

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Doutorado em Ciência Animal

**Resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado:  
validação da ampliação do escopo de método por LC-MS/MS  
e análise multivariada de fatores que influenciam sua  
ocorrência no estado de Minas Gerais**

Fabiano Aurélio da Silva Oliveira

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Doutorado em Ciência Animal

**Resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado:  
validação da ampliação do escopo de método por LC-MS/MS  
e análise multivariada de fatores que influenciam sua  
ocorrência no estado de Minas Gerais**

Fabiano Aurélio da Silva Oliveira

Tese apresentada à banca examinadora como requisito  
para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal  
Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais,  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Martins Melo  
Co-Orientadores: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira  
Prof. Dr Benito Soto-Blanco

Belo Horizonte  
2016

O48r Oliveira, Fabiano Aurélio da Silva, 1968-  
Resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado: validação da ampliação do escopo de método por LC-MS/MS e análise multivariada de fatores que influenciam sua ocorrência no Estado de Minas Gerais / Fabiano Aurélio da Silva Oliveira. – 2016.

125 p. : color.

Telamônica Marília Mota de Sá

Co-orientadora: Mônica Maria Oliveira Pinho Corqueira, Bento Soto-Bianco

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária, Belo Horizonte.

1. Leite – Análise – Tese. 2. Leite – Qualidade – Tese. 3. Produtos químicos agrícolas – Tese. 4. Análise multivariada – Tese. 5. Segurança alimentar – Tese. I. Melo, Marília Marília. II. Corqueira, Mônica Maria Oliveira Pinho. III. Soto-Bianco, Bento. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

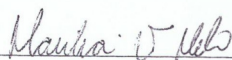
CDD--637.1

## FOLHA DE APROVAÇÃO

### FABIANO AURÉLIO DA SILVA OLIVEIRA

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS.

Aprovada em 21 de Março de 2016, pela banca constituída pelos membros:



Profª. Marília Martins Melo  
Presidente - Orientador



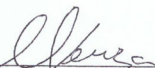
Drª. Andréa Melo Garcia de Oliveira  
Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MAPA



Dr. Juárez Fabiano Alkimin Filho  
Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MAPA



Profª. Kelly Moura Keller  
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Marcelo Resende de Souza  
Escola de Veterinária - UFMG

Dedico este trabalho a meus saudosos pais, Waldir e Neuza, meus maiores exemplos e incentivadores

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por tudo. Por toda a coragem, luz, determinação e força na escolha da direção correta a tomar e por dar-me a oportunidade de conhecer tantas pessoas boas que tem cruzado o meu caminho. Agradeço a Ele todas as vitórias e conquistas alcançadas durante a minha vida.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Marília Martins Melo pela orientação, paciência, disponibilidade e confiança depositada em mim durante a realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira pela co-orientação que em muito contribuiu para a realização deste trabalho e pela disponibilização das amostras de leite.

Prof. Dr. Benito Soto-Blanco pela co-orientação, pelas discussões e sugestões ao longo deste trabalho.

Gostaria de expressar o meu especial agradecimento a minha esposa Geane, mulher forte, sábia, determinada e detentora de grande caráter. Sem a sua força e determinação para conciliar as funções de mãe, esposa e profissional, mantendo-se sempre ao meu lado em todos os momentos, seria impossível a realização deste trabalho.

Aos meus filhos Mariana, Bruno e Maria Eduarda que são os maiores presentes de minha vida, pelo amor, carinho, incentivo, dedicação e compreensão nos momentos de ausência.

À Professora Renata Pereira da UFV pelo fornecimento das amostras da mesorregião da Zona da Mata necessárias à complementação deste trabalho.

À Gilsara Silva, responsável pelo Laboratório de Pesticidas do Lanagro-MG, pela paciência e por permitir o uso das instalações do Laboratório de Pesticidas para a realização deste trabalho.

À amiga Elba Nathália Corrêa Pereira do Laboratório de Pesticidas do Lanagro-MG pela contribuição, paciência e pelas longas e valiosas discussões durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à amiga Marina Guimarães Ferreira do Laboratório de Toxicologia da Escola de Veterinária da UFMG, pela imensa contribuição na realização deste trabalho e aos demais colegas do Laboratório de Toxicologia, Mailson, Ana Flávia, Stephanie e Lilian.

