

MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS DA CLASSE DOS ORGANOFOSFORADOS POR CG-DFC EM AMOSTRAS DE LEITE FLUÍDO E EM PÓ**Lucia Helena Pinto Bastos*, Adherlene Vieira Gouvêa, Nina Daddário Ortiz, 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, Avenida Brasil 4385, Manguinhos, 21045-900 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 22/04/2014; aceito em 02/10/2014; publicado na web em 13/11/2014

MONITORING OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE RESIDUES IN FLUID AND POWDERED MILK BY GAS CHROMATOGRAPHY WITH FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR. Samples of whole fluid pasteurized, UHT and powdered milk were analyzed for the presence of organophosphorus pesticide residues (OPR) using the QuEChERS method with detection by GC-FPD and confirmation by UPLC-MS/MS. A total of 23% of fluid milk samples and 27% of powdered milk samples contained at least one organophosphorus residue. The OPR found in the samples showed these can reach the milk and remain even after pasteurization, sterilization and drying processes. Some domestic sanitary residues were also present in the powdered milk samples. These residues have no LMR in Brazilian food legislation and are therefore not taken into account in food intake evaluations. There was an unidentified chromatographic peak in 30% of all the liquid and powdered milk samples, indicating the presence of some other contaminant.

Keywords: pesticides; milk; QuEChERS.

INTRODUÇÃO

Os Organofosforados (OPS), ao fosforilarem a enzima acetilcolinesterase (Achase) – responsável pela inativação do neurotransmissor acetilcolina¹ – bloqueiam, de forma reversível ou lentamente reversível, a sua atividade catalítica.

Em virtude desse fato, os OPS desencadeiam um quadro neurotóxico agudo em seres humanos e a toxicidade resultante dessas substâncias pode se manifestar na exposição crônica a longo prazo com o aparecimento de efeitos neuropsicológicos ou neuropsiquiátricos.² Estudos demonstraram que crianças expostas aos OPS antes do nascimento apresentaram uma redução do quociente de inteligência (QI).³⁻⁵

Entre outros alimentos de origem animal, o leite encontra-se no topo da cadeia alimentar para crianças e recém-nascidos, sendo um marcador da contaminação ambiental.⁶ A utilização indiscriminada de agrotóxicos em alimentos, na medicina veterinária, no tratamento de ectoparasitas, bem como a contaminação do meio ambiente, especificamente da água e dos pastos, têm provocado um aumento na quantidade de resíduos de contaminantes no leite.

A contaminação alimentar tem sua origem nos tratamentos e produtos aplicados às plantas por meio de pulverizações ou indiretamente por meio de produtos residuais no solo como herbicidas (combate ervas daninhas), nematicidas (combate nematóides) e acaricidas (combate ácaros).⁷⁻⁹ Outra possível fonte de contaminação são os domissanitários utilizados nos currais e estabelecimentos de produção leiteira.

Considerando os efeitos tóxicos dos agrotóxicos, mesmo em níveis residuais, é de suma importância que a presença destes resíduos sejam monitorados nos alimentos de maior consumo infantil, como é o caso do leite.

Órgãos responsáveis pela saúde¹⁰⁻¹² demonstram uma preocupação com a avaliação dessas substâncias no leite e programas de monitoramento são frequentemente realizados. Vários trabalhos¹³⁻¹⁷ demonstraram que resíduos de agrotóxicos podem chegar ao leite, principalmente levados pela alimentação animal (AA) bovina, pela

contaminação ambiental, pelo tratamento de ectoparasitas e por acidentes ambientais.

Avaliações de resíduos de agrotóxicos em leite⁸ ainda são escassas no Brasil. Somente o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), por meio do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Leite¹⁸ (PNCRC/L), monitora com regularidade 12 (acefato, azinfós etílico e metílico, clorpirifós etil e metil, diazinona, metamidofós, mevinfós, parationa-etílica pirimifós-etílico e metílico, metidationa) dos 29 agrotóxicos (azametifós, bromofós, cadusafós, diclorvós, dimetoato, etefon, etoprofós, etiona, fenamifós, fenclorvós, fenitrotriona, fentiona, forato, fosadona, fosmete, fentoato, fostiazato, foxim, iodofenós, malationa, nalede, parationa-metílica, profenofós, piridafentiona, protiofós, temefós, triazofós, terbufós, tebupirinfós) da classe dos OPS permitidos pela legislação brasileira.¹⁹

Alguns OPS – bromofós, diclorvós, etoprofós, fenamifós, forato, fosmete, terbufós, parationa-metílica entre outros – não são avaliados no programa PNCRC/L,¹⁸ apesar de possuírem alta toxicidade (classe I ou II) e de serem substâncias de uso permitido em AA, cereais (CE) e domissanitários.

