	0,02	0,1	algodão (0,02); soja, trigo (0,1)	0,17	0,125	102	19	86	5	95
propargito	NPC	NPC	algodão (0,1); citros: (5,0)	0,10	0,097	103	9	89	6	95
propiconazol	0,1	0,05	algodão, amendoim, cevada (0,05), trigo (0,1)	0,08	0,103	86	16	92	2	60

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	ANVISA LMR		Outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	Milho		Soja		Milho
	(mg.kg ⁻¹)			Milho mg.kg ⁻¹	Soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	Milho	Soja				0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
propizamide	P	P	P	0,09	0,201	84	15	89	9	77
propoxur	NPC	NPC	NPC	0,003	0,04	91	11	96	1	102
quinalfós	P	P	P	0,03	0,008	92	21	103	0	NA
tebuconazol	0,1	0,1	algodão, amendoim, arroz,aveia, sorgo, trigo (0,1), citros (5)	0,33	0,352	89	17	77	2	50
tebufenosida	0,02	0,05	algodão, cana de açúcar (0,01)	0,06	0,051	87	12	90	4	71
tebufenpirade	P	P	P	0,18	0,14	88	15	81	2	87
terbufós	0,05	NPC	algodão, amendoim, cana, feijão (0,05)	0,20	0,263	75	16	88	10	107
tetraconazol	0,05	0,1	algodão (0,05), café (0,08), arroz(1,0), trigo (0,02)	0,06	0,075	82	6	96	3	70
tiabendazol	0,2	0,1	sorgo(0,01)	0,04	0,11	88	9	96	1	90
tiacloprido	NPC	0,1	algodão (0,1)	0,04	0,029	83	9	96	2	87
tiametoxan	0,02	0,02	algodão, amendoim (0,02), arroz (1), girassol (0,05)	0,27	0,236	96	8	99	0	88
tiobencarbe	NPC	NPC	arroz (0,05)	Não avaliado						SR
tiodicarbe	0,1	0,1	algodão, amendoim (0,1), aveia, cevada, girassol (0,04), sorgo (0,05), trigo (0,2).	0,051	0,049	30	30	Não avaliado		SR
tiofanox	P	P	P	Não avaliado						NA
tiofanox sulfona				0,05	0,063	94	11	101	0	83
tolclofós metílico	P	P	P	Não avaliado						SR

Tabela S5:Continuação

Agrotóxico	ANVISA LMR		Outros cereais (mg.kg ⁻¹)	LQM	LQM	Milho		Soja		Milho
	(mg.kg ⁻¹)			Milho mg.kg ⁻¹	Soja mg.kg ⁻¹	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)	CV (%)	RECUP (%)
	Milho	Soja				0,05 mg.kg ⁻¹		0,05 mg.kg ⁻¹		0,01 mg.kg ⁻¹
tolifluanida	0,5	0,5	algodão,feijão (0,5)			NA				30
triadimefom	NPC	NPC	café, cana, cevada, trigo (0,1)			NA				88
triadimenol	NPC	NPC	algodão (0,2), aveia, cana de açúcar, cevada (0,1), trigo (0,5)			NA				82
triazofós	0,01	0,02	algodão (0,03), café, citros, feijão (0,01), trigo (0,04)	0,04	0,035	90	10	96	1	116
tricyclazol	NPC	NPC	arroz (0,3)			Não avaliado				90
tricolorfon	P	P	P	0,03	0,052	91	11	93	1	SR
trifloxistrobina	0,05	0,02	algodão, amendoim, aveia, trigo (0,05), cevada (0,5)	0,14	0,112	90	10	96	0	92
triflumizol	NPC	NPC	trigo (0,05)	0,13	0,154	78	13	92	1	93
triticonazol	NPC	NPC	cevada (0,1), trigo (0,2)	0,05	0,093	79	15	85	3	118
vamidotiona	P	P	P	0,50		78	11	96	1	86

NPC: Não permitido a cultura, P: proibido, NA : Não avaliado. Fonte: ANVISA, 2013

5.5 MANUSCRITO 5: Avaliação de resíduos de agrotóxicos na alimentação animal de subprodutos agroindustriais e cereais utilizando a cromatografia líquida / espectrometria de massas.

Artigo científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação no periódico da área agrícola.

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL EM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS E CEREAIS UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA / ESPECTROMETRIA DE MASSAS

1 INTRODUÇÃO

Dos custos atribuídos ao leite, o item produção de alimentos e alimentação do rebanho é responsável pela maior proporção (de 40 a 60%) dos custos variáveis. Esse alto custo de produção e a baixa margem de lucro da pecuária leiteira fazem com que o produtor busque alternativas mais econômicas na alimentação animal (AA). Como consequência ao fato, a utilização de subprodutos agroindustriais para a alimentação do rebanho passou a ser uma boa alternativa para a produção de leite além de contribuir na solução dos problemas ambientais (PIMENTEL et al., 2012).

Para a utilização desses subprodutos alguns fatores devem ser levados em consideração tais como: a proximidade da produção desses e dos animais a serem alimentados, características nutricionais do produto, custo de transporte, necessidade de processamento e a sazonalidade na disponibilidade desses (EMBRAPA, 2013), teor de matéria seca (MS) do material, maior flexibilidade de formulação das rações, facilidade no processamento, entre outros (PEDROSO, 2006). Além desses fatores, a avaliação de resíduos e contaminantes também deve ser considerada, pois os produtos podem conter substâncias tóxicas sendo transferidas ao leite e à carne como resíduos (BASTOS, 2011).

Vários são os subprodutos agroindustriais empregados na alimentação de ruminantes, dentre eles destacam-se o caroço de algodão, a polpa cítrica, o resíduo úmido de cervejaria e resíduos da fabricação de bicompostíveis, (RODRIGUEZ, 2011; SILVA, 2010), casca de café, abacaxi entre outros (CAFEPPOINT, 2013)

Considerando a diversidade desses produtos utilizados haverá também uma maior presença de multirresíduos de agrotóxicos nessa alimentação, pelo tipo de produto que em sua maioria é proveniente de cascas, bagaços e sementes, onde a incidência dos resíduos é maior. Portanto, na determinação analítica das AA, torna-se importante a utilização de métodos multirresiduais, capazes de responder ao desafio de analisar muitos analitos em uma única amostra.

A legislação brasileira estabelece limites máximos residuais (LMR) para alguns cereais, entre eles: aveia, aveia preta, cevada, milho, soja. Para milho e soja - cereais de

grande importância na AA - são permitidos 120 e 150 ingredientes ativos, respectivamente. Para as pastagens existem hoje registrados para uso 26 diferentes produtos agrotóxicos (BRASIL - AGROFIT, 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os agrotóxicos encontrados nos cereais: milho, milho, soja, sorgo e diferentes tipos de subprodutos agroindustriais, como forma de controle de boas práticas agrícolas na produção de produtos alimentícios animais como o leite e a carne. A identificação desses resíduos na AA poderá auxiliar no estabelecimento de potenciais contaminantes de resíduos de agrotóxicos no leite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado o método de extração QuEChERS para os agrotóxicos listados na Tabela 1. A validação do método foi realizada em trabalho anterior, no qual foram avaliados os parâmetros seletividade, efeito de matriz, recuperação, repetibilidade, determinação dos limites de detecção e quantificação. Foram obtidos limites de quantificação próximos a $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ para a maioria das substâncias estudadas nos cereais milho e soja. Esses foram utilizados como representativos do grupo cereais e seus subprodutos (BASTOS et al., 2013). O critério de aceite adotado no método estudado está compatível ao documento SANCO (2012). A determinação foi efetuada em cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas (LC-MS/MS).

Tabela 1: Agrotóxicos estudados pertencentes a mistura S162 na AA.

Agrotóxicos avaliados			
Abamectina	Diazinona	fosalona	piridabem
Acefato	difenoconazol	fosmete	piridafentiona
Acetamiprido	dimetoato	fostiazato	piridato
Aldicarbe	dimetomorfe	furatiocarbe	pirimetanil
Aldicarbe sulfona	diclorvós	hexitiazoxi	pirimicarbe
Aldicarbe sulfóxido	dimoxistrobina	imidacloprido	pirimicarbe desmetil
Ametrina	diniconazol	indoxacarbe	pirimifós-etílico
amitraz	dissulfotom	iprovalicarbe	pirimifós-metilico
Azaconazol	diurom	isoprotilona	piriproxifem
Azametifós	dodemorfe	isoxaflutol	procloraz
Azinfós-etílico	epoxiconazol	isoxationa	profenofós
Azinfós- metílico	espinosade A	linurom	propargito
Azoxistrobina	espiroxamina	malationa	penconazol
Benalaxil	etiofencarbe-sulfona	mefenacete	picoxistrobina
Bitertanol	etiona	mefosfolan	pimetrozina

Boscalida	etiprole	mepanipirim	propiconazol
Bromuconazol	etirimol	mepronil	propizamida
Bupirimato	etofenproxi	metalaxil	propoxur
Buprofenzina	etoprofós	metamidofós	quinalfós
Butocarboxim sulfoxido	etrinfós	metconazol	tebuconazol
Butóxido de piperonila	famoxadona	metidationa	tebufenosida
Cadusafós	fenamidona	metiocarbe	tebufenpirade
Carbaril	fenamifós	metiocarbe sulfona	terbufós
Carbendazim	fenarimol	metiocarbe sulfóxido	tetraconazol
Carbofurano	fenazaquina	metobromuron	tiabendazol
3-OH-carbofurano	fenbuconazol	metomil	tiacloprido
Carbosulfano	fenhexamida	metoxifenosida	tiametoxam
Ciazofamida	fostiazato	metoxurom	tiodicarbe
Cimoxanil	fenoxicarbe	mevinfós	triadimefom
Ciproconazol	fenpiroximato	miclobutanil	triadimenol
Ciprodinil	fenpropimorfe	monocrotofós	triazofós
Ciromazina	fentiona sulfóxido	monolinuron	triclozol
Clofentezina	fentoato	muarimol	triclорfon
Clorbromuron	fluazifope-p-butílico	nitempiram	trifloxistrobina
Clorfenvinfos	flufenacete	ometoato	triflumizol
Clorpirifos	fluquinconazol	oxadixil	triticonazol
Clotianidina	flusilazol	oxamil	vamidotiona
Coumafós	flutriafol	oxamil Oxima	zoxamida
Cresoxim metílico	piraclostrobina	oxicarboxina	
Demetom-S-metílico	*piraclostrobina	paclobutrazol	
Desmedifam	pirazofós	pencicurom	

*Metabolito da piraclostrobina : N[1-(4-clorofenil)pirazol-3-il]oxil-o-tolil]carbamato

Equipamentos utilizados

Moinho de faca marca Brabender[®] Duisburg, centrífuga Hitachi-Himac CF7D2, agitador rotatório marca IKA[®] modelo Ms3, batedeira industrial e cromatógrafo de ultra-alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas tipo triplo quadrupolo por eletronebulização (UPLC-ESI-MS/MS) modelo Quatro Premier[®] XE, Waters (Milford, MA, USA).

Tipos de amostras analisadas

Foram avaliadas 42 amostras de AA, sendo: amostras de milho, soja e alguns de seus subprodutos, além de outros tipos de cereais e AA, com ênfase a produtos utilizados na alimentação do gado leiteiro. Uma descrição individualizada das amostras está relatada a seguir:

Cana de açúcar (CA): A utilização do produto "*in natura*" não representa grande importância econômica para a AA devido ao baixo valor nutritivo do produto. Entretanto, a utilização do bagaço, proveniente da produção de álcool, assume importância no uso para a proteção do meio ambiente. Trabalho de Teixeira e colaboradores (2007) estudaram diferentes tratamentos para melhorar a digestibilidade do produto e aumentar a sua utilização na AA (TEIXEIRA et al., 2007).

Capim pastejo direto (CAP): O custo de produção de leite é inversamente proporcional à participação do pasto na dieta dos animais. Nos países que possuem preços baixos para o leite, os produtores conseguem reduzir o custo de produção pelo aumento da participação do pasto na dieta das vacas leiteiras. As pastagens são a principal fonte de alimentos dos bovinos de leite (EMBRAPA, 2013).

Farelo de arroz (FAR): Os subprodutos da industrialização do arroz são resultantes da retirada da casca e limpeza do arroz marrom, necessária para a produção do arroz branco. Na preparação do arroz branco é obtido o subproduto FAR.

O FAR desengordurado resulta da extração do óleo de arroz integral, representando 82% do seu peso. A produção do produto está distribuída nos estados do RS, SC e MT (MAPA-ARROZ, 2013).

Farelo de algodão (FAL), caroço e cascas da semente são subprodutos do algodão. Esses fornecem proteína e energia aos ruminantes quando incluídos à ração, sendo utilizados principalmente na alimentação de animais poligástricos (mais de uma cavidade no estômago, como as vacas leiteiras), pois o gossípol, substância presente nesses subprodutos, é tóxico aos monogástricos. Atualmente, a produção ocorre em três estados MT (46,9%), BA (31,8%) e GO (8,2%), esses são responsáveis por 87% da produção nacional do produto (MAPA-ALGODÃO, 2013; EMBRAPA, 2013).

Farelo de soja (FS) e farelo de soja geneticamente modificado (FSOGM): A soja é uma das mais importantes culturas para produção de grãos destinados à indústria para obtenção do óleo e o farelo. Pode ser usada na AA como semente, casca ou farelo, sendo rica fonte de proteína (38 a 39%) e energia (18% de óleo). O FS é o subproduto obtido após a extração do óleo do grão da soja para consumo humano, sendo considerado o melhor alimento protéico animal, pois contém altos níveis de proteína de boa qualidade, energia e boa palatabilidade (MATOS, 2011).

O FSOGM é um produto comercial resistente ao glifosato, resistência conferida à planta pela proteína CP4EPSPS. A enzima CP4EPSPS (CP4 5-enolpiruvilchiquimato-3-

fosfato sintase) é proveniente da *Agrobacterium sp.* cepa CP4, e foi identificada em uma varredura de microrganismos resistentes à ação da molécula do glifosato (OECD, 1999).

Soja extrusada (SE) é a soja submetida a tratamento térmico com fins comerciais realizado a temperatura controlada e alta pressão (até 60 atm), a qual potencializa os efeitos da temperatura. Na extrusão ocorre rompimento das paredes celulares do grão, o que origina um aumento da digestibilidade e da energia metabolizável do óleo (LUCATO, 2013).

Cultivada especialmente nas regiões Centro Oeste e Sul do país, a soja se firmou como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional (EMBRAPA, 2013), sendo a produção liderada pelos estados do MT (29,2%), Paraná (18,4%), RS (14%) e GO (11%). Entretanto, a produção está evoluindo para novas áreas no MA, TO, PI e BA. Os estados juntos correspondem a 10,4% da produção nacional (MAPA-SOJA, 2013).

O Farelo de trigo (FT) é um subproduto do processamento dos grãos de trigo para a produção de farinha para consumo humano. Sua utilização está mais direcionada à avicultura (YUAN et al., 2005). No Brasil, o trigo é cultivado nas regiões Sul (90%), Sudeste e Centro-Oeste (10%), entretanto, o consumo tem crescido especialmente em Goiás e Minas Gerais (MAPA- TRIGO, 2013).

Milheto (ME): O produto apresenta excelente valor nutritivo (até 24% de proteína bruta quando em pastejo), boa palatabilidade e digestibilidade (60% a 78%) em pastejo, sendo atóxica aos animais em qualquer estágio vegetativo. As pastagens anuais de milheto podem funcionar como um suplemento proteico/energético, principalmente durante a seca. A intercalação da forrageira com as pastagens perenes resulta numa melhoria considerável na dieta dos animais (EMBRAPA, 2013).

Milho (MO): Principal fonte de energia na alimentação de bovinos de leite é um dos cereais mais produzidos no mundo (RODRIGUEZ, 2012). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, totalizando 59 milhões de toneladas na safra 2011/2012. Os principais estados produtores em ordem de importância são: PR, MT, MG, GO, RS, SP, SC e BA. O principal destino da safra são as indústrias de rações para animais (MAPA-MILHO, 2013).

Ração base cítrica (RC): O bagaço de citros, com alto teor energético, é um subproduto industrial de grande valor econômico na AA, principalmente para ruminantes, em especial, à vaca leiteira (MAPA, 2013). Geralmente é utilizada na forma peletizada, composta principalmente de polpa, casca e semente de laranja. Cem quilos de laranjas

produzem aproximadamente 7 kg de polpa cítrica com 8% de umidade (RODRIGUEZ, 2011).

O Brasil é responsável por 85% da exportação mundial de suco de laranja, sendo São Paulo e o Triângulo Mineiro responsáveis pela maior produção do produto (CITRUS, 2013). São colhidas, anualmente, no país, mais de 18 milhões de toneladas de laranja ou cerca de 30% da safra mundial da fruta, sendo o estado de São Paulo o maior produtor do Brasil.

A inclusão da polpa cítrica na dieta de bovinos está diretamente relacionada à redução de custos com a substituição de grãos de cereais tradicionalmente empregados como o milho, entre outros. Trabalho de Rodrigues (2011) avaliou os efeitos da substituição do grão triturado de milho pela polpa cítrica na dieta de vacas leiteiras, não observando alterações na produção de leite corrigido para 4% de gordura, nem nas porcentagens de lactose, gordura e extrato seco total, concluindo que a substituição do grão de milho na dieta das vacas não acarreta prejuízos para a produção total e qualidade do leite.

Resíduo de armazém (RA): Produto formado pelos resíduos de diferentes produtos nos armazéns, para a sua utilização na AA é desejável a realização da análise bromatológica da composição de proteína e energia.

Resíduo úmido de cervejaria (RUC): É um subproduto com alto teor protéico, rico em fibra, em detergente neutro (FDN), carboidratos totais e extrato etéreo (EE). Devido ao alto teor de FDN e de água o RUC pode ser definido como alimento volumoso, mas com bom conteúdo protéico, podendo ser usado para substituir parte do concentrado e parte do volumoso da dieta (SILVA et al., 2010).

A cerveja é obtida pela fermentação da cevada, que consiste na conversão em álcool dos açúcares presentes nos grãos de cevada (CETESB, 2005). Após fermentação a cevada é misturada com milho, arroz ou aveia, e cozida. Após o cozimento, a parte sólida considerada resíduo é separada da parte líquida, a qual continua no processo de fabricação. Esse (RUC) pode ser comercializado sob a forma úmida (em torno de 86%), prensada (70%) ou seca (8 a 17%). A forma úmida, embora de transporte mais caro, representa um custo menor para a indústria e por isso é a mais comumente comercializada ou doada aos fazendeiros pela indústria cervejeira (RODRIGUEZ, 2011). As amostras RUC1 e RUC2 de AA foram produzidas com esses rejeitos e são compostas do resíduo da indústria cervejeira fornecida a produtores locais do estado do RJ na forma pastosa úmida.

Atualmente no Brasil existem 47 fábricas de cerveja de médio e grande porte, sendo em sua maioria localizadas próximas aos grandes centros consumidores do país. A região Sudeste responde por 57,0% da produção (aproximadamente 4,6 bilhões de litros/ ano) (SINDICERV, 2013).

Soja (SO): Amostras de soja em diferentes formas de apresentação - soja crua moída, soja crua em grãos, soja extrusada (SE) e soja torrada moída (ST) – foram analisadas.

Sorgo (SOR) é o quinto cereal mais importante no mundo, antecedido por trigo, arroz, milho e a cevada; tem sido uma excelente opção para produção de grãos e forragem em todas as situações onde a falta de água e a baixa fertilidade dos solos oferecem maiores riscos para outras culturas, como o milho. Do ponto de vista de mercado, o cultivo de sorgo em sucessão a culturas de verão tem contribuído para a oferta sustentável de alimentos de boa qualidade e baixo custo na AA, tanto para pecuaristas como para a agroindústria de rações (EMBRAPA, 2013).

Amostras analisadas, distribuição por área de produção e quantidade

Foram analisadas 42 amostras de cereais e subprodutos de uso em AA. A distribuição das amostras coletadas por regiões produtoras e suas identificações encontram-se descritas na Tabela 2. Algumas amostras foram avaliadas em misturas de subprodutos como fornecidas ao gado leiteiro na fazenda onde foi feita a coleta.

As amostras foram processadas em moinho de facas e liquidificador industrial, sem grandes dificuldades, exceção para a amostra de FAL, na qual foi necessária a introdução de gelo seco imediatamente antes da moagem, para facilitar o processo, após o qual a amostra foi homogeneizada em batedeira industrial.

A amostra RUC1 foi recebida com grande quantidade de água. A determinação de umidade foi feita na amostra, por processo de secagem em estufa a 90°C até peso constante. O valor de umidade determinado foi de 70%, sendo possível caracterizar a amostra como rejeito úmido após a prensagem. Não foi possível obter informação sobre o tempo decorrido entre o processo de obtenção do produto na planta, a chegada à fazenda e ao laboratório para a análise. A determinação analítica dos resíduos de agrotóxicos para ambas as amostras foi feita em base úmida e o resultado reportado também na mesma base.

Tabela 2: Tipo de AA analisadas, identificação e distribuição por regiões e estados.

Regiões					
Amostra	ID / Número de amostras	SU	CO	NE	N
		ID	ID	ID	ID
Cana de açúcar	CA1				CA1
Cana + soja	(CA+FS)1				(CA+FS)1
Capim pastejo direto	CAP1				CAP1
Resíduo de cervejaria	RUC1	RUC			
Capim +resíduo de cervejaria+ milho	(CAP+RUC+MO)1	(CAP+RUC+MO)1			
Farelo de algodão	FAL1			FAL1	
Farelo de arroz	FAR1 e FAR2				FAR1; FAR2
Farelo de soja	FS1 e FS2		FS1	FS2	
Farelo Soja OGM *	FSOGM1		FSOGM		
Farelo de trigo	FT1 e FT2	FT1	FT2		
Milheto	ME1				ME1
Milho	MO1, MO2, MO3, MO4, MO5, MO6, MO7	** (MO1)	MO2	MO3	MO4; MO5; MO6; MO7
Ração base cítrica	RC	RC1			
Ração comercial	RCO1, RCO2, RCO3, RCO4, RCO5, RCO6	RCO1, *(RCO2)	RCO3; *RCO4, RCO5; RCO6		
Ração produzida na fazenda	RF1 e RF2	RF1, RF2			RF3
Resíduo de armazém	RA1				RA1
Soja	SO1, SO2, SO3 e SO4			SO1	SO2; SO3; SO4
Soja extrusada	SE1			SE1	
Soja torrada e moída	ST1			ST1	
Sorgo	SOR1, SOR2, SOR3, SOR4.				SOR1; SOR2; SOR3; SOR4
Estados		RJ e SP	GO e MT	BA	TO
Amostras / Região		9	8	6	19

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 42 amostras de cereais e subprodutos de AA analisadas, 27 apresentaram pelo menos um resíduo de agrotóxico dentre os 162 avaliados, indicando que cerca de 60% das amostras apresentaram resíduo. Foram obtidos 27 diferentes resíduos de ingredientes ativos de agrotóxicos de multi classes químicas dentre os avaliados.

Os agrotóxicos identificados nas amostras avaliadas foram: ametrina, azoxistrobina, carbendazim, carbofurano, ciproconazol, clorfenvinfós, clorpirifós, diazinona, difenoconazol, dimetoato, etiona, fosmete, imidacloprido, malationa, metconazol, metidationa, picoxistrobina e seu metabólito, piperonil-butóxido, piraclostrobina, pirimifós-metílico, profenofós, propargito, propiconazol, tebuconazol, tiametoxam e trifloxistrobina. Algumas substâncias foram identificadas em grande número de amostras avaliadas. Na Tabela 3 encontram-se agrotóxicos identificados e o PBO por número de amostras avaliadas e a faixa de concentração obtida.

Tabela 3: Principais agrotóxicos identificados por número de amostras de AA avaliadas e o PBO e a faixa de concentração máxima e mínima obtida por agrotóxico.

Agrotóxicos	N	Faixa de concentração (mg.kg ⁻¹)	Total %
butóxido de piperonila	17	<0,01 a 1,13	40
pirimifós-metílico	17	<0,01 a 2,67	40
carbendazim	13	<0,01 a 0,28	31
carbofurano	8	<0,01 a 0,02	19
clorpirifós	6	0,02 a 0,07	14
azoxistrobina	5	<0,01 a 0,02	12
etiona	4	<0,01 nas quatro	10
tebuconazol	3	0,06 a 0,81	7
picoxistrobina	3	<0,01 nas três	7
metconazol	2	<0,01 nas duas	5
propargito	2	<0,01 nas duas	5

As oito substâncias presentes em um maior número de amostras avaliadas possuem o seu uso permitido no Brasil (ANVISA, 2013), exceção ao butóxido de piperonila (PBO), o qual não é um agrotóxico, mas um agente sinérgico. Agentes sinérgicos são substâncias químicas que não produzem efeitos aos insetos quando em uso isolado, mas associado a outros agrotóxicos potencializam as propriedades

inseticidas dos mesmos. As classes químicas normalmente associadas ao PBO são as piretrinas, piretróides, rotenona e carbamatos (NPIC, 2000). Essas classes químicas não foram avaliadas neste trabalho.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não estabelece limite máximo de resíduo (LMR) para o PBO, entretanto, no relatório final do programa de análise de agrotóxicos – PARA (2009) estão apresentados resultados da substância em 10 amostras de arroz dentre um total de 162 analisadas. Ainda no mesmo documento a ANVISA indica o PBO como sem registro (ANVISA, 2012). No ano de 2010 o PBO não foi incluído na listagem das amostras a serem avaliadas no programa PARA (ANVISA, 2011).

Legislação do MAPA, na qual são informados os LMR para o programa de monitoramento em soja e outros alimentos, também indica a substância como proibida (BRASIL, 2011). O PBO também não tem o seu uso permitido na Comunidade Européia (CE), entretanto, tem seu uso permitido em alguns cereais nos USA (20 mg.kg^{-1}) e *Codex* (30 mg.kg^{-1}) extensivo a todos os cereais (USDA, 2013).

Resíduos de pirimifós-metílico foram obtidos em 17 das 42 amostras de AA analisadas. O agrotóxico possui o seu uso regulamentado no Brasil para milho e alguns outros cereais com um valor de LMR de 10 mg.kg^{-1} . Dessa forma, os valores de resíduos obtidos nas amostras estão compatíveis à legislação sobre o uso do produto.

A maior concentração do agrotóxico carbendazim ($0,28 \text{ mg.kg}^{-1}$) foi obtida na amostra de milho (MO2) proveniente do MT. A legislação brasileira – através da ANVISA - prevê um LMR de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ para uso em sementes na cultura do milho. Considerando esse LMR, a amostra analisada estaria aproximadamente seis vezes acima do LMR nacional do produto. Entretanto, legislação do Ministério da Agricultura Pecuária e Agricultura – MAPA – estabelece para a cultura, em programa de monitoramento, um LMR de $2,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ e, nesse caso, a amostra estaria adequada ao uso.

A segunda maior concentração ($0,23 \text{ mg.kg}^{-1}$) obtida do resíduo do agrotóxico foi na ração cítrica (RC1), preparada com cascas e rejeitos da indústria de laranja. Os resíduos apresentados nesse caso são compatíveis aos níveis permitidos à fruta (LMR = $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$). Na amostra soja (FS1) foi obtido o valor de $0,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ compatível ao

LMR ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) do produto na soja. Outras seis amostras apresentaram resíduos do agrotóxico (RF3, ST1, FAR2, RF1, MO6, RF3) em concentrações menores que $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ sendo todos compatíveis com as composições das amostras e ao LMR em produtos cítricos (EFSA, 2012).

Resultados do programa PARA (2010) mostraram a presença de resíduos da substância carbendazim em 176 amostras de diferentes culturas agrícolas como: pimentão, abacaxi, alface, beterraba, couve, mamão, morango e repolho. Para amostras de laranja, resíduos da substância foram reportadas em cerca de 50% das amostras, todas dentro do LMR (5 mg.kg^{-1}) da cultura (ANVISA, 2012).

Foi identificado carbofurano em níveis residuais ($<0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$) em oito amostras. Três dessas (RA1), (RC1), (RF3) são produtos que contém milho (LMR = $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) estando, portanto, as amostras satisfatórias quanto ao LMR. As outras amostras FS1, ST1, SO1 e ME1 referentes a produtos de soja e milheto não se encontram adequadas, pois o agrotóxico não tem uso permitido às culturas de soja nem ao cereal milheto.

Foi encontrado resíduo de clorpirifós nas amostras FT1, FT2, RC1, RCO4, RF2, e ST1. As amostras de trigo FT1 e FT2 apresentaram resíduo abaixo do permitido à cultura (LMR = $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$), sendo consideradas satisfatórias. As amostras RF2, RCO4 e RC1 são rações de composições variadas, podendo conter os seguintes cereais: cevada, trigo, milho, algodão e capim, entre outros componentes. Os LMR desses produtos variam na faixa de ($0,1$ a $2,0 \text{ mg.kg}^{-1}$) para diferentes cereais. As amostras avaliadas estão abaixo do LMR estabelecido.

Na amostra de soja torrada (ST1) foi obtido um valor de $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ de clorpirifós; considerando o LMR ($0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$) para a soja em grãos “in natura”, o resíduo está três vezes acima do valor estipulado. Considerando que a amostra foi aquecida os valores iniciais podem ainda terem sido degradados a produtos de degradação do IA, nesse caso os metabólitos do clorpirifós não foram avaliados.

Resíduos de azoxistrobina foram identificados em concentrações residuais ($<0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$) nas amostras de RA1, RF3, RF1, RCO4 compostas de misturas de diferentes cereais e amostras de farelo de trigo FT1 e FT2 ($0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$). O agrotóxico tem seu uso permitido para produtos como algodão, arroz, aveia, cevada, milho, soja,

trigo, entre outros, com valores de LMR variando na faixa de (0,05 a 0,5 mg.kg⁻¹). Os valores obtidos nas amostras estão compatíveis aos LMR permitidos ao produto.

Foram obtidos resíduos de tebuconazol nas amostras: RC1 (0,06 mg.kg⁻¹), FAR 1 (0,52 mg.kg⁻¹) e FAR 2 (0,81 mg.kg⁻¹). Na amostra RC1 o valor obtido é compatível à origem da amostra, pois o agrotóxico tem seu uso permitido à cultura de laranja com LMR de 5 mg.kg⁻¹. Nas amostras de farelo de arroz, os valores obtidos nas duas amostras FAR1 e FAR2 não estão compatíveis ao LMR do arroz (LMR 0,1 mg.kg⁻¹). Esse valor refere-se ao produto para o consumo humano com a retirada da casca. Já a amostra avaliada é constituída de cascas e rejeitos do produto processado, possivelmente por essa razão os valores obtidos na amostra estão até oito vezes acima do LMR estabelecido.

O agrotóxico foi encontrado em nove por cento (9%) das amostras de arroz avaliadas no programa PARA (2011), em concentrações menores que 0,01 mg.kg⁻¹. Todas as amostras de arroz, avaliadas no programa, estavam dentro do LMR (0,1 mg.kg⁻¹) estabelecido à cultura (ANVISA, 2012).

Os resíduos do agrotóxico picoxistrobina foram identificados em três amostras com soja na composição: ST1, SO1 e RF2 (<0,01 mg.kg⁻¹). Os resultados obtidos nas amostras foram compatíveis ao LMR (0,02 mg.kg⁻¹) da substância na soja.

Resíduos do Σ da piraclostrobina e seu metabólito ((N-[[1-(4-clorofenil) pirazol-3-il]oxil-o-tolil] carbamato) foram obtidos na amostra RC1. Considerando a composição da ração, a base de citros e o LMR da substância nesses produtos ser 0,5 mg.kg⁻¹, a amostra avaliada está dentro das especificações. Na amostra FT2 foi identificado somente a piraclostrobina em níveis residuais, sendo o LMR para o trigo 0,5 mg.kg⁻¹. Nesse caso, a amostra está dentro dos limites estipulados.

Propargito foi identificado em duas amostras (RF1 e RC1) com valores de 0,14 e 0,6 mg.kg⁻¹ respectivamente. A presença do agrotóxico na amostra RF1, composta por mistura de farelo de trigo, farelo de soja, milho e resíduo de cervejaria, não pode ser identificada para os produtos presentes na ração, pois o agrotóxico tem o seu uso permitido em sementes de algodão LMR (0,14 mg.kg⁻¹) e citros não presentes na amostra. Há a possibilidade de ter ocorrido uma contaminação cruzada nos silos de armazenamento sugerindo ser essa a razão da presença do produto na amostra. Na

amostra RC1 a presença do propargito é justificada pela utilização de citros na sua composição (LMR da laranja é de 5,0 mg.kg⁻¹).

Resíduos de metconazol (<0,01 mg.kg⁻¹) foram obtidos em duas amostras RF2 e FT2. A primeira amostra de AA continha soja em sua composição (LMR= 0,05 mg.kg⁻¹) e a segunda trigo (LMR=0,1 mg.kg⁻¹). Os resultados de resíduos obtidos nas duas amostras estão compatíveis ao tipo de produto formulado.

Além da presença de resíduos dos dez agrotóxicos discutidos anteriormente (Tabela 3), outras substâncias foram identificadas em níveis residuais em diferentes amostras. Os agrotóxicos identificados por AA, o estado onde foi produzido e os LMR estabelecidos pela legislação estão descritos na Tabela 4:

Tabela 4: ingredientes ativos avaliados por tipo de AA, estado em que foi produzido e LMR estabelecido para os cereais presentes no produto

Ingrediente ativo	Tipo de amostra (mg.kg⁻¹)	Estado	LMR mg.kg⁻¹
ametrina	MO1 (<0,01)	MT	0,04
ciproconazol	FAR1 (0,04) e ST1 (0,03)	TO e BA	0,4 e 0,05
clorfenvinfós	RUC1	RJ, SP	Excluído
diazinona	FAL1 (0,02)	BA	NPC
difenoconazol	RC1 (<0,01)	RJ, SP	0,5
dimetoato	RC1	RJ, SP	2,0
etiona	RCO4 (MO3) FS2 e ST (<0,05)	BA	NPC
fosmete	RC1 (0,01)	RJ, SP	1,0
imidacloprido	RC1 (0,03)	RJ, SP	1,0
malationa	RC1 (0,02)	RJ, SP	4,0
metidationa	RC1 (0,04)	RJ, SP	2,0
profenofós	RCO4 e RA1 (<0,01)	E TO	0,02 a 0,1
propiconazol	RCO4 (<0,01)	RJ, SP	0,02 a 0,1
tiametoxam	FS1 (<0,05)	GO	0,02
trifloxistrobina	RC1 (0,08 mg.kg ⁻¹)	RJ, SP	0,2

NPC: Não permitido a cultura

Os quinze agrotóxicos presentes nas AA (Tabela 4) estão compatíveis aos produtos, bem como a base de cereais, exceção à substância clorfenvinfós, a qual não tem seu uso permitido pela legislação nacional, sendo um agrotóxico banido (ANVISA, 2012), e à diazinona, que tem seu uso estabelecido somente para maçã e citros. A

presença residual dessa substância na amostra FAL1 pode estar relacionada à contaminação cruzada em silos e armazéns ou ao uso indevido.

Algumas amostras de AA apresentaram diferentes resíduos de agrotóxicos por amostra. As identificações das mesmas e o número total de resíduos obtidos, encontram-se listados na Tabela 5.

Tabela 5: Número de resíduos de ingredientes ativos (IA) encontrados por amostras de AA avaliadas, estado em que são produzidas, regiões produtoras e avaliação do LMR..

Amostra	IA	Região	Estados	Avaliação do LMR
RC1	14	SE	SP e RJ	Compatíveis à mostra
ST1	7	NE	BA	Carbofurano e etiona: NPC
FT2	6	CO	GO e MT	Compatíveis à amostra
RCO4	6	*	*	Compatíveis à amostra
FAL	5	NE	BA	Diazinona: NPC
RCO5	5	CO	GO	Etiona NPC
RF1	5	SE	RJ	Compatíveis à amostra
RF2	5	SE	RJ	Compatíveis à amostra
FT1	4	CO	GO e MT	Carbendazim e diazinona NPC
FS2	4	NE	BA	Carbendazim: uso sementes
RA1	4	N	TO	Compatíveis à amostra
RF3	4	N	TO	Compatíveis à amostra

* Fábricas em todo Brasil, NPC: não permitida cultura

Dentre as 162 amostras de AA avaliadas, algumas não apresentaram resíduos de agrotóxicos na concentração $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ em subprodutos do milho e $<0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ em amostras em subprodutos de soja. As amostras que não apresentaram resíduos identificadas por região e estado encontram-se descritas na Tabela 6.

Tabela 6: Amostras de AA que não apresentaram resíduos de agrotóxicos ($< 0,01\text{mg.kg}^{-1}$) para subprodutos do milho e ($<0,05\text{ mg.kg}^{-1}$) para soja e seus subderivados dentre os **162** avaliados.

Amostra	Região	Estado	OBS
FS2	NO	BA	Sem o óleo
SE	NO	BA	Processada
MO3	NO	BA	-
FSOGM1	CO	GO	Produto transgênico
MO4 e MO5	N	TO	-
SOR1, SOR 2, SOR3, SOR4	N	TO	Todas as analisadas
SO2	N	TO	-
SO3	N	TO	Natural (AA)
MO7	N	TO	-
SO4	N	TO	-
CA1 (CA+FS)1	N	TO	-
CAP1	N	TO	-

Discussões gerais

Com os resultados obtidos e descritos, identificou-se que a ração cítrica apresentou um grande número de diferentes resíduos de agrotóxicos compatíveis aos LMRs permitidos à laranja. Esse fato deverá ser avaliado com bastante atenção quando do uso desse tipo de subproduto na formulação da AA, pois os resíduos existentes na ração cítrica poderão chegar ao leite e à carne, podendo vir a impactar a IDA do agrotóxico. Assim sendo é desejável que na avaliação de registro de uma nova molécula seja avaliado o impacto da IDA nos alimentos de origem animal para aqueles produtos que sejam de grande produção nacional, como a laranja e de uso como AA.

O subproduto RUC usado na formulação da AA merece uma avaliação mais detalhada quanto à presença de resíduos de agrotóxicos e até outros contaminantes, como as micotoxinas. O material foi analisado em base úmida, o que pode significar que agrotóxicos podem ter sido degradados nesse meio entre a amostragem e análise.

Considerando que a substância PBO foi identificada em grande número de amostras de AA (17 em 42 avaliadas) bem como a sua associação a outras classes de agrotóxicos como os piretróides, piretrinas e rotenonas, torna-se desejável a avaliação

dos resíduos dessas classes nas AA, pois esses agrotóxicos são de grande uso na produção de cereais, especialmente o milho (IBAMA, 2011).

Atenção especial deverá ser dada à alimentação infantil à base de cereais nessa avaliação, pois agrotóxicos como a cipermetrina, deltametrina, entre outros piretróides, são muito utilizados em estados de grande produção de cereais como o milho (IBAMA, 2011). Essas substâncias não foram avaliadas nesse trabalho.

As amostras referentes a produtos à base de soja que sofreram algum tratamento (SE1, FS2) e a soja geneticamente modificada (SOGM)1 não apresentaram resíduos de agrotóxicos ($<0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$) quando comparadas a outras amostras de soja avaliadas com uso em AA.

Na soja transgênica resíduos de agrotóxicos envolvidos no evento da transgenia devem ser avaliados devido à resistência que a planta GM tem ao produto envolvido no evento (nesse caso, o agrotóxico). Esse fato pode gerar uma concentração de resíduos no produto devido à resistência do agrotóxico sem que danos sejam observados à planta. Os dois maiores efeitos de transgenia em soja são provocados por glifosato e agrotóxicos do grupo das imidazolinonas. Os agrotóxicos da classe das imidazolinonas (imazetapir, imazapir, imazamoxi, imazapique), segundo maior evento de transgenia em soja, devem ser avaliados na soja com o uso na AA. Esses agrotóxicos não foram avaliados neste trabalho, fato esse que pode justificar a ausência de resíduos de agrotóxicos na soja avaliada nesse trabalho.

O cereal sorgo não apresentou resíduos de agrotóxicos nas quatro amostras avaliadas (SOR1, SOR2, SOR3 e SOR4) o que pode estar relacionado à grande resistência da planta e conseqüente menor necessidade de uso de agrotóxicos. Essa observação deverá ser confirmada com um maior número de análises do produto e maior número de analitos, dentre esses os piretróides e outros permitidos à cultura e analisáveis por CG/EM/EM.

Na avaliação do número de agrotóxicos utilizados por regiões especificamente para o milho, foi possível observar que as amostras da Região Norte e Nordeste, estados do TO e BA, apresentaram uma menor quantidade de resíduos de agrotóxicos, dentre os estados avaliados.