Aos amigos Wagner Dibai e Carolina Marina, irmãos e companheiros de trabalho, pelo constante otimismo e incentivo para a conclusão deste trabalho.

À Coordenação do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Veterinária pelo apoio.

Ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento por permitir a realização de toda a parte experimental deste trabalho nas instalações do Lanagro-MG e aos órgãos de Fomento, FAPEMIG e CNPq pelo auxílio financeiro.

---

## SUMÁRIO

---

RESUMO.....	3
ABSTRACT.....	4
1. INTRODUÇÃO .....	5
2. OBJETIVOS .....	8
2.1 Objetivo Geral .....	8
2.2 Objetivos específicos.....	8
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	9
3.1 Leite.....	9
3.1.2 Mercado do Leite .....	10
3.1.3 Segurança alimentar e agrotóxicos .....	16
3.2 Agrotóxicos - Utilização e Mercado .....	17
3.2.1 Toxicidade dos Agrotóxicos.....	19
3.3 Resíduos de agrotóxicos em leite e segurança alimentar.....	21
3.4 Legislação e Limites Máximos de Resíduos (LMRs) .....	24
3.5 A Análise de resíduos de agrotóxicos em leite .....	25
3.5.1.1 Métodos de clean-up .....	27
3.6.1.1 Seletividade (ou especificidade) .....	32
3.6.1.2 Sensibilidade.....	32
3.6.1.3 Curva analítica, linearidade.....	33
3.6.1.4 Faixa de trabalho.....	34
3.6.1.5 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) .....	35
3.6.1.6 Limites de detecção.....	35
3.6.1.7 Limite de quantificação .....	35
3.6.1.8 Precisão .....	36
3.6.1.9 Exatidão .....	37
3.6.1.10 Robustez.....	37
3.6.1.11 Incerteza de medição.....	37
3.7 Análise estatística multivariada.....	39
4 - MATERIAL E MÉTODOS .....	45
4. 1. Ampliação do escopo analítico do método .....	45
4.1.1 Instrumentação.....	45
4.1.2 Reagentes solventes e materiais.....	46
4.1.3 Condições cromatográficas .....	46
4.1.4 Padrões analíticos dos agrotóxicos estudados .....	48
4.1.4.1 Preparação de pools de trabalho .....	56
4.1.5 Ensaios de fortificação e extração com o Método QuEChERS para avaliação da recuperação .....	56
4.1.6 Preparação dos extratos para a construção da curva analítica .....	57
4.1.7 Determinação da incerteza de medição.....	59
4.2 Amostragem e análise do leite .....	59
4.3 Avaliação de efeito de conservantes às amostras de leite cru sobre os resultados das análises.....	63
4.4 Análise multivariada de correspondência múltipla.....	64

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1 Otimização do sistema de detecção de massas LC-MS/MS para os novos analitos a serem incluídos no escopo do método .....	66
5.2 Extensão de escopo e validação dos novos analitos incluídos no método .....	68
5.2.1 Avaliação da seletividade / especificidade do método .....	68
5.2.2 Avaliação da linearidade e das curvas de calibração.....	70
5.3 Amostras analisadas e resultados encontrados.....	73
5.3.1 Número amostral teórico e amostras efetivamente analisadas .....	73
5.3.2. Avaliação do efeito da adição de conservantes às amostras sobre a análise de resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado.....	75
5.3.3 Análise descritiva dos dados.....	75
5.3.4 Análise multivariada de correspondência múltipla aplicada aos resultados das análises das amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	85
6. CONCLUSÕES.....	104
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	104
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	106
9. ANEXOS.....	118