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar resíduos de OPS – parte deles ainda não contemplados em trabalhos nacionais - em amostras de leite fluído e em pó prontos para consumo. Foi utilizado o método de extração QuEChERS²⁰ com detecção por cromatografia gasosa por fotometria em chama (CG-DFC).

PARTE EXPERIMENTAL**Padrões e reagentes**

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

Foram utilizados: a) acetonitrila, isooctano e acetato de etila - solventes orgânicos de alta pureza e grau cromatográfico (Merck e

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

Tedia); b) $\text{MgSO}_4 \cdot \text{PA}$ (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) $\text{Na}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$ anidro (Spectrum), seco a 220 °C por 3 horas antes do uso.

A validação do método e todas as condições experimentais para a realização do monitoramento das amostras em leite estão descritos em trabalho anterior.²¹ Neste foram determinados os parâmetros de validação: seletividade, efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz, estudo da linearidade da faixa de trabalho, recuperação e repetitividade, limites de detecção e quantificação do método (LDM) e (LQM).

Foram analisadas amostras de leite UHT (*ultra high temperature*) e em pó quanto à presença de resíduos de agrotóxicos da classe dos OPS utilizando o método QuEChERS.^{20,21} Cinquenta e três substâncias da classe dos OPS foram analisadas – 49 agrotóxicos e 4 produtos de degradação – e divididas em duas misturas distintas, S1 e S2, em função do tempo de retenção (t_R (min)) de cada substância, de modo que não ocorresse sobreposição de picos no cromatograma, tornando possível a identificação inequívoca dos picos cromatográficos referentes a cada agrotóxico.²¹

A S1 foi composta dos agrotóxicos e de dois produtos de degradação, ordenados em ordem crescente de t_R (min): naledo, metamidofós, acefato, demetom-S-metilico, ometoato, tiometona, diazinona, dissulfotom, isazofós, clorpirifós-metil, parationa-metilica, pirimifós-metilico, paraoxon etílico, fenitrotiona, parationa-etílica, bromofós-metilico, bromofós-etílico, protiofós, profenofós, dissulfotom-S-sulfurona, etiona, metidationa, carbofenotona, fosadona, 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): diclorofós, mevinfós, etoprofós, forato, terbufós, tebutpirinfós, monocrotofós, etrinfós, dimetoato, paraoxon-metilico, fosfamidona, formotiona, malaaxon, clorpirifós, malationa, pirimifós-etílico, fentiona, clorfenvinfós, tetraclorvinfós, iodofenfós, fenamifós, vamidotiona, triazofós, piridafentiona, fosmete e, azinfós-metilico. O paraoxon-metilico e o malaaxon são produtos de degradação da parationa-metilica e malationa, respectivamente.

Para garantia da confiabilidade dos resultados, foram usados diferentes controladores de qualidade analítica: o QA1 – parationa-metilica usado como controlador do equipamento e o QA2 – clorpirifós-metil e quinalfós usado como controlador do processo analítico (CPA). Como consequência ao uso do QA2, as amostras não puderam ser avaliadas quanto à presença da substância clorpirifós-metil.²¹

Corroborando na garantia de qualidade, um terceiro controle analítico – QA 53 – foi inserido em cada sequência de injeção das amostras. Essas continham todos os agrotóxicos em avaliação por tempo de retenção e como critério de aceitação individual foi utilizada a taxa de recuperação²² de 60 a 140%.

Amostras analisadas

O maior número de amostras foi adquirido em diferentes estabelecimentos da cidade do Rio de Janeiro e o restante coletado nos estados do Nordeste e Mato Grosso, correspondendo a coleta a 5 regiões brasileiras (CO, NE, NO, S, SE) e Argentina.

As amostras de leite fluído pasteurizado estavam acondicionadas em embalagens plásticas e as de leite UHT em embalagem cartonada revestida tetra Pack®, já as amostras de leite em pó estavam em embalagens poliéster metalizado/polietileno e em lata metálica e ambas as amostras se encontravam na forma integral.