Um grande e diferente número de resíduos de agrotóxicos (4 a 14 resíduos) em uma mesma amostra, como observado nas amostras RUC1, ST1, FT2 e RCO4 sugere a necessidade de um maior controle de uso desses produtos em cereais com uso para alimentação humana e AA. Esse controle deverá ser extensivo a produtos de origem animal, nos quais a qualidade e controle desses produtos irá influenciar nesse produto final.

4 CONCLUSÕES

Foi possível concluir que existe uma grande diversidade de resíduos agroindustriais utilizados na AA e cereais, fato que deve merecer controle dos resíduos de agrotóxicos presentes nestes produtos e seus sub produtos com uso na AA, pois a presença desses pode permitir que uma variedade de diferentes resíduos de agrotóxicos cheguem ao leite e outros produtos derivados animal. Boas práticas de produção devem ser conduzidas garantindo a segurança alimentar dos produtos lácteos.

A ração cítrica e o farelo de trigo apresentaram grande variedade de diferentes resíduos agrotóxicos na sua composição sugerindo que essas culturas devem ser avaliadas com maior atenção quanto ao uso dessas substâncias e ao impacto no uso em AA.

O trabalho pode verificar que produtos como o sorgo e milho apresentaram uma menor variedade de resíduos de agrotóxicos sugerindo uma boa resistência desses cereais a pragas e conseqüentemente menor necessidade de uso de agrotóxicos

5 REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de Agrotóxicos.

Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias>. Acessado em 20 março. 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de Agrotóxicos. PARA. 2010. Resultados do programa PARA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b380fe004965d38ab6abf74ed75891ae/Relat%C3%B3rio+PARA+2010+-+Vers%C3%A3o+Final.pdf?MOD=AJPERES>. Acessado em 27 de abril de 2013.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de Agrotóxicos. PARA. 2009. Resultados do programa PARA. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8ef32a80481aa03d85989570623c4ce6/RELATORIO_PARA_2009.pdf?MOD=AJPERES. Acessado em 27 de abril de 2013.

BASTOS, L, H, P; CARDOSO, M. H. W. M.; NÓBREGA, A. W.; JACOB, S. C. Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cadernos de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 19 (1), p. 51-60, 2011.

_____. L, H, P. GOUVÊA, A. V.; CARDOSO, SILVA, M. R.; M. H. W. M.; NÓBREGA, A. W.; JACOB, S. C. Uso da espectrometria de massa sequencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal. **Revista Analytica**, v 64, p 79-88, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasil projeções do agronegócio: 2010/2011 a 2020/2021. Brasília, 2011. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202012.pdf>. Acessado em: 03 março 2012.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Página inicial. Vegetal. Culturas. algodão, arroz, milho, soja, sorgo e trigo. Disponíveis em Mapa: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/algodao>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/sorgo>, <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo>. Acessado 2 de março de 2013.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofít. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em:

http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: 02 de março 2013.

CAFEPPOINT. Ponto de encontro da cadeia produtiva do café. Casca de café na alimentação de bovinos.

<http://www.cafepoint.com.br/radares-tecnicos/poscolheita/casca-de-cafe-na-alimentacao-de-bovinos-32509n.aspx>. Acessado em março de 2013.

CETESB (SP). **Cervejas e refrigerantes**: série P+L. São Paulo, 2005. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/tecnologia/producao_limpa/documentos/cervejas_refrigerantes.pdf. Acessado em: 19 março 2013.

CITRUS. Associação Nacional dos exportadores de sucos cítricos. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/comercio/nacionais-244280-1.asp>. Acessado em março de 2013.

DG-SANCO, EUROPEAN UNION COMMISSION, Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis in Food and Feed. Document n° SANCO/12495/2011, 01 janeiro 2012.

EFSA. European Food Safety Authority. Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for thiophanate-methyl and carbendazim in apples and pears. **Journal Efsa** 10 (4), 2685 p. 1-36. 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Boas Práticas Agropecuárias para alimentação do rebanho. Alimentação do rebanho 4.1.1.6; 1.5.2.4.3 e 4.5.2. Disponível em:

<http://www.cnpqgl.embrapa.br/sistemaproducao/4116-alimenta%C3%A7%C3%A3o-do-rebanho>. Acessado em 10 de janeiro de 2013.

IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009: uma abordagem ambiental / Rafaela Maciel Rebelo [et al]. Brasília, 2010, p 84. ISBN 978-8-7300-6. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br>. Acessado em março de 2013;

LUCATO. Informativo técnico da empresa Lucato. Vantagens de extrusar a soja Disponível em : <http://www.lucato.ind.br/Extrusar%20Soja%20VANTAGENS.pdf>. Acessado em 10 de março de 2013.

MATOS, L.L. Produção de leite a pasto ou em confinamento?.Agronomia. Portal de Ciência e Tecnologia. Disponível em: http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_producao_leite_pasto_confinamento.htm. Acessado em 10 de março de 2013.

NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER. Piperonyl Butoxide. [Portland]: NPIC, 2000. Disponível em: <<http://npic.orst.edu/factsheets/pbogen.pdf>>. Acessado em: 10 março 2013.

OECD. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. **Series on harmonization of regulatory Oversight in biotechnology**, n. 10, 1999.

PAREJA, L.; CESIO,V.; HEINZEN, H.; ALBA-FERNANDEZ, A. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished Rice by LC-MS/MS. **Talanta**, v83, p1613-1622, 2011;

PEDROSO, M. A. **Substituição do milho em grãos por subprodutos da agroindústria na ração de vacas leiteiras em confinamento**. 2006. 119 f. Tese (Doutorado) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

PIMENTEL, G. P.; REIS, B. R; LEITE L. A.; CAMPO, E. W; NEIVA, M. N. J. SATURNINO, H. M. COELHO, G. S. Consumo, digestibilidade dos nutrientes e comportamento ingestivo de vacas leiteiras alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, nº 3, p.640-648, 2012.

RODRIGUES, M. N.; SOUSA, L. F.; CASTRO, K. J. . Utilização de subprodutos da Agroindústria na Alimentação de Ruminantes. Experiência brasileira. <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/22272-Utilizacao-Subprodutos-Agroindstria-Alimentao-Ruminantes-Experincia-Brasileira.html>.

SILVA,V.B.; FONSECA,C.E.M.;MORENZ, M.J.F.; PEIXOTO, E.L.T.; MOURA, E.S.; CARVALHO, I.N.O. Resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cabras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1595-1599, 2010.

SINDICERV. Sindicato Nacional da Indústria de Cerveja. Disponível em: <http://www.sindicerv.com.br/mercado.php>. Acessado em março de 2013.

TEIXEIRA, A. F.; PIRES, V. A.; NASCIMENTO, N. V. P. Bagaço de cana-de-açúcar na alimentação de bovinos. REDVET. **Revista electrónica de Veterinária**, v. 3 nº 6, p. 1695-7504, 2007.

USDA. United States Department of Agriculture. Search the maximum residue limit database. Disponível em : www.mrldatabase.com. Acessado em 20 março de 2013.

5.6 MANUSCRITO 6

Otimização e Validação de método analítico de multirresíduos empregando QuEChERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em leite.

OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE MULTIRRESÍDUOS EMPREGANDO QUECHERS MODIFICADO E UPLC-ESI-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM LEITE.

INTRODUÇÃO

Na safra de 2011 no Brasil, foram plantados 71 milhões de hectares de lavoura temporária (soja, milho, cana e algodão) e permanente (café, cítricos, frutas, eucaliptos), nessas lavouras foram utilizados cerca de 853 milhões de litros (produtos formulados) de agrotóxicos pulverizados, principalmente de herbicidas, fungicidas e inseticidas, representando média de uso de 12 litros/hectare e exposição média ambiental/ocupacional/alimentar de 4,5 litros de agrotóxicos por habitante (IBGE/SIDRA, 2011; SINDAG, 2012). Esses produtos além de serem usados para o consumo humano também tem os subprodutos utilizados na alimentação animal (AA), podendo contaminar a cadeia alimentar de consumo de produtos animais como carnes, ovos e leite (BASTOS et al., 2011).

A complexidade da composição dos alimentos acarreta dificuldades para a quantificação dos agrotóxicos, sendo necessária uma etapa de limpeza do extrato (*clean up*) para reduzir as interferências após a extração com solvente. Estas dificuldades foram minimizadas após o desenvolvimento de métodos multirresíduos que possibilitaram a análise de um grande numero de substâncias com altos percentuais de recuperação (exatidão) dos analitos e a remoção dos possíveis interferentes da amostra, também apresentaram boa precisão e robustez e reduziram o trabalho técnico e o uso de solventes (QUEIROZ et al., 2012; PRESTES et al., 2011).

O *Codex Alimentarius* (CODEX) é um Programa Conjunto da Organização das Nações unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS). Foi criado em 1963 como um fórum internacional de normalização sobre alimentos e suas normas tem a finalidade igualar práticas no comércio regional e

internacional de alimentos além de proteger a saúde da população no consumo de alimentos (CODEX, 2013).

Na área de alimentos, a ANVISA coordena, supervisiona e controla as atividades de registro, informações, inspeção, controle de riscos e estabelecimento de normas e padrões. Essa atuação é compartilhada com outros ministérios, como o da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e com os estados e municípios, que integram o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013).

A ANVISA coordena as ações na área de toxicologia no Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, com o objetivo de regulamentar, analisar, controlar e fiscalizar produtos e serviços que envolvam riscos à saúde – agrotóxicos componentes e afins e outras substâncias químicas de interesse toxicológico.

Tendo em vista que a legislação brasileira permite o uso de mais de 300 ingredientes ativos, na agricultura e como domissanitários, a utilização de métodos multirresíduos torna-se importante para agilizar o trabalho analítico e, assim, responder às demandas de saúde pública (ANVISA, 2013)

Foi introduzido um novo método de preparo de amostra para extração de resíduos de agrotóxicos que recebeu o nome fantasia de QuEChERS. Esse busca refletir as suas maiores vantagens (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), isto é rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. As etapas envolvidas no método são: extração com acetonitrila seguida de partição, promovida pela adição de sais (sulfato de magnésio- $MgSO_4$), cloreto de sódio (NaCl) e ou acetato de sódio ($Na(C_2H_3O_2)$) e limpeza da amostra com sorventes como C_{18} , alumina, PSA (*primary secondary amine*) e carbono grafitado (para uso em amostras com clorofila) (ANASTASSIADES et al., 2003).

A utilização do solvente acetonitrila permite a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e quando acidificada favorece a extração de substâncias que apresentam problemas de estabilidade em meio básico. A utilização do sal secante sulfato de magnésio tem como objetivo a remoção de água e o favorecimento da recuperação dos agrotóxicos polares. Em contrapartida, a hidratação do sulfato de magnésio gera uma reação exotérmica que aquece a amostra a

temperaturas de 40 a 45 °C na etapa de extração/partição, favorecendo a recuperação dos agrotóxicos apolares (JEONG et al., 2012)

O método QuEChERS introduziu uma nova denominação ao procedimento de limpeza da amostra, denominada extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) no qual, diferentemente do procedimento de limpeza tradicional SPE, que utiliza cartuchos ou colunas, os sorventes são adicionados diretamente ao extrato orgânico e permite que a limpeza da amostra e a redução da água residual sejam realizadas concomitantemente. (ANASTASSIADES et al., 2003). O método mostrou-se adequado também para amostras com baixos teores de gordura (< 2 % de gordura) como o leite (LEHOTAY et al., 2005) processado a ultra alta temperatura (UAT).

O objetivo do trabalho foi a implementação de método de extração dispersiva denominada QuEChERS em leite integral em pó para determinação de resíduos de agrotóxicos de multiclassés químicas empregando determinação por cromatografia líquida de ultra-eficiência (*ultrapformance liquid chromatography*) fonte de eletronebulização acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-ESI-MS/MS. Foram otimizados e validados cento e setenta e cinco agrotóxicos da multiclassés químicas

PARTE EXPERIMENTAL

Amostras branco do leite (matriz)

Uma amostra de leite em pó (LP) comercial produzido no estado de Minas Gerais foi feita uma análise prévia para confirmar a ausência dos agrotóxicos em estudo e permitir a validação do método com o produto para todas as etapas da validação.

Padrões Reagentes e materiais

A maioria dos padrões de agrotóxicos certificados, da classe dos organofosforados, possuíam grau de pureza superior a 95 % (Dr. Ehrenstorfer – Augsburg, Alemanha), exceto para os seguintes agrotóxicos com pureza descrita entre parênteses : tiometona (48%), profenofós (92%), mevinfós (91%), etoprofós (93%),

terbufós (93%), etrinfos (60%), fosfamidona (92,5%), formotiona (92%), fenamifós (92,5%), triazofós (78%).

Foram utilizados os reagentes e solventes: acetato de etila, acetonitrila, isooctano, metanol - solventes orgânicos de alta pureza e grau cromatográfico, ácido acético glacial (Merck e Tedia), formato de amônio (FLUKA), Extran[®] alcalino (Merck), MgSO₄ PA (Merck); sorvente BONDESIL-PSA 40 µm (Varian); C₁₈ 35-75 µm (Alltech); Al₂O₃, 90, neutro70-230 # ASTM (Merck), previamente muflado a 550 °C por 3 h e Na(C₂H₃O₂) anidro (Spectrum), seco a 220°C por 3 h antes do uso. Os materiais utilizados foram: Seringas de vidro; tubos para centrífuga de fundo cônico (Tipo Falcon) de 15 e 50 mL; frascos de vidro âmbar com tampa vazada e teflon (Supelco) ; macrocontrolador de pipetas (Brand), unidade filtrante GV Millex- (Millipore); vials de vidro (Waters).

Soluções estoque

Foram preparadas 174 soluções estoque (SE) dos agrotóxicos e ou derivados a serem avaliados em solvente acetato de etila na concentração nominal de 400 µg.mL⁻¹. As soluções preparadas foram armazenadas em frasco de vidro âmbar e mantidas em temperatura em torno de -20 °C Os agrotóxicos avaliados encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1: Agrotóxicos estudados referentes a mistura S174

Agrotóxicos avaliados			
Abamectina	Desmedifan	Fosalona	Picoxistrobina
Acefato	Diazinona	Fosmete	Pimetrozina
Acetamiprido	Diclofuanida	Fostiazato	Butóxido de piperonila
Aldicarbe	Diclorvós	Furatiocarbe	Piraclostrobina
Aldicarbe Sulfona	Dicrotofós	Halofenosídeo	Pirazofós
Aldicarbe Sulfóxido	Dietofencarbe	Hexaconazol	Piridafentiona
Ametrina	Difenoconazol	Hexitiazoxi	Pirifenox
Atrazina	Dimetoato	Imazalil	Pirimicarbe
Azaconazol	Dimetomorfe	Imidacloprido	Pirimicarbe Desmetil
Azametifós	Dimoxistrobina	Indoxacarbe	Pirimifós Metílico
Azinfós Etilico	Diniconazol	Iprovalicarbe	Piriproxifem
Azinfós Metílico	Dissulfotom	Isoprotiolona	Procloraz

Azoxistrobina	Diuron	Isoxaflutol	Profenofós
Benalaxil	Dodemorfe	Isoxationa	Propargito
Bitertanol	EPN	Linurom	Propiconazol
Boscalida	Epoconazol	Malationa	Propizamida
Bromuconazol	Espinosade A	Mefenacete	Propoxur
Bupirinato	Espinosade D	Mefosfolan	Quinalfós
Buprofezina	Espiroxamina	Mepanipirim	Tebuconazol
Butocarboxim	Etiofencarbe Sulfona	Mepronil	Tebufenosida
Butocarboxim Sulfóxido	Etiofencarbe Sulfóxido	Metalaxil	Tebufenpirade
Cadusafós	Etiona	Metamidofós	Terbufós
Carbaril	Etiprole	Metconazol	Tetraconazol
Carbendazim	Etirimol	Metidationa	Tiabendazol
Carbofurano	Etofenproxi	Metiocarbe	Tiacloprido
4-OH-Carbofurano	Etoprofós	Metiocarbe Sulfóxido	Tiametoxam
Carbosulfano	Etrinofós	Metobromuron	Tiobencarbe
Carpropamida	Famoxadona	Metomil	Tiodicarbe
Cartape	Fenamidona	Metoxifenosida	Tiofanox Sulfona
Ciazofamida	Fenamifós	Metoxuron	Tiofanox Sulfóxido
Cimoxanil	Fenarimol	Mevinfós	Tolclofós Metílico
Ciproconazol	Fenazaquina	Miclobutanil	Tolifluanídeo
Ciprodinil	Fenbuconazol	Monocrotofós	Triadimefon
Ciromazina	Fenhexamida	Monolinuron	Triadimenol
Clofentezina	Fenoxicarbe	Nitenpiran	Triazofós
Clorbromuron	Fenpiroximato	Nuarimol	Triciclazol
Clorfenvinfós	Fenpropimorfe	Ometoato	Triclorfon
Clorpirifós	Fentiona	Oxadixil	Trifloxistrobina
Clotianidina	Fentoato	Oxamil	Trifluzimol
Coumafós	Fluazifope-p-butílico	Oxamil Oxima	Triticonazol
Cresoxim Metílico	Flufenacete	Oxicarboxina	Vamidotiona
Dazomete	Fluquinconazol	Paclobutrazol	Zoxamida
Deltametrina	Flusilasol	Pencicuirom	
Demeton-S-Metílico	Flutriafol	Penconazol	

Soluções intermediárias

A partir das SE, foram preparadas 4 misturas de soluções intermediárias contendo até 25 diferentes analitos para a preparação dos níveis da curva analítica e para a fortificação das amostras. As quatro soluções intermediárias foram misturadas formando a mistura S174.

Soluções intermediárias utilizadas na qualidade assegurada.

Para garantir o controle individual do processo analítico e a validade dos resultados, foi utilizada uma solução intermediária na concentração nominal de 0,08 a 0,21 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (em acetato de etila) usada na fortificação do leite branco em solvente acetato de etila (QA174).

Os resultados analíticos da amostra em análise, são considerados válidos se as recuperações de cada substância avaliada durante o processo de avaliação das QA 174, estiverem na concentração de 60 e 140%. Caso a condição anterior não seja atendida, deve-se verificar todo o procedimento realizado e, se necessário, repetir o processo de extração e limpeza da amostra (SANCO, 2012, BASTOS, 2012).

Equipamentos utilizados

a) agitador rotatório marca IKA[®] modelo Ms3, b) liquidificador industrial c) centrífuga Hitachi-himac CF7D2 d) cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência modelo ACQUITY UPLC[™] acoplado ao espectrômetro de massas tipo triplo quadrupolo por eletronebulização (UPLC-ESI-MS/MS) modelo Quatro Premier XE operando com a estação de trabalho MassLynx[™] Versão 4.1 e) balança analítica, com resolução de 10^{-5} g f) evaporador de N_2 marca PIERCE (Reacti-Vap[™] III) e/ ou Turbo Vap[®] LV estação de concentração.

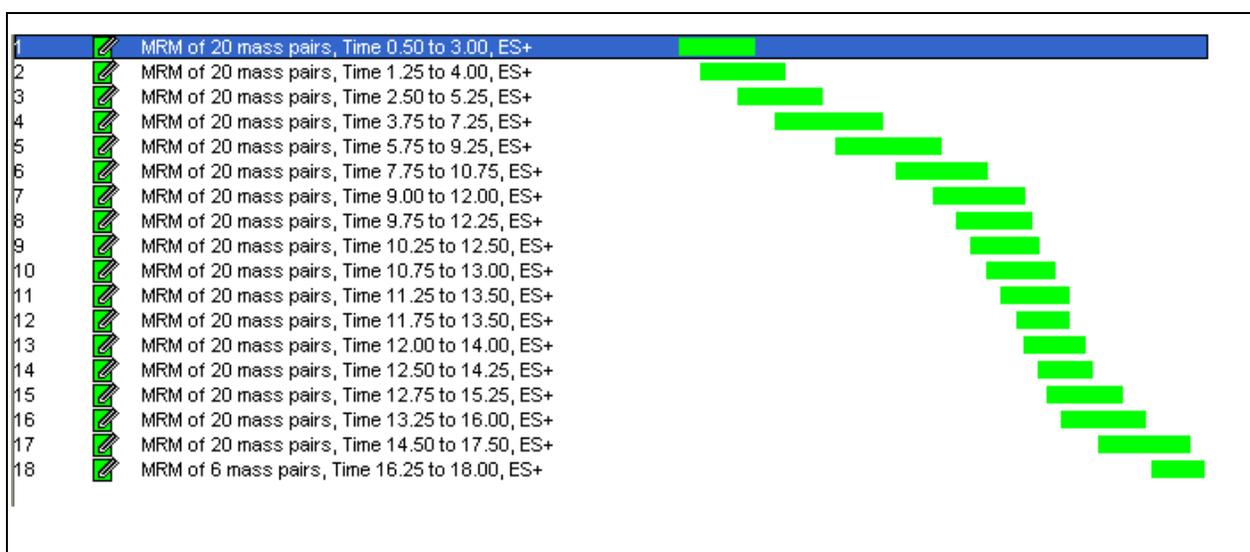
Condições Cromatográficas

As condições de operação do espectrômetro de massas, voltagens de cone e colisão foram otimizadas no modo monitoramento de reações múltiplas (MRM), através da indicação dos íons precursores e íons fragmento obtidos em diferentes trabalhos analíticos (AGUILERA-LUIZ et al., 2011; HIEMSTRA, KOK, 2007; LEDOUX, 2011; PAREJA et al., 2011, PIZZUTTI et al., 2007) e ajustados com a mistura S174 para diferentes programas de gradiente. Os íons foram separados em 18 janelas de tempo contendo no máximo 32 transições por janela, por monitoramento de reações múltiplas

(MRM) e o íon de maior e menor abundância selecionada para a quantificação e confirmação, respectivamente.

Na Figura 1 está descrita a distribuição MRM em janelas de tempo baseada no tempo de retenção dos agrotóxicos avaliados no método estabelecido em leite por UPLC-MS/MS.

Figura 1: Representação das 18 diferentes janelas de tempo programado para aquisição de dados no método UPLC -ESI-MS/MS para avaliação de S174 em amostras de leite



Os íons precursores, os íons de quantificação, o valor do cone e colisão para os analitos estudados foram ajustados no UPLC-MS/MS e encontram-se descritos na Tabela S1. Apresentada no material suplementar

Procedimento analítico multirresíduos

O método multirresíduos utilizado foi baseado em metodologia desenvolvida em 2003, denominada QuEChERS, ajustados a diferente processo de limpeza SPE-D e etapas de finalização do processo com determinação por UPLC-MS/MS.

Extração dos agrotóxicos

Testes de extração com fortificação das amostras

Na otimização das condições ideais de extração foram feitos estudos em duplicatas fortificando a amostra branco de leite com a mistura de solução intermediária de material de referência (MR) preparadas correspondendo ao número total de 174 ingredientes ativos (IAs) (S174) de agrotóxicos. A etapa inicial de extração e a etapa de limpeza (SPE-D) foi idêntica a todas as diferentes condições estudadas e a finalização dos extratos foram estudadas em diferentes testes cuja descrição encontra-se na Tabela 2.

Na primeira etapa- comum a todos os tratamentos- cerca de 15 g da amostra (leite fluído ou pó solubilizado em água) , após homogeneização por cinco minutos em liquidificador , foi pesada e colocada em frasco de 50 mL para uso em centrífuga.

Em seguida, foi adicionado a solução intermediária S174 em acetato de etila (distribuídas em 4 soluções intermediárias) na concentração nominal de $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ correspondendo a concentração final fortificada de 8 a $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ em leite. Após 30 min, foi iniciada a extração, com a adição de 15 mL de acetonitrila (1% ácido acético) e agitação em vortex. Na segunda etapa, limpeza da amostra, com extração em fase sólida dispersiva (SPE-D): foi retirado 2 mL do extrato orgânico adicionado 300 mg de $\text{MgSO}_4 + 1,5 \text{ g Na}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$. Com o extrato orgânico obtido na primeira etapa, foi estudada várias combinações de tratamentos, listadas na Tabela 2.

Para as 11 finalizações de extração identificadas de A a J foi utilizado um volume de extração de acetonitrila de 15 mL, para a finalização L foi utilizado à mesma extração com volume inicial de 10 mL de acetonitrila. Nessa etapa também foi otimizada a concentração inicial para a validação do método.

Tabela 2: Diferentes finalizações de procedimentos realizados após a segunda etapa de limpeza em estudo de amostras de leite no método Quechers.

Identificação	Tratamentos
A	1 mL do extrato da 1 etapa: Diluído em 1 mL metanol/água (1:1) e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 20 ng.mL^{-1}
B	1 mL do extrato da 1 etapa: evaporado no equipamento TurboVap® LV resuspenso em 1 mL metanol/água (1:1), filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 10 ng.mL^{-1}
C	1 mL do extrato da 1 etapa: Evaporado no equipamento Heating / Stirring Module. Pierce Reacti-Vap™. Resuspenso em 1 mL metanol/água (1:1), filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 10 ng.mL^{-1}
D	1 mL do extrato da 1 etapa: evaporado no equipamento TurboVap® LV. Resuspenso em 1 mL metanol/água (1:1) e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 10 ng.mL^{-1}
E	1 mL do extrato da 1 etapa: Diluído em 1 mL água e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 10 ng.mL^{-1}
F	1 mL do extrato da 1 etapa: Diluído em 1 mL água e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 10 ng.mL^{-1}
G	1 mL do extrato da 1 etapa. Diluído em 1 mL metanol e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 8 ng.mL^{-1} .
H	1 mL do extrato da 1 etapa: Diluído em 1 mL água/metanol (0,75/0,25 mL) e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 8 ng.mL^{-1}
I	1 mL do extrato da 1 etapa. Diluído em 1 mL metanol e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 12 ng.mL^{-1}
J	1 mL do extrato da 1 etapa. Diluído em 1 mL metanol/ água (0,75/0,25 mL) e filtrado com membrana 0,22 μm . Concentração final 12 ng.mL^{-1}
L	1ª etapa: Extraído com 10 mL de acetonitrila. 1 mL do extrato da 1 etapa e diluído com 1 mL de metanol Concentração final 10 ng.mL^{-1}

Critérios utilizados na validação do método

O primeiro critério a ser avaliado foi a seletividade, após este foi avaliado a melhor condição entre os tratamentos avaliados (A a L). Após a o estabelecimento da melhor condição e otimização total do método e da seletividade foi avaliado o efeito matriz, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação.

Seletividade

Definida como a habilidade dos métodos de extração de purificação, de derivatização, do sistema de separação e especialmente de detecção, em realizar a discriminação entre o analito de interesse e outras substâncias presentes na matriz (SANCO, 2012).

As amostras matriz branco de leite foram submetidas ao método de extração de multirresíduos e a seletividade foi confirmada pela ausência de substâncias presentes (S172) confirmadas com os critérios SANCO (2012) de identificação.

Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz branco do leite.

Corresponde a influência da matriz, de um ou mais componentes presentes na amostra, na medição do analito ou de massa que pode ser influenciada e afetada pela matriz. A resposta de alguns sistemas de determinação (por exemplo, CG-MS, LC-EM/EM) para alguns analitos podem ser afetadas pela presença de co-extrativos da matriz. Esses efeitos são derivados de processos físicos e químicos e podem ser difíceis de eliminar. Esses são observados com o aumento, diminuição e até supressão da resposta do detector em comparação com as respostas produzidas por simples soluções de solvente do analito a ser analisado. A presença ou ausência de tais efeitos podem ser demonstradas através da comparação da resposta produzida do analito numa solução simples do solvente com a obtida a partir da mesma quantidade de analito na presença da matriz (SANCO, 2012).

Para avaliar este efeito, seguiu-se o mesmo procedimento usado por Cardoso e colaboradores (2010), que identificou a resposta cromatográfica de cada agrotóxico em solvente e na matriz tomate. Utilizou-se a matriz leite integral em pó e foram analisadas as soluções S174 em cinco diferentes níveis correspondentes às concentrações nominais de 0,01; 0,02; 0,04; 0,06 e 0,1 ng.mL⁻¹ em seis replicatas.

Foram aplicados aos dados obtidos, os testes estatísticos F (*Snedecor*) de homogeneidade das variâncias e o teste t (*Student*) de comparação de médias. Os testes foram realizados através do aplicativo Excel[®].

Estudo da linearidade da faixa de trabalho

Para o estudo da linearidade da faixa de trabalho, 1mL do extrato orgânico do branco de leite foi diluído com 1 mL dos extratos orgânicos proveniente da extração e

limpeza da amostra respectivamente, nas concentrações correspondentes aos pontos da curva analítica (0,01 a 0,1 ng.mL⁻¹).

A linearidade da faixa de trabalho para o método de ensaio foi verificada através da leitura da curva analítica utilizando o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). Foi avaliada a significância da regressão através do coeficiente de correlação (r) e o coeficiente de determinação (R^2) dentro da faixa aceitável ($R^2 \geq 0,95$ e de $r \geq 0,98$). Outra ferramenta estatística usada foi a ANOVA (análise de variância da regressão) utilizada para avaliar se o desvio de linearidade da regressão é significativo ou não aplicando o teste F. Os cálculos para todos os agrotóxicos avaliados foram feitos usando o programa Excel[®].

Limites de Detecção e de Quantificação do Instrumento e do Método

Os limites de detecção e quantificação do instrumento (LDI e LQI) e do método (LDM e LQM) foram estabelecidos com base no método da relação sinal/ruído (S/R), no qual se aceita a estimativa de 3:1 para o LD e de 10:1 para o LQ, ou seja, os ruídos produzidos pela resposta da injeção de concentrações conhecidas dos analitos de interesse devem ser três vezes maiores do que o ruído produzido pelo sistema cromatográfico da linha de base para o LD, e dez vezes para o LQ. (CARDOSO, et al., 2010). Esta relação (S/R) foi calculada pela *ChemStation MassLynx*TM Versão 4.1 do equipamento UPLC-MS/MSS

Para estabelecer esta relação para os valores dos LDI e LQI utilizou-se uma concentração conhecida com aproximadamente 0,01 e 0,005 µg.mL⁻¹ de todos os agrotóxicos em matriz (extrato branco da de leite em acetato de etila), analisados em seis replicatas genuínas (n = 6).

Para o cálculo de LDM e LQM, os valores obtidos da concentração 0,01 µg.mL⁻¹ extrato branco em matriz de leite em acetato de etila, obtida em seis repetições, foram analisadas pelo método de ensaio e os resultados obtidos foram utilizados para estabelecer a relação (S/R). Em seguida, foram calculadas as médias, os desvios padrão dos resultados e os valores dos limites LDM e LQM.

Recuperação e repetibilidade

O mesmo procedimento utilizado para os cálculos do LDM e LQM foi utilizado para o cálculo da taxa de recuperação e repetibilidade dos 174 analitos e os critérios de aceitação foram os indicados pelo *Codex Alimentarius* e SANCO (2012): para a faixa de concentração desse estudo ($>0,01$ e $\leq 0,1$ ng.kg⁻¹), o intervalo de recuperação deve ser de 70 a 120 % e os coeficientes de variação (CV) devem ser inferiores a 20%. Foram realizadas três fortificações genuínas em LP e em fórmula infantil (FL) na concentração nominal de 10 µg.kg⁻¹.

Resultados e discussão

Seletividade

As duas amostras brancas de leite utilizadas como matrizes foram adequadas para a avaliação do método por não terem apresentado IA em concentrações superiores as detectáveis no estudo.

Avaliação da melhor finalização da extração

Para as principais combinações testadas (A a L) alguns IAs mostraram ausência de resultados e recuperações abaixo do padrão SANCO (2012) em todas as finalizações testadas. Os agrotóxicos que não apresentaram respostas foram: bitertanol, butocarboxim, cartape, clofentezina, dazomete, EPN, famoxadona, fentiona, fentoato e penconazol. Esses agrotóxicos permaneceram nas etapas de validação para avaliação em diferentes concentrações e tentativas de ajustes do processo.

Os tratamentos I e L, demonstraram maior uniformidade nas recuperações para o conjunto de agrotóxicos avaliados na mistura S174, considerando a faixa 70 a 120 %, estipulada pelo SANCO (2012) O tratamento L foi escolhido por usar um menor volume de acetonitrila (10 mL) permitindo assim a avaliação de menores níveis de concentração.

Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz branco do leite.

Em 5% de todos os agrotóxicos analisados e com resposta – carbendazim, coumafós, dissulfotom, imazalili, isoxationa, metconazol isômeros, tolclofós metílico-apresentaram efeito matriz significativa nos cinco níveis testados.

Tendo em vista que o efeito matriz branco do leite foi significativo para um grupo de agrotóxicos testados, utilizou-se curva com matriz para determinar os parâmetros de validação.

Estudo da linearidade e faixa de trabalho

A correlação da curva analítica, representada pelo modelo matemático entre os valores numéricos de x e de y é indicada pelo coeficiente de Pearson – ‘ r ’. O quadrado deste coeficiente é chamado de coeficiente de determinação ou simplesmente R^2 . Os valores aceitos foram $R^2 \geq 0,95$ e de $r \geq 0,98$. Essa condição foi observada para 161 analitos dos 166 que apresentaram respostas. Os IAs que não apresentaram significância da regressão considerando o R^2 expresso em parênteses foram: clorfenvinfós (0,825); fenoxicarbe (0,614); fosadona (0,80); tebuconazol (0,886); zoxamida (0,868).

A avaliação pela ANOVA (Análise de variância da regressão) mostrou regressão significativa para 161 analitos dentre os 166 com resposta. O cálculo para todos os 166 agrotóxicos avaliados foi feito utilizando planilha elaborada por Cardoso e colaboradores (2012). Um exemplo do cálculo efetuado para a substância butóxido de piperonila encontra-se descrito nas Figuras 2, 3 e 4.

Na Tabela S2 (Material Suplementar) encontra-se a listagem dos agrotóxicos com caráter heterocedástico, Sem EM, com número de repetições (n), o valor de R^2 para o solvente e matriz e as equações da reta para o solvente e matriz.

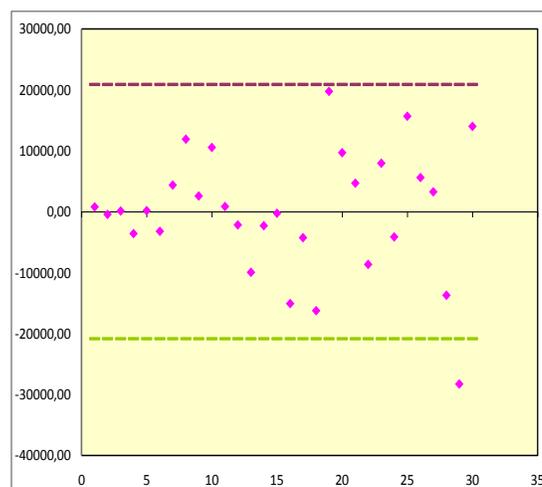
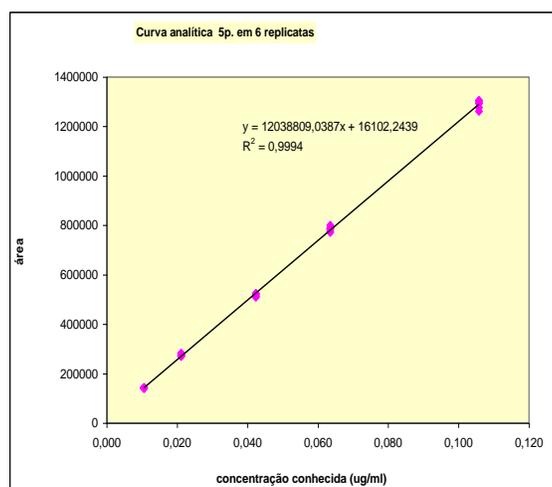
Na Tabela S3 (Material Suplementar) encontra-se a listagem dos agrotóxicos com caráter homocedástico, Sem EM.

Na Tabela S4 (Material Suplementar) encontra-se a listagem dos agrotóxicos com EM.

Figura 2: Planilha demonstrativa realizada para o cálculo da substância butóxido de piperonila na concentração de 0,01 a 0,1 ng.mL⁻¹ em matriz

Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos											
Planilha para avaliação da curva analítica do agrotóxico Piperonil butóxido											
Analista:		Equipamento:		Sequência:		matriz		Data:			
Curva de Calibração			Cálculos			Avaliação dos resíduos - Homocedasticidade					
Concentração		Resposta	Média	Variância dos resíduos	Dev. Pad.	CV (%)	Somatório	Maior	C de Cochran		Resultado
Pontos	ng/ml	área					Variância	Variância	C calculado	C teórico	homo/hetero
1551I	0,011	144287,484	142487,8878	3578354,85	1891,6540	1	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,011	143100,391									
	0,011	143633,281									
	0,011	139927,609									
	0,011	143708,859									
0,011	140269,703										
1552I	0,021	275285,438	275598,3178	30438650	5517,1233	2	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,021	282817,156									
	0,021	273523,875									
	0,021	281435,781									
	0,021	271795,313									
0,021	268732,344										
1553I	0,042	515780,5	517708,4637	45680492,69	6758,7345	1	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,042	523429,594									
	0,042	525479									
	0,042	510632,313									
	0,042	521440,969									
0,042	509488,406										
1554I	0,063	800250,313	785395,7817	103647739,5	10180,7534	1	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,063	790211,688									
	0,063	785213,313									
	0,063	771865,313									
	0,063	788480,688									
0,063	776353,375										
1555I	0,106	1305764,125	1289536,792	294000929,4	17146,4553	1	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,106	1295721,75									
	0,106	1293378,75									
	0,106	1276379,75									
	0,106	1261836,5									
0,106	1304139,875										
Somatório	1,460	18064363,5									

ANOVA - da regressão e Teste de desvio da Linearidade									
Fonte	G.L.	SQ	MQ	F	valor-p	Sign.			
Regressão	1	4986144002254	4986144002254	45711,1250	1,552E-46	p < 0,05			
Resíduos	28	3054224370,07	109079441,79	#					
Total	29	4,99E+12	#	#					
Xmed=	0,0487								
Ymed=	602145,449								
Se ² =	#####								
Se=	10444,11								
n=	30								
coef.linear=	16102,24								
coef.ang =	12038809,0	n = número de observações							
alfa =	0,05	u = número de níveis							
u =	5	z = número de parâmetros estimados							
r =	0,99969387								
R2 =	0,99938783								
p =	0,05								

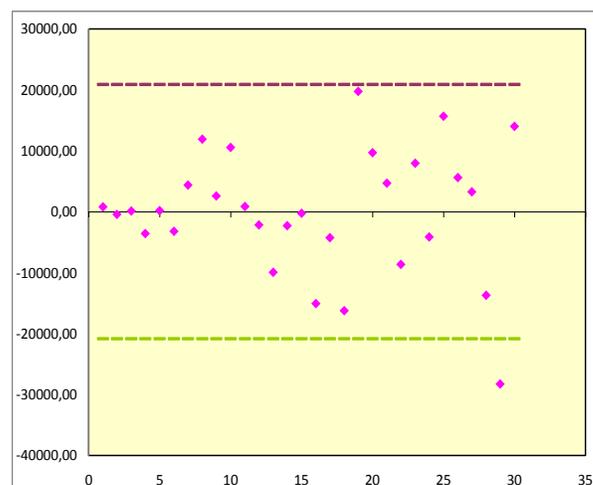
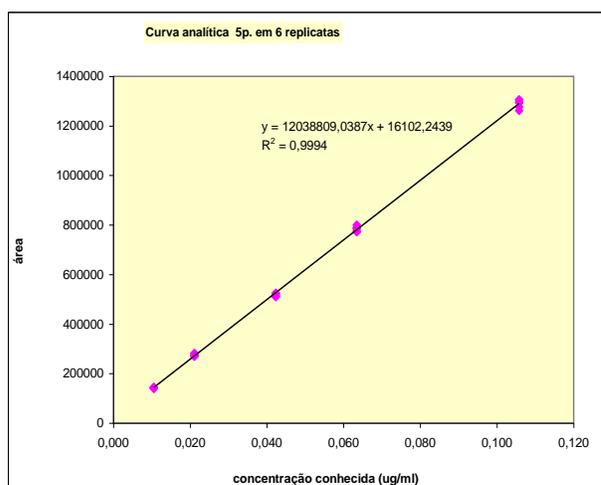


Fonte: Cardoso e colaboradores (2010).