---

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.</b> Desempenho da indústria alimentícia no Brasil nos quadriênios de 2005 a 2014.....	10
<b>Tabela 2.</b> Ranking dos principais setores da indústria de alimentos no Brasil por quadriênio.	11
<b>Tabela 3.</b> Produção anual de leite dos principais estados brasileiros produtores no ano de 2013 .....	13
<b>Tabela 4.</b> Número de vacas ordenhadas e produtividade média por vaca nos cinco estados maiores produtores de leite do Brasil em 2013 .....	15
<b>Tabela 5.</b> Classificação dos agrotóxicos quanto ao grau de toxicidade de acordo com a sua DL <sub>50</sub> segundo a Organização Mundial de Saúde.....	20
<b>Tabela 6.</b> Principais classes de agrotóxicos em uso no Brasil em função de sua natureza química segundo a ANVISA .....	20
<b>Tabela 7.</b> Compilação dos limites máximos de resíduos de agrotóxicos em leite estabelecidos pelos PNCRCs de 2014 e 2015 .....	25
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros de validação conforme a natureza do ensaio.....	32
<b>Tabela 9.</b> Composição do gradiente de fase móvel empregado na análise cromatográfica de resíduos de agrotóxicos em leite .....	48
<b>Tabela 10.</b> Agrotóxicos que compõem o escopo original do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite por LC-MS/MS, validados por Oliveira (2011), apresentados pela classe, grupo químico, fórmula molecular, classificação toxicológica e LMR legislado .....	49
<b>Tabela 11.</b> Identificação nominal, classe, grupo químico, fórmula molecular, classificação toxicológica e LMR legislado para os 45 agrotóxicos selecionados para os estudos de validação da ampliação de escopo do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite por LC-MS/MS, validados por Oliveira (2011) .....	54
<b>Tabela 12.</b> Volume de pool a ser adicionado às amostras de leite isentas de resíduos de agrotóxicos a serem empregados nos ensaios de recuperação, de acordo com o nível de concentração desejado e a concentração do pool .....	56
<b>Tabela 13.</b> Preparo da curva de calibração matrizada para quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite .....	57
<b>Tabela 14.</b> Tabela de ANOVA para o ajuste pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear dos parâmetros .....	58
<b>Tabela 15.</b> Número de amostras de leite cru refrigerado analisadas, valores de PIB, produção de leite, número de vacas ordenhadas, média de produção por vaca por mesorregião do estado de Minas Gerais. ....	64
<b>Tabela 16.</b> Critérios de categorização das variáveis contínuas: frequência de contaminações, PIB e produção de leite.....	65
<b>Tabela 17.</b> Critérios de categorização das variáveis contínuas: número de vacas ordenhadas e média de produção de leite por vaca .....	65
<b>Tabela 18.</b> Tempos de retenção e condições instrumentais otimizadas DP, CE e CXP para as transições MRM (1ª transição/quantificadora e a 2ª transição/qualificadora) utilizadas no desenvolvimento e validação do método .....	66
<b>Tabela 19.</b> Parâmetros (figuras de mérito) avaliados na validação da extensão de escopo do método validado por Oliveira (2011), critérios de aceitabilidade e resumo dos resultados dos ensaios de validação .....	68
<b>Tabela 20.</b> Recuperações médias (%), coeficientes de variação (CV%), incerteza expandida, limites de detecção e limites de quantificação do método para cada agrotóxico ....	72