Leite fluído integral UHT e pasteurizado

Foram analisadas 222 amostras de leite fluído com datas de fabricação compreendidas entre 01/07/2009 a 27/08/2011. O maior número de amostras coletado ao longo do período (88) foi processado em cooperativas do Estado do Rio de Janeiro e as demais em diferentes estados brasileiros. As amostras coletadas ao longo do período (2009 a 2011) variaram quanto à data de fabricação e estados coletados. A Tabela 1 especifica o quantitativo de amostras de leite UHT e pasteurizado coletadas, por mês, ano de fabricação e percentual mensal de coleta e o número de amostras coletadas por estado da Federação Brasileira, expresso em parênteses.

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 fabricadas em diferentes áreas de produção brasileira e duas na Argentina. O maior número de amostras de leite em pó coletado foi produzido no estado de MG (47), correspondendo a cerca de 47% das amostras coletadas. As amostras foram fabricadas no período de 11/04/2009 a 23/09/2011. A Tabela 2 especifica o quantitativo de amostras de leite em pó coletadas, por mês, ano de fabricação e percentual mensal de coleta e o número de amostras coletadas por estado da Federação Brasileira, expresso em parênteses.

Extração das amostras

As amostras de leite fluído foram pesadas ($m = 15$ g) e extraídas por método QuEChERS conforme procedimento anteriormente descrito.²¹ A amostra foi homogeneizada por cinco minutos em liquidificador de copo de vidro, pesada e colocada 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, foi adicionado $\text{MgSO}_4 + 1,5$ g $\text{Na}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$ e na segunda foi feita a limpeza da amostra utilizando a combinação de sorbentes (50 mg PSA + 50 mg alumina + 150 mg MgSO_4). As amostras de leite em pó foram diluídas em água deionizada, conforme recomendações de consumo na rotulagem e analisadas com o mesmo procedimento utilizado para o leite fluído.

Condições cromatográficas

Equipamento: cromatógrafo a gás HP 7890 (Agilent), equipamento com detector por fotometria em chama (CG-DFC) em modo fósforo (P); sistema de injeção automático e estação de trabalho – ChemStation. Temperatura do injetor e detector de 230 °C e 250 °C, respectivamente. Coluna 50% fenil-metil siloxano (DB-17MS) com 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme. Programação de temperatura do forno de 100 °C (0 min), 25 °C min^{-1} a 170 °C (1 min), 1 °C min^{-1} a 180 °C (1 min), 1 °C min^{-1} até 230 °C (0 min), 5 °C min^{-1} até 260 °C (5 min), 20 °C min^{-1} 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 auxiliar (Nitrogênio) = 60 mL min^{-1} , modo de injeção sem divisão de fluxo = 1,0 min, volume injetado = 1,0 μL .

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

Tabela 1. Quantitativo de amostras de leite UHT e pasteurizado, coletadas por mês e ano de fabricação e percentual mensal de coleta. Distribuição do número de amostras coleta por estado da Federação brasileira expresso em parênteses

Ano produção	Quant.	Distribuição das amostras por estado	Quantitativo coletado por meses do ano	Meses	% amostrado mês (es) de fabricação
2009	94	RJ (47), MG (25), PR (4), RS (8), GO (6), SP (3), ES (1)	74	outubro e novembro	79
			16	agosto e setembro	17
			2	julho	2
			2	NI	2
2010	34	RJ (16), MG (6), RS (4), SP (5), GO (2), SC (1)	15	março	44
			10	dezembro	29
			4	agosto e setembro	12
			3	novembro	9
			1	outubro	3
2011	88	RJ (23), MG (15), RS (12), MT e MS (8), GO (7), SP (4), ES (4), SC (3), PR (3), BA (2), CE (2), AL (1), SE (1), PE (1), RO (1), RR (1)	1	janeiro	3
			23	janeiro e fevereiro	26
			19	setembro e outubro	21
			17	maio e junho	19
			16	julho e agosto	18
			11	março e abril	12
2	NI	2			

NI: Não informado.