Figura 3: Planilha demonstrativa realizada para o cálculo da substância butóxido de piperonila na concentração de 0,01 a 0,1 ng.mL⁻¹ em solvente

Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos											
Planilha para avaliação da curva analítica do agrotóxico Piperonil butóxido											
Analista:		Equipamento: LC-MS-MS			Sequência: matriz		Data:				
Curva de Calibração		Cálculos				Avaliação dos resíduos - Homocedasticidade					
Concentração		Resposta	Média	Variância dos resíduos	Desv. Pad.	CV (%)	Somatório	Maior	C de Cochran		Resultado
Pontos	ng/ml	área					Variância	Variância	C calculado	C teórico	homo/hetero
15511	0,011	144287,484	142487,8878	3578354,85	1891,6540	1	477346166,5	294000929	0,616	0,506	Heterocedástico
	0,011	143100,391									
	0,011	143633,281									
	0,011	139927,609									
	0,011	143708,859									
	0,011	140269,703									
15521	0,021	275285,438	275598,3178	30438650	5517,1233	2	4986144002254	4986144002254	45711,1250	1,552E-46	p < 0,05
	0,021	282817,156									
	0,021	273523,875									
	0,021	281435,781									
	0,021	271795,313									
	0,021	268732,344									
15531	0,042	515780,5	517708,4637	45680492,69	6758,7345	1	3054224370,07	109079441,79	#	#	#
	0,042	523429,594									
	0,042	525479									
	0,042	510632,313									
	0,042	521440,969									
	0,042	509488,406									
15541	0,063	800250,313	785395,7817	103647739,5	10180,7534	1	4,99E+12	#	#	#	#
	0,063	790211,688									
	0,063	785213,313									
	0,063	771865,313									
	0,063	788480,688									
	0,063	776353,375									
15551	0,106	1305764,125	1289536,792	294000929,4	17146,4553	1	4986144002254	4986144002254	45711,1250	1,552E-46	p < 0,05
	0,106	1293721,75									
	0,106	1293378,75									
	0,106	1276379,75									
	0,106	1261836,5									
	0,106	1304139,875									
Somatório	1,460	18064363,5									

ANOVA - da regressão e Teste de desvio da Linearidade	
Fonte	G.L.
Regressão	1
Resíduos	28
Total	29
Xmed=	0,0487
Ymed=	602145,449
Se ² =	#####
Se=	10444,11
n=	30
coef.linear=	16102,24
coef.ang =	12038809,0
alfa=	0,05
u=	5
r =	0,99969387
R2 =	0,99938783
p =	0,05



Fonte: Cardoso e colaboradores (2010).

Figura 4: Demonstrativo de cálculo para butóxido de piperonila calculado pelo software Excel® na concentração de 0,01 a 0,1 ng.mL⁻¹ em matriz.

Matriz	Solvente	Butóxido de Piperonila	Sem EM	
144287,5	124796,6	Teste-F: duas amostras para variâncias		
143100,4	135109,2			
143633,3	140002			
139927,6	133643,6		<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
143708,9	140850,7	Média	602145,4485	613225,4
140269,7	135695,9	Variância	1,72041E+11	1,83E+11
275285,4	275641,5	Observações	30	30
282817,2	264946,3	gl	29	29
273523,9	270894,6	F	0,941688713	
281435,8	273612,6	P(F<=f) uni-caudal	0,436294235	
271795,3	280305,3	F crítico uni-caudal	0,537399965	
268732,3	273205,1	Fcal> Fcrítico	variâncias diferentes	
515780,5	542371,8			
523429,6	536824,1			
525479	543506,5			
510632,3	549949,1			
521441	551968,6	Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes		
509488,4	541365,4			
800250,3	797852,3		<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
790211,7	802628,4	Média	602145,4485	613225,4
785213,3	840982,3	Variância	1,72041E+11	1,83E+11
771865,3	767378,9	Observações	30	30
788480,7	782013,4	Hipótese da diferença de média	0	
776353,4	767743,3	gl	58	
1305764	1315884	Stat t	0,101892956	
1295722	1355360	P(T<=t) uni-caudal	0,459596546	
1293379	1336515	t crítico uni-caudal	1,671552762	
1276380	1321253	P(T<=t) bi-caudal	0,919193091	
1261837	1283785	t crítico bi-caudal	2,001717484	
1304140	1310675	Tcalc<Tcrítico bi-caudal		

Fonte: Programa Excel®

Limites de detecção e de quantificação do método

Valores de LQM na faixa de 0,3 a 62 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ foram obtidos para os agrotóxicos avaliados, esses valores estão compatíveis aos LMR recomendados pelo CODEX e Comunidade Européia (EU) para a maioria das substâncias avaliadas, pois as instituições possuem um LMR estipulado de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (CODEX, 2013; EU, 2013). As etapas de recuperação e repetibilidade foram assim avaliadas com esta mesma concentração.

Foi possível verificar que os valores de sinal ruído (S/N) estão bem acima do valor mínimo de quantificação, fato esse que permite sugerir que os LQM quando desejável poderão ser reduzidos através da otimização do método.

Essa otimização poderá ser feita com essas substâncias através da melhoria da limpeza da amostra, redução do número de analitos avaliados e com o estabelecimento de métodos específicos. Entretanto algumas substâncias não apresentaram valores adequados de S/R demonstrando não serem adequados esses valores. As substâncias que apresentaram essa condição, com o valor de S/N expresso entre parênteses, foram: benalaxil (3,6); fentoato (5,4); diniconazol (2,3), e tolclofós metílico (2,1). Os valores obtidos de S/N, LDM e LQM para os agrotóxicos estudados encontram-se descritos na Tabela 3

Tabela 3: Valores obtidos de S/N, LDM e LQM para os agrotóxicos estudados (S174).

Agrotóxico	S/N	LDM	LQM	Agrotóxico	S/N	LDM	LQM
	Média	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		Média	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
3-OH-Carbofurano	1820,6	0,07	0,5	Diurum	1006,4	0,15	1,0
Acefato	21710,1	0,06	0,4	Dodemorfe ¹	4558,6	0,13	0,8
Acetamiprido	12534,4	0,29	2	EPN	Sem resposta		
Aldicarbe	4653,0	0,35	2,4	Epoxiconazol	544,6	0,48	3
Aldicarbe Sulfona	2978,2	0,17	1	Espinosade A	4161,1	0,09	0,6
Aldicarbe Sulfóxido	494,1	0,11	0,7	Imidacloprido	5343,9	0,64	4
Ametrina	5291,9	0,13	0,9	Indoxacarbe	441,3	0,96	6,4
Atrazina	1151,7	0,22	1,5	lprovalicarbe ¹	1577,9	0,06	0,4
Azaconazol	998,0	0,26	2	Isoprotilona	1285,1	0,27	1,8
Azametifós	700,9	0,18	1	Isoxaflutol	5250,5	0,49	3,3
Azinfós-etílico	4096,5	0,33	2	Isoxationa	253,9	3,14	21
Azinfós-metilico	40660,5	0,06	0,4	Linurom	4906,6	0,15	1
Azoxistrobina	2919,2	0,16	1	Malationa	2404,3	0,15	1
Benalaxil	3,6	5,79	40	Mefenacete	4166,8	0,25	1,6
Bitertanol	13,72	3,15	20	Mefosfolan	672,6	0,14	0,9
Boscalida	740,8	0,34	2	Mepanipirim	21745,2	0,09	0,6
Bromuconazol ¹	466,4	0,47	3	Mepronil	2592,0	0,06	0,4
Bupirinato	5312,4	0,91	6	Metalaxil	2338,6	0,12	0,8
Buprofezina	3329,8	0,05	0,3	Metamidofós	504,4	0,15	1
Butocarboxim	Sem resposta			Metconazol ¹	20,1	5,90	40
Butocarboxim Sulfóxido	494,4	0,14	1	Metidationa	1371,5	0,17	1
Cadusafós	36,4	0,34	2,3	Metiocarbe	3917,4	0,07	0,5
Carbaril	1064,1	0,11	0,7	Metiocarbe Sulfóxido	Não avaliada		
Carbendazim	1528,3	0,19	1,3	Metobromuron	10847,8	0,19	1,3
Carbofurano	374,5	0,20	1,3	Metomil	1139,9	0,13	0,9
Carbosulfano	1496,8	0,18	1,2	Metoxifenosida	14073,1	0,29	2
Carpropamida	99,1	0,49	3,2	Metoxuron	1290,6	0,06	0,4
Cartape	Sem resposta			Mevinfós isômeros	930,0	0,24	1,6
Ciazofamida	216840,8	0,63	4,2	Miclobutanil	19780,1	0,25	1,7
Etiofencarbe Sulfona	2673,4	0,05	0,3	Monocrotofós	1336,2	0,21	1,4
Etiofencarbe Sulfóxido	19822,7	0,02	0,1	Monolinuron	36114,9	0,15	1
Etiona	1074,0	0,10	0,65	Nitenpiran	2212,7	0,27	1,8
Etiprole	90,1	0,83	5,5	Nuarimol	5808,8	0,42	2,8
Etirimol	30,5	1,19	7,9	Ometoato	1147,9	0,21	1,4
Etofenproxi	288,8	0,04	0,3	Oxadixil	757,4	0,08	0,5
Etoprofós	682,0	0,31	2,1	Oxicarboxina	1925,5	0,20	1,3
Etrinfós	83,0	2,20	15	Pacloutrazol	726,3	0,15	1
Famoxadona	Sem resposta			Pencicurom	69,1	0,68	4,5
Fenamidona	762,1	0,17	1,1	Penconazol	1681,8	2,90	19
Fenamifós	1051,2	0,95	6,4	Picoxistrobina	2837,0	1,23	8
Fenarimol	21,4	2,05	14	Pimetrozina	19,0	8,59	60

Tabela 3: Continuação

Agrotóxico	S/N	LDM	LQM	Agrotóxico	S/N	LDM	LQM
	Média	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		Média	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Fenbuconazol	9,7	2,45	16	Piraclostrobina	28,6	0,62	4,1
Fenhexamida	1077,6	0,34	2,25	Piraclostrobina	72,0	0,93	6,2
Fenoxicarbe	149,9	3,87	25,82	Dissulfotom	113,3	1,34	9
Fenpiroximato	2378,0	0,22	1,45	Piridafentona	1661,9	0,21	1,4
Fenpropimorfe	3090,0	0,03	0,23	Pirifenox ¹	1164,7	0,27	1,8
Fentona	71,3	5,29	35	Pirimicarbe desmetil	14914,3	0,16	1,1
Fentoato	5,4	6,7	45	Pirimicarbe	2925,8	0,16	1,1
Fluazifope-p-butílico	2350,7	0,22	1,5	Pirimifós Metílico	39,6	0,62	4,1
Flufenacete	4678,8	0,14	0,9	Piriproxifem	2382,1	0,14	0,95
Fluquinconazol	19133,1	0,43	3	Procloraz	6,0	3,14	20
Flusilazol	397,6	1,83	12	Profenofós	6637,1	0,13	0,9
Flutriafol	5946,7	0,15	1,00	Propargito	3827,8	0,30	2
Fosalona	86,3	1,58	10	Propiconazol ¹	20,2	1,95	13
Fosmete	2822,8	0,08	0,6	Propizamida	27962,2	0,19	1,25
Furatiocarbe	4350,9	0,06	0,41	Propoxur	603,3	0,04	0,3
Ciprodinil	15,7	1,82	12	Quinalfós	28,8	1,92	13
Ciromazina	20232,3	0,11	0,72	Tebuconazol ¹	29,2	0,59	4
Clofentezina	4,1	3,45	23	Tebufenosida	616,7	0,42	2,8
Clofentezina	15023,7	0,06	0,39	Tebufenpirade	1532,3	0,20	1,3
Clorfenvinfós ¹	17,0	0,49	3,29	Terbufós	2991,9	0,34	2,3
Clorpirifós	126,2	0,09	0,59	Tetraconazol	2056,6	0,68	4,5
Clotianidina	3270,0	0,26	0,26	Tiabendazol	2898,9	0,08	0,52
Coumafós	2522,9	0,98	6,54	Tiobencarbe	36,8	0,53	3,51
Cresoxim Metílico	1232,6	0,74	4,96	Tiodicarbe	37645,9	0,15	1,02
Dazomete	Sem resposta			Tiofanox Sulfona	13842,2	0,23	1,55
Deltametrina	375,7	0,59	3,96	Tiofanox sulfóxido	91,3	0,26	1,72
Demeton-S-Metílico	27594,4	0,09	0,61	Tolclofós metílico	2,1	8,5	57
Desmedifan	3928,5	0,09	0,58	Tolifluanídeo	19,1	0,59	3,93
Diazinona	63,2	1,10	7,33	Triadimefon	369,9	0,17	1,1
Diclofluanida	9923,4	0,79	5,30	Triadimenol ¹	10180,3	0,35	2,3
Diclorvós	59,8	6,28	42	Triazofós	5561,4	0,23	1,5
Dicrotofós	775,7	0,09	0,6	Triciclozol	971,0	0,15	0,98
Dietofencarbe	104460,2	0,09	0,6	Triclorfon	535,6	0,19	1,23
Difenoconazol ¹	1401,0	0,12	0,8	Trifloxistrobina	2520,0	0,07	0,48
Dimetoato	526,2	0,15	1	Triflumizol	872,9	0,34	2,3
Dimetomorfe ¹	22070,2	0,11	0,7	Triticonazol	25315,0	0,37	2,5
Dimoxistrobina	105,3	1,46	10	Vamidotiona	9127,5	0,13	0,9
Diniconazol	2,3	17,0	110	Zoxamida	18,7	0,95	6,3

1: Σ isômeros

Os agrotóxicos fenbuconazol, fentiona e diniconazol não apresentaram LQM compatíveis aos valores estipulados pelo CODEX e EU. As outras 18 substâncias, apesar de apresentarem limites acima do valor de $10\mu\text{g.kg}^{-1}$ estão em acordo aos LMR do CODEX e ou EU. Na Tabela 4 estão descritos as substâncias que não apresentaram LQM compatíveis ao valor estipulado de $10\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabela 4: Comparativa entre os valores de LQM obtidos ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) valores de LMR estipulados pelo CODEX e EU.

Agrotóxico	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	LMR $\mu\text{g.kg}^{-1}$		Agrotóxico	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	LMR $\mu\text{g.kg}^{-1}$	
	LQM	CODEX	EU		LQM	CODEX	EU
Benalaxil	39	N	50	Etrinfós	15	NA	NA
Bitertanol	21	50	50	Fenarimol	14	N	20
Etrinfós	15	N	NA	Fenbuconazol	16	10	50
Fenarimol	14	N	20	Fenoxicarbe	26	N	50
Fenbuconazol	16	10	10	Isoxationa	21	N	NA
Fenoxicarbe	26	N	50	Metconazol	39	N	10
Fentiona	36	N	10	Penconazol	19	10	10
Fentoato	55	N	NA	Pimetrozina	57	N	10
Flusilazol	12	50	20	Quinalfós	12	NA	NA
Ciprodinil	12 ¹	0,4 ²	50	Tolclofós metílico	57	N	50

1: valor estipulado no leite total; 2: valor estipulado na gordura. N: não permitido; NA: não estipulado ao leite

Recuperação e repetibilidade

Os valores de recuperação referentes à média das triplicatas foram adequados para 63% dos agrotóxicos avaliados para o LP (faixa 70 a 120% e $CV < 20\%$). Os agrotóxicos : butocarboxim, cartape, hexaconazol, EPN e dazomete não apresentaram resposta.

Altas recuperações no LP foram obtidas para os IAs: bitertanol, ciprodinil, diazinona, dimoxistrobina, fenamifós, procloraz, tebufenosida, fenbuconazol, fenoxicarbe, fentoato, tolclofós metílico e tolifluanídeo. Baixas recuperações, ainda no LP, foram observados nas substâncias: benalaxil, carbosulfano, carpropamida, ciromazina, clofentezina, etrinfós e zoxamida e com valores de recuperação adequados mas com $CV > 20\%$: fosalona, coumafós, cresoxim metílico, diniconazol, tiobencarbe e fentiona. Os resultados da recuperação e da repetibilidade das três replicatas dos

agrotóxicos presentes na FL na S174 na concentração nominal $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ encontram-se descritas na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de recuperação (R%), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) para a S174 em FL avaliadas em triplicata na concentração nominal de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$

Agrotóxico	R %	DP	CV %	Agrotóxico	R %	DP	CV %
3-OH-Carbofurano	109	0,49	0,5	Flutriafol	97	2,38	2
Abamectina	109	8,78	8	Fosalona	72	18,04	25
Acefato	86	1,40	2	Fosmete	101	1,91	2
Acetamiprido	105	0,29	0,3	Furatiocarbe	98	2,02	2
Aldicarbe	106	4,34	4	Halofenosídeo	100	2,61	3
Aldicarbe sulfona	108	1,39	1	Hexitiazoxi	88	0,02	0,1
Aldicarbe sulfoxido	93	1,30	1	Imazalil	71	13,11	18
Ametrina	102	1,06	1	Imidacloprido	105	6,11	6
Atrazina	100	2,58	3	Indoxacarbe	99	7,49	8
Azaconazol	104	3,57	3	lprovalicarbe ¹	102	0,73	0,7
Azametifós	120	3,58	3	Isoprotirolona	103	3,93	4
Azinfós etílico	104	0,50	0,5	Isoxaflutol	85	0,14	0,2
Azinfós metílico	98	0,39	0,4	Isoxationa	95	12,46	13
Azoxistrobina	107	1,56	2	Linurom	106	1,90	2
Benalaxil	46	12,78	28	Malationa	104	1,79	2
Bitertanol	177	1,66	1	Mefenacete	98	1,96	2
Boscalida	98	1,58	2	Mefosfolan	103	2,84	3
Bromuconazol ¹	98	11,93	12	Mepanipirim	102	4,66	5
Bupirimato	53	6,03	11	Mepronil	98	2,03	2
Buprofezina	92	2,45	3	Metalaxil	105	0,27	0,2
Butocarboxim sulfóxido	89	1,78	2	Metamidofós	78	0,54	1
Butóxido de piperonila	92	0,29	0,3	Metconazol ¹	84	1,06	1
Cadusafós	120	0,84	1	Metidationa	104	4,88	5
Carbaril	101	0,52	0,5	Metiocarbe	100	0,06	0,06
Carbendazim	112	13,27	12	Metiocarbe sulfóxido	107	0,85	1
Carbofurano	102	1,52	2	Metobromuron	103	5,07	5
Carbosulfano	51	0,75	2	Metomil	118	0,47	0,4
Carpropamida	49	2,27	5	Metoxifenosida	92	5,41	6
Ciazofamida	79	9,89	12	Metoxuron	106	0,95	1
Cimoxanil	106	2,07	2	Mevinfós ¹	101	2,61	3
Ciproconazol ¹	100	1,13	1	Miclobutanil	103	2,90	3
Ciprodinil	170	30,46	18	Monocrotofós	100	3,26	3
Ciromazina	25	11,04	45	Monolinuron	105	3,30	3
Clofentezina	48	36,28	76	Nitenpiran	66	11,13	17
Clorbromuron	98	3,17	3	Nuarimol	103	4,04	4
Clorfenvinfós ¹	119	11,36	10	Ometoato	92	1,18	1
Clorpirifós	83	2,96	3	Oxadixil	102	0,34	0,3
Clotianidina	109	1,16	1	Oxamil	105	4,66	4

Tabela 5: Continuação

Coumafós	94	36,14	38	Oxamil oxima	100	0,59	0,6
Cresoxim metílico	97	33,54	35	Oxicarboxina	102	1,49	1
Deltametrina	76	1,32	2	Paclobutrazol	100	7,84	8
Demeton-S-metílico	104	0,50	0,5	Pencicuirom	82	1,95	2
Desmedifan	105	1,15	1	Penconazol	101	8,27	8
Diazinona	160	0,90	0,6	Picoxistrobina	93	5,60	6
Diclofuanida	79	4,87	6	Pimetrozina	96	2,87	3
Diclorvós	101	8,11	8	Piraclostrobina	32	1,23	4
Dicrotofós	105	1,35	1	Pirazofós	78	13,29	18
Dietofencarbe	101	0,14	0,1	Piridafentiona	100	0,84	1
Difenoconazol ¹	97	4,71	5	Pirifenox ¹	82	0,03	0,04
Dimetoato	105	1,04	1	Pirimicarbe desmetil	108	3,29	3
Dimetomorfe ¹	114	9,09	8	Pirimicarbe	94	1,21	1
Dimoxistrobina	184	3,38	2	Pirimifós metílico	78	11,03	14
Diniconazol	91	46,51	51	Piriproximem	84	0,44	0,5
Dissulfotom	107	13,29	12	Procloraz	187	16,86	9
Diurrom	104	0,22	0,2	Profenofós	96	0,39	0,4
Dodemorfe ¹	85	0,54	1	Propargito	94	1,02	1
Epoconazol	118	1,77	2	Propiconazol ²	107	16,46	15
Espinosade A	108	0,22	0,2	Propizamida	91	4,55	5
Espinosade D	104	1,56	1	Propoxur	95	4,19	4
Espiroxamina ¹	107	0,67	0,6	Quinalfós	119	0,44	0,4
Etiofencarbe sulfona	99	3,53	4	Tebuconazol ¹	126	3,51	3
Etiofencarbe sulfóxido	107	0,40	0,4	Tebufenosida	173	1,01	1
Etiona	95	1,34	1	Tebufenpirade	95	0,11	0,1
Etiprole	114	3,07	3	Terbufós	95	0,88	1
Etirimol	91	8,34	9	Tetraconazol	87	4,46	5
Etofenproxi	120	17,95	15	Tiabendazol	98	0,42	0,4
Etoprofós	107	0,29	0,3	Tiacloprido	102	1,42	1
Etrinós	41	2,11	5	Tiametoxam	102	1,36	1
Famoxadona	109	12,30	11	Tiobencarbe	97	36	36
Fenamidona	113	0,44	0,4	Tiodicarbe	73	0,73	1
Fenamifós	148	3,87	3	Tiofanox sulfona	102	4,24	4
Fenarimol	99	3,07	3	Tiofanox sulfóxido	99	1,25	1
Fenazaquina	81	1,10	1	Tolclofós metílico	201	18,29	9
Fenbuconazol	141	65,58	47	Tolifluanídeo	136	3,33	2
Fenhexamida	92	4,16	4	Triadimefon	95	2,19	2
Fenoxicarbe	131	9,11	7	Triadimenol ¹	97	5,22	5
Fenpiroximato	90	2,06	2	Triazofós	117	1,10	1
Fenpropimorfe	77	3,80	5	Triciclozol	100	0,65	1
Fentiona	103	22,10	22	Triclorfon	97	1,95	2
Fentoato	184	19,81	11	Trifloxistrobina	103	6,25	6
Fluazifope-p-butílico	98	0,98	1	Triflumizol	107	5,76	5
Flufenacete	106	1,12	1	Triticonazol	88	5,31	6
Fluquinconazol	77	2,43	3	Vamidotiona	104	1,28	1
Flusilazol	78	9,92	13	Zoxamida	34	2,86	8

1: isômeros

Com essa avaliação foi possível demonstrar que os LQM obtidos para os agrotóxicos avaliados são adequados, pois os valores dos desvios padrão e os coeficientes de variação obtidos, na recuperação e repetibilidade, foram compatíveis com os parâmetros do documento SANCO (2012) para 144 para os 174 inicialmente testados para a FL.

Os resultados da recuperação e da repetibilidade das três replicatas dos agrotóxicos presentes no LP na S174 na concentração nominal $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ encontram-se descritas na Tabela 6.

Os agrotóxicos: butocarboxim, cartape, hexaconazol, EPN e dazomete que não apresentaram resposta. Os IAs : azametifós, bitertanol, clorfenvinfós, metconazol, metomil, diazinona, dimoxistrobina, famoxadona, fenbuconazol, fentoato, procloraz, quinalfós, tolifluanídeo e zoxamida apresentaram altas recuperações (>120%). As substâncias: bupirimato, carbosulfano, carpropamida, cresoxim metílico, imazalil, nitenpiran, fentiona, pencicuron, pirimifós metílico e tiodicarbe apresentaram baixas recuperações (<60%). Alguns agrotóxicos apresentaram valores de recuperação adequados mas com $CV > 20\%$: benalaxil, isoxationa, fenarimol, flusilazol, pirazofós, tetraconazol, tiodicarbe e zoxamida.

Foi possível observar que 38 substâncias dentre as 174 avaliadas para LP não apresentaram os requisitos estabelecidos pelo SANCO (2012) não sendo consideradas adequadas. Assim 136 substâncias para o LP foram consideradas adequadas e 143 analitos para a FL dentre os 174 avaliados para ambas as matrizes.

Os analitos que apresentaram baixas recuperações em todas as repetições podem e devem ser considerados em análises de monitoramento , tendo-se nesse caso o conhecimento que a quantificação do analito, nesta condição estaria sub estimada além de haver a possibilidade de resultados falso negativo. Entretanto substâncias com altos valores de recuperação (acima de 120%) não deverão ser consideradas pois podem representar resultados falso positivo.

Tabela 6: Valores de recuperação (R%), desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) para a S174 em LP avaliadas na concentração nominal de 10 µg.kg⁻¹.

Agrotóxico	R %	DP	CV %	Agrotóxico	R %	DP	CV %
3-OH-Carbofurano	105	8	8	Fosmete	106	6,0	6
Abamectina	77	4	5	Furatiocarbe	100	15,7	16
Acefato	98	4	4	Halofenosídeo	105	9,2	9
Acetamiprido	107	8	7	Hexitiazoxi	107	1,9	2
Aldicarbe	107	13	12	Imazalil	54	16,8	31
Aldicarbe sulfona	91	19	21	Imidacloprido	106	2,5	2
Aldicarbe sulfoxido	97	4	4	Indoxacarbe	101	1,7	2
Ametrina	100	8	8	Iprovalicarbe ¹	104	15,5	15
Atrazina	104	7	7	Isoprotilona	109	7,1	6
Azaconazol	112	9	8	Isoxaflutol	95	14,2	15
Azametifós	127	12	10	Isoxationa	99	33,3	34
Azinfós etílico	100	11	11	Linurom	105	4,6	4
Azinfós metílico	108	10	9	Malationa	101	7,9	8
Azoxistrobina	104	14	13	Mefenacete	105	13,0	12
Benalaxil	106	58	55	Mefosfolan	106	6,3	6
Bitertanol	235	27	11	Mepanipirim	93	0,3	0
Boscalida	110	10	9	Mepronil	106	13,3	13
Bromuconazol1	93	2	3	Metalaxil	100	10,8	11
Bupirimato	68	2	4	Metamidofós	93	1,1	1
Buprofezina	93	12	13	Metconazol ¹	327	287,8	88
Butocarboxim sulfóxido	99	7	7	Metidationa	103	4,2	4
Butóxido de piperonila	99	13,3	13	Metiocarbe	105	7,7	7
				Metiocarbe sulfóxido	103	8,0	8
Cadusafós	75	19	21	Metobromuron	108	10,6	10
Carbaril	106	7	6	Metomil	127	27,2	21
Carbendazim	95	7	8	Metoxifenosida	108	17,0	16
Carbofurano	117	10	8	Metoxuron	106	2,0	2
Carbosulfano	56	7	13	Mevinfós ¹	100	4,8	5
Carpropamida	66	22	33	Miclobutanil	107	8,8	8
Ciazofamida	81	7	9	Monocrotofós	102	5,8	6
Cimoxanil	106	11	10	Monolinuron	104	7,4	7
Ciproconazol1	109	8	7	Nitenpiran	68	0,8	1
Ciromazina	107	23	22	Nuarimol	102	12,6	12
Clofentezina	73	3	4	Ometoato	99	3,9	4
Clorbromuron	114	5	4	Oxadixil	105	4,7	4
Clorfenvinfós ¹	178	51	29	Oxamil	102	9,9	10
Clorpirifós	97	7	8	Oxamil oxima	102	0,3	0
Clotianidina	107	4	3	Oxicarboxina	104	7,3	7
Coumafós	75	15	20	Paclobutrazol	97	10,9	11
Cresoxim metílico	50	4	7	Pencicurom	41	4,3	10
Deltametrina	98	14	14	Penconazol	84	10,1	12
Demeton-S-metílico	107	12	11				

Tabela 6: Continuação

Agrotóxico	R %	DP	CV %	Agrotóxico	R %	DP	CV %
Desmedifan	106	12	12	Picoxistrobina	67	6,2	9
Diazinona	368	29	8	Pimetrozina	92	4,8	5
Diclofuanida	82	2	2	Piraclostrobina	80	9,7	12
Diclorvós	101	0	0	Pirazofós	70	21,1	30
Dicrotofós	100	6	6	Piridafentiona	98	14,1	14
Dietofencarbe	102	12	12	Pirifenox ¹	95	12,2	13
Difenoconazol ¹	107	10	9	Pirimicarbe desmetil	104	3,3	3
Dimetoato	103	3	3	Pirimicarbe	104	6,1	6
Dimetomorfe ¹	103	16	16	Pirimifós metílico	26	4,1	16
Dimoxistrobina	286	39	14	Piriproxifem	98	8,2	8
Dissulfotom	70	10	14	Procloraz	440	81,2	18
Diurum	111	8	8	Profenofós	101	11,8	12
Dodemorfe ¹	91	15	17	Propargito	99	6,8	7
Epoconazol	93	3	3	Propiconazol ¹	402	62,4	16
Espinosade A	88	19	21	Propizamida	99	8,7	9
Espinosade D	92	24	26	Propoxur	101	7,8	8
Espiroxamina ¹	123	23	18	Quinalfós	185	9,5	5
Etiofencarbe sulfona	104	10	9	Tebuconazol ¹	108	7,2	7
Etiofencarbe sulfóxido	103	8	8	Tebufenosida	360	49,0	14
Etiona	99	9	9	Tebufenpirade	96	10,1	11
Etiprole	101	4	4	Terbufós	95	1,5	2
Etirimol	101	4	4	Tetraconazol	89	20,8	23
Etofenproxi	317	15	5	Tiabendazol	97	3,6	4
Etoprofós	130	6	5	Tiacloprido	105	5,4	5
Etrinofós	57	15	27	Tiametoxam	105	9,5	9
Famoxadona	549	318	58	Tiobencarbe	123	5,3	4
Fenamidona	99	16	16	Tiodicarbe	55	25,6	46
Fenamifós	325	32	10	Tiofanox sulfona	100	7,1	7
Fenarimol	93	20	22	Tiofanox sulfóxido	102	12,9	13
Fenazaquina	91	6	6	Tolclofós metílico	84	4,6	5
Fenbuconazol	220	32	15	Tolifluanídeo	348	49,4	14
Fenhexamida	128	16	13	Triadimefon	112	15,2	14
Fenoxicarbe	92	15	17	Triadimenol ¹	110	0,5	0
Fenpiroximato	102	13	13	Triazofós	103	9,3	9
Fenpropomorfe	86	11	13	Triciclozol	103	6,7	6
Fentiona	51	3	7	Triclorfon	113	4,6	4
Fentoato	434	25	6	Trifloxistrobina	86	4,9	6
Fluazifope-p-butílico	100	14	14	Triflumizol	88	2,0	2
Flufenacete	91	11	12	Triticonazol	114	18,4	16
Fluquinconazol	91	19	21	Vamidotiona	103	6,9	7
Flusilazol	105	37	36	Zoxamida	175	140,8	80
Flutriafol	112	12	10				

1: Σ isômeros

Conclusão

O método QuEChERS mostrou-se eficiente para 143 agrotóxicos e ou derivados dentre os 174 avaliados nas matrizes leite integral em pó e 136 agrotóxicos dentre os 174 para FL. Os LQM obtidos mostraram-se capazes de atender às especificações referente aos LMRs do CODEX e EU para o produto leite.

Referência Bibliográfica

AGUILERA-LUIZ, M., M.; BOLANOS-PLAZA, P., GONZÁLEZ-ROMERO, R.; VIDAL, M., J., L.; FRENICH, G., A. comparison of the efficiency of different extraction methods for the simultaneous determination of mycotoxins and pesticides in milk samples by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical Chemistry**, v399, p2863-2875, 2011.

ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S.J.; STAJNBAER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos>. Acessado em 20 março 2013.

BASTOS, L, H, P; CARDOSO, M.W.; NÓBREGA, A. W. N.; JACOB, S. C. Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cadernos de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 19 (1), p. 51-60, 2011.

BASTOS, L, H, P; CARDOSO, M.W.; NÓBREGA, A. W. N.; GOUVÊA, A.V.; JACOB, S.C. Implementação de Método Analítico para Determinação de Resíduos de Organofosforados em Leite por Cromatografia a gás com detector fotométrico de chama. **Química Nova**, v 35 (8) p 1657-0663, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em abril .2013.

CARDOSO, M.H.W.M.; ABRANTES, S. Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz: Estudo de caso em tomates. **Revista Analytica**, n 34, p. 48-55, 2008.

CARDOSO, M.H.W.M.; GOUVÊA, A.V.; NÓBREGA, A.W.; ABRANTES, S.M.P. Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 30 (1), p.63-72, 2010.

CODEX 2013. Alimentarius FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, [on-line] 2008. Disponível em <<http://www.codexalimentarius.org/standards/pesticides-MRLs/en>>. Acessado em 20 de março. 2013.

D-G SANCO, EUROPEAN UNION, Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis in Food and Feed. Document nº SANCO/ 12495/2011, 01 January 2012.

EUROPEAN UNION COMMISSION. Pesticide [on-line] 2008. Disponível: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=homepage&CFID=8062903&CFTOKEN=38486503&jsessionid=08047e0ebb7f22212506TR. Acessado em 05 de março de . 2013

HIEMSTRA, H.; KOK, A. Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, V 1154, p3-25, abril de 2007.

IBGE-SIDRA. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasil, Banco de Dados Agregados série histórica de área plantada; série histórica de produção agrícola; safras 1998 a 2011. Disponível em www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric, acessado em 20 mar 2013.

JEONG, I-S.; KWAK, B-M.; JEONG, S-H. Determination of pesticide residues in milk using a QuEChERS- based method developed by response surface methodology. **Food Chemistry**, v 133, p 473-481, 2012.

LEHOTAY, S., J.; MATOVSKÁ, K. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. **Journal of AOAC International**. v. 88 n°2, p.630-638, 2005.

LEDOUX, M. Analytical methods applied to the determination of pesticides residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. **Journal of Chromatography A**, v1218, p1021-1036, 2011.

PAREJA, L.; CESIO, V.; HEINZEN, H.; ALBA-FERNANDEZ, A. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished Rice by LC-MS/MS. **Talanta**, v83, p1613-1622, 2011.

PRESTES, D. O.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**. 3 (1) p 51-64 2011.

PIZZUTTI, R. I.; KOK, A.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B.; HIEMSTRA, M.; WICKERT, C.; PRESTES, D. O. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization. **Journal of chromatography A**, v. 1142 p 123-136, 2007.

QUEIROZ, S.C.N.; FERRACINI, V.L.; ROSA, M.A. Validação de Método Multirresíduo para Determinação de Pesticidas em Alimentos empregando QUECHERS e UPLC-MS/MS. **Quimica. Nova** V 35(1) p185-192, 2012.

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de produtos para a defesa agropecuária. **Dados de produção e consumo de agrotóxicos**. Disponível em www.sindag.com.br, acessado em 20 mar 2012.

MATERIAL SUPLEMENTAR. Referente ao artigo Otimização e validação de método analítico de multirresíduos empregando QUECHERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em leite.

Tabela S1: Condições analítica do UPLC para detecção e quantificação da S174 em leite e produtos afins.

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Transição Quantificação	Cone	Colisão (eV)	Transição Confirmação	Colisão (eV)
1	Abamectina	890,5[M+NH ₄] ⁺	890,5→567,1	20	20	890,5→305	15
2	Acefato	183,9[M+H] ⁺	183,9→142,8	20	25	183,9→94,6	10
3	Acetamiprido	223,1[M+H] ⁺	223,1→125,9	35	35	223,1→90	22
4	Aldicarbe	190,5[M+H] ⁺	190,5→115,6	12	14	190,5→88,7	5
5	Aldicarbe sulfona	223,1 [M+H] ⁺	223,1→76	25	10	223,1→86	14
6	Aldicarbe sulfóxido	207 [M+H] ⁺	207→88,9	20	14	207→131,9	10
7	Ametrina	228,1 [M+H] ⁺	228,1→186	30	25	228,1→96	20
8	Amitraz	292 [M+H] ⁺	292→275	20	10	292→107	13
9	Azaconazole	300,1[M+H] ⁺	300,1→158,9	30	25	300,1→230,9	16
10	Azametifós	325[M+H] ⁺	325→11,9	25	35	325→138,9	24
11	Azinfós-etílico	345,5[M+H] ⁺	345,5→131,8	15	18	345,5→159,8	10
12	Azinfós-metilico	318[M+H] ⁺	318→131,9	15	24	318→104,2	16
13	Azoxistrobina	404,1[M+H] ⁺	404,1→328,9	15	30	404,1→328,9	16
14	Benalaxil	325,9[M+H] ⁺	325,9→147,9	20	20	325,9→293,9	20
15	Bitertanol	338[M+H] ⁺	338→70	15	10	338→99	14
16	Boscalida	343[M+H] ⁺	343→307	30	30	343→271	20
17	Bromuconazol	376[M+H] ⁺	376→70,1	35	25	376→158,9	35
18	Bupirimato	316,8[M+H] ⁺	316,8→107,6	35	25	316,8→271,7	20
19	Buprofenzina	306,1[M+H] ⁺	306,1→201,0	20	16	306,1→115,9	12
20	Butocarboxim sulfóxido	207[M+H] ⁺	207→88	20	10	207→75	10
21	Cadusafós	271,4[M+H] ⁺	271,4→159	25	15	271,4→215	10
22	Carbaril	219[M+ NH ₄] ⁺	219→144,9	10	35	219→126,9	16
23	Carbendazim	192[M+H] ⁺	192→159,9	25	30	192→159,9	16
24	Carbofurano	222,1[M+H] ⁺	222,1→122,9	25	25	222,1→164,9	12
25	3-hidroxi-carbofurano	237,9[M+H] ⁺	237,9→162,8	18	15	237,9→180,8	10
26	Carbosulfano	381[M+H] ⁺	381→160	30	20	381→118	20
27	Cartape	238 [M+H] ⁺	238→150	25	20	238→116	20
28	Carpropamida	334[M+H] ⁺	334→139	25	20	334→195,6	10
29	Ciazofamida	324,6[M+H] ⁺	324,6→107,6	20	15	324,6→260,7	10

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Transição Quantificação	Cone	Colisão (eV)	Transição Confirmação	Colisão (eV)
30	Cimoxanil	199[M+H] ⁺	199→127,9	20	18	199→127,9	10
31	Ciproconazol	292,1[M+H] ⁺	292,1→70,1	25	18	292,1→124,9	30
32	Ciprodinil	226,1[M+H] ⁺	226,1→92,9	45	35	226,1→107,9	25
33	Ciromazina	166,8[M+H] ⁺	166,8→60	30	18	166,8→124,8	18
34	Clofentezina	303[M+H] ⁺	303→137,9	20	35	303→101,9	14
35	Clorbromurom	294,5[M+H] ⁺	294,5→181,6	25	20	294,5→205,6	20
36	Clorfenvinfós	359[M+H] ⁺	359→98,8	25	24	359→126,9	22
37	Clorpirifós	349,5[M+H] ⁺	349,5→197,7	20	30	349,5→96,7	21
38	Clotianidina	250[M+H] ⁺	250→168,9	20	14	250→131,8	14
39	Coumafós	363[M+H] ⁺	363→307	26	16	363→289	24
40	Cresoxim-metílico	313,7[M+H] ⁺	313,7→115,7	15	15	313,7→266,7	5
41	Demeton-S-Metílico	230,7[M+H] ⁺	230,7→88,9	12	30	230,7→61,1	10
42	Diazinona	305,1[M+H] ⁺	305,1→169	25	35	305,1→96,9	22
43	Diclofluanida	350[M+NH ₄] ⁺	350→123	10	30	350→224	18
44	Diclorvos	220,9[M+H] ⁺	220,9→108,8	25	18	220,9→108,8	18
45	Dicrotofós	238,1[M+H] ⁺	238,1→111,9	25	14	238,1→72	25
46	Dietofencarbe	267,8[M+H] ⁺	267,8→225,8	15	10	267,8→124	35
47	Difenoconazol	406,1[M+H] ⁺	406,1→250,9	35	40	406,1→188	25
48	Dimetoato	230[M+H] ⁺	230→198,9	20	22	230→124,8	10
49	Dimetomorfe	388,1[M+H] ⁺	388,1→300,9	35	20	388,1→165	20
50	Dimoxistrobina	327,2[M+H] ⁺	327,2→115,9	20	24	327,2→89	40
51	Diniconazol	326,1[M+H] ⁺	326,1→70,1	35	25	326,1→158,9	30
52	Dissulfotom	274,7[M+H] ⁺	274,7→88,8	12	35	274,7→88,8	10
53	Diurum	233[M+H] ⁺	233→72	25	18	233→159,9	25
54	Dodemorfe	282,3[M+H] ⁺	282,3→115,9	40	29	282,3→97,9	21
55	Epoxiconazol	330,1[M+H] ⁺	330,1→120,9	35	25	330,1→122,9	20
56	Espinosade A	732,6[M+H] ⁺	732,6→142	50	59	732,6→98,1	31
	Espinosade D	746,5[M+H] ⁺	746,5→142	45	55	746,5→98,1	31
57	Espiroxamina	298,3[M+H] ⁺	298,3→144	30	30	298,3→100	20
58	Etiofencarbe sulfona	275,1[M+NH ₄] ⁺	275,1→106,9	15	22	275,1→201	10
59	Etiofencabe sulfóxido	242,1[M+H] ⁺	242,1→106,9	15	25	242,1→185	10
60	Etiona	384,6[M+H] ⁺	384,6→198,7	20	25	384,6→142,7	10
61	Etiprole	414,1[M+H] ⁺	414,1→350,9	15	25	414,1→396,9	9
62	Etirimol	210,1[M+H] ⁺	210,1→97,9	40	25	210,1→140	22
63	Etofenproxi	394,3[M+NH ₄] ⁺	394,3→107	20	43	394,3→177	20
64	Etoprofós	243[M+H] ⁺	243→131	25	30	243→97	20
65	Etrinifós	293[M+H] ⁺	293→265	35	25	293→125	15
66	Famoxadona	391,7[M+NH ₄] ⁺	391,7→237,7	15	18	391,7→330,8	10
67	Fenamidona	312,1[M+H] ⁺	312,1→92	25	14	312,1→236,1	14
68	Fenamifós	304,1[M+H] ⁺	304,1→216,9	30	35	304,1→201,9	24
69	Fenarimol	330,6[M+H] ⁺	330,6→267,6	30	25	330,6→80,8	24
70	Fenazaquina	307,2[M+H] ⁺	307,2→57,2	30	25	307,2→161	19
71	Fenbuconazol	336,8[M+H] ⁺	336,8→69,8	30	20	336,8→124,7	25
72	Fenhexamida	301,9[M+H] ⁺	301,9→96,8	35	40	301,9→55	25
73	Fenoxicarbe	302,1[M+H] ⁺	302,1→88	20	18	302,1→115,9	12