<b>Tabela 21.</b> Amostras analisadas por mesorregião e número de amostras que apresentaram pelo menos um tipo de contaminação por resíduos de agrotóxicos.....	74
<b>Tabela 22.</b> Distribuição das detecções de resíduos de agrotóxicos em relação ao número de resíduos detectados por amostra para cada uma das doze mesorregiões de Minas Gerais.....	78
<b>Tabela 23.</b> Classificação toxicológica dos agrotóxicos detectados nas amostras de leite cru refrigerados do estado de Minas Gerais analisadas, de acordo com a classificação ONU.....	80
<b>Tabela 24.</b> Agrotóxicos detectados nas amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, sua classe, LMRS definidos pelos órgão de fiscalização, amplitude de concentrações encontradas e status em relação ao registro na ANVISA .....	81
<b>Tabela 25.</b> Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante em amostras de leite cru refrigerado para as mesorregiões de Noroeste de Minas, Norte de Minas, Jequitinhonha, Vale do Mucuri, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba e Central Mineira	83
<b>Tabela 26.</b> Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante em amostras de leite cru refrigerado para as mesorregiões Metropolitana de BH, Vale do Rio Doce, Oeste de Minas, Sul / Sudoeste de Minas, Campo das Vertentes e Zona da Mata.....	84
<b>Tabela 27.</b> Resultados da categorização para as variáveis frequência de contaminações, PIB, produção de leite, número de vacas ordenhadas e produção média por animal utilizadas na análise de correspondência múltipla para as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais.....	85
<b>Tabela 28.</b> Contribuições para o Chi-quadrado do mapa perceptual da Figura 24.....	88
<b>Tabela 29.</b> Contribuições para o valor de Chi-quadrado convertido em distâncias para o mapa perceptual das variáveis frequência de contaminações e época de coleta das amostras de leite cru refrigerado para a análise de resíduos de agrotóxicos .....	89
<b>Tabela 30.</b> Contribuições para o Chi-quadrado para o mapa perceptual das variáveis frequência de contaminações e época de coleta das amostras das amostras de leite cru refrigerado para a análise de resíduos de agrotóxicos .....	89
<b>Tabela 31.</b> Contribuições para o Chi-quadrado para o mapa perceptual das variáveis PIB e frequência de contaminações.....	93
<b>Tabela 32.</b> Contribuições para o valor de Chi-quadrado convertido em distâncias para o mapa perceptual das variáveis PIB e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	93
<b>Tabela 33.</b> Contribuições ao Chi-quadrado para o mapa perceptual das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais .....	95
<b>Tabela 34.</b> Contribuições para o Chi-quadrado convertido em distâncias para o mapa perceptual das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais .....	97
<b>Tabela 35.</b> Contribuições acumuladas para o Chi-quadrado e inércia das variáveis representados no mapa perceptual das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	98
<b>Tabela 36.</b> Contribuições para o valor total de Chi-quadrado para a análise conjunta das variáveis frequência de contaminação por resíduos de agrotóxicos, produção de leite, número de vacas ordenhadas e média de produção por vaca, para amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	100
<b>Tabela 37.</b> Contribuições para o Chi-quadrado convertido em distâncias para o mapa perceptual das variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	101

<b>Tabela 38.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Norte de Minas.....	118
<b>Tabela 39.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Jequitinhonha.....	118
<b>Tabela 40.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Central Mineira .....	119
<b>Tabela 41.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Vale do Rio Doce .....	120
<b>Tabela 42.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Oeste de Minas.....	121
<b>Tabela 43.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Sul / Sudoeste de Minas .....	121
<b>Tabela 44.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião da Zona da Mata.....	122
<b>Tabela 45.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Campo das Vertentes .....	122
<b>Tabela 46.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Noroeste de Minas .....	123
<b>Tabela 47.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Vale do Mucuri .....	123
<b>Tabela 48.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte.....	124
<b>Tabela 49.</b> Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba.....	125

---

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.</b> Projeções do aumento do consumo mundial de lácteos industrializados (leite em pó, queijo e manteiga) para 2024 .....	11
<b>Figura 2.</b> Produção anual de leite e rebanho leiteiro do Brasil em números, no período de 1996 a 2013.....	12
<b>Figura 3.</b> Curva de crescimento da produção anual de leite no Brasil, em milhões de litros, por regiões entre 2003 e 2013 .....	13
<b>Figura 4.</b> Valores das exportações do setor lácteo em Minas Gerais entre 2005 e 2014 em milhões de dólares.....	14
<b>Figura 5.</b> Diagrama esquemático com a marcha analítica do método de Luke para extração de resíduos de agrotóxicos.....	28
<b>Figura 6.</b> Tabela de contingência típica aplicada à análise de correspondência.....	41
<b>Figura 7.</b> Matriz de correspondência.....	42
<b>Figura 8.</b> Diagrama de causa e efeito com levantamento das principais fontes de incerteza (a), detalhamento das fontes de incerteza presentes na diluição dos padrões (b). .....	60
<b>Figura 9.</b> Mesorregiões de Minas Gerais de acordo com critérios do IBGE .....	61
<b>Figura 10.</b> Marcha analítica do método de extração QuEChERS modificado e validado por Oliveira (2011), aplicada as amostras de leite cru nos estudos de validação e de frequência de contaminação do leite, seguido pela análise instrumental no sistema LC-MS/MS .....	62
<b>Figura 11.</b> Planejamento e execução do ensaio para avaliação dos efeitos dos conservantes bronopol e azidiol na análise de resíduos de agrotóxicos em leite empregando o método QuEChERS de extração .....	63
<b>Figura 12.</b> Cromatogramas das transições de quantificação e qualificação do analito ametrina, nos brancos e nível $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ da curva de calibração obtidos dos ensaios de validação da ampliação do escopo do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite .....	69
<b>Figura 13.</b> Cromatogramas das transições de quantificação e qualificação do analito nuarimol, nos brancos e nível $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ da curva de calibração obtidos dos ensaios de validação da ampliação do escopo do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite .....	69
<b>Figura 14.</b> Imagem em print screen do teste de qualidade do ajuste da regressão realizado pela planilha de validação, para o agrotóxico ametrina, nos ensaios de validação do método de determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite.....	70
<b>Figura 15.</b> Imagem em print screen do teste de qualidade do ajuste da regressão realizado pela planilha de validação, para o agrotóxico nuarimol, nos ensaios de validação do método de determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite.....	70
<b>Figura 16.</b> Gráfico do ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados ponderado por $1/x$ para o agrotóxico ametrina, obtido nos ensaios de validação do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite .....	71
<b>Figura 17.</b> Gráfico do ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários para o agrotóxico nuarimol, obtido nos ensaios de validação do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite .....	72
<b>Figura 18.</b> Número de amostras contaminadas e violadas em função do número de resíduos de agrotóxicos encontrados por amostra de leite refrigerado no estado de Minas Gerais.....	75