Tabela 2. Quantitativo de amostras de leite em pó coletadas, por mês e ano de fabricação e percentual mensal de coleta. Distribuição do número de amostras coletadas por estado da Federação brasileira expresso em parênteses e um país da América Latina

Ano produção	Quant.	Distribuição das amostras por estado	Distribuição por meses do ano	Meses	% amostrado mês (es) de fabricação
2009	69	MG (27), RS (12), GO (10), RJ (9), SP (6), BA (2), ES (1), Argentina (2)	28	julho e agosto	41
			27	setembro e outubro	39
			5	abril	7
			4	junho	6
			3	novembro	4
			2	maio	3
2010	17	MG (11), GO (2), SP (1), SC (1), Argentina (1)	8	março e abril	47
			5	janeiro e fevereiro	29
			1	maio e junho	6
			1	setembro e outubro	6
			2	novembro e dezembro	12
2011	30	MG (13), GO (10), RS (1), SP (2), BA (2), MA (2)	14	maio, junho e julho	47
			6	agosto	20
			3	janeiro	10
			2	abril	7
			2	fevereiro	7
			2	setembro	7
1	março	3			

Confirmação dos agrotóxicos identificados no leite fluido e em pó

Parte dos analitos identificados foram confirmados utilizando um cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência modelo ACQUITY UPLC™ acoplado ao espectrômetro de massas tipo triplo quadrupolo por eletronebulização (UHPLC-ESI-MS/MS) modelo Quatro Premier

XE operando em modo MRM com ionização por eletrospray no modo íon positivo e estação de trabalho MassLynx™. Os resíduos dos analitos acefato, clorpirifós, fentiona, fosmete, metamidofós, pirazofós e terbufós foram confirmados em amostras de leite UHT e em pó por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) com procedimento previamente descrito em trabalho anterior.⁷

Os OPS foram confirmados utilizando o íon precursor e dois íons de transição, os íons avaliados, expressos entre parênteses respectivamente foram: acefato (m/z 184; 143 e 95), clorpirifós (m/z 349; 197 e 96), fentiona (m/z 279; 168 e 104), fosmete (m/z 318; 160 e 133), metamidofós (m/z 142; 125 e 94), pirazofós (m/z 374; 222 e 194) e terbufós (m/z 289; 103 e 70). Entretanto, os organofosforados identificados no ano de 2009 não puderam ser confirmados, pois no período de implementação do método de avaliação, pelo LC-MS/MS, as amostras já haviam deteriorado.

As condições cromatográficas utilizadas no equipamento ACQUITY UPLC™ para a identificação das amostras encontram-se descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições cromatográficas utilizadas no equipamento UHPLC para a identificação de resíduos de agrotóxicos analisados em amostras de leite

Coluna analítica	Alltima C ₁₈ , 5 µm, 150 mm x 3,2 mm
Temperatura da coluna	40 °C
Fluxo da fase móvel	0,3 mL min ⁻¹
Volume de injeção	5 µL
Fase móvel A	5 mmol L ⁻¹ 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	eletrospray (Z-Spray)™
Fluxo do gás do cone	50 L h ⁻¹ de nitrogênio
Temperatura de dessolvatação	400 °C
Gás de dessolvatação	Nitrogênio ultra puro
Gás de colisão e pressão	Argônio (3,5 x 10 ⁻³) mbar

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do CPA cerca de 90% das amostras de leite fluído e 97% de leite em pó estiveram dentro da faixa de recuperação recomendada (60 a 140%).²² Duas amostras de leite fluído – em embalagem plástica produzido no Estado do Rio de Janeiro em 2009 e leite fluído UHT, produzido no Estado do Rio Grande do Sul, em 2010 – apresentaram recuperações superiores a 140%, havendo, portanto, a possibilidade da presença do clorpirifós metílico nestas amostras.

Entre as amostras de leite em pó, três amostras apresentaram recuperações superiores a 140%, sendo duas produzidas em MG (anos 2009 e 2010) e uma no RS (ano 2010).

A confirmação da presença de um analito é possível com a combinação de duas ou mais análises, idealmente com o uso de métodos ortogonais – utilizam propriedades físico-químicas diferentes de separação e/ou identificação, como exemplo cromatografia líquida e gasosa – sendo que pelo menos um deles satisfaça os critérios de identificação.^{21,22}

Leite fluído

Do total de 222 amostras de leite fluído analisadas nos 3 anos de monitoramento, 23% (50 amostras) apresentaram pelo menos um resíduo de agrotóxico. Todos os resultados obtidos foram inferiores aos valores de LQM, estando próximos aos valores do LDM.²¹

O grau de contaminação por resíduos de organofosforados variou nas amostras analisadas durante o período de monitoramento: em

2009 foi 56%; em 2010 foi 32% e em 2011 foi 9%.