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Transição Quantificação	Cone	Colisão (eV)	Transição Confirmação	Colisão (eV)
74	Fenpiroximato	422,3[M+H] ⁺	422,3→366,1	30	17	422,3→134,9	31
75	Fenpropimorfe	304,2[M+H] ⁺	304,2→147	45	25	304,2→130	31
76	Fentiona	279 [M+H] ⁺	279→168,9	25	25	279→104,9	18
77	Fentiona sulfóxido	294,7[M+H] ⁺	294,7→108,9	30	30	294,7→279,7	15
78	Fentoato	320,8[M+H] ⁺	320,8→162,8	20	10	320,8→247	10
79	Fluazifope-P-butilico	384[M+H] ⁺	384→282	25	25	384→328	20
80	Flufenacete	364,1[M+H] ⁺	364,1→193,9	20	18	364→151,9	10
81	Fluquinconazol	375,7[M+H] ⁺	375,7→ 348,8	35	40	375,7→107,9	20
82	Flusilazole	316,1[M+H] ⁺	316,1→247	35	25	316,1→165	18
83	Flutriafol	302,1[M+H] ⁺	302,1→70,1	25	16	302,1→122,9	30
84	Fosalona	368[M+H] ⁺	368→182	25	45	368→111	15
85	Fosmete	317,9[M+H] ⁺	317,9→159,9	20	40	317,9→132,9	20
86	Fostiazato	284,1[M+H] ⁺	284,1→103,9	20	22	284,1→227,8	10
87	Furatiocarbe	383,2[M+H] ⁺	383,2→194,9	25	18	383,2→252	12
88	Halofenosideo	330,7[M+H] ⁺	330,7→274,7	10	20	330,7→105	5
89	Hexaconazol	314[M+H] ⁺	314→70	30	20	314→159	40
90	Hexitiazoxi	352,8[M+H] ⁺	352,8→227,8	20	25	352,8→167,8	15
91	Imazalil	297,1[M+H] ⁺	297,1→69,1	35	18	297,1→158,9	24
92	Imidacloprido	256,1[M+H] ⁺	256,1→174,9	25	20	256,1→209	12
93	Indoxacarbe	528,1[M+H] ⁺	528,1→202,9	30	40	528,1→217,9	25
94	Iprovalicarbe	321,2[M+H] ⁺	321,2→118,9	20	18	321,2→203	10
95	Isoprotilolona	291,1[M+H] ⁺	291,1→188,8	20	22	291,1→230,9	12
96	Isoxaflutol	359,5[M+H] ⁺	359,5→250,6	20	35	359,5→220	15
97	Isoxationa	313,7[M+H] ⁺	313,7→104,7	20	15	313,7→285,5	10
98	Linurom	249[M+H] ⁺	249→159,9	20	20	249→181,9	16
99	Malationa	331[M+H] ⁺	331→126,9	20	25	331→98,9	12
100	Mefenacete	299,1[M+H] ⁺	299,1→147,9	20	25	299,1→119,1	16
101	Mefosfolan	270[M+H] ⁺	270→139,8	35	25	270→195,9	14
102	Mepanipirim	224,1[M+H] ⁺	224,1→106	40	25	224,1→77	40
103	Mepronil	270,1[M+H] ⁺	270,1→118,9	30	40	270,1→91	25
104	Metalaxil	280,1[M+H] ⁺	280,1→220	25	18	280,1→192	12
105	Metamidofós	141,9[M+H] ⁺	141,9→93,9	30	12	141,9→124,8	14
106	Metconazol	320,1[M+H] ⁺	320,1→70,1	35	18	320,1→124,9	40
107	Metidationa	303[M+H] ⁺	303→84,9	20	22	303→144,8	12
108	Metiocarbe	226,1[M+H] ⁺	226,1→121	20	20	226,1→168,9	10
109	Metiocarbe sulfóxido	242,1[M+H] ⁺	242,1→184,9	25	30	242,1→122	14
110	Metobromuron	258,5[M+H] ⁺	258,5→147,7	20	15	258,5→169,6	20
111	Metomil	162,9[M+H] ⁺	162,9→105,9	15	10	162,9→88	10
112	Metoxifenoazida	368,8[M+H] ⁺	368,8→148,7	15	15	368,8→312,8	10
113	Metoxuron	229[M+H] ⁺	229→72	20	18	229→156	25
114	Mevinfós	225[M+H] ⁺	225→193	20	15	225→127	10
115	Miclobutanil	289,1[M+H] ⁺	289,1→70,1	30	18	289,1→124,9	30
116	Monocrotofós	224[M+H] ⁺	224→126,8	20	14	224→97,9	16
117	Monolinurom	214,6[M+H] ⁺	214,6→147,7	25	15	214,6→99	35
118	Nitenpiram	270,5[M+H] ⁺	270,5→225	20	10	270,5→125,6	25
119	Nuarimol	315,1[M+H] ⁺	315,1→252	35	22	315,1→81	25
120	Ometoato	214[M+H] ⁺	214→124,8	25	22	214→182,8	10
121	Oxadixil	279,1[M+H] ⁺	279,1→219	20	25	279,1→132,3	12
122	Oxamil	237[M+NH ₄] ⁺	237→72	15	10	237→90	10
123	Oxamil-oxima	162,9[M+H] ⁺	162,9→72	20	12	162,9→89,9	
124	Oxicarboxina	268,1[M+H] ⁺	268,1→174,8	20	16	268,1→147	15
125	Paclobutrazol	294,1[M+H] ⁺	294,1→70	30	18	294,1→124,9	35

Tabela S1: Continuação

Nº	Agrotóxico	Íon precursor	Transição Quantificação	Cone	Colisão (eV)	Transição Confirmação	Colisão (eV)
126	Pencicuron	329,1[M+H] ⁺	329,1→124,9	30	30	329,1→218	16
127	Penconazol	284[M+H] ⁺	284→159	30	30	284→70	16
128	Picoxistrobina	368,1[M+H] ⁺	368,1→144,9	15	25	368,1→204,9	10
129	Pimetrozina	218,1[M+H] ⁺	218,1→104,9	30	35	218,1→78,3	18
130	Piperonil butóxido	356,3[M+NH ₄] ⁺	356,3→176,9	20	37	356,3→119	11
131	Piraclostrobina	388,1[M+H] ⁺	388,1→163	25	25	388,1→193,9	12
132	*Piraclostrobina metabólito	358	358→132	23	30	358→163,5	10
133	Pirazofós	374[M+H] ⁺	374→222	40	35	374→194	20
134	Piridafentiona	341,1[M+H] ⁺	341,1→188,9	35	40	341,1→92	25
135	Piridato degração	206,5	206,5→104	50	20	206,5→68	30
136	Pirifenox	295,1[M+H] ⁺	295,1→92,9	35	40	295,1→66,1	40
137	Pirimicarbe	239,1[M+H] ⁺	239,1→72	30	20	239,1→182	16
138	Pirimicarbe desmetil	225,1[M+H] ⁺	225,1→72	25	16	225,1→168	20
139	Pirimifós-etílico	333,5[M+H] ⁺	333,5→197,7	35	25	333,5→305,5	18
140	Pirimifós-metílico	306,1[M+H] ⁺	306,1→107,9	30	40	306,1→67,1	30
141	Piriproxifem	322,2[M+H] ⁺	322,2→95,9	25	15	322,2→184,9	23
142	Procloraz	376[M+H] ⁺	376→308	20	15	376→266	15
143	Profenofós	374,8[M+H] ⁺	374,8→304,6	25	20	374,8→346,7	15
144	Propargito	368,3 [M+NH ₄] ⁺	368,3→231,1	20	15	368,3→175	11
145	Propiconazol	342,1[M+H] ⁺	342,1→158,9	35	20	342,1→69,1	30
146	Propizamida	255,6[M+H] ⁺	255,6→189,6	25	25	255,6→172,6	15
147	Propoxur	210,1[M+H] ⁺	210,1→10,9	15	25	210,1→92,9	12
148	Quinalfós	298,8 [M+H] ⁺	298,8→162,8	25	20	298,8→146,8	25
149	Tebuconazol	307,8[M+H] ⁺	307,8→124,7	30	20	307,8→69,9	35
150	Tebufenozida	352,8[M+H] ⁺	352,8→132,9	10	20	352,8→296,8	10
151	Tebufenpirade	334,2[M+H] ⁺	334,2→116,9	45	35	334,2→144,9	25
152	Terbufós	289[M+H] ⁺	289→103	10	10	289→57	10
153	Tetraconazol	372[M+H] ⁺	372→158,9	35	22	372→70,1	35
154	Tiabendazol	202[M+H] ⁺	202→174,9	45	30	202→130,9	25
155	Tiacloprido	253[M+H] ⁺	253→125,8	35	40	253→90	20
156	Tiametoxam	292,1[M+H] ⁺	292,1→210,9	20	22	292,1→180,9	12
157	Tiobencarbe	257,5[M+H] ⁺	257,5→124,2	20	18	257,5→100	10
158	Tiodicarbe	355[M+H] ⁺	355→87,9	20	16	355→107,9	16
159	Tiofanox sulfona	268,1[M+NH ₄] ⁺	268,1→76	10	10	268,1→57,2	10
160	Tiofanox sulfóxido	251,6[M+NH ₄] ⁺	251,6→234,7	10	10	251,6→178	5
161	Tolclofós metílico	301[M+H] ⁺	301→125	30	20	301→175	25
162	Tolifluanida	363,5[M+NH ₄] ⁺	363,5→136,7	15	25	363,5→238	10
163	Triadimefom	294,1 [M+H] ⁺	294,1→69,1	30	16	294,1→197	20
164	Triadimenol	296,1[M+H] ⁺	296,1→70	15	10	296,1→99	14
165	Triazofós	314,1[M+H] ⁺	314,1→161,9	25	35	314,1→118,9	18
166	Triciclazol	189,9[M+H] ⁺	189,9→162,9	40	25	189,9→136	22
167	Triclorfon	256,9[M+H] ⁺	256,9→108,8	25	20	256,9→126,8	18
168	Trifloxistrobina	409,2[M+H] ⁺	409,2→185,9	25	40	409,2→145	14
169	Triflumizol	346,1[M+H] ⁺	346,1→278	15	18	346,1→73,1	10
170	Triticonazol	317,7[M+H] ⁺	317,7→69,8	20	35	317,7→125	20
171	Vamidotiona	287,7[M+H] ⁺	287,7→145,8	20	25	287,7→117,5	12
172	Zoxamida	336[M+H] ⁺	336→186,9	30	40	336→158,9	25

Tabela S2: Representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite e solvente para os S174 agrotóxicos avaliados. Resíduos heterocedástico, sem EM.

Agrotóxico	n	R2.Solvente	R2 matriz	Equação da reta solvente	Equação da reta matriz
Abamectina	5	0,992	0,980	$y=135732,39x-439,74$	$y=89875,97x+664,$
Acefato	5	1,000	1,000	$y=4586352,92x+1918,19$	$y=4170971,6857x+4888,94$
Acetamiprido	5	0,997	0,997	$y=3624192,37x-2219,28$	$y=3595880,73 x+2578,36$
Aldicarbe sulfoxido	5	1,000	0,999	$y=2773422,67x+461,30$	$y=2679044,6892x+1561,28$
Azaconazol	5	0,999	0,999	$y=2329794,37x-550,20$	$y=2290215,34x+850,67$
Bromuconazol isomeros	5	0,996	0,994	$y=464983,85x+132,61$	$y=470981,24x+82,99$
Carbaril	5	1,000	0,999	$y=4550797,82x-388,88$	$y=4544474,99x+494,74$
Cadusafós	5	0,976	0,960	$y=325202,68x-2600,09$	$y=155511,99x+1785,42$
Carbosulfano	4	0,994	0,994	$y=3142445,5893x+6162,0657$	$y=2416140,8883+2858,0816$
Cimoxanil	5	0,995	0,995	$y=1911565,94x-120,58$	$y=1850724,6425x+569,16$
Ciproconazol isomeros	5	0,923	0,996	$y=142389,48x+467,10$	$y=1545095,7525x+211,99$
Clotianidina	5	0,997	0,997	$y=630405,60x+0,78$	$y=635323,84x-108,88$
Cresoxim metilico	5	0,882	0,956	$y=161131,57x+1754,46$	$y=393963,1806x-3478,8849$
Clorbromuron	5	0,999	0,998	$y=1189786,06x+881,78$	$y=1182688,14x+1396,97$
Demeton-s-metilico	5	1,000	0,999	$y=2333909,46x+1337,58$	$y=2357394,18x+2487,73$
Diclorvós	5	0,995	0,993	$y=491533,50x-802,40$	$y=440642,76x-667,30$
Dicrotófos	5	0,999	0,999	$y=4185184,22x+260,26$	$y=4285904,21x-907,70$
Dietofencarbe	5	0,999	0,999	$y=4904372,39x+1576,68$	$y=5004013,66x+2633,88$
Difenoconazol	5	0,994	0,995	$y=3506601,64-8055,32$	$y=2021371,00x+26622,38$
Dimetoato	5	0,998	0,999	$y=4150078,80x-1426,47$	$y=4257124,41x-528,85$
Dimetomorfe isômeros	5	0,996	0,994	$y=2574078,21x-149,24$	$y=2619190,65x-864,64$
Epoxiconazol	5	0,997	0,997	$y=2309806,34x-238,29$	$y=2280662,74x-1388,84$
Espinosade	5	0,998	0,998	$y=11681290,77x-12824,88$	$y=11163891,04x+2628,09$
Espiroxamina	5	0,953	0,976	$y=6425104,94x+48362,82$	$y=12185808,01x-67781,80$
Etiofencarbe sulfona	5	0,999	0,999	$y=6761793,95x+415,41$	$y=6653163,00x+961,65$
Etiona	5	0,999	0,999	$y=5533640,40x+3898,75$	$y=4765828,96x+10020,00$
Etoprofós	5	0,988	0,992	$y=3236565,26x+3738,51$	$y=4349965,33x-16102,79$
Fenarimol	5	0,980	0,970	$y=198465,98x-175,67$	$y=203066,73x-183,25$
Fenhexamida	5	0,984	0,994	$y=1337002,50x+609,62$	$y=1313634,61x+977,30$
Fenpoximato	5	0,997	0,997	$y=3852551,42x+1177,96$	$y=4063964,51x+3035,82$
Flufenacete	5	0,996	0,985	$y=6899538,52x-7414,44$	$y=5096106,05x+31900,20$
Flutriafol	5	0,999	0,988	$y=1354806,60x-592,49$	$y=1363169,74x-3197,67$
Furatiocarbe	5	0,999	0,998	$y=5576516,97x-181,79$	$y=5455504,62x+2649,05$
Indoxacarbe	5	0,974	0,958	$y=409509,39x+41,49$	$y=334690,57x+3593,83$

Tabela S2: Continuação

Agrotóxico	n	R2 Solvente	R2 matriz	Equação da reta solvente	Equação da reta matriz
Iprovalicarbe isômeros	5	0,998	0,999	$y=6424211,66x+9380,09$	$y=6437214,12x+4716,30$
Isoxaflutol	5	0,997	0,996	$y=494384,29x-132,23$	$y=511640,11x-409,64$
Linurom	5	0,998	0,998	$y=1743715,61x-476,33$	$y=1684181,94x+1682,97$
Malationa	5	0,997	0,990	$y=6978347,73x-6153,34$	$y=6847481,74x+124,01$
Mefosfolan	5	0,999	0,998	$y=1467161,68x-1779,23$	$y=1293322,84x+1158,90$
Meipanipirim	5	0,999	0,998	$y=3116060,42x-785,27$	$y=3106893,38x+2999,89$
Mepronil	5	0,999	0,999	$y=10977673,65+5372,05$	$y=11009937,41+3724,22$
Metiocarbe	5	1,000	0,999	$y=8076445,25x+2336,97$	$y=8183866,53x+3972,20$
Metiocarbe Sulfóxido	5	0,999	0,995	$y=6519381,18x-4044,31$	$y=6237343,28x+6334,30$
Metoxuron	5	0,998	0,999	$y=4215706,65x-3230,82$	$y=4186347,85x+1576,18$
Metoxifenovida	5	0,998	0,996	$y=5127401,03x-1546,39$	$y=5148365,46x-433,79$
Miclobutanil	5	0,997	0,995	$y=1503991,16x-518,30$	$y=1401899,13x+1062,25$
Monocrotofós	5	0,999	0,997	$y=3446482,51x-1100,40$	$y=3348543,37x+2718,49$
Monolinuron	5	0,999	0,998	$y=1728586,64x+406,38$	$y=1713358,17x+1155,05$
Nitenpiran	5	0,998	0,999	$y=505964,02x-360,86$	$y=486168,45+108,67$
Ometoato	5	0,999	0,999	$y=2117984,12x+274,38$	$y=2017836,06x+497,01$
Oxicarboxina	5	0,999	0,998	$y=4234209,29x-866,07$	$y=4199952,70x+239,84$
Oxamil	5	0,996	0,996	$y=1098897,30x+323,52$	$y=1173795,1446x+197,33$
Paclobutrazol	5	0,997	0,997	$y=2577478,60x+50,39$	$y=2530340,55x+1277,87$
Penconazol	5	0,700	0,762	$y=1511223,53x-5323458,89$	$y=216324,20x+8168,90$
Pencicurom	5	0,911	0,947	$y=494831,14x+6473,25$	$y=1403261,93x-14057,03$
Picoxistrobina	5	0,942	0,967	$y=413151,22x+6302,58$	$y=1124945,45x-10172,97$
Pimetrozina	5	0,998	0,995	$y=615506,100-518,16$	$y=576100,48x+65,46$
Piperonil butóxido	5	0,999	0,999	$y=12400236,95x+9588,02$	$y=12038809,04x+16102,24$
Pirazofós	5	0,868	0,946	$y=136549,77x+2963,11$	$y=603182,91x-7103,94$
Pirifenóis isômeros	5	0,996	0,996	$y=9311650,42x+14636,71$	$y=10852107,02x-15372,89$
Pirimicarbe Desmetil	5	0,998	0,997	$y=4884022,12x-21,25$	$y=4859139,45x+644,04$
Pirimifos Metílico	5	0,957	0,982	$y=189977,63x+1061,32$	$y=306975,81x-1314,98$
Piriproxifem	5	0,998	0,998	$y=11742838,10x+2508,90$	$y=10780626,15x+12701,94$
Profenofós	5	0,998	0,999	$y=3333645,16x+877,78$	$y=3135773,35x+3128,10$
Proparguito	5	0,998	0,997	$y=4185900,00x+4127,44$	$y=3228319,49x+12307,49$
Terbufós	5	0,990	0,994	$y=1918504,64x-5223,55$	$y=1653815,75x+435,52$
Tetraconazol	5	0,986	0,955	$y=1130490,00x+6356,98$	$y=1384665,87x-1284,39$
Tiabendazol	5	0,994	0,997	$y=5991111,85x-7632,49$	$y=5880117,67x+6645,36$
Tiacloprido	5	0,999	0,998	$y=6519292,91x-4,91$	$y=639647,39x+2914,82$
Tiametoxam	5	0,997	0,999	$y=2424114,2095x-5974,86$	$y=2346409,82x+1946,64$
Triadimefon	5	0,992	0,998	$y=129843751x+1319,39$	$y=1363089,90x+65,60$
Triazofós	5	0,997	0,995	$y=12492978,20x+7501,23$	$y=12851347,89x-1243,09$
Triciclozol	5	0,999	0,999	$y=5199168,72x+351,73$	$y=5255206,30x+1708,32$
Trifloxistrobina	5	0,973	0,968	$y=7487274,29x-5420,69$	$y=7100513,75x+14525,10$
Zoxamida	5	0,950	0,868	$y=545201,9906x + 8523,8407$	$y=212543,2470x - 1598,1869$

Tabela S3: Representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite e solvente para os S174 agrotóxicos avaliados. Resíduos com caráter homocedástico, sem EM apresentando.

Agrotóxico	n	R2.Solvente	R2 matriz	Equação da reta solvente	Equação da reta matriz
Aldicarbe	5	0,992	0,994	$y=375122,2719x-102,2447$	$y=374454,9724x - 193,9672$
Carbofurano	5	0,998	0,998	$y=4948456,63x-8626,94$	$y=4632258,88x-2208,41$
Carpropamida	5	0,977	0,974	$y=551711,96x+5905,27$	$y=943672,67x-5053,77$
Ciazofamida	5	0,963	0,986	$y=3595423,46x-4190,84$	$y=3089434,8270x+14793,47$
Ciprodinil	5	0,969	0,908	$y=230010,92x-236,30$	$y=142697,22x+1589,79$
Ciromazina	5	0,998	0,975	$y=1325594,83x-553,42$	$y=705041,00x+3317,18$
Clorpirifós	5	0,998	0,999	$y=1297324,30x+796,93$	$y=982704,10x+4389,53$
Clorfenvinfós isomeros	5	0,936	0,825	$y=205671,47x-104,87$	$y=85081,08x+1595,62$
3-OH-carbofurano	5	0,998	0,997	$y=1697016,07x-203,87$	$y=1767875,87x-726,64$
Deltametrina	5	0,995	0,982	$y=429245,27x-343,57$	$y=159203,24x+2584,46$
Desmedifan	5	0,999	0,999	$y=5968819,90x+1533,78$	$y=5967580,64x+3472,84$
Diazinona	5	0,965	0,982	$y=480188,36x-1835,76$	$y=341400,87x+1384,28$
Diclofuanida	5	0,993	0,997	$y=1071451,76x+1111,68$	$y=1109063,90x+1976,46$
Dimoxistrobina	5	0,972	0,961	$y=232270,66x-795,22$	$y=130717,84x+1817,00$
Diuron	5	0,998	0,999	$y=2875027,09x+1643,14$	$y=2870700,2711x+1398,46$
Dodemorfe	5	0,992	0,999	$y=12774422,75x-2310,55$	$y=12137240,28x+15091,85$
Etiofencarbe sulfona	5	0,999	0,999	$y=6761793,95x+415,41$	$y=6653163,00x+961,65$
Etiofencarbe sulfóxido	5	0,999	0,999	$y=456042221,59x-4803,27$	$y=46087029,39x-2911,11$
Etiprole	5	0,997	0,995	$y=599239,78x+713,90$	$y=562536,01x+673,39$
Etirimol	5	0,991	0,994	$y=3819665,29x+10635,81$	$y=3917100,66x+4575,63$
Etofenproxi	5	0,996	0,988	$y=4827795,98x-15636,20$	$y=1395569,05x+24528,32$
Etrinifós	5	0,969	0,942	$y=234528,26x-286,18$	$y=177902,56x+841,93$
Fenamidona	5	0,998	0,998	$y=1757271,99x+29,17$	$y=1794824,45x-483,96$
Fenamifós	5	0,972	0,965	$y=311232,16x-1298,96$	$y=190502,62x+1561,74$
Fenzaquina	5	0,998	0,996	$y=7157589,83x-6627,55$	$y=5524364,08x+11322,35$
Fenbuconazol	5	0,589	0,935	$y=30771,3003x +732,6802$	$y=47763,9573x = 19,7326$
Fenpropimorfe	5	0,998	0,999	$y=9232749,59x-6187,87$	$y=7652883,13x+21049,37$
Fentiona	5	0,853	0,983	$y=42386,02x+792,24$	$y=79612,12x-584,72$
Fluazifope-p-butílico	5	0,998		$y=5462817,93x+5033,28$	$y=5279838,53x+6498,18$
Fluquinconazol	5	0,984	0,958	$y=612031,94x-44,56$	$y=635538,98x-2256,39$
Flusilazol	5	0,873	0,966	$y=933527,05x+11108,14$	$y=892937,15x+4245,77$
Fenoxicarbe	5	0,614	0,883	$y=1594672,05x-21342,81$	$y=348841,41x+7793,53$
Fosmete	5	0,998	0,999	$y=5639869,47x-5343,14$	$y=5561010,26x-2399,42$
Halofenosídeo	5	0,997	0,998	$y=1846372,43x+500,25$	$y=1900490,79x+582,16$
Hexitiazoxi	5	0,995	0,992	$y=1719714,38x+632,12$	$y=1390367,07x+1363,11$

Tabela S3: Continuação

Agrotóxico	n	R2.Solvente	R2 matriz	equação da reta solvente	equação da reta matriz
Imidacloprido	5	0,996	0,994	$y=505870,59x+169,77$	$y=519303,70x-18,33$
Isoprotiolona	5	0,998	0,998	$y=5832309,94x+1197,64$	$y=5851078,68x+3094,83$
Mefenacete	5	0,997	0,998	$y=8483038,63x+3566,55$	$y=8670619,04x-1149,48$
Metalaxil	5	0,999	0,999	$y=5086565,59x+3211,02$	$y=5162417,62x+2206,38$
Metamidofós	5	0,999	0,997	$y=2784905,26x-7045$	$y=2158639,93x+2935,73$
Metidationa	5	0,999	0,999	$y=4417901,50-291,48$	$y=4359711,46+1970,21$
Metobromuron	5	0,999	0,999	$y=1364655,56x+294,09$	$y=1374237,67+793,78$
Metomil	5	0,999	0,999	$y=2274440,42x-1986,58$	$y=2362198,73x-74,76$
Mevinfós isômeros	5	0,999	0,998	$y=2695906,55x+973,23$	$y=2606064,42x+1950,03$
Nuarimol	5	0,996	0,994	$y=320,625,10x+393,16$	$y=340671,48x-184,90$
Oxadixil	5	0,996	0,999	$y=5416564,04x-2382,84$	$y=5466146,19x+523,49$
Oxamil oxina	5	0,999	0,999	$y=582058,88x+403,60$	$y=1549352,22+1901,676$
Piractostrobina	5	0,929	0,936	$y=145164,6565x-28842$	$y=115611,73x+871,57$
Piridafentiona	5	0,996	0,998	$y=4401445,26x-64,333$	$y=4478066,15+231,52$
Pirimicarbe	5	0,999	0,999	$y=8291871,66x+2164,03$	$y=84112231,24x+22,97$
Propiconazol	5	0,950	0,886	$y=545201,9906x + 8523,8407$	$y= 104062,1482x + 1113,4822$
Procloraz	5	0,897	0,889	$y=107804,24x+72,74$	$y=88048,63x+591,36$
Propizamida	5	0,991	0,999	$y=2101465,14x+738,30$	$y=2165217,17x-580,54$
Proporxur	5	0,998	0,998	$y=2944158,28x-5226,18$	$y=2818767,31x-6539,85$
Quinalfós	5	0,766	0,971	$y=238947,52x+1198,77$	$y=190711,24x+2065,95$
tebuconazol	5	0,950	0,886	$y=54521,9906x + 8523,8407$	$y=104062,1482x + 1113,4822$
Tebufenosida	5	0,954	0,941	$y= 185841,577x+571,38$	$y=129,334,79x+1695,60$
Tembufenpirade	5	0,998	0,998	$y=1821494,44x-280,5697$	$y=16111218,03x+3306,14$
Tiobencarbe	5	0,983	0,971	$y=91525,1767x+1168,09$	$y=225120,58x-1134,65$
Tiodicarbe	5	0,999	0,999	$y=1519984,18x-369,35$	$y=1476241,04x+284,48$
Tiofanox Sulfona	5	0,999	0,998	$y=1138580,28x-508,57$	$y=1123992,95x-229,15$
Tiofanox sulfóxido	5	0,998	0,997	$y=2172187,88x-3562,32$	$y=2249009,35x-2037,84$
Tolifluamídeo	5	0,967	0,858	$y=88030,27x-155,90$	$y=56977,71x+581,54$
Triadmenol	5	0,996	0,995	$y=409814,71x+131,04$	$y=418303,89x-392,52$
Triticonazol	5	0,971	0,997	$y=735783,42x+2106,23$	$y=944026,51x-362,24$
Triclorfon	5	0,999	0,999	$y=1277430,92x-103,20$	$y=1259141,41x+928,09$
Triflumizol	5	0,992	0,998	$y=6815068,33x-2986,13$	$y=6610171,45x+1908,03$
Vamidotiona	5	1,000	0,999	$y=6802657,93x+54,55$	$y=6810324,80x+4262,36$

Tabela S4: Representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite e solvente para os S174 agrotóxicos avaliados. Resíduos heterocedástico COM EM.

Agrotóxico	n	R2. Solvente	R2 Matriz	Equação da reta solvente	Equação da reta matriz
Carbendazim	3	0,023	0,992	$y=2523213,23x+769309,97$	$y=9011880,95x+32947,62$
Tolclofós					$y=12158,7374x$
Metílico	5	0,489	0,393	$y=12408,0741 +361,4129$	$+221,7224$

Tabela S5: Representação da equação da reta e regressão, coeficientes de determinação para as faixas de trabalho estudadas e avaliação da homogeneidade da variância dos resíduos da regressão da curva analítica no extrato orgânico em leite e solvente para os S174 agrotóxicos avaliados Resíduos Homocedástico COM EM

Agrotóxico	n	R2. Solvente	R2 matriz	Equação da reta solvente	Equação da reta matriz
Coumafós	5	0,846	0,975	$y=189007.7152x+2642,7631$	$y=696493,0428x-4806,9450$
Dissulfotom	5	0,898	0,999	$Y=56883,8023x+1671,2707$	$y=12137240,28x+15091,85$
Imazalil	5	0,973	0,973	$y=164905,83x+793,57$	$y=751476,74x-6389,68$
Isoxationa	5	0,660	0,966	$y=1866214,89x-21573,33$	$y=512591,46x+6457,89$
Metconazol isômeros	5	0,923	0,965	$y=107198,33x-936,06$	$y=85711,19x+288,11$

Tabela S6: Diferentes tratamentos de limpeza SPE-D estudados no método QuEChERS

Agrotóxicos	Tratamentos (%)										
	J	I	G	H	L	A	B	C	D	E	F
H-Carbofurano	85	73	99	108	91	95	72	77	74	95	84
Abamectina	84	35	105	101	86	96	76	38	46	77	100
Acefato	60	19	121	101	84	79	43	45	60	137	121
Acetamiprido	77	68	101	101	81	91	72	71	71	94	90
Aldicarbe	76	76	87	91	83	96	67	58	70	91	88
Aldicarbe sulfona	66	70	89	101	75	82	63	53	51	92	79
Aldicarbe sulfoxido	78	64	83	79	92	89	72	70	67	107	91
Ametrina	77	53	95	104	87	90	71	71	62	88	90
Atrazina	75	59	99	99	84	88	72	70	66	87	90
Azaconazol	75	66	99	102	71	82	73	76	61	91	91
Azametifós	78	61	120	113	73	89	73	68	67	94	93
Azinfos etílico	78	45	102	96	70	80	69	77	60	84	89
Azinfos metílico	76	55	95	104	82	90	72	72	65	93	90
Azoxistrobina	80	48	99	106	85	90	81	70	66	91	93
Benalaxil	191	54	126	83	0	79	63	71	71	126	103
Bitertanol	P	P	P	83	P	Problemas nos tratamentos					
Boscalida	80	46	103	109	70	87	70	73	66	90	86
Bromuconazol	98	70	101	75	90	73	89	74	51	144	173
Bupirinato	59	83	121	129	5	73	92	72	54	104	73
Buprofezina	74	35	85	95	76	91	64	68	50	94	79
Butocarboxim	Problemas em todos os tratamentos										
Butocarboxim sulfóxido	64	73	81	67	88	80	66	69	70	91	86
Cadusafós	69	48	111	235	17	79	93	21	95	146	115
Carbaril	79	66	95	106	89	89	71	75	71	92	91
Carbendazim	83	117	143	524	110	66	87	27	68	27	656
Carbofurano	85	58	82	89	84	87	74	63	62	93	83
Carbosulfano	P	3	13	P	70	213	36	31	13	P	P
Carpropamida	85	56	102	99	110	108	47	124	83	93	88
Cartape hidroclorídrico	Problemas em todos os tratamentos										
Ciazofamida	90	46	90	118	60	97	60	144	78	127	67
Cimoxanil	83	72	92	121	90	105	74	76	72	90	90
Ciproconazol (2 isômeros)	82	56	100	94	42	95	77	82	59	94	94
Ciprodinil	191	P	72	91	Problemas nos tratamentos						
Ciromazina	45	53	25	15	56	65	51	43	47	68	45
Clofentezina	Problemas em todos os tratamentos										
Clorbromuron	76	54	96	99	77	88	72	70	61	89	88
Clorfenvinfós	61		P	P	38						
Clorpirifós	68	31	79	92	67	85	54	68	51	80	82

Tabela S6: Continuação

Agrotóxicos	Tratamentos (%)										
	J	I	G	H	L	A	B	C	D	E	F
Clotianidina	69	67	91	84	62	92	71	88	76	92	86
Coumafós	88	34	125	270	17	89	48	52	53	261	253
Cresoxim metílico	86	Problemas nos tratamentos									
Dazomete	Problemas em todos os tratamentos										
Demeton-S-metílico		17	100	105	92	111	56	167	83	97	70
Deltametrina	72	66	78	85	96	90	69	61	63	93	89
Desmedifan	79	55	98	104	88	90	72	70	69	91	90
Diazinona	83	40	103	94	706	Problemas nos tratamentos					
Diclofuanida	71	60	56	87	91	79	68	14		93	75
Diclorvós	51	76	0	106	77	81	51	34	32	73	78
Dicrotofós	72	52	91	89	135	91	68	68	29	96	88
Dietofencarbe	78	46	96	103	81	88	78	79	71	94	90
Difenoconazol	83	72	96	100	72	84	67	76	67	86	82
Dimetoato	79	51	95	107	90	90	70	66	53	100	96
Dimetomorfe (2 isômeros)	78		100	114	73	97	80	63	69	106	89
Dimoxistrobina	82	P	110	134					66	P	P
Diniconazol	P	P	P	31	P	P	P				
Dissulfotom	52	Problemas nos tratamentos									
Diuron	86	63	99	101	79	90	73	73	65	96	92
Dodemorfe (2 isômeros)	77	36	96	100	72	102	69	67	64	96	87
EPN	Problemas em todos os tratamentos										
Epoconazol	93	58	92	101	61	89	81	80	69	105	81
Espinosade A	83	33	101	107	86	91	81	64	69	90	92
Espinosade D	90	29	94	110	80	92	84	67	63	93	94
Espiroxamina (2 isômeros)	85	54	74	92	105	132	92	53	73	130	89
Etiofencarbe sulfona	76	64	96	95	68	84	77	76	71	93	92
Etiofencarbe sulfóxido	104	86	93	96	92	91	77	90	94	91	94
Etiona	76	33	90	98	80	91	65	80	55	89	87
Etiprole	79	40	110	110	84	81	76	74	53	75	115
Etirimol	75	71	109	111	81	98	68	77	67	79	115
Etofenproxi		37	52	69	93	139	437	245	109	124	134
Etoprofós	71	60	86	89	76	80	60	74	68	74	105
Etrinós	79	P	88	92	Problemas nos tratamentos						91
Famoxadona	P	116	90	50	0	123	130	26	70	104	95
Fenamidona	73	43	97	102	74	82	78	73	56	99	91
Fenamifós	83	65	93	167	450	71	73	165	78	96	109
Fenarimol	92	54	97	83	66	103	72	91	75	128	129
Fenazaquina	63	28	83	89	63	81	60	68	40	80	74
Fenbuconazol	P	8	146	0	0	222	55	159	123	40	156
Fenhexamida	82	67	108	62	89	88	69	64	60	95	75
Fenoxicarbe	76	87	112	125	32	100	92	42	72	77	88

Tabela S6: Continuação

Agrotóxicos	Tratamentos (%)										
	J	I	G	H	L	A	B	C	D	E	F
Fenpiroximato	67	27	91	99	71	85	63	78	48	87	81
Fenpropimorfe	83	33	82	93	65	95	64	45	42	92	80
Fentiona	45	P	50	61	Problemas nos tratamentos						
Fentoato	66	P	P	141	Problemas nos tratamentos						
Fluazifope-p-butilico	78	35	93	99	70	92	70	81	55	89	87
Flufenacete	75	42	96	104	79	89	74	66	68	93	96
Fluquinconazol	77	47	110	100	54	122	73	71	50	114	63
Flusilazol	49	79	88	126	18	124	117	40	77	70	81
Flutriafol	79	61	101	106	71	84	76	69	68	88	89
Fosalona	81		147	0	31						
Fosmete	83	24	101	100	80	91	61	65	63	101	93
Furatiocarbe	83	38	96	99	71	86	72	68	58	90	87
Halofenosídeo	82	55	99	106	78	91	73	78	67	100	95
Hexaconazol	110	Problemas nos tratamentos									
Hexitiazoxi	83	35	89	64	69	80	67	63	61	61	66
Imazalil	66	Problemas nos tratamentos									
Imidacloprido	77	70	114	100	93	85	81	70	61	112	86
Indoxacarbe	77	70	113	101	70	84	72	80	64	84	91
lprovalicarbe	84	49	97	102	79	94	70	77	61	96	96
Isoprotiolona	87	51	97	111	77	82	75	80	66	93	85
Isoxaflutol	56	43	86	83	75	87	56	34	41	91	86
Isoxationa	77	P	P	118	Problemas nos tratamentos						
Linurom	82	59	104	111	90	90	69	72	70	98	93
Malationa	83	51	100	104	82	91	72	72	61	91	91
Mefenacete	88	60	97	110	86	84	76	69	59	86	94
Mefosfolan	78	70	104	109	92	84	77	75	72	95	95
Mepanipirim	83	52	94	97	87	88	67	62	58	87	84
Mepronil	84	50	97	105	85	91	72	79	65	93	87
Metalaxil	78	60	103	105	85	92	76	76	70	95	94
Metamidofós	60	69	67	51	84	61	61	66	63	75	77
Metconazol	109	P	101	102	Problemas nos tratamentos						
Metidationa	80	58	94	108	82	88	71	70	66	95	86
Metiocarbe	74	59	105	104	84	83	65	67	61	90	87
Metiocarbe sulfóxido	82	59	103	98	97	89	72	74	66	91	86
Metobromuron	79	64	99	110	85	90	70	77	69	97	88
Metomil	80	78	100	96	95	83	69	73	74	96	92
Metoxifenosida	81	49	103	83	79	90	76	83	69	95	96
Metoxuron	76	66	92	102	89	92	74	72	69	93	86
Mevinfós	74	67	100	96	96	88	69	61	67	95	95
Miclobutanil	89	57	100	105	72	93	72	77	63	87	97
Monocrotofós	72	74	105	97	89	84	75	79	70	91	88

Tabela S6: Continuação

Agrotóxicos	Tratamentos (%)										
	J	I	G	H	L	A	B	C	D	E	F
Monolinuron	77	66	93	97	83	89	70	74	64	93	88
Nitenpiran	48	59	85	76	65	92	63	54	56	82	85
Nuarimol	73	64	106	96	62	90	74	63	71	84	83
Ometoato	65	66	79	71	91	65	64	52	56	74	91
Oxadixil	74	68	101	105	91	90	76	75	72	91	88
Oxamil	73	72	106	105	93	93	68	31	33	98	93
Oxamil oxima	71	70	88	87	72	87	72	71	73	92	86
Oxicarboxina	81	71	93	100	75	93	70	74	69	92	94
Paclobutrazol	71	60	103	106	70	87	72	75	62	101	92
Pencicuum	68	35	72	100	44	92	70	47	45	70	104
Penconazol	59	Problemas nos tratamentos									
Picoxistrobina	50	32	88	97	21	112	98	46	65	101	84
Pimetrozina	59	65	65	69	39	77	64	69	62	80	94
Piperonil butóxido	79	41	94	101	88	89	69	68	57	94	92
Piraclostrobina	139	22	93	81	501	212	80	57	55	80	82
piraclostrobina metabólito	Problemas nos tratamentos										
Pirazofós	56	P	102	176	Problemas nos tratamentos						
Piridafentiona	85	53	97	111	81	93	75	70	66	87	80
Pirifenox (2 isômeros)	81	61	101	101	64	81	74	63	60	102	94
Pirimicarbe	81	69	93	91	91	87	70	75	73	94	91
Pirimicarbe desmetil	73	62	96	91	87	91	72	66	60	94	85
Pirimifos metílico	63	39	272	157	144	82	72	41	67	107	81
Piriproxifem	69	30	83	91	72	81	62	68	44	84	75
Procloraz	55	63	195	60	1118	135	57	98	70	108	115
Profenofós	75	44	88	102	71	83	65	71	61	82	88
Propargito	69	26	98	97	69	89	69	96	55	91	81
Propiconazol	84	52	111	120	224	61	63	149	55	101	173
Propizamida	79	47	100	86	88	82	68	73	67	95	77
Propoxur	74	67	82	116	111	76	72	68	69	85	100
Quinalfós	66	37	163	50	115	55	125	40	59	148	160
Tebuconazol	90	P	98	100	Problemas nos tratamentos						
Tebufenosida	84	52	135	102	880	87	63	185	59	145	96
Tebufenpirade	72	37	88	98	66	83	65	65	56	86	85
Terbufós	73	36	84	99	75	90	56	51	44	92	79
Tetraconazol	128	72	92	137	71	67	65	80	71	85	117
Tiabendazol	76	67	92	96	86	91	73	71	61	89	84
Tiacloprido	81	67	99	103	85	93	69	78	70	94	89
Tiametoxam	77	74	92	101	86	89	70	74	68	94	99
Tiobencarbe	82	P	51	93	Problemas nos tratamentos						
Tiodicarbe	29	58	92	102	76	94	77	63	63	97	91

Tabela S6: Continuação

Agrotóxicos	Tratamentos										
	J	I	G	H	L	A	B	C	D	E	F
Tiofanox sulfona	82	71	104	95	97	88	71	78	69	91	94
Tiofanox sulfóxido	75	71	104	85	96	86	75	78	75	97	91
Tolclofós metílico	30	P	82	142	41	Problemas nos tratamentos					
Tolifluanída	91	P	118	145	Problemas nos tratamentos						
Triadimefon	76	56	97	101	65	82	68	65	64	97	87
Triadimenol	85	55	116	84	75	110	66	62	72	97	61
Triazofós	86	55	95	105	81	92	72	69	65	92	91
Triciclozol	72	68	97	107	93	83	70	73	70	92	89
Triclorfon	79	64	91	98	75	80	73	78	69	95	95
Trifloxistrobina	106	42	100	101	82	87	72	83	62	97	87
Triflumizol	63	47	92	106	86	94	71	74	57	98	93
Triticonazol	95	63	85	117	67	74	72	87	57	81	114
Vamidotiona	71	71	103	100	93	87	77	76	70	90	90
Zoxamida	86	40	67	78	P	111	44	155	39	99	108

5.7 MANUSCRITO 7

“Estimativa do consumo de leite e produtos afins entre crianças caracterizando a presença de possíveis resíduos de agrotóxicos”.