<b>Figura 19.</b> Panorama do número de detecções individuais de resíduos de agrotóxicos e número de amostras com resíduos acima do LMR em relação ao número total de amostras de leite cru refrigerado analisadas por mesorregião do estado de Minas Gerais .....	76
<b>Figura 20.</b> Participações relativas das diferentes mesorregiões no total de detecções individuais de agrotóxicos em amostras de leite refrigeradas do estado de Minas Gerais.....	78
<b>Figura 21.</b> Frequências relativas de detecções individuais de resíduos de agrotóxicos em leite refrigerado nas diferentes mesorregiões de Minas Gerais em relação ao número de amostras analisadas .....	79
<b>Figura 22.</b> Porcentagem de amostras de leite que apresentaram violação do limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação em relação ao número de amostras analisadas por mesorregião de Minas Gerais.....	79
<b>Figura 23.</b> Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos encontrados em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, por agrotóxico detectado no estudo.....	82
<b>Figura 24</b> Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido para a primeira abordagem na análise dos resultados experimentais pela técnica de análise de correspondência múltipla, incluindo todas as variáveis da Tabela 27 e a época de coleta das amostras de leite .....	87
<b>Figura 25.</b> Mapa perceptual para duas dimensões obtido da análise de similaridade dos resultados experimentais para a análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, para as variáveis época de coleta das amostras e frequência de contaminações.....	90
<b>Figura 26.</b> Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis PIB e frequência de contaminações das amostras de leite cru refrigerado oriundas das doze mesorregiões do estado de Minas Gerais .....	92
<b>Figura 27.</b> Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais .....	94
<b>Figura 28.</b> Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, média de produção por vaca e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais.....	99
<b>Figura 29.</b> Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em para amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais .....	103



---

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.  
CE - energia de colisão (*Collision Energy*).  
CI - ionização química (*Chemical Ionization*)  
CXP - potencial de saída da célula de colisão (*Collision Cell Exit Potential*).  
DP - potencial de declusterização (*Declustering Potential*).  
ESI - ionização por *eletrospray* (*Eletrospray Ionization*).  
FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization*).  
FDA – *Food and Drug Administration*, agência regulatória dos Estados Unidos.  
FIA – análise por injeção de fluxo (*Flow Injection Analysis*).  
GC - Cromatografia Gasosa (*Gas Chromatography*).  
HPLC - cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*).  
INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.  
ISO - Organização Internacional para Padronização (*International Organization for Standardization*).  
IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*).  
Lanagro-MG – Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais  
LC - Cromatografia Líquida (*Liquid Chromatography*).  
LD – Limite de detecção.  
LLE - Extração Líquido-Líquido (*Liquid-Liquid Extraction*).  
LMR - Limites Máximos de Resíduos.  
LQ – Limite de quantificação.  
MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.  
MRM - modo de monitoramento de reações múltiplas (*Multiple Reaction Monitoring*).  
MS - Espectrometria de Massas (*Mass Spectrometry*).  
MSPD - Dispersão da Matriz em Fase Sólida (*Matrix Solid Phase Dispersion*).  
NPD - Detector de Nitrogênio e Fósforo (*Phosphorus Filter and Nitrogen-Phosphorus Detection*).  
OMC - Organização Mundial do Comércio.  
PNCRC – Plano Nacional de Resíduos e Contaminantes do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil.  
PTFE – Politetraflúoretileno (Teflon)  
SBSE - Extração Sortiva com Barra Magnética (*Stir Bar Sorptive Extraction*).  
SFC - Cromatografia por fluido supercrítico (*Super Critic Fluid Chromatography*).  
SFE - Extração com Fluido Supercrítico (*Super Critic Fluid Extraction*).  
SISAN - Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional.  
SLE - Extração Sólido-Líquido (*Solid-Liquid Extraction*).