Essa diferença pode ser devida ao fato de que a base amostral foi diferente a cada ano no que concerne aos estados de origem e mês de coleta.

O agrotóxico presente em maior número de amostras foi o acefato, encontrado com maior frequência em amostras coletadas no ano de 2009 e menor presença no ano de 2010, não tendo sido identificado no ano de 2011.

Algumas amostras de leite fluído continham mais de um resíduo. Nos cromatogramas de grande número de amostras analisadas foram evidenciados picos não identificados em relação aos agrotóxicos testados (S1 e S2). Este não foi observado no leite branco orgânico usado na validação do método e no controle de qualidade.

Um pico cromatográfico com t_R (min) = 2 ± 0,5 foi encontrado em 28% do total de amostras de leite fluído (63/222 amostras) das amostras analisadas. A identidade desse resíduo não pode ser conhecida neste trabalho. Isto pode ser devido à presença de produtos de degradação de algum agrotóxico ou de alguma substância que contenha átomos de fósforo na sua molécula.

A Figura 1 ilustra um cromatograma da amostra de leite fluído oriunda do estado Estado de Minas Gerais. Nele podemos observar os picos correspondentes ao resíduo não identificado (t_R (min) = 2 ± 0,5) e aos clorpirifós-metil e quinalfós (QA2 e QA3), adicionados como controle.

Leite em pó

Nos três anos de monitoramento, foram analisadas 109 amostras de leite em pó. Constatou-se que 30 amostras (27%) apresentaram o mesmo pico não identificado t_R (min) = 2 ± 0,5 que ocorreu nos cromatogramas do leite fluído.

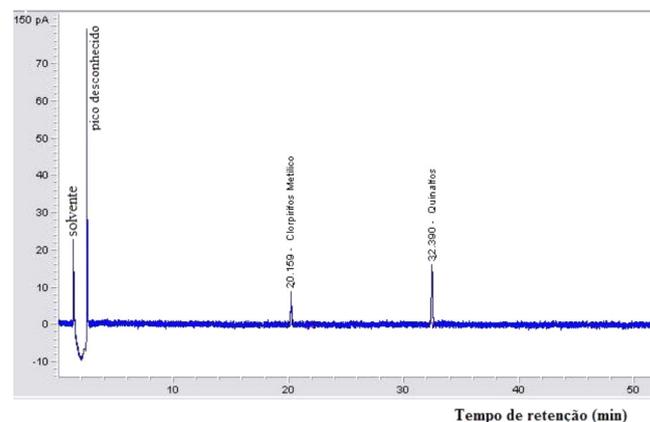


Figura 1. Representação gráfica do cromatograma, obtido por CG-DFC, de amostra de leite fluído UHT produzido no Estado de Minas Gerais

Agrotóxicos identificados nas amostras analisadas

Tanto nas amostras de leite fluído quanto nas de leite em pó foram encontrados resíduos de acefato, clorpirifós, etiona, fentiona, fosmete, malaoxon, pirazofós. Vários outros foram encontrados somente nas amostras de leite em pó: bromofós-metílico e etílico, carbobenotona, dissulfotom, azametifós, parationa-metílico, pirazofós, profenofós, terbufós e tiometona.

A Tabela 4 ilustra as amostras de leite fluído em pó analisadas: quantidade, identidade, presença e percentual de resíduos.

Resíduos de acefato foram encontrados em um maior número de amostras de leite fluído nos anos de 2009 e 2010 e em 18 amostras de leite em pó dentre as 135 amostras analisadas. Esses resíduos foram encontrados em cerca de 90% das amostras analisadas de

Tabela 4. Resultados obtidos no monitoramento de resíduos de agrotóxicos nas amostras de leite fluido (pasteurizado e UHT) e em pó

ANO	Tipo de leite	Quant. amostras analisadas	Amostras com resíduos (%)	Percentual de resíduos presentes / amostras (%)	Presença de mais de um resíduo
2009	Fluído	98	31 (32%)	acefato (21) clorpirifós (6)	1 (acefato e clorpirifós) e 1 (acefato e etiona)
	Pó	84	12 (14%)	tiometona (3) azametifós, bromofós-etílico, carbofenotona (2) acefato, bromofós-metilico, clorpirifós, dissulfotona, etiona, fosmete, parationa-metilica, pirazofós, profenofós, terbufós (1)	1 (carbofenotona e dissulfotona) 1 (azametifós, bromofós-etílico, profenofós e fosmete) 1 (azametifós e clorpirifós) 1 (azametifós e fosmete) 1 (tiometona e terbufós) 1 (acefato, carbofenotona e fosmete)
2010	Fluído	34	11 (32%)	acefato (11) fosmete e malaixon (1)	nenhuma
	Pó	21	2 (9,5%)	acefato (2) malaixon (1)	1 (acefato e malaixon)
2011	Fluído	90	8 (9%)	fosmete, malaixon e pirazofós (1)	1 (pirazofós e fosmete)
	Pó	30	13 (35%)	acefato (9) malaixon (4) metamidofós (2) terbufós (1)	2 (acefato e malaixon) 1 (acefato e metamidofós)