Artigo científico de autoria de Lucia Helena Pinto Bastos et al., em elaboração a ser submetido à publicação da área de alimentos.

“Estimativa do consumo de leite e produtos afins entre crianças caracterizando a presença de possíveis contaminantes como agrotóxicos”.

Introdução

O leite assume importante papel na dieta devido ao alto valor biológico de seus nutrientes (proteínas, lipídios, glicídios, minerais e vitaminas). Entre esses nutrientes pode-se citar o cálcio, que além da importância na integridade óssea, participa da neurotransmissão, da contração muscular, da coagulação sanguínea e da regulação de enzimas como a tripsina (SANTOS et al., 2005) sendo importante o seu consumo, principalmente pelo público infantil. Do ponto de vista de saúde pública, ocupa destaque em nutrição humana constituindo um alimento essencial para todas as idades, sendo que para o recém-nascido o melhor leite é o materno (LEONARDI et al., 2011).

O leite é a melhor fonte de cálcio na alimentação. Nas fases pré-escolares (1 a 6 anos) e escolares (7 a 14 anos), o atendimento das necessidades de cálcio requer o consumo de três copos (600 mL) e (400 a 600 mL) de leite por dia, respectivamente. A necessidade diária de cálcio para os adolescentes de ambos os sexos é de 1300 mg, e entre idosos de 1200 mg, sendo as necessidades de cálcio para gestantes maiores: adolescentes grávidas, 1300 mg e gestantes adultas, 1000 mg (BRASIL, 2005).

A utilização indiscriminada de agrotóxicos em alimentos, na medicina veterinária, no tratamento de ectoparasitos, bem como a contaminação do meio ambiente, especificamente da água e dos pastos, têm provocado um aumento na quantidade de resíduos no leite. A contaminação alimentar tem sua origem nos tratamentos e produtos aplicados às plantas que podem ser contaminados através de pulverizações ou indiretamente através de produtos residuais no solo como herbicidas (combate ervas daninhas), nematicidas (combate nematóides) e acaricidas (combate ácaros) (BASTOS et al., 2011; GONZÁLEZ-RODRIGUES, et al., 2005).

Trabalho de Silva e colaboradores (2012) estudou um grupo de trabalhadores da pecuária leiteira e identificou o uso de grande número de agrotóxicos, como medicamentos veterinários e a ausência da percepção de risco à saúde no manuseio dos produtos e na contaminação do leite.

Outra fonte de contaminação são os domissanitários utilizados nos currais e estabelecimentos de produção leiteira. Para essas substâncias não existem Limites Máximos Residuais (LMRs) estipulados na legislação brasileira (ANVISA, 2013).

Os agrotóxicos podem deixar resíduos em alimentos gerando a necessidade do estabelecimento do LMR, esse é a quantidade máxima de um resíduo de agrotóxico, expresso em mg.kg^{-1} , que pode estar legalmente presente nos alimentos de origem vegetal e/ou animal, estabelecidos a partir de estudos de campo (BRASIL, 2002). Estudos fornecem dados de resíduos de agrotóxicos aos governos durante o processo de registro para subsidiar o estabelecimento de LMR nacionais, ou ao JMPR (*Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues*) para recomendação de LMR ao Codex Alimentarius (CODEX) ou em rações animais (JARDIM, CALDAS, 2009).

A competência para estabelecer LMRs em alimentos seja de agrotóxicos, medicamentos veterinários, contaminantes ou aditivos, são do Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). No caso destes não estarem estabelecidos por esse Ministério, utiliza-se os internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo CODEX, os constantes nas Diretivas da União Européia (EU) e os utilizados pelo FDA/USA (BRASIL, 1999).

Os critérios para estabelecer o LMR de resíduos de agrotóxicos em alimentos estão relacionados ao valor da IDA (ingestão diária aceitável) expressa em mg.kg^{-1} de peso corporal, que não pode ser ultrapassado, e a aplicação do agrotóxico, de acordo com as boas práticas agrícolas (BELTRANE; JUNIOR, 2005).

A legislação brasileira define “Dose diária aceitável ou ingestão diária como 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 agrotóxico por kg de peso corpóreo por dia ($\text{mg.kg}^{-1}.\text{pc}$)”. (JARDIM et al., 2009; WHO, 1997).

No Brasil a legislação de resíduos de agrotóxicos, para alimentação infantil, quanto a presença de resíduos de agrotóxicos, remete para a legislação específica do assunto, não sendo assim estabelecida uma condição mais preventiva. O CODEX na legislação específica para alimento infantil, no tópico 5.1. referente a resíduo de agrotóxicos fornece a seguinte informação:

“A produção de produtos para consumo infantil deverá ser elaborada considerando as boas práticas de fabricação, de modo que os resíduos de pesticidas que possam existir na produção, armazenamento ou processamento de matérias-primas não permaneçam no produto acabado, caso tecnicamente a presença desses resíduos seja inevitável deverão ser reduzido ao menor limite possível” (CODEX,1981) :

A legislação da comunidade Européia referente a alimentação de lactentes em fase de desmame e crianças jovens, dentro de um princípio da precaução, assumiu que o LMR máximo permitido a presença dos agrotóxicos é de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ até que testes toxicológicos provem ser seguro, ao público infantil outros valores. Entretanto para alguns agrotóxicos e ou metabólitos cuja IDA sejam inferiores a $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ esse limite, segundo a legislação, já poderia comprometer a segurança de uso dessas substâncias e para essas, são definidos limites diferenciados aos alimentos infantis.

As substâncias e os limites de resíduos de agrotóxicos diferenciados encontram-se descritos na Tabela 1. A legislação também estabelece que algumas substâncias não podem ser utilizadas em produtos agrícolas destinados à produção de alimentos à base de cereais ou alimentos para bebês. Os agrotóxicos que não podem ser usados nas matérias primas são dissulfotom (Σ dissulfotom e sulfóxido), haloxifope, heptacloro, nitrofenol, ometoato, terbufós, aldrin e dieldrin-expresso como dieldrin e endrin.

Tabela 1 : Níveis máximos de resíduos de ingredientes ativos (IA) em agrotóxicos com uso permitido em alimentos para bebês.

IA	Nível máximo $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Cadusafós	6
Demeton-S-metilico, Σ demeton-S-metilsulfona, oxidemeton-metilico	6
etoprofós	8
Fipronil Σ fipronil e fipronil-dessulfínilo	4
Propinebe	6

Fonte EU: 2006

A avaliação da exposição na dieta é definida como a estimativa qualitativa e / ou quantitativa da ingestão provável de agentes biológicos, químicos ou físicos via alimento, bem como a exposição de outras fontes, caso sejam relevantes.

O estudo de avaliação de risco crônico da ingestão de agrotóxicos é o processo no qual a exposição humana a uma dada substância por meio da dieta é comparada a um parâmetro toxicologicamente seguro. O risco pode existir quando a exposição ultrapassa o parâmetro toxicológico e dependerá do grau de toxicidade da substância e da quantidade à qual a população foi exposta. Dessa forma, o risco é função da toxicidade e da exposição (WHO, 1997).

A exposição a substâncias químicas na dieta pode ser avaliada como crônica ou aguda. A exposição crônica é caracterizada pela ingestão de pequenas quantidades da substância durante um longo período, e a exposição aguda pela ingestão de grandes quantidades durante um intervalo de até 24 hs. Enquanto algumas substâncias apresentam maior risco de exposição crônica, como aquelas potencialmente carcinogênicas, outras podem oferecer risco durante uma exposição aguda, como algumas neurotóxicas (JARDIM, CALDAS, 2009), nesse grupo os agrotóxicos das classes dos organofosforados e carbamatos.

A dose de referência aguda (ARfD) indica a quantidade de uma substância presente no alimento e / ou água que pode ser ingerida num período igual ou inferior a 24 h sem que haja risco à saúde do consumidor. Em geral, o estabelecimento de ARfD é considerado não necessário para substâncias cujos estudos toxicológicos indicam um valor acima de 1 ou 5 mg.kg⁻¹.pc (WHO, 1997).

Para estimar a exposição humana às substâncias químicas presentes nos alimentos são necessários três dados essenciais: A concentração da substância no alimento (mg.kg⁻¹), o consumo do alimento e o peso corpóreo, ambos expressos em kg, individual ou da população em estudo. A forma de obtenção dos dados dependerá dos propósitos da avaliação do risco, se a exposição é crônica ou aguda e da precisão da estimativa (KROES et al., 2002). Outra condição importante a ser observada é se a estimativa é direcionada à população em geral ou a determinados subgrupos mais vulneráveis, como as crianças (VOGT et al., 2012).

Os dados são utilizados para a avaliação da ingestão aguda ou crônica. Sendo a IDA e a ARfD a representação toxicológica da exposição crônica e aguda, respectivamente. Agrotóxicos organofosforados e carbamatos que apresentam alta toxicidade aguda via inibição da acetilcolinesterase normalmente apresentam valores de ARfD menores que $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$ (WHO, 1997) devendo ser avaliadas quando presentes nos alimentos em programas de monitoramento.

As fontes de dados mais atuais que permitem avaliar, indiretamente, a tendência do consumo alimentar são as Pesquisas de Orçamentos Familiares - POF, realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e estatística - IBGE. No ano de 2008 foi introduzida a análise de consumo familiar pessoal no Brasil. A pesquisa é realizada através de questionário sobre o consumo pessoal com a aquisição de dados de consumo individual de indivíduos com idade a partir de dez anos, moradores de 30% dos 60.000 domicílios pesquisados (IBGE-POF: 2008-09). Na Tabela 2 está descrita a quantidade de leite consumida pela população adulta segundo critérios do questionário sobre consumo pessoal - POF.

Tabela 2: Consumo alimentar médio *per capita* (g/dia) e percentual de consumo fora do domicílio em relação ao total consumido (%) por sexo, segundo os alimentos. Brasil, período 2008-2009.

Alimento	Total		Masculino		Feminino	
	g/dia	% fora	g/dia	% fora	g/dia	% fora
Leite integral	34,7	5,8	33,8	6,5	35,6	5,2
Bebida láctea com sabor adoçado	19,9	8,7	20,9	7,8	19,0	9,7
Leite em pó integral	0,3	3,1	0,3	4,2	0,3	2,3
Preparações à base de leite	6,1	11,6	5,5	11,9	6,7	11,3

Fonte; IBGE POF: 2008-09.

Os dados da POF não representam o consumo infantil de classes de alimentos importantes como o leite. Outra limitação do dado de consumo é estar esse baseado na quantidade de alimento presente na residência, sendo o consumo individual estimado obtido dividindo-se a quantidade de alimento disponível pelo número de pessoas presente na casa, não considerando a faixa etária nem o sexo da população. Essas limitações foram parcialmente resolvidas no ano de 2008/2009 quando os dados foram

obtidos individualmente por pessoas considerando a faixa etária com consumo superior a dez anos. Contudo, dados de consumo individual de bebês e crianças ainda não são conhecidos por programas oficiais no Brasil (IBGE-POF, 2008-2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ingestão de agrotóxicos de diferentes classes químicas em leite e alimentos afins, por crianças na faixa etária de quatro meses a três anos, frequentadoras de uma instituição pública com fins filantrópicos localizada na cidade do Rio de Janeiro. Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética da FIOCRUZ sob o **número 641/2011** (Anexos A e B)

Método de trabalho

No trabalho foram levantados todos os dados necessários para o cálculo da ingestão de resíduos de agrotóxicos, de multiclassés químicas, em amostras de leite e produtos afins consumidas por crianças frequentadoras de uma instituição pública-abrigo.

Etapas do trabalho:

1. Acompanhamento do preparo do leite no abrigo e residência.
2. Obtenção de dados de consumo de leite, pelas crianças, dentro do abrigo.
3. Obtenção de dados de consumo de leite, pelas crianças, nas residências.
4. Avaliação do peso das crianças frequentadoras do abrigo.
5. Coleta das amostras de leite no abrigo.
6. Análise das amostras de leite.
7. Cálculo da ingestão crônica.
8. Cálculo da ingestão aguda.

1. Acompanhamento do preparo do leite no abrigo e residência

No Abrigo foi observado o tipo de leite utilizado, seu preparo e o esquema explicativo fornecido aos funcionários da instituição, sobre como preparar as bebidas à base de leite.

Foi feita uma medição teórica e prática nos utensílios usados na preparação do produto. Essa medição permitiu que fosse possível verificar a quantidade correta utilizada do pó na mistura com água, para o preparo do leite.

Foi realizada a medição dos volumes dos utensílios utilizados como jarra e panelas usadas no preparo do leite e suas misturas para que fosse possível calcular a quantidade de leite em pó adicionada nas preparações realizadas, sendo assim possível obter a relação da quantidade de leite em pó (g) por mL de água utilizada no preparo da bebida.

Na residência foi possível obter, com os dados do questionário, a quantidade de leite em pó adicionada à água obtendo a quantidade em gramas de pó por mililitros de água preparada. Os valores obtidos foram comparados aos recomendados pelo fabricante e MS. O questionário utilizado e aplicado na avaliação encontra-se descrito no material suplementar Figura 1.

2. Obtenção de dados de consumo de leite, pelas crianças, no abrigo

Todas as crianças por turno (manhã e tarde), exceto as pertencentes ao berçário que consomem o leite em mamadeiras (idade até 12 meses), ingerem o alimento em conjunto no refeitório em uma caneca de aço inox (capacidade de 120 mL). O leite é fornecido em meia porção e a criança é estimulada a repetir, fato que por vezes acontece.

Para que fosse possível avaliar o consumo de leite no abrigo no sistema de distribuição citado e para que a avaliação do consumo representasse um valor mais exato foi usada uma tabela onde foram inseridos os seguintes dados: Data de coleta das informações, turno de trabalho (M ou T), turmas presentes, número de crianças que consumiram o leite, tipo de preparação, marca do leite e lote, sobra limpa do leite, e resto obtido da não ingestão do leite nas canecas das crianças. As medidas de sobra e resto de leite foram feitas, utilizando uma proveta de 1 L, por alunos da Universidade Federal do estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), responsáveis pelo preenchimento das tabelas nos diferentes dias de coleta.

Os dados provenientes das tabelas preenchidas foram coletados no período de: 16/09 a 10/11 de 2011, correspondendo a aproximadamente 2 meses de observação do preparo do leite na instituição. Foi identificado o consumo de três preparações: leite com café; leite com achocolatado e leite com polpa de fruta. Os valores de consumo do leite foram obtidos através dos dados médios obtidos, no período de estudo, calculados de acordo com a Equação 1:

$$\text{Consumo de leite por criança (mL)} = \frac{V_T - S_L - R_L}{N}$$

Sendo:

V_T = Volume total de leite preparado no abrigo

S_L = Sobra de leite limpo no abrigo

R_L = Resto obtido na soma de todas as canecas de leite oferecido às crianças

N = número de crianças que consumiram o leite

As crianças do berçário que se alimentavam exclusivamente com Fórmula infantil (FL) o faziam de acordo com os valores estipulados pelo fabricante do produto.

3. Obtenção de dados de consumo nas residências das crianças

Fora do abrigo a avaliação do consumo foi feita através de entrevista com os responsáveis e preenchimento do questionário estruturado. O modelo do questionário utilizado encontra-se reproduzido no material suplementar na Figura 1.

O questionário foi aplicado aos responsáveis das crianças, em entrevista individualizada, previamente agendada, com solicitação por escrito enviada através das agendas escolares. Os entrevistadores foram treinados a se concentrarem nas perguntas descritas no formulário. Com os dados do questionário foi perguntada a quantidade de leite ingerida pelas crianças e o tipo de leite. A quantidade de leite em pó utilizada com água foi obtida a partir das informações da quantidade de gramas de pó

por mililitros de água preparada e foi feita avaliação para verificar se o preparo estava dentro das recomendações do fabricante do leite em pó.

Os valores de consumo obtidos foram catalogados e foi possível identificar: o consumo de leite na residência da criança, o tipo de leite consumido (UHT, pasteurizado, pó) a embalagem preferida na compra e a quantidade de leite em pó utilizada no preparo do produto.

4. Avaliação do peso das crianças frequentadoras do abrigo.

Foram pesadas 149 crianças em uma balança eletrônica, de funcionamento não automático, marca Filizola, modelo: PL150. As especificações padronizadas da balança pelo INMETRO são classe de exatidão III, carga máxima: 150 kg, valor de divisão de verificação 0,05 kg e carga mínima de 1 kg (INMETRO, 2001).

Os bebês foram pesados no colo de um adulto e o peso da criança obtido através da diferença de peso de ambos. As demais crianças foram pesadas normalmente. As crianças foram distribuídas por grupos de idade (6 em 6 meses) sendo a idade mínima avaliada de quatro meses, correspondente ao ingresso na instituição.

5. Coleta das amostras de leite no abrigo

As amostras foram coletadas na dispensa do abrigo considerando diferentes marcas e lotes por um período de um ano e foram classificados quanto ao tipo de produto segundo a legislação nacional de alimentos (BRASIL, RDC 43, 44, e 45, (2011)).

6. Análise das amostras de leite

As amostras foram analisadas quanto à presença de resíduos de 164 agrotóxicos de diferentes classes químicas. O método utilizado foi o Quechers (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) com determinação por UPLC-MS/MS (ANASTASSIADES, et al.,2003). A validação do método foi anteriormente descrita em

outro trabalho, onde estão descritos os detalhes da validação (Manuscrito 6). Os agrotóxicos avaliados encontram-se listados na Tabela 3.

Tabela 3: Agrotóxicos avaliados nas amostras de leite e produtos afins coletados no Abrigo

Agrotóxicos analisados			
Abamectina	Diazinona	Fostiazato	Piraclostrobina
Acefato	Diclorvós	Furatiocarbe	Pirazofós
Acetamiprido	Dicrotofós	Halofenosídeo	Piridafentona
Aldicarbe	Dietofencarbe	Hexitiazoxi	Pirifenox
Aldicarbe Sulfona	Difenoconazol	Imazalil	Pirimicarbe
Aldicarbe Sulfóxido	Dimetoato	Imidacloprido	Pirimicarbe Desmetil
Ametrina	Dimetomorfe	Indoxacarbe	Pirimifós Metílico
Atrazina	Dimoxistrobina	lprovalicarbe	Piriproximem
Azaconazol	Diniconazol	Isoprotilona	Procloraz
Azametifós	Dissulfotom	Isoxaflutol	Profenofós
Azinfós Etílico	Diuron	Isoxationa	Propargito
Azinfós Metílico	Dodemorfe	Linurom	Propiconazol
Azoxistrobina	Epoconazol	Malationa	Propizamida
Benalaxil	Espinosade A e D	Mefenacete	Propoxur
Bitertanol	Espiroxamina	Mefosfolan	Quinalfós
Boscalida	Etiofencarbe Sulfona	Mepanipirim	Tebuconazol
Bromuconazol	Etiofencarbe Sulfóxido	Mepronil	Tebufenosida
Bupirimato	Etiona	Metalaxil	Tebufenpirade
Buprofezina	Etiprole	Metamidofós	Terbufós
Butocarboxim Sulfóxido	Etirimol	Metconazol	Tetraconazol
Butóxido de piperonila	Etofenproxi	Metidationa	Tiabendazol
Cadusafós	Etoprofós	Metiocarbe	Tiacloprido
Carbaril	Etrinós	Metobromuron	Tiametoxam
Carbendazim	Famoxadona	Metomil	Tiobencarbe
Carbofurano	Fenamidona	Metoxifenosida	Tiodicarbe
4-OH-Carbofurano	Fenamifós	Metoxuron	Tiofanox Sulfona
Carbosulfano	Fenarimol	Mevinfós	Tiofanox Sulfóxido
Carpropamida	Fenazaquina	Miclobutanil	Tolclofós Metílico
Ciazofamida	Fenbuconazol	Monocrotofós	Tolifluanídeo
Cimoxanil	Fenhexamida	Monolinuron	Triadimefon
Ciproconazol	Fenoxicarbe	Nitenpiran	Triadimenol
Ciprodinil	Fenpiroximato	Nuarimol	Triazofós
Ciromazina	Fenpropimorfe	Ometoato	Triciclazol
Clofentezina	Fentiona	Oxadixil	Triclorfon
Clorbromuron	Fentoato	Oxamil	Trifloxistrobina
Clorfenvinfós	Fluazifope-p-butílico	Oxamil Oxima	Triflumizol
Clorpirifós	Flufenacete	Oxicarboxina	Triticonazol
Clotianidina	Fluquinconazol	Paclbutrazol	Vamidotiona
Coumafós	Flusilasol	Pencicurom	Zoxamida

Cresoxim Metílico	Flutriafol	Penconazol	
Deltametrina	Fosalona	Picoxistrobina	
Demeton-S-Metílico	Fosmete	Pimetrozina	

6.1 Garantia da qualidade dos resultados obtidos.

Na avaliação da ingesta, as determinações de resíduos devem considerar os resíduos em níveis próximos e até inferiores ao LDM (limite de detecção do método), identificando a presença das substâncias até em traços. Devido a essa condição foi necessário o estabelecimento de diferentes critérios para a comprovação da presença ou não dessas substâncias nas amostras de leite

Para a execução das análises foram utilizados materiais descartáveis como tubos cônicos de polipropileno, marca Falcon, com capacidades de 50 e 20 mL e vials de vidro para a injeção das amostras no UPLC-MS/MS. O laboratório utilizou as boas práticas laboratoriais para a realização das análises bem como todos os controles de qualidade do sistema de análises referenciando as normas de qualidade do documento de qualidade SANCO (2012) da EU (Comunidade Europeia).

Além da validação do método previamente realizada, foi introduzida como garantia de qualidade uma amostra de controle de qualidade com os 164 agrotóxicos avaliados (QA 164). Essa amostra foi realizada com a fortificação dos 164 analitos em avaliação em LP (n=3) e FL (n=2) e injetada na mesma sequência de injeção das amostras analisadas.

Os resultados das amostras são considerados adequados quando a faixa de recuperação do QA164, no controle de qualidade, apresentar recuperações na faixa de 60 a 140% para cada analito em avaliação, conforme indicado no documento SANCO (2012). Assim os analitos obtidos na amostra em análise, somente serão aceitos quando atendidos os requisitos de qualidade daquela substância no QA164.

Para confirmação de cada agrotóxico avaliado, analisados por LC-EM/EM, foram utilizados os seguintes critérios em conformidade com o SANCO (2012):

1. Avaliação entre o tempo de retenção (t_R min) obtido nas amostras em relação ao tempo de retenção dos MR (material de referência) em matriz. O critério de tolerância entre o (t_R min) do MR e amostra ser de $\pm 2,5\%$.
2. A intensidade relativa dos íons detectados na amostra avaliada e no MR, expresso como % de intensidade do íon mais abundante do analito na amostra com o íon correspondente no MR, medido na mesma concentração e condições analíticas, considerando a tolerância máxima permitida para a intensidade de íons detectados na amostra e no MR descritas na Tabela 4

Tabela 4: Padrão de tolerâncias máximas permitidas para a intensidade de íons em UPLC-MS/MS

Intensidade Relativa (% do pico base)	Varição aceitável (%)
> 50%	$\pm 20\%$
> 20 a 50 %	$\pm 25 \%$
> 10 a 20%	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$

Fonte: SANCO, 2012

3. Razão S/N maior que 3:1 adotados para brancos e amostras analisadas

Considerando a avaliação de resíduos de agrotóxicos, nesse trabalho, estar sendo feita em níveis residuais próximos ao LDM (limite de detecção do método) e LQM (limite de quantificação do método) e a importância da confirmação inequívoca desses resíduos nestes níveis, além dos critérios acima citados pelo SANCO (2012) e da avaliação do QA 164 foi realizado para alguns analitos, encontrados em maior número de amostras, foi feito um método específico.

Os testes foram realizados em 12 amostras escolhidas como representativas das amostras analisadas. A escolha das amostras foi feita em função do grande número de resíduos presentes e presença de alguns agrotóxicos com importância na avaliação toxicológica. Essas 12 amostras selecionadas foram analisadas pelo método multirresíduo original com os 164 agrotóxicos e com métodos específicos para os agrotóxicos: acefato, ametrina, carbendazim, etofenproxi, clorpirifós, diurom, malationa, dietofencarbe e butóxido de piperonila.

A obtenção dos íons nos métodos específicos, para os agrotóxicos, foi feita através da infusão do MR desses analitos sendo obtidos, pelo menos, mais dois novos íons fragmento por substância. O critério utilizado para o aceite da presença das substâncias no método específico foi a presença de mais dois íons avaliados, além dos inicialmente analisados, e avaliados pelo (t_R min) no critério $\pm 2,5\%$. Para a substância etiofencarbe também foi avaliada a recuperação de uma fortificada com os novos íons obtidos.

7. Cálculo da ingestão crônica

O cálculo da ingesta crônica foi feito de acordo com procedimento descrito pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2010). Nesse método a Ingestão Diária Teórica Máxima (IDTM) é definida como o somatório do LMR, em mg.kg^{-1} , multiplicado pelo consumo de alimento (C), em kg/dia . Neste trabalho a IDTM foi realizada utilizando a concentração média de cada ingrediente ativo (IA) encontrado nas amostras de leite ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) multiplicada pela quantidade do alimento (mL/dia) ingerida diariamente, dividida pelo peso corpóreo (kg), sendo o resultado expresso em $\mu\text{g.kg}^{-1}/\text{dia}$, conforme a fórmula a seguir (Equação 2) (WHO, 2010).

O valor obtido da ingestão é caracterizado, comparando-se o valor obtido com a dose diária aceitável (Equação 3) (% IDA)

$$\text{IDTM}_L = \frac{(R_L \times C_L)}{PC} \quad \text{Equação (2)}$$

$$\% \text{IDA} = \frac{\text{IDTM}_L \times 100}{\text{IDA}} \quad \text{Equação (3)}$$

onde na equação 2 - IDTM_L : corresponde à ingestão teórica máxima do leite, R_L é o valor da concentração média do agrotóxico no leite, em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, C_L é o consumo diário do alimento, em mL, pela população/indivíduo em estudo e pc é o peso corpóreo, em kg, avaliado na população em estudo. Na equação 3 - % IDA: corresponde à

comparação da $IDTM_L$ obtida na equação 1 e com a dose diária aceitável (IDA) do agrotóxico avaliado, expressa em $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$

Para se avaliar o risco da exposição a substâncias, a ingestão teórica calculada é comparada à IDA - considerado parâmetro de ingestão segura, o risco pode existir quando a ingestão calculada ultrapassar esse parâmetro (WHO, 1997). Esse risco pode ser expresso em % do parâmetro toxicológico como, por exemplo, em porcentagem da IDA. Numa exposição crônica, o risco pode existir quando a porcentagem ultrapassar 100 % (JARDIM, CALDAS, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo identificou o consumo infantil do produto e o peso corpóreo das crianças bem como os resíduos de IA presentes no leite consumido, possibilitando dados mais fidedignos na avaliação da ingestão infantil das crianças do abrigo a resíduos de agrotóxicos com o consumo de leite.

Preparo de leite no abrigo

O volume teórico calculado do recipiente metálico onde foi preparado o leite (panela) foi de 23.080 mL e o prático de 20.500 mL. Esta última medida foi obtida com a medição do leite preparado com o auxílio de uma proveta de 2L e foi considerada no cálculo do volume total preparado com a mistura realizada com outros ingredientes utilizados no abrigo. Esse valor foi utilizado por ser um dado prático e representar melhor a condição do trabalho e o volume total. Para a leiteira o volume teórico calculado foi de 7900 mL e o valor prático de 8000 mL.

As recomendações para o preparo de todas as diferentes preparações do leite estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5: Descrição das quantidades e ingredientes utilizados nas preparações com o leite realizadas no abrigo pelos funcionários

Tipo de preparo	Produtos adicionados
Leite com café	7 pacotes de leite em pó(400g) + 540g açúcar+685 mL café. Adicionar água filtrada volume de 8000mL
Leite com baunilha	7 pacotes de leite em pó(400g) +200g açúcar + 900 mL baunilha. Adicionar água filtrada volume de 20.500 mL
Leite achocolatado	7 pacotes de leite em pó(400g) + 420g chocolate em pó. Adicionar água filtrada até volume de 20.500 mL
Leite com polpa de fruta	7 pacotes de leite em pó(400g) +300g açúcar + 2,5 kg de polpa de fruta. Adicionar água filtrada até volume de 20.500 mL

A quantidade de leite por grama da bebida preparada, no abrigo, foi de 0,14 g.mL⁻¹ para todas as preparações realizadas. A recomendação do fabricante para o preparo do leite em pó é de 0,13 g.mL⁻¹ de água e a preparação feita pelo abrigo estava de acordo com o fabricante do produto e adequado segundo as recomendações do MS (BRASIL, 2004). Os valores obtidos foram utilizados no cálculo da ingesta e por não representarem diferenças significativas do valor especificado pelo fabricante foram utilizados sem correções no cálculo da ingesta.

Consumo de leite infantil no abrigo

Na avaliação dos resultados obtidos do preenchimento do formulário (avaliação de consumo do leite no abrigo) foram obtidos os seguintes valores médios de consumo 170, 200, 120 e 90 mL respectivamente para leite com café, leite com achocolatado, leite com baunilha, e leite com polpa de fruta. Foi possível observar o baixo consumo de leite, pelas crianças, quando a preparação foi feita com polpa de frutas e o maior consumo com café e achocolatados. O uso do leite em pó, usado em 99% das preparações, foi predominante no período estudado. O leite fluido UHT (Ultra High Temperature) foi utilizado somente uma vez, fruto de recebimento de doação. Segundo o grupo de nutrição do abrigo, a maior utilização do produto em pó deve-se à maior praticidade no manuseio e maior prazo de validade facilitando a preparação no abrigo.

Os valores de consumo de leite no abrigo somados aos valores de consumo na residência foram utilizados no cálculo da ingesta dos agrotóxicos.

Consumo de leite infantil na residência

Dentre os 166 responsáveis que participaram da entrevista para preenchimento do questionário foi obtida resposta de 156 responsáveis, representando cerca de 94% de adesão à pesquisa, 5 crianças saíram do abrigo (3%) e 4 (2%) não quiseram participar da pesquisa.

O alto índice de adesão à pesquisa pelos pais foi obtido graças à grande participação dos profissionais do abrigo que motivaram os responsáveis a contribuir com o projeto. A Tabela S1 (Material suplementar) transcreve um resumo de todos os resultados obtidos dos questionários referentes aos dados de preparo do leite em pó, quantidade de leite em pó (g) por volume de água (mL) e volume (mL) de leite fluido consumido

Pode-se concluir que na residência 88% das crianças consomem leite com regularidade, 9% o faz esporadicamente e somente 3% não consomem o produto por motivos alérgicos ao alimento, consumindo fórmulas especiais e produtos à base de soja.

As respostas dos pais utilizavam medidas caseiras sendo necessário, portanto, fazer a conversão para gramas ou mililitros dos utensílios utilizados. Os valores adotados para as medidas foram: copo de requeijão (250 mL), copo de geléia (190 mL), colher de sopa (13g), colher de sobremesa (7g); colher de chá (2g) e medida do fabricante do leite (4,43g).

Dentre as crianças que consomem leite, 56% consomem o produto exclusivamente na forma de pó sendo por essa razão, importante a verificação do seu preparo. A recomendação do fabricante para o preparo do leite em pó é de 0,13 g.mL⁻¹ de água e para a avaliação, no questionário, da quantidade utilizada pelos pais foi considerado esse valor com $\pm 15\%$. Assim os valores obtidos compreendidos na faixa de 0,11 a 0,15 g.mL⁻¹ de leite em pó por mL de água preparada foram considerados adequados.

As quantidades de leite obtidas no resultado do questionário levaram em consideração o número de porções de leite oferecidas pelos responsáveis na residência multiplicando os valores de consumo obtidos pelo número de mamadeiras e ou porções de leite oferecidas a criança no período não escolar.

Os dados brutos de consumo referentes aos questionários aplicados encontram-se na Tabela S1 (Material Suplementar).

Foi possível verificar que 59% dos responsáveis que utilizaram o leite em pó preparavam o produto em desacordo com o valor recomendado pelo fabricante como valor de referência ($VR=0,13 \pm 0,02 \text{ g.mL}^{-1}$). Dentre esses, 34% prepararam o leite com menor quantidade de pó adicionada à quantidade de água recomendada e 25% preparavam com excesso de leite em pó adicionado à água.

Os valores médios, menor e maiores valores identificados de leite fluido e em pó reconstituído comparados ao valor recomendado ($VR=0,13 \pm 0,02 \text{ g.mL}^{-1}$) obtidos do inquérito realizado com os responsáveis do abrigo encontram-se descritos na Tabela 6

Tabela 6: Valores médios consumidos de leite fluido e em pó reconstituído e quantidade de leite em pó utilizado na reconstituição do leite (g.mL^{-1}) para os valores de leite adequado em excesso e abaixo dos valores comparados com a recomendação do fabricante.

	Leite fluido. Consumido (mL)	Leite em pó Consumido (mL)	Leite em pó / água (g.mL^{-1})
Valor médio recomendado	-----	-----	0,13
Valor médio ($>VR.n=20$)	-----	-----	0,21
Valor médio ($<VR.n=33.$)	-----	-----	0,07
Valor médio. total	390	428	0,12
Menor valor total	50	120	0,01
Maior valor total	1000	1500	0,42

Trabalho de Santos e colaboradores (2005) avaliou o consumo de leite através de aplicação de questionário em crianças matriculadas no primeiro ano do ensino fundamental de escolas particulares, estaduais e municipais de Santa Maria (RS). Participaram da pesquisa 512 alunos com idade média de 6 a 7 anos. O consumo médio de leite fluido pasteurizado e UHT obtido foi de 390,9 mL ao dia, sendo o

consumo mínimo de zero e o máximo de 1L. Na mesma região, o mesmo grupo de pesquisa realizou, nova avaliação para 517 crianças de escolas do ensino fundamental. Foram obtidos resultados de consumo médio diário de 302 mL para leite cru, 363 mL para leite pasteurizado e para 425 mL leite UHT (HECK, et al., 2007).

Os dados de consumo médio, para leite fluido e UHT obtidos pelo grupo nas duas pesquisas estão compatíveis aos identificados nesse trabalho.

O leite preparado acima das recomendações deve ser considerado na avaliação da ingesta. Isso foi feito corrigindo os resultados de resíduos de agrotóxicos calculados quando os valores obtidos da ingesta se encontravam próximos ao valor da IDA. Entretanto, quando o mesmo é preparado abaixo do valor especificado poderá comprometer a nutrição infantil. Os dados de consumo de leite obtidos também poderão permitir o cálculo da ingesta de nutrientes provenientes do leite consumido pelas crianças.

Quanto à embalagem usada para a maioria dos entrevistados foi observado que:

- a) nenhum responsável utilizou o leite fluido em embalagem plástica tipo pasteurizado
- b) a embalagem em lata foi utilizada por 80% dos responsáveis que consumiam o leite em pó.

Em relação a outros produtos consumidos, foi observado que 24% das crianças consomem a sobremesa tipo *petit suisse* com frequência diária em quantidade que varia de uma a três unidades e 56% consomem o produto esporadicamente. Somente 20% das crianças não consomem o produto

Outro consumo de alimento identificado nos questionários foi do hidrolisado de soja em diferentes sabores de frutas, para o qual foi reportada uma frequência de 32% de consumo. Em relação às farinhas foi reportado o uso do produto adicionado ao leite por 68% dos responsáveis sendo mencionada a farinha láctea de milho e arroz.

Avaliação do peso das crianças

A avaliação feita da pesagem das crianças do Abrigo foi codificado, considerando o critério da faixa de idade, em 16 grupos identificados de A a P. A classificação das crianças por meses, grupo, número de crianças por grupo (N), os

pesos médios (PM) e o desvio padrão (DP) obtidos por grupo encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 7: Classificação das crianças em grupo de idades, número de crianças por grupo (N), peso médio de cada grupo (PM) e desvio padrão (DP).

Meses	Grupo	N	PM	DP
3--6	A	6	9,4	2
6--9	B	16	11,1	2
9--12	C	10	12,62	1,5
12--15	D	14	12,86	1
15--18	E	22	13,67	1,7
18--21	F	33	16,96	3
21--24	G	34	17,24	3
24--27	H	12	18,43	4
27--30	I	2	16,55	2,5

Os pesos médios obtidos não apresentaram grande variação dentro da faixa etária estudada, fato esse evidenciado pelo baixo DP (2 a 4). Entretanto, na última faixa o dado ficou tendencioso devido ao pequeno número de crianças (n=2). Os resultados obtidos do peso médio das crianças juntamente com outros dados discutidos, foram utilizados no cálculo da avaliação da ingesta utilizando as Equações 2 e 3.

Amostragem e categorização dos produtos de leite no abrigo

Foram coletados 67 produtos à base de leite em um período de um ano. O critério de amostragem adotado foi coletar todas as diferentes marcas e lotes, em estoque, para uso, no abrigo durante o período de estudo. Foram identificadas 12 diferentes marcas comerciais e diferentes lotes. A presença do grande número de marcas de leite ocorre devido a doações recebidas no abrigo, fato esse que permitiu a avaliação de uma grande gama de diferentes marcas. As amostras foram classificadas quanto ao tipo de produto segundo a legislação nacional de alimentos e categorizadas como o tipo de produto (ANVISA, RDC 43 , 2011); 44 (2011); 45 (2011) conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8- Identificação (ID) dos produtos a base de leite, segundo as legislações vigente, coletados no abrigo (RDC 43,44 e 45)

ID	Tipo de amostra	Qt. Amostras
LP	Leite em pó	46
CL	Composto Lácteo	5
FL	Fórmula infantil com Ferro	12
PO	Pó para preparo de bebida láctea	4
Total de amostras		67

Os produtos amostrados tiveram os seus rótulos avaliados quanto aos ingredientes usados e a tabela com a descrição de todos os ingredientes presentes no produto se encontram no material Suplementar na Tabela S2 (Material Suplementar).