leite pasteurizado, produzidos no período de outubro e novembro de 2009 e março de 2010.

A presença de acefato, mesmo em níveis residuais, bem abaixo do LQM, deve ser avaliada quanto à segurança, uma vez que o leite é muito consumido, principalmente pelo público infantil, e que há suspeitas de que exposição crônica ao agrotóxico possa resultar em efeitos adversos à saúde.²³

Legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)² estabeleceu procedimentos administrativos para a reavaliação do acefato entre outros agrotóxicos. Durante o processo de reavaliação foi elaborada pela ANVISA e colaboradores uma nota técnica²³ sobre o produto, sugerindo mudanças da ingestão diária aceitável (IDA) (atual 0,03) para 0,0008 mg kg⁻¹ do peso corporal dia⁻¹ (pc/dia) e a proibição do uso do produto em culturas como soja e algodão (importantes na AA).¹⁷ Essa reavaliação foi concluída e os novos parâmetros para o IA foram 0,0012 mg kg⁻¹ pc/dia. Seria desejável que fosse realizada uma avaliação da ingestão pelo público infantil, dos resíduos do acefato presentes no leite, considerando a nova IDA (0,0012 mg kg⁻¹ pc/dia) para verificar se a presença desses resíduos poderiam impactar a IDA da substância⁷ e, conseqüentemente, causar danos à saúde.

A presença do clorpirifós em níveis residuais tem seu uso justificado devido ao uso em diferentes tipos de CE comumente utilizados na AA, como: algodão, cevada, milho, pastagem, sorgo, soja e trigo com limite máximo de resíduo (LMR)¹⁸ variando de 0,01 a 2 mg kg⁻¹, além de ser permitido também para 25 medicamentos veterinários.²⁴ Outros organofosforados encontrados nas amostras avaliadas também possuem o uso permitido para a AA, como domissanitários e medicamentos veterinários: fentiona, fosmete, pirazofós e malaixon.

O malaixon é o produto de degradação da malationa. Essa tem seu uso permitido em produtos armazenados, pastagens¹⁹ (LMR de 3 a 135 mg kg⁻¹), citrus (LMR de 3,0 mg kg⁻¹) e também como domissanitário. A malationa foi identificada em ração animal⁷ com base crítica na concentração de 0,02 mg kg⁻¹.

Carbofenotona 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 a confirmação da presença nas amostras identificadas.

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 milho¹⁹ (LMR = 0,05 mg kg⁻¹), sendo seus subprodutos utilizados na AA. Apesar da presença do terbufós em níveis residuais e em poucas amostras analisadas (2 em 222), a avaliação da presença e monitoramento em amostras de leite merece atenção especial por possuir um valor de IDA extremamente baixo (0,0002 mg kg⁻¹ pc/dia).

Outros IA, tais como: etiona, dissulfotona, parationa-metilica e profenofós foram observados em somente uma amostra, dentre as 357 amostras avaliadas, considerando leite fluído e pó (2009 a 2011), fato esse que pode representar menor risco de ingestão.

A etiona tem seu uso permitido para abacaxi, citros e tomate¹⁹ (LMR de 2,0 mg kg⁻¹), produtos cujo subproduto são utilizados na AA.²⁵ Em trabalho de monitoramento anterior⁷ foi identificada a presença da etiona em amostras de AA de ração para bovino leiteiro, farelo de soja e grãos de soja, nos quais seu uso não é permitido.⁷ A substância também tem seu uso permitido em medicamentos veterinários com uso indicado a bovino leiteiro para três produtos ectoparasitários formulados.²⁴

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 em alimentos para produtos domissanitários. A presença de resíduos no leite como: acefato, fosmete, etiona e parationa-metilica foram confirmadas por LC-MS/MS em amostras de leite em pó, mas não foi possível a confirmação em todas as amostras analisadas de leite fluído pasteurizado, especialmente aquelas acondicionadas em embalagens plásticas.

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 resíduos de organofosforados quando comparada às 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 foi identificado um maior número de amostras de leite em pó com resíduos (8 amostras, 35%) quando comparado com o número de amostras de leite fluído, fato esse que pode estar relacionado à diferença de

Tabela 5. Valores de agrotóxicos obtidos nas amostras de leite avaliadas, seus LQM e Valores de 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	Usos	LQM ²¹ (mg kg ⁻¹)	Resultados (mg kg ⁻¹)	LMR ¹⁹ Brasil	LMR ²⁸ Codex	LMR ²⁶ EUR	LMR ²⁷ USA
acefato	AA, MV, CE, HF	0,05	< 0,05	0,02	0,02	0,02	0,1
azametifós	DS	NV	traços	DS	DS	0,01	DS
bromofós-metílico	DS	0,01	< 0,01	DS	NE	DS	DS
carbofenotiona	P	0,07	< 0,05	P	P	0,01	P
clorpirifós	AA, MV	0,01	< 0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
dissulfotom	AA	NV	traços	NE	0,01	P	NE
etiona	AA, HF	0,02	< 0,02	NE	NE	0,01	NE
fosmete	HF, MV, DS	0,04	< 0,04	NE	0,02	0,05	0,1
iodofenfós	DS	0,07	< 0,07	DS	P	0,01	DS
malationa	AA, HF, DS	0,02	< 0,02	NE	NE	0,02 ¹	0,5 ¹
parationa-metflica	AA, HF	0,02	< 0,02	0,02	NE	0,01	NE
pirazofós	AA, HF	0,01	< 0,01	NE	NE	0,02	NE
profenofós	AA, CE, HF	0,09	< 0,09	NE	0,01	0,01	0,01
terbufós	AA, CE	0,01	< 0,01	NE	0,01	0,01	NE

1: Σ Malationa e malaoxon; AA: alimentação animal; CE: cereais; DS: domissanitário; MV: medicamentos veterinárias; HF: Uso em hortifrutigranjeiros; NE: Não especificado para produtos de origem animal; NV: não validado; P: Uso proibido. Os agrotóxicos azametifós e dissulfotom não apresentaram recuperações adequadas na validação.

data 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 abaixo do limite de quantificação do método validado e dentro do LMR para os IAs: acefato, clorpirifós.

Os agrotóxicos dissulfotom, etiona, fosmete, parationa-metflica, pirazofós e terbufós não possuem LMR especificado para produtos de origem animal no Brasil, entretanto, esses limites são contemplados em países da Comunidade Européia²⁶ (EU), EUA²⁷ e pelo *Codex Alimentarius*²⁸ (Codex).

Os OPS maloxon (identificado em leite em pó, 2011) e parationa metflica não puderam ser confirmados.

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

No Brasil, os LMRs especificados são para o leite cru e processado.¹¹

CONCLUSÃO

Resíduos de organofosforados foram detectados em amostras de leite fluído, mesmo após os processos de pasteurização, esterilização e secagem. Resíduos de produtos domissanitários, utilizados na cadeia de produção do leite, foram encontrados em amostras de leite em pó. Como não há na legislação brasileira LMR para estes resíduos em alimentos, torna-se importante a confirmação dessas substâncias e se necessário realização de estudos de avaliação de ingestão nas matrizes animal.

Foi verificado um pico cromatográfico não identificado em cerca de 30% das amostras de leite fluído e em pó sendo sua identificação importante e desejável.

A identificação dos diferentes resíduos dos OPS obtidos no leite mostra a importância em expandir o número de agrotóxicos avaliados

no programa de monitoramento tornando-o mais abrangente, permitindo avaliar toda a classe dos OPS e seus metabólitos permitidos pela legislação brasileira.

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 ingestão dos agrotóxicos pertencentes à classe dos organofosforados no leite, considerando a soma dos seus resíduos e metabólitos, o consumo e o peso infantil nacional.