Garantia dos resultados analíticos obtidos

O QA 164 foi avaliado em seis ocorrências, n=6, e apresentou resultados de recuperação adequados (60 a 140%) para 141 agrotóxicos. Dentre esses, 22 não atenderam os requisitos ao teste de qualidade, pois 17 deles apresentaram recuperações superiores a 140% e 5 apresentaram recuperações inferiores a 60%.

Os agrotóxicos que apresentaram recuperações superiores a 140%, identificados com o número de ocorrências entre parênteses, e não considerados nas mostras avaliadas foram: bitertanol (n=6), ciprodinil (n=3) clorfenvinfós (n=3), diazinona (n=6), dimoxistrobina (n=6), etofenproxi (n=4) recuperação adequada para a FL, famoxadona (n=3) recuperação adequada para FL, fenbuconazol (n=5), fenamifós (n=6), fentoato (n=6), fosadona (n=4), metconazol (n=3), procloraz (n=6), propiconazol (n=4) adequado para FL, tebufenosida (n=6), tolclófós metílico (n=2) inadequada para FL e tolifluanídeo (n=3).

Os resíduos de etofenproxi e diazinona identificados em algumas amostras de LP não foram considerados por apresentarem no teste de recuperação resultados fora do padrão (>140%).

Não foi identificada a presença de tolclofós metílico em amostras de FL. Resíduos da substância foram identificados em duas amostras de LP, duas de CL e uma de PO.

Os analitos que apresentaram recuperações inferiores a 60% com o número de ocorrências de repetições, expressas entre parênteses foram: benalaxil (n=2), bupirinato (n=2); carpropamida (n=4), clofentezina (n=4), cresoxim metílico (n=2, adequada para a FL) adequado para FL, etrinfós (n=4); fentiona (n=2) adequado para FL, pencicurom (n=2), piraclostrobina (n=2), imazalil (n=2 adequada a FL), pirimifós metílico (n=3) e imazalil (n=3).

Os resíduos dos agrotóxicos que apresentaram recuperações baixas, quando presentes e identificados nas amostras analisadas, foram considerados, havendo o entendimento que esses podem estar com os valores subestimados e não ter sido possível a extração e detecção em todas as amostras avaliadas. Essa condição foi observada para resíduos das seguintes substâncias, com o número de amostras expressa em parênteses: carpropamida (n=4), etrinfós (n=1), fentiona (n=1), piraclostrobina (n=3) e pirimifós metílico (n=6).

O critério SANCO (2012), anteriormente descrito, foi utilizado para a confirmação de todos os resíduos encontrados nas amostras de leite. Além desse critério, foi feito um método específico para alguns agrotóxicos presentes em grande número de amostras e outros que não apresentaram recuperação adequada no QA.

Na elaboração do método específico com a infusão dos MR das substâncias foram obtidos, no mínimo, mais dois novos íons além dos anteriormente avaliados, para cada substância avaliada. Os agrotóxicos para os quais foram criados os métodos e seus respectivos íon precursor, fragmento e t_R (min) encontram-se descritos na Tabela 9.

Tabela 9 – Agrotóxicos, Íons precursores, fragmentos e tempo de retenção em minuto t_R (min) obtidos no método específico

Substância	Íon precursor	Íon fragmento	t_R (min):
Acefato	183,9	142,7; 124,7; 110,7.	1,14
Ametrina	227,8	185,7; 157,8; 143,7; 115,7; 109,7	8,39
Butóxido de piperonila	356,4	176,8; 146,8; 118,8.	14,46
Carbendazim	191,8	159,8; 131,7; 116,5; 105,8	2,05
Clorpirifós	352	295,6; 215,5; 199,7; 124,6	14,83
Dietofencarbe	268,2	225,9; 207,9; 197,8; 179,8; 151,8	9,62
Diuron	232,7	187,6; 159,6; 72	8,59
Etofenproxi¹	394,8	189,2; 177,3; 135	16,90
Malationa	331,2	284,7; 210,7; 126,8;	10,48

1: O IA apresentou alta recuperação e deverá ser reavaliado.

Uma nova extração foi realizada para 12 amostras de leite selecionadas como representativa do conjunto das amostras analisadas. Os dois critérios utilizados para a escolha dessas amostras foram: as que apresentaram grande número de agrotóxico por amostras avaliadas e apresentaram recuperações acima de 140% na avaliação do QA 164.

As 12 amostras selecionadas foram reanalisadas utilizando o mesmo método multirresíduo utilizado na primeira avaliação de uma mesma amostra, em que foi feita uma nova extração. Além da repetição genuína de extração foram feitas também análises utilizando os métodos específicos para os agrotóxicos presentes nas amostras (inclusão dos íons específicos, Tabela 9).

O critério para a confirmação no método específico, na nova extração da amostra, foi feito a presença de áreas para os novos íons fragmentos com a confirmação do t_R (min) do analito com o material de referência ($\pm 2,5$ %).

Na nova extração e reinjeção das 12 amostras no método multirresíduo para avaliação dos 164 multirresíduos, o critério utilizado para a confirmação dos agrotóxicos presentes na extração anterior foi a confirmação da presença dos analitos encontrados na extração anterior e reavaliação da recuperação do QA164.

No método específico do dietofencarbe foi feita uma fortificação com LP e a recuperação, considerando os íons específicos, forneceu novos valores de recuperação para cada íon. Os valores obtidos foram: íon 189,2 (56%); 177,3 (449%); 135 (42%); 107 (471%). Considerando os altos valores de recuperação obtidos, os resultados obtidos do IA somente foram considerados para a FL, na qual as recuperações foram adequadas no QA164.

A amostra LP38, uma das amostras representativas do grupo, foi avaliada com o método específico do butóxido de piperonila. Nesta avaliação foi identificado o íon precursor 356,4 e confirmado os íons fragmento 176,8; 146,8; 118,8.

Na Figura 1 está a representação do butóxido de piperonila na amostra LP38 com a representação de todos os íons no método específico avaliados e na Figura 2 a representação do seu MR

Figura: 1 Referente à representação dos íons do butóxido de piperonila na amostra LP38

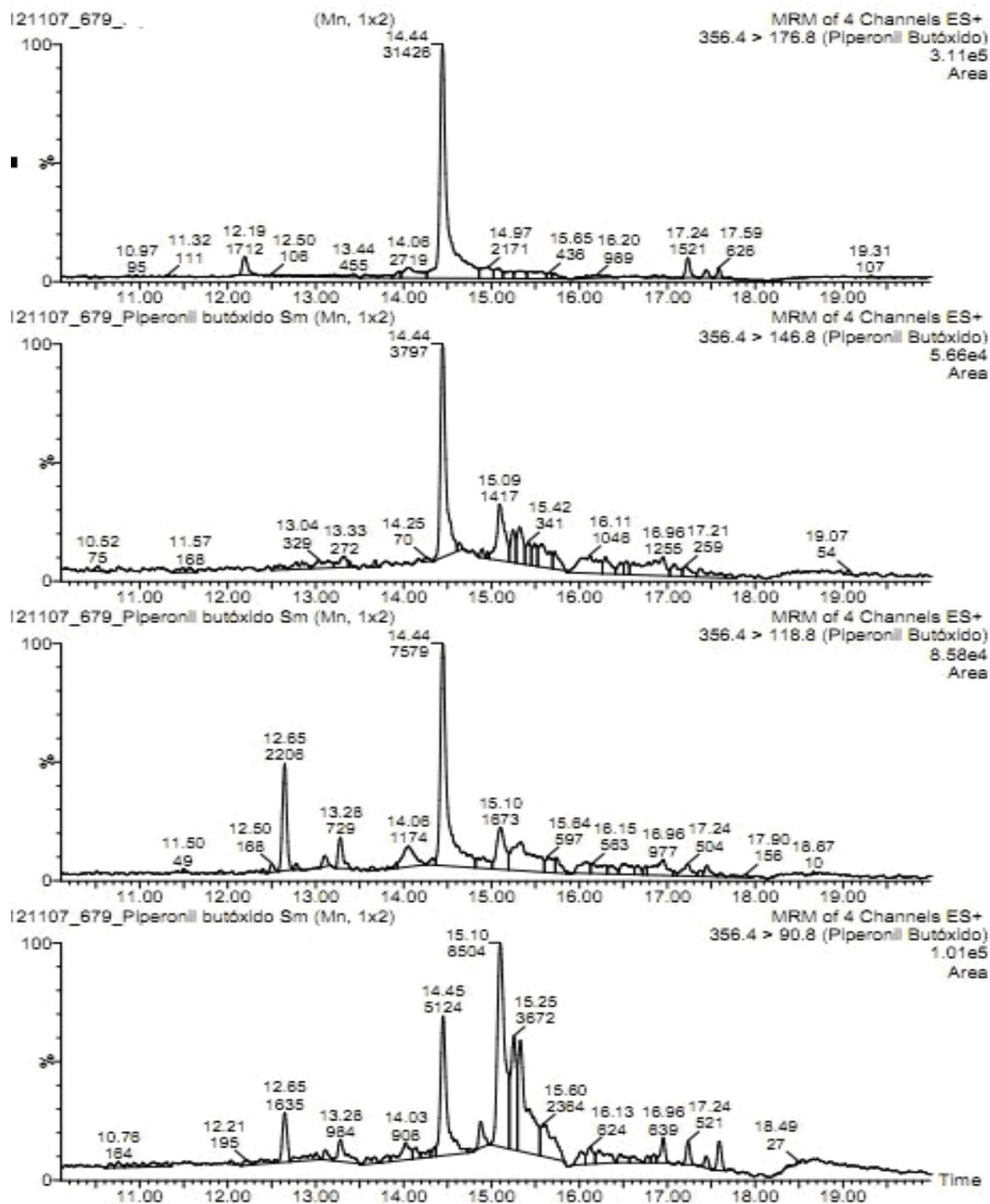
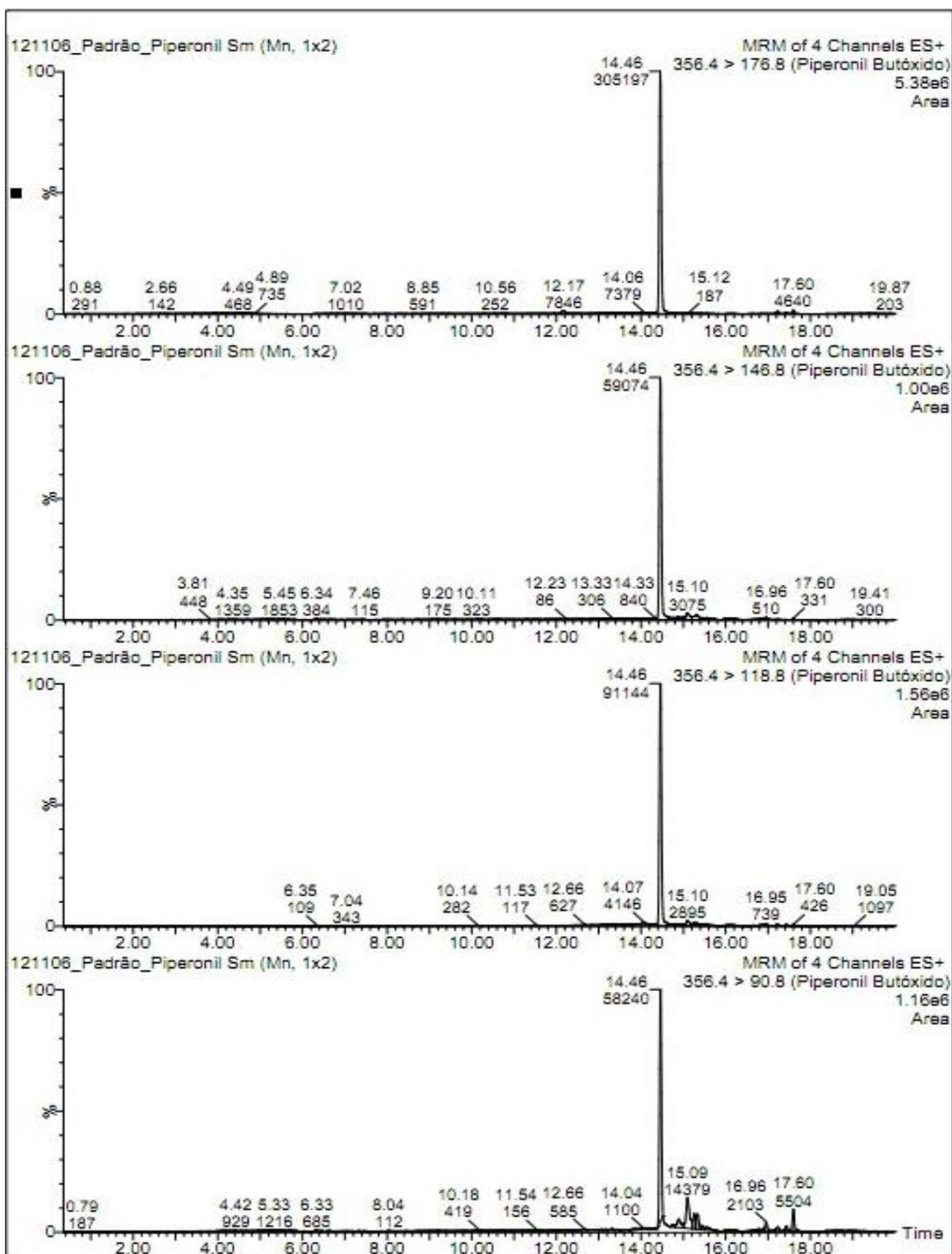


Figura: 2 Referente à representação dos íons do MR da substância butóxido de piperonila.



Análise das amostras

Agrotóxicos identificados

Nas 67 amostras de leite e produtos afins analisados foram identificados 18 diferentes resíduos de agrotóxicos de multiclassés químicas e 1 substância sinergista, presentes entre 5 a 60 amostras, para os 164 ingredientes ativos (IAs) avaliados. O butóxido de piperonila foi identificado em 90 % das amostras avaliadas. Os IAs em agrotóxicos, presentes (%) em 63 a 7 % foram: carbendazim, clorpirifós, etofenproxi, etiona e dietofencarbe.

Esses agrotóxicos foram identificados distribuídos nos diferentes produtos, exceção ao clorpirifós que foi identificado somente em amostras de leite em pó. Os agrotóxicos identificados nas amostras por número de amostras e % em produtos avaliados, organizados por ordem decrescente da quantidade total de produtos obtido estão descritos na Tabela 10

Tabela 10: Agrotóxicos e PBO identificados, presentes entre 5 a 60 amostras de leite e produtos afins.

Agrotóxicos	Classe Química	LP (n=45)	FL (n=13)	PO (n=4)	CL (n=5)	Total (n=67)	%
Butóxido de piperonila	metilendioxibenzeno	43	9	4	4	60	90
Carbendazim	benzimidazol	26	12	2	2	42	63
Clorpirifós	organofosforado	25	0	0	0	0	37
Etiona	organofosforado	14	3	0	1	18	27
Dietofencarbe	carbamato	14	0	1	1	16	24
Triadimefom	triazol	9	1	2	1	13	19
Etofenproxi ¹	eter difenilico	10	9	*2	1*	9	13
Isoprotiollona	fosforotioato	6	1	0	1	8	12
Triciclazol	benzotiazol	5	1	1	1	8	12
Picoxistrobina	estrobilurina	6	1	0	0	7	10
Acefato	organofosforado	5	1	0	1	7	10
Diuron	uréia	3	3	1	0	7	10
Epoxiconazol	triazol	5	1	0	0	6	9
Tetraconazol	triazol	4	2	0	0	6	9
Propargito	sulfito de alquila	4	1	1	0	6	9
Azoxistrobina	estrobilurina	3	0	1	1	5	7
Etoprofós	organofosforado	3	0	2	0	5	7
Tolclofós metílico	organofosforado	2	0	1	2	5	7

Pirimifós metílico	organofosforado	2	2	0	1	5	7
Metoxifenosida	diacihidrazina	3	1	0	1	5	7
Fenazaquina	quinazolina	3	0	1	1	5	7

:1: valores confirmados somente para FL.

Além dos IAs encontrados listados na Tabela 9, também foram identificados outros analitos presentes em menor número de amostras distribuídas entre os produtos. As substâncias identificadas por amostra foram: ametrina, carpropamida, fenazaquina, flufenacete, piraclostrobina, piriproxifem, profenofós, triazofós e trifloxistrobina identificada em quatro amostras; carbaril, desmedifam, malationa e mepronil identificadas em três amostras.

Alguns agrotóxicos, identificados no produto LP com uma substância por amostra foram: Desmedifam e malationa identificados em três diferentes amostras; atrazina, azametifós, mefenacete e metalaxil identificados em duas diferentes amostras; abamectina, deltametrina, etrinfós, fentiona e iprovalicarbe identificado em uma amostra.

Pirifenós foi identificado em uma amostra de FL. No produto PO foram identificados cadusafós e coumafós cada um em uma amostra respectivamente. No produto CL foi identificado acetamiprido, azaconazol e fenhexamida em cada amostra respectivamente.

A maioria das substâncias, nas quais foi encontrado algum resíduo nas amostras de leite possuem LMR especificados pelo CODEX e/ou comunidade europeia (EU), para o produto e/ou relacionados à alimentação animal. Exceção a essa condição foi observada para os seguintes agrotóxicos: etiona, etrinfós, isoprotilona, mefenacete, mepronil e tetradifom, . sem permissão de uso no CODEX e EU.

Os agrotóxicos identificados no leite que não possuem o uso autorizado na CE, mas o possuem no CODEX são: acefato, atrazina, cadusafós, carbosulfano, carpropamida, coumafós (não autorizado e sem informações toxicológicas), diazinona, butóxido de piperonila e triciclozol (com LMR provisório). A substância coumafós é autorizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como medicamento veterinário (SINDAN, 2013), mas não se encontra registrada nas monografias da ANVISA (ANVISA, 2013).

Agrotóxicos quantificados

Vinte e um IA de diferentes classes químicas foram encontrados nas amostras de leite, presentes em número de amostras que variaram de 5 a 60. Dezenove desses resíduos apresentaram resultados bem abaixo do LMR estabelecido pelo CODEX e/ou EU. Na Tabela 9 encontra-se descrito o limite de quantificação do método (LQM), o Limite de detecção (LDM) estabelecido em trabalho anterior por Bastos (Manuscrito 5) e os LMR estabelecidos pelo CODEX e EU para os 21 agrotóxicos obtidos em maior número de amostra dentre as 67 amostras avaliadas.

Os agrotóxicos carbendazim e o etofenproxi foram identificados em amostras com resíduos acima ou no limiar ao LMR estipulados pelo CODEX e/ou EU. Problemas metodológicos, anteriormente comentados, com o etofenproxi somente puderam confirmar a presença da substância em uma amostra de FL.

Tabela 11: Agrotóxicos e PBO encontrados por número de amostras, os LDM e LQM (BASTOS, 2013) e a faixa de concentração obtida nas amostras avaliadas.

Agrotóxicos	N Total	LMR ¹	LDM ²	LQM ²	Faixa de concentração	
		µg.kg ⁻¹	µg.kg ⁻¹	µg.kg ⁻¹	µg.L ⁻¹	µg.kg ⁻¹
butóxido de piperonila	60	50	0,06	0,40	0,08 a 0,5	0,11 a 0,67
carbendazim	42	50	0,19	1,29	0,04 a 103	0,10 a 150
clorpirifós	25	20	0,09	0,59	0,1 a 1,1	0,2 a 1,5
etofenproxi	19	50	0,04	0,29	0,11 a 25	0,16 a 33
etiona	18	N	0,01	0,65	0,01 a 0,41	0,014 a 0,63
dietofencarbe	16	50	0,09	0,61	Traços	
Triadimefom ³	13	30	0,59	3,93	0,10 a 0,43	0,14 a 0,63
Isoprotirolona ⁷	8	N	0,27	1,81	Traços	
Triciclazol ⁴	8	N	0,23	1,51	Traços	
picoxistrobina	7	30	1,22	8,17	Traços	
acefato	7	20	0,06	0,39	0,20 a 0,4	0,3 a 0,5
diuron	7	50	0,15	1,02	0,09 a 0,11	0,12 a 0,15
epoxiconazol ⁶	6	2	0,48	3,22	Traços	
tetraconazol	6	50	0,68	4,53	Traços	
propargito	6	100	0,3	2	Traços	
azoxistrobina	5	10	0,16	1,09	0,02 a 0,04	0,023 a 0,06
etoprofós	5	10	0,31	2,09	0,07 a 0,41	0,11 a 0,52
tolclofós metílico ⁵	5	N	0,26	1,7	2 a 3,1	2,4 a 4,5
pirimifós metílico	5	10	0,62	4,12	Traços	0,024 a 0,43
fenazaquina	5	10	0,12	0,79	1 a 2	2,2 a 2,4
metoxifenosida	5	50	0,29	1,91	Traços	

N: não possui LMR para o leite na CA,CE e USDA;1: CODEX e/ou EU, USA; 2:BASTOS, 2013; 3: Σ triadimefon e triadimenol; 4: não aprovado na EU e CODEX. Uso permitido em cereais no Brasil; 5: uso não permitido no Brasil e CE, permitido em batata e outros hortifrutigranjeiros no CODEX; 6: LMR EU no Brasil permitido em cereais.7: não permitido na CA e CE sem informações toxicológicas.

O LMR estabelecido para o carbendazim pelo CODEX e EU no leite é de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Σ carbendazim e tiofanato metílico). Assim sendo, três amostras de leite em pó identificadas como LP1, LP15 e LP16 excederam essa especificação em até 300%. As concentrações em $\mu\text{g.kg}^{-1}$ identificadas, para a substância, e o % excedente ao LMR expresso em (%) foram: LP1-150 (300%); LP-15 58 (116%) ,LP16- 95 (184%). Além desses valores excedentes, a amostra LP 42 obteve resultado de $44 \mu\text{g.kg}^{-1}$. A substância também foi identificada em um grande número de amostras - 42 em 67 amostras avaliadas (Tabela 9).

As amostras LP1 data de fabricação: 12/2010, LP15 data de fabricação 01/2012; LP 16 data de fabricação 12/2011; LP 42 data de fabricação 10/2011. Todas as amostras foram produzidas nos meses de dezembro e janeiro no estado de MG.

A contaminação do carbendazim nessas amostras sugere ter sido pela AA., pois amostras de AA analisadas em trabalho anterior (Manuscrito 5) identificaram a presença da substância em 13 amostras dentre as 42 analisadas com valores na faixa de <10 a $280 \mu\text{g.kg}^{-1}$. A maior concentração da substância foi obtida na amostra de ração base cítrica a qual é produzida na forma peletizada, composta principalmente de polpa, casca e semente de laranja. Além da ração em base Cítrica utilizada pelos produtores de leite, o subproduto oriundo do esmagamento da laranja compreendida pelo bagaço, por ser muito barato é consumido como ração em regiões próximas as fábricas de suco e esse produto pode ser consumido como sai da indústria pois caso haja algum tratamento físico ou químico o produto fica mais caro e deixa de ser viável.

O Brasil é responsável por 85% da exportação mundial de suco sendo o triângulo mineiro a segunda maior área de produção, segundo a associação a maior produção colheita / beneficiamento anual ocorre entre os meses de outubro a janeiro (64%) o restante da produção acontece de maio a setembro (36%) (CITRUS, 2012).

Assim correlacionando a localidade e os períodos de produção do leite e do produto laranja a contaminação dessas amostras de LP sugerem ter ocorrido através da AA com o uso do subproduto das indústrias de suco. No Brasil, o carbendazim tem

seu uso permitido em alguns produtos utilizados em AA e citros, com LMR variando de 100 (trigo) a 5 (citros e maçã) $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (BRASIL, 2013).

O mesmo valor de LMR da substância especificado para o leite é estendido a outros produtos de origem animal como carne bovina, frango, ovos entre outros (CODEX, 2012). O LMR especificado ao IA é referente à soma do carbendazim com o tiofanato metílico (ANVISA, 2013), entretanto o resíduo de tiofanato metílico não foi avaliado neste trabalho devido à ausência do seu MR.

Em programas brasileiros de monitoramento de hortifrutigranjeiros, no período de 2001 a 2010, o carbendazim foi a substância isolada mais frequentemente identificada em 26,7% das amostras analisadas (JARDIM, CALDAS, 2012). Resultados do programa PARA (2010) identificaram carbendazim em 176 amostras de diferentes culturas agrícolas como abacaxi, alface, beterraba, couve, laranja, mamão, morango pimentão e repolho. Para amostras de laranja, resíduos da substância foram reportadas em aproximadamente 50% das amostras, todas dentro do LMR ($5000 \mu\text{g.kg}^{-1}$) da cultura (ANVISA, 2013).

Trabalho de Ciro (2013) identificou e confirmou por método específico utilizando UPLC-MS/MS carbendazim em 10 amostras de abacaxi. Nas amostras analisadas foram obtidos valores que variaram na faixa de 40 a $7760 \mu\text{g.kg}^{-1}$. O agrotóxico possui LMR de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ estabelecido pelo MAPA (2011) para fins de programa de monitoramento (BRASIL, 2011). A ANVISA, órgão responsável pelo estabelecimento do LMR, não possui estabelecimento de LMR para a cultura.

Parecer fundamentado sobre a alteração dos LMRs existentes para o carbendazim e o tiofanato-metílico em maçãs e peras realizado EFSA (Europa Food Safety Authority) avaliou a solicitação na EU para o aumento do LMR em peras e maçãs.

A avaliação verificou o impacto do aumento desse limite para o tiofanato-metílico e carbendazim e avaliou entre outros fatores o uso do bagaço de maçã na alimentação de vacas leiteiras na Europa, o estudo concluiu que o impacto do uso dos produtos na AA não é significativo, por ser o uso da torta dessas frutas pequeno para o gado. O estudo também avaliou a ingesta dos dois IA consumidos na pêra e maçã dentro dos

valores de consumo europeu . Os valores da IDA aceitos para a maçã e pêra foram 0,5 mg.kg⁻¹ para o tiofanato-metílico e 0,2 mg.kg⁻¹ para o carbendazim (EU, 2006)

O carbendazim é um benzimidazol (classe III), fungicida, que causa aberrações cromossômicas (CARNEIRO, et al., 2012; KIRSCH-VOLDERS et al., 2003; Mccarroll et al., 2002) e desregulação endócrina do sistema reprodutivo masculino de ratos (CARNEIRO, et al., 2012; NAKAI et al., 2002; HESS, NAKAI, 2000).

O etonfenproxi foi identificado em 58 amostras de leite. Entretanto, por ter apresentado na primeira análise de multirresíduo efetuada no QA 164 altas recuperações (acima de 140%), somente foram considerados os resultados das amostras avaliadas na segunda etapa de confirmação pelo método específico do IA e aqueles presentes em amostras de FL, nas quais a recuperação da substância se mostrou adequada pelas especificações SANCO (2012).

O LMR estipulado para o etofenproxi, em leite, pela CE é de 50µg.mL⁻¹ (EU, 2011). No Brasil, tem o seu uso permitido em AA com LMR variando de 50 µg.mL⁻¹ (milho) a 100 µg.kg⁻¹ (soja e trigo) e como domissanitários (ANVISA, 2013).

O butóxido de piperonila (PBO) foi identificado em 60 amostras de leite, em concentrações inferiores em até 10 vezes ao LMR estipulado pelo CODEX (200 µg.mL⁻¹). Esse limite acomoda o uso dos produtos veterinários (CODEX, 2012).

A substância não é um agrotóxico, pois quando em uso isolado não produz efeito aos insetos, mas associado a outros agrotóxicos potencializa as propriedades inseticidas dos mesmos. As classes químicas normalmente associadas ao PBO são as piretrinas, piretróides, rotenona e carbamatos (NPIC, 2000). Não tem o seu uso regulamentado na EU (EU, 2012) No Brasil não possui o seu uso regulamentado para produtos hortifrutigranjeiros, mas tem o seu uso permitido em 4 medicamentos veterinários para uso em bovinos, formulados associado a piretróides (permetrinas) e organofosforados (clorpirifós e triclorfom). (SINDAN, 2013). A classe química das permetrinas comumente associadas ao PBO não foi avaliada neste trabalho.

No CODEX o PBO, possui LMR estabelecido para outros produtos de origem animal, com LMR, estipulado em carne de aves (7000 µg.kg⁻¹), carne bovina (5000µg.kg⁻¹) e ovos (1000 µg.kg⁻¹). Também tem estabelecido o LMR para produtos

hortifrutigranjeiros e outros produtos relacionados à AA, com valores de LMR de 5000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para frutas cítricas a feno (200000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (CODEX, 2013).

Trabalho de monitoramento de resíduos em AA identificou a presença de PBO em 17 amostras dentre as 42 amostras analisadas com concentrações variando de na faixa de 10 a 113 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.(Manuscrito 5).

No programa PARA, ano 2010, foi identificada a presença da substância em amostras analisadas de arroz. Após essa data, o PBO não foi mais incluído na listagem de substâncias analisadas, não havendo mais resultados disponíveis para a substância dentro do programa (ANVISA, 2012).

O LMR estabelecido pelo CODEX e EU, para o clorpirifós em leite, é de 20 e 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ respectivamente. No Brasil possui o mesmo valor de LMR especificado ao leite para fins de monitoramento no programa PNCRL. (CODEX, 2013; EU, 2013 MAPA, 2013). Neste trabalho o PBO foi identificado em 25% das amostras de leite avaliadas com valores residuais até 10 vezes inferiores ao LMR estabelecido para o produto.

O clorpirifós possui o LMR estabelecido para produtos agrícolas com valores de LMR variando de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (soja) a 2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (citros e pastagens) (ANVISA, 2013). Também tem o seu uso permitido como medicamento veterinário, sendo o IA registrado para 25 diferentes produtos autorizado a bovinos (SINDAN, 2013). O agrotóxico foi identificado em trabalho de Bastos (Manuscrito 5) em 6 das 24 amostras de AA analisadas (valores de 2 a 7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).

A etiona identificada em 18 amostras de leite (Tabela 9) não tem o seu uso permitido pelo CODEX e EU sendo registrada no Brasil para uso em 11 produtos agrícolas com seus valores de LMR variando de 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (café) a 2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (citros, maçã, pêra, tomate entre outros). Como medicamento veterinário tem o seu uso permitido a dois produtos para uso em bovinos (SINDAN, 2013). A substância foi identificada em quatro amostras de AA com resíduos inferiores a 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Manuscrito 5).

O agrotóxico pertence à classe dos Organosforados, a segunda maior encontrada em programas de monitoramento nacional. A primeira foi ditiocarbamatos, em produtos hortifrutigranjeiros, em programas de monitoramento nacional (ANVISA e MAPA) no período de 2001 a 2010, como demonstrado em trabalho de Jardim e Caldas

(2012). As culturas de laranja, maçã e batata apresentaram (%): 56,5; 67,7 e 92,4 respectivamente de organofosforados nos produtos.

Os agrotóxicos triadimefom e triadimenol, azoxistrobina e etoprofós possuem LMR estabelecido no leite pelo CODEX de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Esse limite representa o valor próximo ao limite de quantificação (CODEX, 2012). No Brasil, esses não possuem LMR estabelecidos para o leite sendo permitidos para outras culturas, como cereais.

O agrotóxico triadimefom somado ao triadimenol possui um LMR estabelecido no CODEX de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$. A substância foi analisada em trabalho de AA não tendo sido identificado resíduos nas amostras de leite avaliadas (até um LDM de $170 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Triadimefom e triadimenol são registradas no Brasil isoladamente, não adotando o mesmo critério do CODEX da soma dos dois produtos para o cálculo do LMR. No Brasil, o triadimefom possui LMR variando de 10 (cana-de-açúcar, trigo, café entre outros) a $2000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ em uva. Já o Triadimenol tem estabelecido valores de LMR 100 (cevada, cana de açúcar) a 500 (trigo e café) $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (ANVISA 2012).

A classe dos triazóis, à qual pertencem o triadimefom e triadimenol, foi a terceira maior classe com agrotóxicos presentes em produtos hortifrutigranjeiros em programas de monitoramento no período de 2001 a 2010 (JARDIM, CALDAS, 2012).

O agrotóxico isoprotiolana não possui o registro de uso no Brasil e no CODEX O produto tem o seu uso permitido na cultura de arroz no Japão e possui uma permissão de tolerância provisória fornecida pela EFSA, onde a avaliação permitiu a importação do arroz para consumo na Europa. Segundo a agência, o pedido é apoiado em dados de resíduos e sem risco para os consumidores. O LMR provisório estipulado é de $500 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para arroz integral, sem considerar o processamento. Não foi avaliado na agência o impacto do produto em alimentos de origem animal, pois na França o arroz e seus subprodutos não são utilizados na AA (EU, 2011).

No Brasil, o farelo de arroz (FAR) é utilizado como AA. Duas amostras do produto foram avaliadas quanto à presença de resíduo da isoprotiolona, não tendo sido identificados resíduos até um LDM de $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Manuscrito 5).

Azoxistrobina não possui LMR estabelecido no Brasil para leite, sendo permitido em produtos agrícolas em limites variando de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (cana-de-açúcar, milho entre outros); $700 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (arroz) a $1000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (alface e figo) (ANVISA, 2012). A substância

foi identificada em níveis residuais (10 a $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$) em 5 amostras de diferentes produtos de AA das 42 avaliadas (Manuscrito 5).

Etoprofós tem o seu uso permitido no Brasil para a cultura da batata. A presença da substância no leite tem grande importância toxicológica devido ao seu baixo valor da IDA ($0,4\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$) e ao valor de ARfD ($50\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$). Na EU o produto tem o seu uso permitido até 2017 (EU, 2013). O IA foi avaliado em amostras de hortifrutigranjeiros no programa PARA no ano de 2009 e 2010, não tendo sido identificada a presença em nenhuma amostra dentro dos limites de quantificação avaliados.

Triciclazol não possui registro no CODEX e na EU onde seu registro não foi reavaliado em 2008 por faltarem informações consistentes sobre o risco oferecido ao manuseio em trabalhadores da indústria e rural, risco aos pássaros e mamíferos e ausência de informações sobre risco aos animais aquáticos (EU, 2008). A substância também não possui seu uso permitido nos EUA (USDA, 2013).

No Brasil tem o seu uso permitido para arroz utilizado como sementes com LMR estabelecido em $300 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (ANVISA, 2012). A presença da substância nas amostras de leite em níveis residuais foi confirmada através de uma nova extração e reinjeção da amostra e confirmação com os critérios SANCO (2012). A presença da substância em níveis residuais pode não ter implicações toxicológicas ao uso do produto devido às baixas concentrações obtidas, mas sugere o uso indevido do produto, pois sua utilização é exclusivamente para sementes, sugerindo assim a necessidade de maior controle na indicação de uso dos produtos.

Picoxistrobina possui LMR no leite de $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ estabelecido pela EU. No Brasil tem seu uso permitido em AA (LMR 10 a $70 \mu\text{g.kg}^{-1}$) (EU, 2013; ANVISA, 2013). A substância foi identificada em níveis residuais, em três amostras de ração que continham soja, para consumo animal, produzidas na fazenda. Os resultados obtidos na AA foram compatíveis ao LMR ($20 \mu\text{g.kg}^{-1}$) da substância no produto (Manuscrito 5).

O acefato identificado em sete amostras de leite possui um LMR especificado pelo CODEX e no Brasil de $20 \mu\text{g/mL}^{-1}$ (MAPA, 2012). Na EU seu uso foi proibido em 2002 por não existirem informações suficientes, segundo a CE, que sustentassem a IDA e faltarem informações sobre toxicidade a organismos não alvo, artrópodes,

mamíferos, pássaros e organismos aquáticos (EU, 2013). Nos EUA possui um LMR especificado para a substância de $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (USDA, 2013).

No Brasil a substância foi reavaliada em 2008 com o apoio técnico de pesquisadores da FIOCRUZ. Na nota técnica concluiu-se que o acefato é um IA de elevada periculosidade tanto em termos de exposições agudas como crônicas. No documento é sugerida a substituição da IDA de $30 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$ para $0,8 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$. A redução desse valor é justificada no documento, considerando que o IA apresenta potencial mutagênico pela presença de eventuais contaminantes na sua formulação, evidências de carcinogenicidade em camundongos e por diferentes estudos realizados em animais que demonstraram distúrbios cognitivos e neuropsiquiátricos mesmo em baixas doses (ANVISA, 2008).

No programa PARA (2010), o IA foi identificado em 76 amostras (total 2488) com uso não autorizado nas culturas abacaxi, alface, beterraba, cebola, cenoura, mamão, manga, pepino, e nas culturas com uso autorizado, com LMR em mg.kg^{-1} expresso entre parênteses, couve, laranja e tomate (0,5), pimentão (1) e morango (2) .

Diuron foi identificado em seis amostras de leite, possui uso estabelecido na CE com LMR para o leite de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No Brasil tem o seu uso permitido em diferentes hortifrutigranjeiros e AA com limites variando ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de 50 (milho, trigo,) a 2000 (alfafa). A substância não consta na lista de IA avaliados no programa PARA no ano de 2010. Em 2009 presente na lista de IA avaliados, foi encontrado em duas amostras de abacaxi dentro do LMR especificado a cultura.

Epoxiconazol, identificado em seis amostras de leite, possui LMR estabelecido no leite pela EU de $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ mas não possui registro no CODEX No Brasil tem o seu uso permitido em hortifrutigranjeiros e alguns produtos relacionados à AA com valores variando de $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (cana-de-açúcar) a $500 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (cevada). O epoxiconazol foi identificado pelo programa PARA (2009) em uma amostra de arroz e beterraba e em sete amostras de mamão. No ano de 2010 o programa não inclui o IA na lista de substâncias avaliadas.

Tetraconazol possui o uso permitido no Brasil em hortifrutigranjeiros para diferentes produtos, com valores variando de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (batata) a $1000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (arroz). No programa PARA no ano de 2009, a substância, foi identificada em amostras de

beterraba, feijão, pepino, tomate, manga e uva, todas com resíduos dentro do LMR. No ano de 2010, o mesmo programa encontrou o IA em três amostras de arroz, também dentro do LMR do produto.

O propargito tem um LMR estabelecido pelo CODEX e EU de $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No Brasil, tem o uso regulamentado a alguns produtos utilizados na AA e citros.

Em avaliação toxicológica propargito foi a substância mais citotóxica através do ensaio de captação de vermelho neutro, após período de exposição de 24h em células Caco-2 (células de linhagem de carcinoma de cólon humano) e HepG2 (células de hepatoma humano). Os resultados mostraram que propargito e que o cocktail contendo este agrotóxico rapidamente induziu produção intracelular de espécies reativas de oxigênio após tratamento por 3h, especialmente na linhagem celular intestinal. (TAKAKURA et al., 2013).

Este foi o primeiro estudo avaliando a citotoxicidade de propargito em linhagens celulares humanas. Propargito é um acaricida classificado pela EPA como carcinógeno químico B2, ou seja, um provável carcinógeno humano) baseado na indução de tumores intestinais. Relata-se também que o câncer gástrico em trabalhadores agrícolas foi associado ao uso da substância. Por estas razões, as atividades tóxicas do propargito necessitam ser esclarecidas (TAKAKURA et al., 2013).

A substância foi identificada em trabalho anterior (Manuscrito 5) em duas amostras de ração para uso animal, uma delas produzida na fazenda com misturas de cereais (RF1) e a outra (RC1) continha, além dos cereais, subprodutos de laranja (rejeitos de produtos cítricos). Os valores obtidos na AA (RF1 e RC1) foram de 140 e $600 \mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente (Macuscrito 5). Foi identificado no programa PARA (2009) em amostras de morango, tomate e uva e em 2010, amostras de laranja, morango e pimentão.

Fenazaquina possui LMR estipulado no leite pela CE de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$, mas não possui limites estabelecidos do produto no CODEX na ANVISA e no MAPA.

Metoxifenosida possui LMR estabelecido pelo CODEX de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No Brasil tem seu uso permitido para cereais, cujo subprodutos são utilizados na AA

Pirimifós metílico com LMR estabelecido em leite pela EU de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e CODEX de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ foi identificado em 17 amostras de AA avaliadas com valores compreendidos na faixa de (<10 a $2.670 \mu\text{g.kg}^{-1}$) (Manuscrito 5).

Outros agrotóxicos foram identificados em pequeno número de amostras (um a três) tendo sido confirmados por método específico e/ou nova extração das amostras. Esses agrotóxicos com o número de amostras identificado no conjunto entre parênteses foram ametrina, atrazina, desmedifam, piriproxifem (3); mepronil (2); abamectina, azaconazol, azametifós, carbaril e trifloxistrobina (1).

Os agrotóxicos identificados nas amostras de leite: azametifós, carpropamida, cadusafós, dietofencarbe, flufenacete, isoprotilona, mepronil, triciclazol e tolclófós metílico, não estavam na lista dos IAs avaliados em 2009. Os agrotóxicos azametifós, butóxido de piperonila, carpropamida, desmedifam, dietofencarbe, fenazaquina, flufenacete isoprotilona, mepronil, piraclostrobina, piriproxifem, trifloxistrobina, triciclazol e tolclófós metílico não foram avaliados pelo programa PARA no ano de 2010.

No mesmo programa foram identificados, no ano de 2010, vários resíduos de agrotóxicos também identificados no leite neste trabalho. Os agrotóxicos e hortifrutigranjeiros identificados foram carbendazim (arroz, abacaxi, couve, laranja, tomate, mamão, alface, beterraba, couve, feijão e mamão entre outros); clorpirifós (feijão, clorpirifós, malationa, acefato) (PARA, 2010).

Presença de diferentes resíduos de agrotóxicos na mesma amostra

Nas amostras de leite e produtos afins avaliados foram obtido mais de um resíduo por amostra de leite avaliada. Na tabela 12 encontra-se distribuído o número de IA avaliados por número de amostras analisadas.

Tabela 12: Número de ingredientes ativos (IA) encontrados por amostras avaliadas (N).

Amostra	N	IA encontrados
CL	5	5 a 10
FL	10	1 a 10
LP	45	2 a 15

PO	4	5 a 9
----	---	-------

O maior número de ingredientes ativos observados por amostra de LP avaliada foi na amostra de LP 44=15 (fev-RJ) e o menor em LP 34=2 (out-MG). Para o produto FL, o maior valor foi identificado na amostra FL10=10 (fev-SP) e o menor em FL5=1 (out-SP). Em relação a FL a presença de até 10 IA deverá ser considerada e avaliada em relação ao consumo, crianças no primeiro ano de vida.

Na amostra de PO o maior número de resíduos obtidos foi na amostra PO2=9 (fev, MG) não havendo dentro do grupo de produtos amostras com um número de IA inferior a 5.

Para a classe dos CL as amostras CL3 e CL4 apresentaram 5 IA foram ambas produzidas no estado de SP nos meses de abril e maio e a amostra CL5= 10 IA produzido em setembro também em São Paulo.

A avaliação toxicológica da presença de grande número de resíduos de agrotóxicos em limites residuais, abaixo do LMR, em uma mesma amostra de alimento não está previsto na legislação brasileira nem internacional (REFFSTRUP, et al., 2010). Entretanto internacionalmente vários trabalhos tem abordado o assunto e elaborado maneiras de avaliar o risco dessa presença múltipla nos alimentos (TAKAKURA, et al., 2013; HERNÁNDEZ, et al., 2012; ANDROUTSAPOULOS, et al., 2012; NOUGADÈRE, et al., 2012; REFFSTRUP, et al., 2010).

A agência francesa ANSES (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & safety) realizou um teste em vitro usando células humanas com as misturas dos agrotóxicos presentes nos programas de monitoramento, avaliando sete diferentes misturas com níveis residuais. Como resultado do trabalho identificaram uma alta toxicidade na mistura que continha o agrotóxico propargita e em outra contendo DDT-Dieldrin (TAKAKURA, et al., 2013). O IA propargita foi encontrado nesse trabalho em níveis residuais em 9 % das amostras avaliadas (Tabela 10) sendo a sua presença sugerida no leite pela AA. Os organoclorados não foram avaliados nesse trabalho.

Cálculo da ingestão

Ingestão crônica

O cálculo da ingesta foi realizado utilizando alguns critérios:

- a) Foram priorizadas as avaliações dos agrotóxicos presentes em maior número de amostras analisadas;
- b) Com maior risco de ingestão crônica, menor IDA.
- c) Foi utilizado o valor de consumo de leite de 1700 mL correspondente à soma do valor máximo consumido no abrigo (200 mL) e o valor máximo obtido na avaliação com os responsáveis do Abrigo (1500 mL) - Tabela 8.
- d) O peso médio utilizado foi o obtido na faixa de avaliação foi de 9,4 Kg (Tabela 4) correspondente ao obtido em crianças pertencentes à classe com menor faixa etária e maior consumo de leite;
- e) A concentração inicial utilizada para o cálculo da ingesta crônica de cada substância foi a maior concentração obtida entre as amostras avaliadas.
- f) Somente para os IA que excederam a IDA foi feita uma reavaliação utilizando dados médios de consumo, utilizados no cálculo da ingestão crônica.
- g) Para o cálculo da ingesta, as unidades da IDA foram corrigidas para $\mu\text{g.mL}^{-1}$.
- h) Para o IA acefato, substância em reavaliação, a avaliação da ingesta foi feita considerando o valor da IDA atual e o valor da nova proposta na reavaliação da substância.
- i) Agrotóxicos identificados nas amostras como traços foram avaliados com os valores do LDM.
- j) Agrotóxicos pertencentes à classe dos organofosforados foram avaliados separadamente e pelo somatório de todos os resíduos encontrados em pelo menos uma amostra dentre as 67 avaliadas. Na Tabela 13 encontram-se o valor calculado da ingesta e o percentual na avaliação da IDA dos principais agrotóxicos avaliados

Tabela 13: Valores de ingesta teórico calculado ($\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia.}$), IDA ($\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$) e percentual da IDA obtido para os agrotóxicos identificados nas amostras de leite.

Agrotóxico	IDTM _L	IDA	IDA %	Agrotóxico	IDTM _L	IDA	IDA %
Etopenproxi	4,521277	30	15	Isoprotiolona	0,009043	10	0,09
Etopenproxi ¹	1,670213	30	6	tríciclozol	0,007234	10	0,07
PBO	0,12117	200	0,06	diuron	0,018085	7	0,26
Carbendazim	18,62766	20	93	azoxistrobina	0,007234	20	0,04
Carbendazim¹	0,654723	20	3	flufenacete	0,003617	10	0,04
Clorpirifós	0,198936	10	2	pirimifós metílico	0,054255	30	0,18
Etiona	0,074149	2	4	profenofós	0,007234	10	0,07
Triadimefom	0,077766	30	0,26	propargito	0,010851	10	0,11
Dietofencarbe	0,009043	10	0,09	tiabendazol	0,010851	100	0,01
Etoprofós	0,094043	0,4	24	tetraconazol	0,043404	5	0,87
Etoprofós¹	0,03474	0,4	9	malationa	0,023511	300	0,008
Epoxiconazol	0,030745	3	1	cadusafós	0,361702	0,3	121
Acefato	0,054255	30	0,18	cadusafós¹	0,133617	0,3	45
Acefato²	0,054255	0,8	7	metoxifenosida	0,047021	50	0,09
Epoxiconazol	0,030745	3	1	ametrina	0,092234	10	0,92
Picoxistrobina	0,271277	43	0,63	pirimicarbe	0,003617	20	0,02
Penconazol	0,204362	30	0,68	triazofós	0,007234	1	0,72
Fenazaquina	0,289362	30	0,96	trifloxistrobina	0,009043	30	0,03
Malationa	0,023511	30	0,08				

1: calculado com o consumo médio de leite= 628 mL, 2: calculado com a IDA proposta RDC 10/1008 . ANVISA.

Os valores da ingestão crônica calculada para os trinta e oito agrotóxicos avaliados mostraram que os valores da IDA calculados, mesmo utilizando valores críticos, isto é, maior concentração do agrotóxico encontrado e maior consumo de leite, não excederam a IDA para 36 das 38 substâncias avaliadas.

Os IA carbendazim e cadusafós excederam os valores da IDA, sendo recalculados utilizando os valores médios de concentração e consumo de leite. Na nova condição de cálculo, as duas substâncias apresentaram um valor de IDA de 3 e 45 % para o carbendazim e cadusafós, respectivamente.

Os valores calculados utilizando os valores médios de consumo e concentração foram inferiores a 100% da IDA (Tabela 10), significando a ausência de risco da substância no cálculo da ingesta. Entretanto, deve ser considerado especialmente para o carbendazim que o cálculo foi feito exclusivamente em amostras de leite, não tendo sido considerado nessa avaliação a contribuição de todos os outros produtos que também contenham a substância carbendazim (laranja, abacaxi entre outros).

O IA acefato foi calculado usando o novo valor de IDA proposto apresentando resultado de IDA de 7 %.

Cálculo considerando todos IAs da classe dos organofosforados

Na avaliação da IDTM, a soma de todos os organofosforados avaliados foram considerados inicialmente se identificados em até uma única amostra de leite. Os organofosforados azametifós, cadusafós, clorfenvinfós, coumafós, etrinfós e fentiona foram identificados e confirmados em uma única amostra.

Os agrotóxicos e as concentrações consideradas na soma expressa entre parênteses em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram acefato (0,3); azametifós (0,05); cadusafós (2); clorfenvinfós (6,3); clorpirifós (1,1); coumafós (0,6); diazinona (2); etiona (0,41); etoprofós (0,52); etrinfós (0,1); fentiona (0,73); malationa (0,13); pirimifós metílico (0,3); profenofós (0,04); tolclofós metílico (3,1); triazofós (0,04), obtendo-se um somatório de $17,72 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

O valor da $IDTM_L$ calculado com o valor médio de consumo de 628 mL para a soma dos organofosforados e com o valor da IDA mais crítico de $0,3 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$ correspondente ao cadusafós e recalculado com o valor médio das IDAs ($10 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc}/\text{dia}$) identificado nas amostras. O peso médio utilizado foi de 9,4 kg (Tabela 6) correspondente à primeira faixa de consumo, de três a seis meses. Na Tabela 14 encontram-se os valores da $IDTM_L$ calculados com a soma de todos os IA da classe dos organofosforados identificados nas amostras de leite, calculados considerando o valor da IDA mais crítica, a média da IDA considerando os organofosforados encontrados e o % IDA.

Tabela 14: Valores de Concentração total da classe dos organofosforados ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) ingesta teórico calculado ($\mu\text{g.kg}^{-1}$ pc/dia.), IDA ($\mu\text{g.kg}^{-1}$ pc/dia) e percentual da IDA obtido para a soma dos organofosforados identificados nas amostras de leite.

Classe dos organofosforados	Conc. Total	IDTM _L	IDA	IDA %
Todos os organofosforados considerando a IDA mais crítica	19,01	1,18	0,3	420
Todos os organofosforados considerando a média das IDA.	19,01	1,27	10	13
Todos os organofosforados considerando a IDA acefato	19,01	1,27	30	4,2

Os valores da IDA foram impactados, isto é, apresentaram valores acima de 100% somente com o cálculo realizado com o valor de IDA mais crítica do grupo correspondente ao cadusafós

Ingestão aguda

Os cálculos da ingestão aguda foram realizados considerando os valores de ARfD obtidos pelo CODEX (JMPR). Algumas substâncias possuem um segundo valor de ARfD obtido na CE inferior ao do CODEX, sendo este também considerado no cálculo da ingestão crônica. Os valores de ARfD estabelecidos pelo JMPR e AFSA (EU) encontram-se descritos na Tabela 15

Para o cálculo da concentração do carbendazim foi utilizada a concentração calculada considerando a distribuição 97,5 P e o volume máximo de leite em pó diluído consumido em 24 horas.

Tabela 15: Valores de ARfD determinados para diferentes agrotóxicos identificados em amostras de leite.

Agrotóxico	ARfD ¹ mg.kg ⁻¹ . pc/dia	Agrotóxico	ARfD mg.kg ⁻¹ pc/dia
acefato	0,1	fenpropimorfe	0,2
ametrina	NA	flufenacete	0,017
Azoxistrobina	ND	isoprotiolona	ND
Butóxido de piperonila	ND	malationa	2
Carbendazim	0.02 ²	malationa	0,31
Carbendazim	0,5	metoxifenosida	0,9
Cadusafós	0,36	pirimicarbe	0,1

Clorpirifós	0,1	penconazol	0,5
Dietofencarbe	NA	pirimifós metílico	0,2
Diuron	0,016	picoxistrobina	ND
Etofenproxi	1	triciclazol	ND
Epoxiconazol	0,023	triadimefom	0,08
Etiona	ND	triazofós	0,001
Etoprofós	0,05	tolclofós metílico	NA
Fenazaquina	0,1	trifloxistrobina	NA

1: valor do Codex, JMPR; 2: valor da EU. 2013

A ingestão aguda deve ser calculada para substâncias que apresentarem o valor de ARfD menor que $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}\text{pc/dia}$. Essa condição foi observada para os agrotóxicos acefato, clorpirifós, diuron, epoxiconazol, etoprofós, fenazaquina, flufenacete, triadimefom e triazofós e carbendazim. Para este último foi considerando também o valor de ARfD da CE para o cálculo da ingestão crônica. Na Tabela 16 encontra-se estabelecido as concentrações utilizadas ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), a ingestão aguda teórica calculada, o valor de ARFD e o (%) de ARfD obtido para os resíduos de agrotóxicos obtidos nas amostras de leite avaliadas.

Tabela 16: Concentração dos agrotóxicos ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), valor da ingestão aguda teórica ($\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{pc/dia}$).

Agrotóxico	Concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Ingestão aguda teórica	ARfD	ARfD %
Carbendazim	65 ²	11,8	20 ¹	60
Carbendazim	65 ²	11,8	500	2,4
Cadusafós	2	0,36	3	12
Clorpirifós	1	0,18	100	0,20
Epoxiconazol	0,17	0,03	23	0,14
Fenazaquina	0,1	0,02	100	0,019
Flufenacete	0,02	0,004	20	0,04
Triazofós	0,04	0,01	1	0,72
Triadimefom	0,43	0,08	80	0,10
Σ organofosforados	19,01	3,44	10 ³	35
Σ organofosforados	19,01	3,44	3 ⁴	115

Fonte: Codex MRL e EU, MRL.1:EU; 2 Valor correspondente a 97,5 P. 3: ARfD acefato.

4: ARfD cadusafós

Os valores de ARfD foram inferiores a 100% para todos os agrotóxicos avaliados considerando os parâmetros utilizados. Entretanto, o agrotóxico carbendazim

apresentou valores de ARfD 2,4 e 60% respectivamente, calculados com parâmetros toxicológicos estipulados pelo CODEX e EU para as amostras de leite. Nesse caso é conveniente e desejado que esses valores sejam avaliados em conjunto aos valores de ingesta aguda para produtos hortifrutigranjeiros, pois relatório do programa PARA (2010) mostrou ser o IA carbendazim identificado em maior número de hortifrutigranjeiros.

Na avaliação da ingesta aguda, quando se considera a ARfD mais crítica (cadusafós), a soma de todos os valores dos resíduos de organofosforados obtidos nas amostras de leite ultrapassa o valor seguro de 100%. Esse valor sugere que outros produtos, como por exemplo os hortifrutigranjeiros devem ser incluídos ao cálculo.

Trabalho de Caldas e colaboradores (2006), em estudo probabilístico de consumo de alimentos por crianças, mostrou dados de ARfD calculados para o somatório dos organofosforados e carbamatos superiores a 169% (considerando ARfD do acefato)(CALDAS et al., 2006). O relatório do programa PARA (2010) indica a classe dos organofosforados com maior número de substâncias monitoradas em hortifrutigranjeiros em 2012 (BRASIL, 2012).

CONCLUSÕES

Foi possível concluir que o leite não é um alimento seguro em relação a presença de resíduos de agrotóxicos, por possuir um agrotóxico, o carbendazim, acima do LMR especificado pelo CODEX e EU.

A avaliação do consumo de leite pode mostrar que os valores consumidos do produto são bem mais alto que os obtidos pelo POF do IBGE e, por essa razão, deve-se buscar valores mais fidedignos, os quais representem o consumo infantil na utilização em avaliações de risco de resíduos e contaminantes

Foi possível verificar também a importância dos programas de monitoramento que buscam avaliar um número abrangente de agrotóxicos e considerem resultados analíticos até níveis residuais bem próximos aos LDM e/ou trabalhando para diminuir esses limites.

Os resultados demonstraram que os limites máximos de resíduos da área animal são representativos e devem ser considerados nas avaliações de ingestão dos alimentos. Quando avaliados em conjunto podem vir a impactar a IDA do agrotóxico devendo ser avaliados e considerados. Essa condição ocorreu nesse trabalho com o carbendazim e com a soma dos resíduos dos organofosforados.

Com os novos equipamentos de cromatografia com detecção por Massa, os limites de quantificação são possíveis em níveis bem abaixo de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$. Desde que avaliados dentro de todos os requisitos de garantia de qualidade dos resultados em níveis mais baixos, é possível avaliar com segurança um grande número de resíduos presentes de diferentes resíduos de diferentes classes química e agrônômicas, em uma mesma amostra, sendo desejável que avaliações toxicológicas sejam feitas para avaliar a segurança do alimento, neste caso, o leite pronto para o consumo infantil.

Referência Bibliográfica

ANDROUTSOPOULOS, V.; HERNANDEZ, F.A.; LIESIVUORI, J.; TSATSAKIS, A.M. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides. **Toxicology**, [in prelo], 2012.

ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S.J.; STAJNBAER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias com LMR para os agrotóxicos autorizados. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias>. Acessado em 10 de abril de 2013.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de Agrotóxicos. PARA. 2009. Resultados do programa PARA. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8ef32a80481aa03d85989570623c4ce6/RELABORIO_PARA_2009.pdf?MOD=AJPERES. Acessado em 27 de abril de 2013.

BASTOS, L, H, P; CARDOSO, M.W.; NÓBREGA, A. W. N.; JACOB, S. C. Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento

de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cadernos de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 19 (1), p. 51-60, 2011.

BELTRANE, A.; JUNIOR, M.M. Principais riscos químicos no leite: Um problema de Saúde Pública. **Arquivos de Ciência da Saúde Unipar**, Umuarama, São Paulo, v 2, nº 2, p. 141-145, maio /ago. 2005.

BRASIL. Decreto nº 4074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7802 de 11 de julho de 1989. 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. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF**, 08 mar. 2002.

BRASIL. Instrução Normativa nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em produtos de Origem Animal-PNCRL e os Programas de Controle de resíduos em Carne – PCRC, mel- PCRL, Leite e pescado - PCRCP **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 22dez. 1999. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 25 de 9 de agosto de 2011. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Defini para as culturas agrícolas de abacaxi, alface, amendoim, arroz, banana entre outras no ano safra 2011/2012, os limites máximos de resíduos e contaminantes tolerados para fins de monitoramento de agrotóxicos, bem como o tipos de análises e número de amostras a serem coletadas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 155, 12 ago.2011. Seção 1

_____.Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Guia Prático de Preparo de Alimentos para crianças menores de 12 meses que não podem ser amamentadas Brasília DF, 2004.

_____.RDC nº 43 de 19 de setembro de 2011. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o regulamento técnico para formulas infantis para lactentes. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 21agosto. 2006. Seção 1;

_____.RDC nº 44 de 19 de setembro de 2011. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o regulamento técnico para formulas infantis de segmento para lactentes e crianças de primeira infância. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 21 ago. 2006. Seção 1;

_____.RDC nº 45 de 19 de setembro de 2011. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o regulamento técnico para formulas infantis para lactentes destinadas a necessidades dietoterápicas específicas e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância destinadas a necessidades dietoterápicas especiais **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 21 ago. 2006. Seção 1;

_____.Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação e nutrição saudável. Brasília, p 236, 2005 Série A. normas e Manuais Técnicos

CALDAS, E, D; JARDIM, O. N, A. Exposure to toxic chemicals in the diet: Is the Brazilian population at risk?. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology** v 22, p1-15, 2012.

CALDAS, E. D.; BOON,P.E; TRESSOU, J. Probabilistic assessment of the cumulative acute exposure to organophosphorus pesticides. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** v 54, p124-133, 2009.

CARNEIRO, F F; PIGNATI, W; RIGOTTO, R M; AUGUSTO, L G S. RIZOLLO, A; MULLER, N M; ALEXANDRE, V P. FRIEDRICH, K; MELLO, M S C. **Dossiê ABRASCO** –Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. ABRASCO, Rio de Janeiro, abril de 2012. 1ª Parte. 98p.

CODEX. Alimentarius FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, [on-line] 2008. Disponível em <<http://www.codexalimentarius.org/standards/pesticides-MRLs/en>>. Acessado em 20 de março. 2013.

CODEX. Commission Codex Alimentarius. CODEX STAN 73-1981. Codex Standard for Canned Baby Foods. Disponível em: WWW.codexalimentarius.org.br. Acessado abril de 2013.

CITRUS. Associação Nacional dos exportadores de sucos cítricos. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/comercio/nacionais-244280-1.asp>. Acessado em março de 2013.

D-G SANCO, EUROPEAN UNION , Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue Analysis in Food and Feed. Document nº SANCO/ 12495/2011, 01 january 2012.

EUROPEAN COMMISSION. Health and Consumers. Directorate general. Tricyclazole: SANCO/1354/08, rev.0. Brussels. 2008. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list-tricyclazole_en.pdf. Acessado em 22 março de 2013.

EUROPEAN COMMISSION . Directiva 26/CE da Comissão de 3 de março de 2011, relativa a inclusão da substância ativa dietofencarbe e altera a Decisão 2008/934/CE. **Jornal Oficial da Comunidade Européia.**

EUROPEAN COMMISSION. Health and Consumers. Directorate general. Isoprothiolane: SANCO/1354/08, rev.0. Brussels. 2008. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list-isoprothiolane_en.pdf. Acessado em 22 março de 2013.

EUROPEAN COMMISSION. Directiva 2006/125/CE da Comissão de 5 de dezembro de 2006, relativa aos alimentos à base de cereais e aos alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens (Texto relevante para efeitos do EEE. Versão codificada). **Jornal Oficial da União Européia.** L 339/16, 6 dez. 2006. 20 p. Disponível em: < http://www.consulai.com/newsletter/17/pdf/R_CE_420_2011.pdf>. Acessado em: 09 abril. 2013

GONZÁLEZ-RODRIGUES, F.; LIÉBANAS, A.; J.; F.; FRENICICH, G.,A.; LÓPEZ,S.,J.,F. Determination of pesticides and some metabolites in different kinds of milk by solid-phase microextraction and low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v 382, p 164-172, april 2005.

HECK, M.C.; SANTOS, S. J COSTABEBER, H. I.; JÚNIOR, B. S.; EMANUELLI, T. Estimation of children exposure to organochloride compounds through Milk in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Chemistry** v 102, p.288-294, 2007.

HESS R.A, NAKAI M. Histopathology of the male reproductive system induced by the fungicide benomyl. **Histology and Histopathology**, v.15, n.1, p.207-24, 2000.

HERNÁNDEZ, A.F.; PARRÓN, T.; TSATSAKIS, A.M.; REQUENA, M.; ALARCÓN, R.; GUARNIDO LÓPEZ, O. Toxic effects of pesticide mixtures at molecular level: Their relevance to human health. **Toxicology**, [in prelo], 2012

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. Aquisição alimentar domiciliar *per capita*, por Unidades da Federação. Período 2008 a 2009. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/xml/pof_2008_2009.shtm. Acessado em março de 2013.

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão Censo agropecuário do Brasil, 2006. Disponível em www.ibge.gov.br. Acessado em 10 de março de 2013.

IBGE/SIDRA. Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão Brasil, série histórica de área plantada; série histórica de produção agrícola; safras 1998 a 2011. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>. Acessado em 20 março 2013

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Portaria INMETRO/DIMEL nº 028 de fevereiro de 2001.

JARDIM, O. N, A; CALDAS, E, D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food- Results from 2001 to 2010. **Food Control** v. 25, p607-616, 2012.

JARDIM, O. N, A; CALDAS, E. D. Exposição Humana a Substâncias Químicas Potencialmente Tóxicas na Dieta e os Riscos para Saúde. **Química Nova** v. 32, nº7, p1898-1909, 2009.

KIRSCH-VOLDERS M, VANHAUWAERT A, EICHENLAUB-RITTER U, DECORDIER I. Indirect mechanisms of genotoxicity. **Toxicology Letter**, v.11, n.140-141, p.63-74, 2003.

KROES R., MULLER D., LAMBE J., LOWIK M.R.H.; KLAVEREN, VAN; KLEINER J. Assessment of intake from the diet. **Food Chemistry Toxicology**, v 40, p327-385, 2002.

LEONARDI, A.L.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Disponibilidade de cálcio em leite tratado por raios gama. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v 31 (1), p31-40, 2011.

MCCARROLL NE, PROTZEL A, IOANNOU Y, FRANK STACK HF, JACKSON MA, WATERS MD, DEARFIELD KL. A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals. III. Mutagenicity and carcinogenicity of benomyl and carbendazim. **Mutation Research**, v.512, n.1, p.1-35, 2002.

MORAIS, C.S. **Método multirresíduos para Determinação de Agrotóxicos em Abacaxi empregando QuEChERS e UPLC- MS/MS** 2013. 74f. Tese em (Mestrado em Ciências. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2013.

NAKAI M, MILLER MG, CARNES K, HESS RA. Stage-specific effects of the fungicide carbendazim on Sertoli cell microtubules in rat testis. **Tissue and Cell**, v.34, n.2, p.73-80, 2002.

NOUGADÉRE, A.; SIROT, V.; KADAR, A.; FASTIER, A.; TRUCHOT, E.; VERGENET, C.; HOMMET, F.; BAYLÉ, J.; GROS, P.; LEBLANC, J-C. Total diet study on pesticide residues in France: Levels in foods as consumed and chronic dietary risk to consumers. **Environnement International**, v45, p 135-150, 2012.

OMS. Organización Mundial de La Salud. Necesidades de energia e de proteínas. Informe Técnico. Ginebra, 1985

REFSTRUP, T.K.; LARSEN, J.C.; MEYER, O. Risk assessment of mixtures of pesticides. Current approaches and future strategies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v 56, p 174-192, 2010.

SANTOS, S. J.; HECK, M.C.; COSTABEBER, H. I.; JÚNIOR, B. S.; EMANUELLI, T. Ingestão diária dos organoclorados lindano, hexaclorobenzeno e *p,p'*-diclorodifenil dicloroetileno a partir de leite esterilizado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p.85-92, março./dezembro.2005.

SILVA, T.P.P.; MOREIRA, C.J.; PERES, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde e na percepção de risco de trabalhadores da pecuária leiteira. **Ciência & saúde Coletiva**, v 2p311-325, 2012.

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. **Vendas de defensivos agrícolas são recordes e vão a US\$ 8,5 bi em 2011**. Disponível em: http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2256. Acessado em 22 março 2013.

SINDAN. Compêndio de produtos veterinários em parceria com a CPV/DDA/DAS/MAPA. Edição eletrônica de produtos veterinários de uso permitido no Brasil. Disponível em: <http://www.cpv.com.br/cpv/index.html>. Acessado em 27 março 2013.

TAKAKURA, N.; SANDERS, P.; FESARD, V.; HÉGAAT, L. *In vitro* combined cytotoxic effects of pesticide cocktails simultaneously found in the french diet. **Food and Chemical Toxicology**, v 52, p 153-162, 2013.

VOLDERS-KIRSCH, M.; VANHAUWAERT, A.; EICHENLAUB-RITTER, U.; DECORDER, I. Indirect mechanisms of genotoxicity. **Toxicology Letters**, v140-11, p63-74, 2003.

VOGT, R.; BENNETT, D.; CASSADY, D.; FROST, J.; RITZ, B.; HERTZ-PICCIOTTO, I. Cancer and non cancer health effects from food contaminant exposures for children and adults in California: a risk assessment. **Environmental health**, v 11, p 1-14 2012.

[WHO] World Health Organization Inventory of IPCS and other WHO pesticide evaluations and summary of toxicological evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) Tenth Edition through 2010. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/chem/jmpr/publications/jmpr_pesticide/en/index.html. Acessado em 20 março 2013.

WHO. **World Health Organization** 1997. Guidelines for predicting dietary intake of pesticides residues. Global Environment Monitoring System. Food Contamination Monitoring and Assessment Program (GEMS/Foods). program of food Safety Aid. Geneva Switzerland.

National Research Council; *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process*. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health. National Academy Press, Washington, DC. 1983.

MARTINS, I.S. Requerimentos de energia e nutrientes da população brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v 9, p1-17 ,september 1979.

MATERIAL SUPLEMENTAR do artigo “Estimativa do consumo de leite e produtos afins, entre crianças caracterizando a presença de possíveis, resíduos de contaminantes como agrotóxicos”.

Figura 1: Questionário utilizado para avaliação do consumo de leite em casa

Nome do Responsável:

Nome da criança que frequenta o Abrigo

.....

Idade da criança:.....

Questionário aos pais sobre o consumo de leite, derivados e afins.

Instruções : Coloque um X no quadrado ao lado da resposta que é correta.

Seu filho bebe leite pela manhã e a noite antes e após o horário de vir à creche?

SIM NÃO Às vezes

Quando?

Sempre pela manhã sempre à noite pela manhã e à noite

Em outro horário. Por favor, informe.....

Se a sua resposta for SIM. Qual a embalagem e apresentação do leite?

Leite em pó lata Leite em caixa tipo longa vida Leite em saco plástico

Leite em pó saco alumínio ou plástico. Outra. Explique

Quanto à gordura. Qual o tipo de leite você usa?

Sempre integral desnatado semi desnatado

Outro tipo. Informe.....

Se você usa leite em pó.

Quantas colheres do pó você coloca para a medida de água? Use colheres de sopa e copo de geléia ou requeijão como referência.

Explique.....

Qual a quantidade de leite consumido? Considerando leite fluido

Um copo tipo geléia Um copo tipo requeijão

Metade de um copo tipo geléia Metade de um copo tipo requeijão

Mamadeira. Quantos mililitros.....mL. Outra quantidade. Por favor informe

Se a sua resposta for **Não**.

Qual alimento seu filho consome pela manhã e em qual quantidade?

.....

Caso use outros alimentos como “leite” tipo soja, farinha Láctea, farinha de milho, maisena, chocolates , danoninho entre outros, por favor, informe e diga e em quais quantidades usa ao dia. Usa colher de sopa, ?

.....

Nas linhas abaixo coloque os seus comentários sobre a alimentação do seu filho que você ache importante falar e que possa contribuir com a pesquisa de consumo do leite e derivados.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Tabela S1: Dados de preparo, valor de leite em pó (g)/ volume de água (mL) e valor de leite fluído , obtido através das respostas ao questionário submetido as crianças freqüentadoras do Abrigo

ID	Modo de preparo do leite nas residências, dos responsáveis das crianças	Valor pó/água (g.mL ⁻¹)	VT Leite em pó (mL)	Valor Leite fluído (mL)
1	5 colheres de sopa cheias /240mL de água	0,27	480	480
2	1 colher cheia/240 mL. de água em mamadeira	0,05	480	-----
3	Leite Fluído UHT mamadeira			1000
4	Leite fluído pasteurizado			50
5	Leite fluído UHT achocolatado			200
6	8 medidas/240 mL água	0,15	720	-----
7	4 medidas/360 mL água. Intolerante a Lactose	0,14	720	
8	2 colheres sopa/350 mL de água	0,07	700	700
9		inconclusivo		
10	Leite integral tipo UHT.			400
11	Leite integral tipo UHT.			200
12	Leite em pó. 3 colheres de sopa/240 mL de água	0,16	240	400
13	3 colheres de sobremesa/250 mL de água	0,05	250	-----
14	Consome extrato hidrolisado de soja			
15	5 colheres de sopa cheias/240 mL de água	0,27	480	-----
16	Leite longa vida integral			250
17	Consome leite somente no Abrigo			
18	5 colheres de sopa cheias /240mL de água		0,27	480
19	3 colheres de sopa rasa p/ 250 mL água	0,13	250	

Tabela S1: Continuação

ID	Modo de preparo do leite nas residências, dos responsáveis das crianças	Valor pó/água (g.mL ⁻¹)	VT Leite em pó (mL)	Valor Leite líquido (mL)
20	Leite UHT integral			190
21	2 colheres de sopa rasa / 200 mL água	0,11	400	
22	Leite UHT integral			450
23	2 colheres de sopa/240 mL de água	0,11	240	-----
24	Leite UHT integral			480
25	6 medidas FL/240mL de água	0,11	480	
26	5 medidas fabricante/240 mL de água	0,09	480	
27	2 colheres de sopa /200 mL de água	0,13	400	
28	4 colheres de sopa / 250 mL de água	0,21	500	
29	4 medidas FL cheias/ 200 mL de água. Intolerância a lactose	0,09	400	
30	4 medidas/200 mL de água	0,09	200	
31	Leite UHT integral			160
32	3 colheres de sopa cheia /400 mL de água	0,01	400	
33	Leite achocolatado industrializado e Leite materno			400
34	Leite UHT integral			360
35	Leite UHT integral			500
36	Leite UHT integral			200
37	5 colheres de sopa/ 500 mL de água	0,04	500	
38	2 colheres de sopa cheia/240 mL de água	0,11	480	
39	3 colheres de sopa/ 250 mL de água e ou UHT	0,16	250	250
40	3 medidas FL /230 mL de água	0,06	460	
41	4 colheres de sopa /250 mL de água	0,42	500	
42	Leite UHT integral			500
43	Consome leite somente no abrigo e leite materno			
44	2 colheres de sopa/200 mL de água	0,13	400	
45	4 medidas fabricante/250 mL de água	0,07	500	
46	2 colheres sopa cheia/ 200 mL de água	0,13	200	
47	Leite UHT integral			150
48	3 colheres de sopa no prato (39 g) no prato			
49	Leite UHT integral			750
50	Leite UHT integral			570
51	Leite UHT integral	0,11	250	360
52	2 colheres de sopa/250 mL de água	0,16	250	
53	Leite UHT integral			500
54	Leite UHT integral			250

Tabela S1: Continuação

ID	Modo de preparo do leite nas residências, dos responsáveis das crianças	Valor pó/água (g.mL ⁻¹)	VT Leite em pó (mL)	Valor Leite fluído (mL)
55	Leite UHT integral			200
56	Leite UHT integral			200
57	Leite UHT integral			80
58	Leite em pó 7 medidas /210 mL água	0,14	420	
59	Leite UHT integral			190
60	2 medidas FL (4,63)/250 mL de água (recomendado1 medida(0,15g) para 30 mL água)	0,04	500	
61	Leite UHT integral			500
62	Leite UHT e achocolatado industrial			250
63	2 colheres de sopa cheias leite em pó para 200 mL água	0,13	200	
64	2 colheres de sopa cheias/200 mL de água	0,13	200	
65	2 colheres de sopa cheias/180 mL de água	0,14	360	
66	2 e ½ colheres de sopa cheia/250 mL de água	0,13	480	
67	Leite sem lactose ou soja. 240 mL			
68	2 colheres de sopa de pó/ 250 mL de água	0,10	500	
69	1 colher de sopa bem cheia/250mL de água	0,06	500	
70	2 colheres de sopa cheia como mingau	26 g		
71	Leite UHT integral			500
72	Leite UHT integral			300
73	Leite UHT integral			500
74	Leite UHT integral			500
75	4 medidas de FL p/250 mL de água	0,07	500	
76	Leite UHT integral			250
77	Leite UHT integral			300
78	Leite UHT integral			500
79	2 colheres de sopa cheia em 200 mL de água	0,13	400	
80	4 colheres de sopa cheia para 250 mL de água	0,21	500	
81	Leite UHT integral			190
82	2 colheres de sopa rasa em 250 mL de água	0,10	500 mL	
83	Não conclusivo			
84	Não ingere leite			
85	Leite UHT integral			750
86	2 ½ colheres de leite em pó para 300 mL de água	0,11	300	
87	Leite UHT integral			500
88	Leite UHT integral			500
89	5 colheres de sopa/ 1 litro de água	0,04	500	

Tabela S1: Continuação

ID	Modo de preparo do leite nas residências, dos responsáveis das crianças	Valor pó/água (g.mL ⁻¹)	VT Leite em pó (mL)	Valor Leite fluído (mL)
90	Usa leite especial sem lactose			
91	Leite UHT integral em mingau no prato			500
92	2 colheres de sopa cheia/250 mL de água	0,11	500	
93	2 colheres de sopa/250 mL de água	0,10	500	
94	Leite UHT integral			400
95	Leite UHT integral			120
96	3 ½ colheres de sopa/250 mL de água	0,18	500	
97	6 medidas fabricante de leite/300 mL de água	0,09	600	
98	5 medidas/ 400 mL de água	0,07	400	
99	Leite UHT integral			125
100	3 a 4 medidas de FL para 300 mL de água	0,06	300 mL	
101	2 colheres de leite/ 250 mL de água ou em embalagem plástica	0,10	250	250
102	5 colheres de sopa/300 mL de água	0,21	600	
103	2 colheres de sopa/por 200 mL de água	0,13	400	
104	2 ½ colheres de sopa/240 mL de água	0,16	480	
105	3 colheres de sopa/500 mL de água	0,08	1500	
106	Leite UHT integral			800
107	Leite UHT integral			460
108	2 colheres de sopa leite/200 mL de água.Semi desnatado	0,13	600	
109	2 colheres de sopa leite/200 mL de água	0,13	400	
110	4 colheres de medida/180 mL de água	0,01	360	
111	Leite fluído			640
112	Leite fluído			380
113	2 colheres de sopa/250 mL de água	0,10	500	
114	2 colheres de sopa/120 mL de água	0,23	120	
115	3 colheres de sopa/240 mL de água	0,09	240	
116	Inconclusivo			
117	3 colheres de sopa/250 mL de água e ou leite UHT	0,16	500	500
118	Leite UHT integral			190
119	7 medidas de leite/240 mL de água	0,13	480	
120	Inconclusivo			
121	7 medidas de FL/210 mL de água	0,15	420	
122	2 colheres de sopa leite/200 mL de água	0,13	400	
123	Leite UHT integral			480
124	Leite UHT integral			190

Tabela S1: Continuação

ID	Modo de preparo do leite nas residências, dos responsáveis das crianças	Valor pó/água (g.mL ⁻¹)	VT Leite em pó (mL)	Valor Leite fluído (mL)
125	Leite UHT integral			240
126	4 medidas de leite/190 mL de água	0,09	360	
127	9 medidas do leite/200 mL de água	0,14	280	
128	Leite UHT integral			240
129	2 ½ colheres de sopa/160 mL de água	0,21	160	
130	3 colheres de sopa/300 mL de água	0,13	600	
131	Leite UHT integral			500
132	Leite UHT integral			300
133	1 ½ colher de sopa/200 mL de água	0,10	200	
134	10 medidas de FL /240 mL de água	0,18	240	
135	3 colheres de sopa/250 mL de água	0,16	500	
136	3 colheres de sopa/300 mL de água	0,14	600	
137	Leite UHT integral			720
138	2 colheres de sopa/1 copo de requeijão de água	0,10	500	
139	Leite UHT integral			500
140	3 colher de sopa no prato (60 g)			
141	3 colheres de sopa/250 mL de água	0,16	500	
142	Leite UHT integral			500
143	Leite UHT integral			150
144	2 colheres de sopa/250 mL de água	0,10	500	
145	Consome leite materno			
146	2 colheres de leite/240 mL de água	0,11	480	
147	1 ½ de leite colheres de sopa/240 mL de água	0,08	480	
148	Consome leite materno. Hidrolisado de soja			
149	2 colheres de sopa/300 mL de água	0,09	600	
150	3 colheres de sopa/250 mL de água	0,16	500	
151	Leite UHT integral			250
152	Leite UHT integral			250
153	3 colheres de sopa/300 mL de água	0,13	300	
154	2 colheres de sopa leite/ 240 mL de água	0,12	480	
155	2 medidas do FL/150 mL. de água	0,06	600	
156	Leite UHT integral			600
	Média	0,13	428	389

Tabela S3: Identificação das amostras de leite em pó coletadas no Abrigo segundo as legislações (RDC 43,44 e 45).