REFERÊNCIAS

- Costa, L. G. Em *Casarett & Doull's toxicology: The Basic Science of Poisons*; Klaassen, C. D., eds.; 7th ed., Mc Graw Hill: EUA, 2007, cap. 22.
- <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrototoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Reavaliacoes+de+Agrototoxicos/W+Reavaliacao+de+Agrototoxicos+Re+solucao+RDC+n+10+2008>, acessada em Novembro 2014.
- Bouchard, M. F.; Chevie, J.; Harley, K. G.; Kogut, K.; Vedar, M.; Caldron, N.; Trujillo, C.; Johnson, C.; Bradman, A., Barr, B. D.; Brenda, E.; *Environ. Health Perspectives* **2011**, *119*, 1189.
- Engel, S. M.; Wetmur, J.; Chen, J.; Zhu, C.; Barr, D. B.; Canfield, R. L.; Wolff, M. S.; *Environ. Health Perspectives* **2011**, *119*, 1182.
- Rauh, V.; Arunajadai, S.; Horton, M.; Perera, F.; Hoepner, L.; Barr, D. B.; Whyatt, R.; *Environ. Health Perspectives* **2011**, *119*, 1196.
- Rodrigues, F. de M.; Mesquita, P. R. R.; de Oliveira, L. S.; de Oliveira F. S.; Menezes, A. F.; Pereira, P. A. de P.; de Andrade, J. B.; *Microchem. J.* **2011**, *98*, 56.
- Bastos, L. H. P.; *Tese de Doutorado*, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde-FIOCRUZ, Brasil, 2013.
- Bastos, L. H. P.; Cardoso, M. H. W. M.; Nóbrega, A. W.; Jacob, S. C.; *Cadernos de Saúde Coletiva* **2011**, *19*, 60.
- González-Rodríguez, F.; Liébanas, A. J. F.; Frenich, G. A.; López, S. J. F.; *Anal. Chem. Lett.* **2005**, *382*, 164.

10. http://www.pesticides.gov.uk/Resources/CRD/PRiF/Q2_2011_Report.pdf, acessada em Novembro 2014.
11. <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELD EV3003674>, acessada em Novembro 2014.
12. Tsiplakou, E.; Anagnostopoulos, C. J.; Liapis, K.; Haroutounian, S. A.; Zervas, G.; *Chemosphere* **2010**, *80*, 504.
13. Pagliuca, G.; Serraino, A.; Gazzotti, T.; Zironi, E.; Borsari, A.; Rosmini, R.; *J. Dairy Res.* **2006**, *73*, 340.
14. Battu, R. S.; Balwinder, S.; Kang, B. K.; *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2004**, *59*, 324.
15. Bandeira, D. D.; Munaretto, S. J.; Rizzetti, M. T.; Ferronato, G.; Prestes, O. D.; Martins, M. L.; Zanella, R.; Adaime, M. B.; *Quim. Nova* **2014**, *5*, 900.
16. Shahzadi, N.; Imran, M.; Sarwar, M.; Hashmi, S. A.; Wasim, M.; *J. Agroaliment. Processes Technol.* **2013**, *19*, 167.
17. Fagnani, R.; Beloti, V.; Paula, A.; Battaglini, P.; Dunga, K. S.; Tamanini, R.; *Pesquisa Veterinária Brasileira* **2011**, *31*, 598.
18. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA): *Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal*. Instrução Normativa n° 42 de 20 de dezembro de 1999.
19. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos/Monografias>, acessada em Novembro 2014.
20. Lehotay, S. J.; Matovská, K.; Yun, S. J.; *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 630.
21. Bastos, L. H. P.; Cardoso, M. H. W. M., Gouvêa, V. A.; Málaga, F.; Nóbrega, A. W. N.; Jacob, S. C.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 1657.
22. SANCO, EUROPEAN COMMISSION. *Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed*. Document N° SANCO/12571/2013, **2014**.
23. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eb9c6a8047458ac4941dd-43fbc4c6735/Nota+t%C3%A9cnica+do+acefato.pdf?MOD=AJPERES>, acessada em Novembro 2014.
24. <http://www.cpv.com.br/cpv/index.html>, acessada em Novembro 2014.
25. 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.; *Rev. Soc. Bras. Zootec.* **2011**, *40*, 1052.
26. http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=homepag e&CFID=8058081&CFTOKEN=106e67ba1cfcb326-8E892B2F-B763-3EA3-2077A7A20D36D934 & jsessionid = 24053b452f9e054546f7TR, acessada em Novembro 2014.
27. <http://www.mrlatabase.com/>, acessada em Novembro 2014.
28. <http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/index.html; jsessionid=F69B84653B2661D0A8C3588497734E41>, acessada em Novembro 2014.