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
PO1	Pó para preparo de Bebida sabor Leite	Maltodextrina, Soro de leite, Leite em pó integral e antiemectante fosfato tricálcio	24/09/2010	Contagem (MG)
PO2	Pó para preparo de Bebida sabor Leite	Açúcar refinado, Maltodextrina, soro de leite em pó integral, sal refinado e anemectante fosfato tricálcio	22/02/2011	Contagem (MG)
LP1	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	04/12/2010	Sete Lagoas (MG)
CL1	Composto Lácteo com Açúcar	Açúcar, Soro de leite em pó, Composto lácteo com maltoextrina (estabilizante fosfato dissódico, emulsificante mono e diglicéide de ácidos graxos, regulador de acidez hidróxido de cálcio e aroma idêntico ao natural de leite), leite em pó integral e concentrado protéico de soro de leite.	17/02/2011	Campinas (SP)
LP2	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/07/2011	Ituiutaba (MG)
LP3	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/09/2011	Ituiutaba (MG)
LP4	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite em pó integral Instantâneo e mix de vit (A, C , D) e Ferro	09/05/2011	Vila Velha (ES)
LP5	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	11/01/2011	Sete Lagoas (MG)
PO3	Pó para preparo de Bebida sabor Leite	Maltodextrina, Soro de leite, Leite em pó integral e antiemectante fosfato tricálcio	24/09/2010	Contagem (MG)
PO4	Pó para preparo de Bebida sabor Leite	Maltodextrina, Soro de leite, Leite em pó integral e antiemectante fosfato tricálcio	24/09/2010	Contagem (MG)

Tabela S3: Continuação

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
FL1	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2, Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/10/2010	Araçatuba- SP
FL2	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2, Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/01/2011	Araçatuba- SP
LP6	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/07/2011	Ituiutaba (MG)
LP7	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/07/2011	Ituiutaba (MG)
LP8	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	1/10/2010	Feira de Santana (BA)
LP9	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	1/12/2010	Feira de Santana (BA)
CL2	Composto Lácteo com glucose, gordura vegetal sabor leite	Xarope de glucose, soro de leite, leite integral, gordura vegetal, vitaminas (A e B), cálcio, ferro, emulsificante mono e di-glicídios de ácidos graxos e aromatizantes	15/12/2010	Duque de Caxias (RJ)
LP10	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	07/05/2011	Itumbiara (GO)
LP11	Leite em pó integral	Leite em pó e emulsificante lecitina de soja	jun/10	Macuco (RJ)
LP12	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/01/2011	Feira de Santana (BA)

Tabela S3: Identificação das amostras de leite em pó coletadas no Abrigo segundo as legislações (RDC 43,44 e 45)(continuação)

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
LP13	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite em pó integral Instantâneo e mix de vit (A, C , D) e Ferro	09/05/2011	Vila Velha (ES)
LP14	Leite em pó integral	Leite em pó e emulsificante lecitina de soja	jun/11	Macuco (RJ)
FL3	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	—	Araçatuba-SP
FL4	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/10/2010 ^v	Araçatuba- SP
LP15	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/01/2012 ^v	Ituiutaba (MG)
LP16	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/12/2011	Ituiutaba (MG)
LP17	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	07/05/2011	Itumbiara (GO)
FL5	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/10/2010	Araçatuba- SP
LP18	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/04/2011	Feira de Santana (BA)

Tabela S3: Continuação

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
LP19	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/08/2011	Ituiutaba (MG)
FL6	Fórmula Infantil com ferro para lactentes	Lactose, , concentrado proteico de soro de leite, Leite desnatado, oleína de palma, óleo de canola, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, cloreto de potássio, citrato de potássio, cloreto de magnésio, Citrato de sódio,sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio, sulfato de manganês, selenato de sódio), vitaminas (Vit C, E, niacina, pantotenato de cálcio, A, B6, B2, Vit D, Vit B1,Ácido fólico, vit K, biotina e), óleo de peixe, lecitina de soja, Ác. graxo araquidônico, L- arginina, L- carnitina, nucleotídeos, taurina, bitartarato de colina, inositol, e L- histidina	01/02/2011	Araçatuba- SP
LP20	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	07/06/2011	Itumbiara (GO)
FL7	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/01/2011	Araçatuba- SP
LP21	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	04/03/2011	Itumbiara (GO)
LP22	Leite em pó Integral	Leite Integral	09/07/2011	Governador Valadares (MG)
LP23	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite Integral, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	03/07/2011	Lagoa da Prata (MG)
LP24	Leite em pó semidesnatado Instantâneo	Leite semidesnatado, fosfato tricálcio, vitaminas A,C e D, ferro e emulsificante lecitina de soja	08/08/2011	Uberlândia (MG)
FL8	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/10/2010	Araçatuba- SP

Tabela S3: Continuação

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
LP25	Leite em pó Desnatado Instantâneo	Leite semidesnatado, fosfato tricálcio, vitaminas A,C e D, ferro e emulsionante lecitina de soja	14/04/2011	Uberlândia (MG)
LP26	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	20/07/2011	Sete Lagoas (MG)
LP27	Leite em pó Integral Instantâneo (rico em vitamina A e D)	Leite Integral, emulsificante lecitina de soja e vitaminas (A e D)	05/08/2011	Buenos Aires República Argentina
FL9	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/07/2011	Araçatuba- SP
LP28	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	20/07/2011	Sete Lagoas (MG)
LP29	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/12/2011	Ituiutaba (MG)
CL3	Composto Lácteo com óleos vegetais e fibras	leite parcialmente desnatado, açúcar, lactose,óleo de milho, xarope de milho, óleo de canola, oleína de palma, frutoolegossacarídeos, inulina, sais minerais, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	01/04/2011	Araçatuba- SP
CL4	Composto Lácteo com óleos vegetais e fibras	leite parcialmente desnatado, açúcar, xarope de milho, lactose,óleo de milho, , óleo de canola, oleína de palma, frutoolegossacarídeos, inulina, sais minerais, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	01/05/2011	Araçatuba- SP

Tabela S3: Continuação

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
LP30	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite Integral, vitaminas (C,A e D), Pirifosfato férrico e emulsificante lecitina de soja	01/12/2011	Ituiutaba (MG)
LP31	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite padronizado, vitaminas A, C, D, Ferro e emulsionante lecitina de soja	20/06/2011	Uberlândia (MG)
FL10	Fórmula Infantil com ferro para lactentes	Lactose, concentrado proteico de soro de leite, Leite desnatado, oleína de palma, óleo de canola, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, cloreto de potássio, citrato de potássio, cloreto de magnésio, citrato de sódio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio, sulfato de manganês, selenato de sódio), vitaminas (Vit C, E, niacina, pantotenato de cálcio, A, B6, B2, Vit D, Vit B1, Ácido fólico, vit K, biotina e), óleo de peixe, lecitina de soja, Ác. graxo araquidônico, L- arginina, L- carnitina, nucleotídeos, taurina, bitartarato de colina, inositol, e L- histidina	01/02/2011	Araçatuba- SP
FL11	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2, Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/07/2011	Araçatuba- SP
LP32	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A, C e D e Ferro	Leite em pó integral Instantâneo e mix de vit (A, C , D) e Ferro	02/08/2011	Vila Velha (ES)
LP33	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	20/07/2011	Sete Lagoas (MG)
LP34	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	06/10/2011	Lagoa da Prata (MG)

Tabela S3: Continuação

Amostra	Definição	Ingredientes	Fabricação	Local de Produção
LP35	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	19/09/2011	Lagoa da Prata (MG)
LP36	Leite em pó integral	Leite em pó e emulsificante lecitina de soja	Set 2011	Macuco (RJ)
LP37	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	08/08/2011	Itumbiara (GO)
LP39	Leite em pó integral	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	20/07/2011	Sete Lagoas MG
FL12	Fórmula Infantil de segmento com ferro para lactentes	Lactose, Leite desnatado, concentrado proteico de soro de leite, oleína de palma, óleo de canola, óleo de palmiste, óleo de milho, sais minerais (citrato de cálcio, sulfato ferroso, sulfato de zinco sulfato de cobre, iodeto de potássio), lecitina de soja, vitaminas (C, niacina, , E, pantotenato de cálcio, A, B6, B1, Vit D, Vit B2,Ácido fólico, vit K, biotina e vit B12), óleo de peixe e cultura de lactobacillus e bifidus	01/02/2011	Araçatuba- SP
LP40	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	18/10/2011	Sete Lagoas (MG)
LP41	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsionate lecitina de soja	11/04/11/	Sete Lagoas (MG)
LP42	Leite em pó Integral Instantâneo Fortificado com vit. A, C e D e Ferro	Leite padronizado, vitaminas A, C, D, Ferro e emulsionante lecitina de soja	12/10/2011	Uberlândia (MG)
CL5	Composto Lácteo com óleos vegetais e fibras	leite parcialmente desnatado, açúcar, xarope de milho, lactose, óleo de milho, , óleo de canola, oleína de palma, frutoolegossacarídeos, inulina, sais minerais, vitaminas e emulsificante lecitina de soja	01/09/2011	Araçatuba- SP
LP43	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A, C e D e Ferro	Leite em pó integral Instantâneo e mix de vit (A, C , D) e Ferro	14/11/2011	Vila Velha (ES)
LP44	Leite em pó integral	Leite em pó e emulsificante lecitina de soja	fev/2012	Macuco (RJ)
LP45	Leite em pó integral	Leite integral e /ou leite concentrado integral e emulsificante lecitina de soja	24/10/2011	Itumbiara (GO)
LP46	Leite em pó Integral Instantâneo Enriquecido com vit. A e D	Leite cru refrigerado, Vit A e D e emulsificante lecitina de soja	27/08/2011	Sete Lagoas (MG)

6 DISCUSSÃO.

O trabalho foi realizado com o objetivo de contribuir com as ações da vigilância Sanitária em relação ao consumo de alimento seguro neste trabalho - o leite. Os resultados obtidos foram publicados em artigos e as discussões também seguiram o mesmo formato.

6.1 No primeiro artigo

Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional

Foi feita uma avaliação das principais fontes de produtos com agrotóxicos, passíveis de contaminar o leite, sendo listados os agrotóxicos com uso permitido nos medicamentos veterinários, os domissanitário e utilizados em produtos hortifrutigranjeiros e cereais. Ênfase foi dada a ingredientes ativos que estão presentes em até três possíveis via de contaminação. Através desta revisão e com a caracterização das diferentes fontes de possibilidade de contaminação do leite foram priorizados os agrotóxicos a serem avaliados

No artigo estão descritos LMR, pela ANVISA, para o leite em alguns agrotóxicos, entretanto atualmente esses valores não mais existem pois segundo a instituição o estabelecimento desses limites em alimentos de origem animal é de competência exclusiva do MAPA (Correio eletrônico mar. 2010). Segundo a IN 42 (1999) a competência para o estabelecimento de LMR é de responsabilidade da ANVISA e na inexistência das mesmas devem ser utilizadas as estabelecidas no MERCOSUL, CODEX e EU nesta ordem de priorização (BRASIL, 1999). Os LMRs estabelecidos pelo MAPA são para utilização em programas de monitoramento de agrotóxicos e restritos a poucos IA em agrotóxicos .

Foi possível verificar que os monitoramentos de agrotóxicos existentes no Brasil, para o leite contemplam um pequeno número de substâncias dentre a existência de uma infinidade de produtos passíveis de contaminar o leite dentre esses os herbicidas a classe mais consumida de agrotóxicos no Brasil Outra importante classe química os organofosforados tem os seus resíduos monitorados com regularidade, pelo MAPA, para 12 ingrediente ativos da classe. Estão permitidos atualmente ao uso 31 IA dessa classe para uso em hortifrutigranjeiros e cereais, 10 IA em medicamentos veterinários, sem LMR estabelecido e os domissanitários. (AGROFIT, 2013).

6.2 No segundo artigo:

Implementação do método analítico para determinação de resíduos de organofosforados em leite por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama.

Este método permitiu a validação de 52 agrotóxicos da classe dos organofosforados por QuEChERS, usando CG-FPD. Essa técnica apresenta a facilidade de poder ser executada em laboratórios com equipamentos mais simples e mesmo não podendo ser confirmada no local poderá subsidiar ações de Boas Práticas Agrícolas (BPA) e até obter confirmações em outros laboratórios minimizando e formando um trabalho de rede laboratorial por complexidade

A classe dos organofosforados foi inicialmente escolhida devido a importância pela alta toxicidade e grande uso no Brasil (maior classe de uso identificada pelo programa PARA 2010).

A validação foi adequada a 52 IA, entretanto o diclorvós , ingrediente ativo de grande importância em uso como medicamento veterinário não apresentou condições adequadas e foi objeto de estudo em outro trabalho com uma diferente técnica analítica.

6.3 No terceiro manuscrito

“Determinação de resíduos de agrotóxicos da classe dos organofosforados por CG-DFC em amostras de leite fluído e em pó

O terceiro manuscrito elaborado foi o resultado da determinação analítica de resíduos de organofosforados, validados no artigo anterior.

Foram analisadas 222 amostras de leite fluído (2009 a 2011) e 107 amostras de leite em pó (2009 a 2011) e obtidos resíduos em percentuais diferenciados para o leite fluído ao longo do período avaliado. O principal IA identificado nas amostras de leite fluído foi o acefato. No ano de 2009, o IA foi encontrado em cerca de 22% das amostras, em 2010 foi identificado em 32% das amostras avaliadas. No ano de 2011 o acefato não foi encontrado nas amostras de leite fluído. A substância está em processo de reavaliação (ANVISA, 2008) na qual uma nova IDA é indicada buscando a segurança alimentar no consumo humano. Essa reavaliação foi concluída mas ainda não implementada

Assim sendo esses novos dados irão contribuir para chamar a atenção para a permissão de uso de IA da classe, em produtos com grande impacto em AA tais como: algodão, citros, soja, milho, café entre outros.

Quanto a não presença da substância nas amostras coletadas em 2011 pode estar relacionado a diferença em épocas de produção das amostras coletadas e ou a possibilidade de descontinuidade de uso do produto frente a nova legislação.

Para as amostras de leite em pó avaliadas a presença de resíduos de alguns IA como azametifós e iodofenfós (1 em 84), bromofós metílico e etílico (6 em 84) sugerem ser essa presença proveniente de produtos domissanitários utilizados em instalações pecuárias e ou usinas de processamento de leite. No Brasil não há LMR estabelecido para produtos de uso em domissanitários.

Dentre os organofosforados identificados neste trabalho no leite (fluído e pó) os IAs azametifós, bromofós metílico e etílico, etiona, fentiona, fosmete, iodofenfós e malaoxon não foram avaliados no PNCRL (Brasil, 2011). Seria desejável que o programa contemplasse todos os agrotóxicos da classe dos organofosforados e divulgasse os resultados obtidos dentro de LDM e LQM desenvolvidos. Esse fato iria permitir que fossem feitas avaliações de

ingesta dos IAs, mesmo com valores abaixo do LMR especificado, para todos os IA da classe dos organofosforados.

Outro aspecto a ser considerado foi presença de um resíduo não identificado nas amostras de leite em pó avaliadas, no t_R (min) de 2,0 a 2,5, em 17% das amostras em todo o período e em 23 % das amostras de leite fluído também ao longo do tempo analisado. Não foi possível nesse trabalho identificar a substância, mas a presença do resíduo nas mesmas condições analíticas em diferentes tipos de amostras analisadas ao longo do tempo, sugere a possibilidade de ser um produto de degradação da classe dos organofosforados.

6.4 No Quarto artigo:

Uso da espectrometria de massa sequencial para avaliar resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentação animal

Nos trabalhos anteriores ficou clara a importância da avaliação de resíduos de agrotóxicos na AA com a indicação de que esta via é de grande importância na contaminação do leite, não sendo o processamento do alimento, neste caso a pasteurização e esterilização capazes de eliminar esses resíduos.

O uso de uma técnica mais dinâmica como a espectrometria de massa permitiu a avaliação de um maior número de agrotóxicos dentre esses os da classe dos herbicidas, identificada como maior uso no país; outra vantagem do método é minimizar o trabalho, pois a técnica permite concomitantemente a identificação e confirmação dos analitos em amostras complexas.

Os produtos utilizados na AA podem ser misturas complexas que incluem constituintes provenientes da moagem de cereais como subprodutos constituídos de cascas, sementes e rejeitos de produtos da alimentação humana. A esses podem ser adicionadas vitaminas, sais minerais, gorduras e outras fontes nutricionais e de energia. Mesmo as matrizes à base de cereais menos complexas contêm mais co-extratos de matrizes atípicas com grande conteúdo de água, tais como bagaços de frutas e vegetais agregada aos cereais na formação de rações. As dificuldades com a análise de amostras de AA são causadas pelo fato de que essas matrizes são sobrecarregadas com grande quantidade de interferentes no extrato (EU, 2010). A alternativa na validação das amostras de AA, foi trabalhar com duas matrizes representativas do grupo na validação o milho e a soja.

Uma grande dificuldade identificada nesse trabalho e conhecida do grupo de resíduos de agrotóxicos é obter materiais de referência em boas condições de trabalho, tendo sido necessário na validação do método o uso de diferentes misturas ao longo do processo de validação. A compra desses materiais é difícil com muitos entraves burocráticos na importação. Assim sendo os laboratórios levam um tempo entre o registro do IA, pelos órgãos reguladores e a obtenção do MR no laboratório. Seria desejável que no processo de registro a empresa fabricante da molécula fornecesse o MR, dentro dos critérios de qualidade que atendessem as necessidades dos laboratórios da área de agrotóxicos.

6.5 No quinto manuscrito:

“Avaliação de resíduos de agrotóxicos na alimentação animal em subprodutos agroindustriais e cereais utilizando cromatografia líquida / espectrometria de massas”

No trabalho foram avaliadas 42 amostras de AA provenientes das principais regiões produtoras, sendo confirmadas a presença de 15 diferentes agrotóxicos pertencentes a diferentes classes químicas dentre os 162 avaliados. Algumas amostras de AA, apresentaram um grande número de IA por amostra fato que ocorreu principalmente com a ração cítrica na qual foi identificada 14 diferentes IA. Esse resultado é compatível ao produto ração cítrica, no qual são utilizados cascas, sementes e bagaços de laranja.

A laranja possui permitido ao uso cerca de 116 diferentes agrotóxicos de diferentes classes químicas, como consequência ao fato torna-se importante e desejável que dentro da cadeia de produção animal sejam avaliados os resíduos presentes e permitidos nos produtos usados na AA, como meio de controle desses resíduos nos alimentos de origem animal. Ênfase deve ser dada a produtos de grande produção nacional nos quais o impacto será maior.

O *Codex Alimentarius* possui LMR especificado para um grande grupo de alimentos com uso em AA dentre essas culturas forrageiras, leguminosas, frutas, palhas e subprodutos de cereais, correspondendo a cerca de 200 produtos. (CODEX, 2013). Na EU diferentemente dos outros produtos hortifrutigranjeiros, o LMR não está unificado e regulamentado em toda CE para resíduos de AA. Em ambas as instituições o maior número de IA permitido para uso em uma determinado produto de AA é de 30 IA. O fato destes limites estarem estabelecidos na legislação para uso em AA, permite que os mesmos sejam conhecidos quanto a possibilidade de contaminação dos produtos de origem animal e monitorados podendo inclusive serem inclusos no processo de avaliação da ingestão dos alimentos de produtos animais.

6.6 No sexto manuscrito:

“Otimização e Validação de método analítico de multiressíduos empregando QuEChERS modificado e UPLC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em leite”

O grande número de resíduos de diferentes classes químicas, encontrados nas amostras de AA indicou a necessidade de avaliação desses mesmos resíduos nas amostras de leite e como consequência a necessidade de implementação e validação desse método. Foi utilizado o UPLC-MS/MS no qual foi possível diminuir o tempo de análise em relação ao LC-MS/MS usado no método de AA, além de permitir melhores condições de otimização de alguns analitos.

Na implementação do método foram testadas várias finalizações e foi possível validar o IA diclorvós de grande importância toxicológica e citado em trabalhos nacionais como de grande uso como medicamento veterinário no combate a ectoparasitas. Nesta validação novamente foi utilizada a técnica de extração QuEChERS com limpeza por SPE-D mostrando ser viável nas análises de leite fluído, pó e fórmulas infantil.

O trabalho verificou que há diferenças de desempenho do método analítico nas análises de resíduos de agrotóxicos em amostras de LP e FL. Essa condição sugere a necessidade de estudar e melhorar as condições de extração e limpeza para agrotóxicos específicos de maior interesse toxicológico como por exemplo o tolclorfós metílico.

6.7 No sétimo manuscrito:

“Estimativa do consumo de leite e produtos afins, entre crianças caracterizando a presença de possíveis, resíduos de agrotóxicos”

Com o trabalho foi possível obter dados de consumo infantil e peso médio de um grupo de crianças frequentadoras de uma instituição pública com fins filantrópica. Dados de alto consumo de leite obtidos, reforça a necessidade de maior vigilância sanitária sobre o produto em relação a seus resíduos e contaminantes dentro do conceito de RISCO.

Nas análises de multirresíduos foi possível observar novamente a presença de resíduos da classe dos organofosforados. Esses no cálculo de ingestão crônica realizado individualmente para o leite, não representaram significativo valores de impacto a IDA (13%) entretanto, devem ser avaliados somando-se a outros produtos de origem animal- com LMR estabelecidos pela legislação internacional- como ovos, diferentes tipos de carne e produtos hortifrutigranjeiros.

A presença do agrotóxico carbendazim no leite excedendo o LMR estabelecido por instituições internacionais como o Codex Alimentarius e a comunidade europeia sugere a necessidade de avaliação das Boas Práticas Agrícolas nacional e avaliação do uso do produto no mercado brasileiro, principalmente em laranjas com grande produção nacional e uso na AA.

Os níveis de LMR do carbendazim permitidos no fruto são altos para grande número de produtos como os citros e maçã ($5000 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) entre outros. O uso de subprodutos da produção de frutos especialmente a laranja, na AA, e a identificação da substância em 31% das amostras analisadas de AA em trabalho anterior (6.5), somado ao fato da identificação da substância, pelo programa PARA (2010) demonstrando ser o IA mais utilizado no país em hortifrutigranjeiros, justifica a presença do IA no leite via AA.

O PBO foi identificado em níveis residuais em 90% das amostras avaliadas, seu uso é proibido pelo MAPA, não existindo também registro da substância na ANVISA. No programa PARA foi identificada em amostras de arroz em 2009 e após esse período, não foi mais incluído nas substâncias avaliadas no programa. Na avaliação realizada em AA (6.5) foi encontrado em 40 % das amostras avaliadas. Outros resíduos de IA tais como: isoprotiolona, triciclazol além do PBO não possuem registro de uso no Brasil e triciclazol sem registro no

CODEX e EU com registro no Brasil devem ser avaliados quanto ao uso nacional especialmente no aspecto toxicológico de consumo dos alimentos.

A presença de diferentes resíduos de agrotóxicos em uma mesma amostra também foi observada neste trabalho, tendo sido identificado em níveis residuais, até 15 IA em uma única amostra de LP. O grande quantitativo de diferentes número de IA identificados em uma mesma amostra tem sido objeto de estudos toxicológicos em diferentes trabalhos realizados pela comunidade internacional, a qual vê com preocupação os efeitos toxicológicos provenientes da mistura de diferentes classes químicas mesmo a níveis residuais.

Avaliando os resíduos de agrotóxicos obtidos no produto FL em relação a legislação da CE pode-se verificar que esses produtos estão de acordo com a legislação pois não foi identificado resíduos de agrotóxicos, dentre os 164 estudados, acima da concentração de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para substâncias que possuam a IDA inferior a $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{pc/dia}$. Entretanto para o produto PO foi identificado em duas amostras a presença de etoprofós (IDA = $0,4 \mu\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{pc/dia}$) e cadusafós (IDA = $0,4 \mu\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{pc/dia}$) em uma amostra. Cadusafós tem o uso permitido no Brasil em algodão, cana de açúcar (ambas culturas importância na AA), batata e café, não sendo autorizado o uso na EU mas autorizado pelo CODEX em banana. Priorização em programas de monitoramento de alimentos principalmente os de origem animal deve ser dada a agrotóxicos com o uso permitido a monoculturas de cereais e aqueles, como acima citado, que possuem valores de IDA inferiores a $0,4 \mu\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{pc} / \text{dia}$. No programa PARA (2009) as duas substância estavam na lista de produtos a serem avaliados , já no mesmo programa (2010) somente entrou na lista de substâncias a serem avaliadas o cadusafós. A entrada e saída de IA a serem avaliados em programas de monitoramento possivelmente estaria envolvido na dificuldade, já anteriormente relatada, dos laboratórios em obter os padrões de referência de agrotóxicos.

7 CONCLUSÃO

O método de extração QuEChERS é uma técnica eficiente para extrair quantitativamente multiclassas de substâncias agrotóxicas e o uso da CL-EM/EM responde ao desafio de analisar grande número de ingredientes ativos nas matrizes leite e alimentação animal. Ainda o método QuEChERS mostrou-se adequado para a análise por CG-FPD com mudança de solvente e diferentes fases de SPE-D.

Resíduos de organofosforados foram encontrados em amostras de leite fluído demonstrando que esses podem chegar ao leite e permanecer inclusive após processamento de pasteurização, esterilização e secagem. Alguns resíduos de produtos domissanitários foram encontrados nas amostras de leite em pó sugerindo a necessidade de avaliação toxicológica desses produtos. Seria importante e desejável o estabelecimento de LMR nacionais para agrotóxicos utilizados nos produtos consumidos pelos animais e a revisão dos limites estabelecidos para o leite e formula infantil.

Foi possível concluir que o leite em relação a presença de resíduos de agrotóxicos não pode ser considerado um alimento seguro. Essa conclusão é apoiada na presença do agrotóxico carbendazim acima de valores de LMR internacionalmente estabelecidos, possivelmente proveniente do uso de cítricos na alimentação animal.

Os programas de monitoramento nacional de resíduos de agrotóxicos em leite são insuficientes para garantir o consumo seguro do produto, pois não contemplam IA de grande uso na alimentação animal no país, como citros, milho entre outros .

Grande número de diferentes ingredientes ativos foram encontrados em níveis residuais em uma mesma amostra, sendo importante avaliar o risco desta presença múltipla em função do consumo de leite principalmente pelo público infantil .

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudar e implementar método para determinação de resíduos de agrotóxicos e seus produtos de degradação das classes dos piretróides e outras de importância toxicológica avaliadas por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons e MS/MS.

Realizar estudos toxicológicos com as misturas das substâncias agrotóxicas obtidas no monitoramento de leite e de outros produtos hortifrutigranjeiros.

Utilizar os dados de resíduos de carbendazim na avaliação toxicológica da substância

Realizar estudos de ingesta aguda e crônica utilizando os resíduos obtidos nas amostras de origem animal e vegetal

Implementar e validar método para outros produtos de origem animal como: ovos e carnes.

Estudar a ingesta de organofosforados incluindo também os produtos de origem animal

9 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

ANDA-Associação Nacional para Difusão de Adubos-Estatísticas. Disponível em : [http:// www.anda.org.br](http://www.anda.org.br). Acessado em abril de 2013.

AVANCINI, R.M.; SILVA, I.S.; ROSA, A.C.S. SARCINELLI, P.N.; MESQUITA, S.A. Organochlorine compounds in bovine milk from the state of Mato Grosso do Sul-Brazil. **Chemosphere**, v 90, p2408-2413, 2013.

ANVISA--UFPR. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Universidade Federal do Paraná. Seminário de mercado de agrotóxico e regulação. ANVISA, Brasília, 11 abril de 2012.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [on-line]. 2013.Agrotóxicos e Toxicologia Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/anvisa/portal/anvisa/inicio/agrotoxicos>+.Acessado em: abril de 2013.

_____.Guia para o controle da Qualidade para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para os laboratórios integrantes do PARA. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/reblas/para/CONTROLE_QUALIDADE.pdf. Acessado em 12 de abril de 2013;

ARAUJO, J. A; LIMA, S. J.; MOREIRA, C. J.; JACOB, C. S.; SOARES, O M.; MONTEIRO, M. C. M.; AMARAL, M., A; KUBOTA, A; MEYER, A., COSENZA, N., A., 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**, v.12 (1), p.115-130, 2007;

BADINI, K.,B.;NADER, F.; AMARAL, L.,A. ; GERMANO, P.,M.,L. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente . **Revista de Saúde Pública**, v. 30, p549-552, 1996;

BELTRANE, A.; JUNIOR, M. M. Principais riscos químicos no leite: Um problema de Saúde Pública. **Arquivos de Ciência da Saúde da Unipar**, Umuarama, São Paulo, v. 2, nº 2, p. 141-145, maio / ago 2005;

BRASIL. Decreto nº 4074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7802 de 11 de julho de 1989. 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. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF**, 08 mar. 2002.

_____. Portaria Ministerial nº. 51, de 06 de maio de 1986. Cria o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal-PNCRL. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF**.

_____. Instrução Normativa nº 6 de 25 de fevereiro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária. Publicar os resultados dos programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes (bovina), leite, ovos, mel e pescado do exercício de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília fev. 2011. Seção 1;**

_____. Instrução Normativa nº 8 de 29 de abril de 2010. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Aprova os programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes, leite, ovos, mel e pescado do exercício de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília p 28 , mai. 2010. Seção 1;**

_____. Instrução Normativa nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em produtos de Origem Animal-PNCRL e os Progrmas de Controle de resíduos em Carne –

PCRC, mel- PCRL, Leite e pescado - PCR **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 22dez. 1999. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p. 13, 18 set. 2002. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 24 de 14 de julho de 2009. Ministério da Agricultura e Abastecimento gabinete do ministro Define os requisitos e critérios específicos para funcionamento dos Laboratórios de Análises de Resíduos e contaminantes em Alimentos integrantes da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p. 7, 22 julho. 2009. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 14 de 25 de maio de 2009. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Aprova os Programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes (bovina, aves, suína e eqüina), leite, mel ovos e pescado para o exercício de 2009. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 28, maio 2009. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 9 de 10 de abril de 2008. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de resíduos e Contaminantes em carnes, leite, ovos, mel e pescado do exercício de 2007, na forma do anexo à presente Instrução normativa 9, de 30/03/2007. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 28 , abr. 2008. Seção 1;

_____.Instrução Normativa nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em carne-PNCRC, mel-PCRL, Leite-PNCRL Pescado-PCR **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p 213, 22 dez. 1999. Seção 1;

_____.Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Aprova o Regulamento Técnico elaborado pelo departamento de Defesa animal a ser observado na produção, no controle e no emprego de antiparasitários de uso veterinário. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília p. 10165, 12 de maio de 1997. Seção 1;

_____.Portaria n.º 329, de 02 de setembro de 1985. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Proíbe a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, salvo exceções. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 03 de set. de 1985, p. 12941. seção 1;

CALDAS, E.,D.; BOON, P., E.; TRESSOU, J. Dietary exposure of Brazilian consumers to dithiocarbamate pesticides- a probabilistic approach. **Food chemistry toxicology**, v44,p 1562, 2006a.

CASARETT and DOULL's. The Basic Science of Poisons.7th ed. EUA: Ed. Mc Graw Hill. 2007;

CODEX. Alimentarius FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, [on-line] 2008. Disponível em <<http://www.codexalimentarius.org/standards/pesticides-MRLs/en>>. Acessado em 20 de março. 2013.

COSTA, A. M. F.; D ALESSANDRO, T., W.; CARVALHO, L., A ; ROCHA, M., J.; FERREIRA, L., M.; SOTÉRIO, F., M., N. Variação do teor de gordura no leite bovino cru. **Revista Pesquisa Agropecuária**, V. 27 (5), p. 763-769, 1992;

EUROPEAN UNION COMMISSION. Pesticide [on-line] 2008. Disponível: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=homepage&CFID=8062903&CF_TOKEN=38486503&jsessionid=08047e0ebb7f22212506TR. Acessado em 05 de março de . 2013.

EUROPEAN COMISSION. DIRECTIVA 2006/125/CE DA COMISSÃO. 2006. Relativa aos alimentos à base de cereais e aos alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens **Jornal Oficial da União Européia** .05 de dezembro de 2006.

EUROPEAN COMISSION. EU REFERENCES LABORATORIES FOR RESIDUES PESTICIDES.Pesticides authorised for use in feeding stuff.13/07/2010. Disponível em: <http://www.crl-pesticides.eu/docs/public/tmpl/article.asp?CntID=753&LabID=400&Lang=EN>. Acessado em 10 april .2013

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa algodão, sistema de produção 1.ISSN 1678-87,versão eletrônica, jan 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/subprodutos.htm>.,. Acessado em outubro de 2011.

_____.Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Uso do milheto como planta forrageira.ISSN 1516-5558 Campo Grande, MS, dez. 2000 n° 46. Disponível em:

<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD46.html>. Acessado em outubro de 2011.

_____. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivo do sorgo. Embrapa milho e Sorgo. Sistema de produção 2. ISSN 1679-012X. Versão eletrônica - 6ª edição, setembro 2010. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_6_ed/index.htm. Acessado em outubro de 2011.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A.P.P.; DUNGA, K.S.; TAMANINI, R. Organophosphorus and carbamates residues in Milk and feedstuff supplied to dairy cattle. **Pesquisa Veterinária brasileira**, v 31(7), p598-602, 2011.

FARIA, N.M.X.; ROSA, J.A.R.; FACCHINI, L. A. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. **Revista Saúde Pública**, v 43 (2) p 335-3344, 2009.

FREIRE, C.; KOIFMAN, S. Pesticides, Depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** [in prelo], 2013

GONZÁLEZ-RODRIGUES, F.; LIÉBANAS, A.; J.; F.; FRENICH, G., A.; LÓPEZ, S., J., F. Determination of pesticides and some metabolites in different kinds of milk by solid-phase microextraction and low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 164-172, abril de 2005;

HECK, M.C., SANTOS, S.J.; COSTA E BEBER, H.I.; JÚNIOR, B.S.; EMANUELLI, T. Estimation of children exposure to organochloride compounds through Milk in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Chemistry**, v 102, p288-294, 2007.

IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009: uma abordagem ambiental / Rafaela Maciel Rebelo [et al]. Brasília, 2010, p 84. ISBN 978-8-7300-6. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br>. Acessado em março de 2013;

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. Aquisição alimentar domiciliar *per capita*, por Unidades da Federação. Período 2002 a 2003. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em março de 2013;

IBGE/SIDRA. Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão Brasil, série histórica de área plantada; série histórica de produção agrícola; safras 1998 a 2011. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>. Acessado em 20 março. 2013

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. Aquisição alimentar domiciliar *per capita*, por Unidades da Federação. Período 2008 a 2009. Disponível: http://www.ibge.gov.br/home/xml/pof_2008_2009.shtm. Acessado em março.2013.

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil Pesquisa de orçamentos familiares - Rio de Janeiro- 30 de junho de 2008. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/sipd/quarto_forum/Informe_POF_2008-2009.pdf. Acessado em abril de 2013;

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, orçamento e Gestão. Censo agro 2006: O Brasil revela retrato do Brasil agrário. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1464&id_pagina=1. Acessado em mar.2013.

IÑIGO-NUÑEZ,S.;HERREROS, M.A.;ENCINAS, T.;GONZALEZ-BULNES,A. Estimated daily intake of pesticides and xenoestrogenic exposure by fruit consumption in the female population from a mediterranean country (Spain). **Food Control**, v21, p471-477, 2010.

JARDIM, O, N. A.; CALDAS, D.,E. Exposição humana a substâncias Químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química nova vol 32**, v7, p1898-1909;2009.

KAN, A.C. Transfer of toxic substances from feed to food .**Revista brasileira de Toxicologia**, v 38, p 423-431, 2009.

KAN, A.C.; MEIJER, L.A.G. The risk contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and terminology**, v.133, p84-108, 2007

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária/AGE. Brasil. Projeções do agronegócio de 2011-12 a 2021-2022. Mapa/AGE/ACS. Brasília p 1-50, 2012.

MURADIAN, A. L. B.; PENTEADO, C. V. M. **Vigilância Sanitária. Tópicos sobre análise de alimentos**. 1 ed. Rio de Janeiro: (Ed). Guanabara Koogan, 2007. 203p;

OMS. Organización Mundial de la Salud. **Necessidades de energia e de proteínas. Genebra, 1985. (informe técnico) apud In: SANTOS, S. J.; HECK, C. M.; COSTABEBER, H. I.; JÚNIOR, B. S.; EMANUEL, T.** Ingestão diária dos organoclorados lindano, hexaclorobenzeno e *p,p'*-diclorodifenil dicloroetileno a partir de leite esterilizado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p. 85-92, mar./dez.2005;

PALMIST, D.L. Great discoveries of milk for a healthy diet and a healthy life. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v39,p465-477, 2010 (supl. especial).

PIRES,X.D.;CALDAS,E.D.; RECENA,M.C.P. Uso de Agrotóxicos e suicídios no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil.**Caderno de Saúde Pública**,v21(2) p598-605, 2005.

PORTO, F.M.; SOARES, L.W. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Revista brasileira Saúde Ocupacional**, v37(125): 17-50, 2012

PIGNATI, WA; MACHADO, JMH. O agronegócio e seus impactos na saúde dos trabalhadores e da população do estado de Mato Grosso. *In: GOMEZ, MACHADO e PENA (Orgs.)*. **Saúde do trabalhador na sociedade brasileira contemporânea**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2011, p. 245-272.

RODRIGUES, M.N; SOUSA, F.L, CASTRO, J.K. Utilização de Subprodutos na Alimentação de ruminantes experiência brasileira. Universidade Federal de Minas Gerais-Curso de zootecnia, documento em meio eletrônico Norberto_cyted 903400804.pdf.2009Disponível em: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/22272-Utilizacao-Subprodutos-Agroindustria-Alimentao-Ruminantes-Experiencia-Brasileira.html>
Acessado em mar. de 2013.

SANTOS, S. J.; HECK, C. M.; COSTABEBER, H. I.; JÚNIOR, B. S.; EMANUEL, T. Ingestão diária dos organoclorados lindano, hexaclorobenzeno e *p,p'*-diclorodifenil dicloroetileno a partir de leite esterilizado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p.85-92, mar./ dez.2005;

SILVA, T.P.P.; MOREIRA, J.C.; PERES, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde e na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v2 p311-325, 2012.

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. **Dados de produção e consumo de agrotóxicos ano 2011**. Disponível em www.sindag.com.br. Acessado em 28 março .2013

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. **Vendas de defensivos agrícolas são recordes e vão a US\$ 8,5 bi em 2011**. Disponível em: http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2256. Acessado em 22 março 2013.

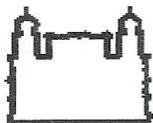
SINITOX-Sistema Nacional de Informações de Informações Tóxico Farmacológicas. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde. Disponível em: http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=379. Acessado em março.2013

USDA Unites States Department of Agriculture. Search the Maximum Residue Limit Database: <http://www.mrlatabase.com/>. Acessado em março de 2012.

WHO, 2004. International Programme on Chemical Safety: Risk Assessment Terminology. Harmonization Project. Geneva, 2004;

WHO, 1997. Guidelines for predicting dietary intake of pesticides residues. Global Environment Monitoring System. Food Contamination Monitoring and Assessment Program (GEMS/Foods). Program of food Safety Aid. Geneva Switzerland.

ANEXO A-“PARECER APROVADO CEP FIOCRUZ-IOC



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-CEP FIOCRUZ-IOC

Rio de Janeiro, 31 de outubro de 2011.

PARECER APROVADO

Título do Projeto: “**Estimativa do consumo de leite e alimentos afins entre crianças caracterizando a presença de possíveis resíduos de contaminantes como agrotóxicos**”

Registro do Projeto no CEP Fiocruz-IOC: **614/11**

Pesquisador(a) Responsável: **Lúcia Helena Pinto Bastos**

Instituição (ões): **INCQS/Fiocruz e Abrigo Teresa de Jesus**

Síntese do projeto:

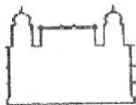
O leite assume importante papel na dieta dos humanos em diferentes faixas etárias, devido ao alto valor biológico (proteínas, lipídios, glicídios minerais e vitaminas). Sendo um dos alimentos mais consumidos por crianças. Os agrotóxicos tornaram-se problema em termos ambientais e de saúde. Assim o aumento da utilização indiscriminada de agrotóxico em alimentos, na medicina veterinária, no tratamento de ectoparasitos e a contaminação do ambiente especificamente da água e dos pastos, tem provocado o aumento na quantidade de resíduos no leite. Outra possível fonte de contaminação são os domissanitários. Desta forma diante deste grande desafio analítico temos como meta precípua avaliar todos agrotóxicos em leite de classes químicas agrônômicas ainda não avaliadas no Brasil, mas com real possibilidade de contaminação do produto final.

O trabalho em questão está muito bem estruturado para a parte de análise química do produto final o leite. Trata-se de um projeto de doutorado que teve início em 2009 e que agora inseriu esta abordagem visando correlacionar os dados de: consumo de crianças, ergométricos e possíveis presença de resíduos no leite.

Objetivos:

Estudar a contaminação do leite, por resíduos de agrotóxico de diferentes classes químicas e agrônômicas de uso permitido ou não na legislação Nacional e Internacional;

ANEXO B – CARTA 078/11-



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP/FIOCRUZ

Rio de Janeiro, 04 de novembro de 2011.

Carta: 078/11

De: CEP/FIOCRUZ

Para: - Dra. Lúcia Helena Pinto Bastose
- Dra. Isabella Fernandes Delgado

Prezadas Senhoras,

Estamos encaminhando o parecer do **protocolo 614/11** intitulado “**Estimativa do consumo de leite e alimentos afins entre crianças caracterizando a presença de possíveis resíduos de contaminantes como agrotóxicos**” com a deliberação de **APROVADO**.

Atenciosamente


Carla Dias Netto
Secretária Geral
CEP/Fiocruz

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4.036 - Sala: 705
Manguinhos - RJ. - CEP.: 21.040-360
Tels.: (21) 3882-9011 Fax: (21) 2561-4815
e-mail: etica@fiocruz.br