SPE - Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*).

SPME - Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Micro-Extraction*).

UPLC - cromatografia líquida de ultra eficiência (*Ultra Performance Liquid Chromatography*).

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

## RESUMO

A bovinocultura de leite é uma das mais importantes e tradicionais atividades econômicas em nosso país, destacando-se o estado de Minas Gerais como o maior produtor de leite do Brasil. Atualmente, uma das grandes carências do setor é a falta de informações sobre a presença de resíduos de agrotóxicos em leite produzido em Minas Gerais. Devido à complexidade desta matriz, às baixas concentrações de agrotóxicos presentes no leite, e à possibilidade dos agrotóxicos utilizados no gado produzirem resíduos no leite e causarem danos à saúde pública, há grande necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos eficientes e confiáveis para a determinação e quantificação destes resíduos. Neste trabalho foi validada a ampliação do escopo de um método multirresíduos para determinação e quantificação de agrotóxicos em leite cru refrigerado produzido no estado de Minas Gerais, empregando o método de extração QuEChERS modificado com detecção por LC-MS/MS. O método validado foi utilizado para pesquisar resíduos de agrotóxicos em leite produzido nas 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais. Foram analisadas 827 amostras de leite cru refrigerado quanto à presença de resíduos de agrotóxicos. Das amostras analisadas, 347 apresentaram detecção de 22 agrotóxicos diferentes. E destas, 218 amostras apresentaram resíduos de agrotóxicos acima dos limites permitidos pela legislação brasileira. A aplicação da análise multivariada de correspondência múltipla, aos resultados das análises, permitiu estabelecer a correlação entre as possíveis causas das contaminações - PIB, produção de leite, média de produção por animal, número de vacas ordenhadas, época de coleta das amostras e a frequência de contaminações por mesorregião. Foi identificada que, a maior parte das contaminações, ocorreu entre a primavera e verão em mesorregiões de PIB e produção de leite elevados. Além de o aspecto toxicológico, o trabalho mostrou grande relevância do ponto de vista da segurança alimentar indicando que ações urgentes devem ser tomadas para garantir a saúde dos consumidores em Minas Gerais.

Palavras-chave: leite, agrotóxicos, multirresíduos, LC-MS/MS, análise de correspondência múltipla, segurança alimentar.

## ABSTRACT

The dairy cattle is one of the most important and traditional economic activities in our country, especially in Minas Gerais State, which is the largest milk producer in Brazil. Currently, one of the great shortcomings of the sector is the lack of information concerning the presence of pesticide residues in milk produced in Minas Gerais. Due to the complexity of the milk, the low concentrations of pesticides in milk, and the possibility of pesticides used in cattle produce residues in milk and cause harm to public health, there is great need to develop efficient and reliable analytical methods for the determination and quantification these wastes. This work validated the expansion of the range of a multiresidues method for determination and quantification of pesticides in refrigerated raw milk produced in the state of Minas Gerais, using the QuEChERS extraction method modified for detection by LC-MS / MS. The validated method was applied to search pesticide for residues in milk produced in 12 regions in Minas Gerais State. It was analyzed a total of 827 samples of refrigerated raw milk. Among all samples analyzed, 347 had 22 different pesticides detected. Moreover, of these, 218 samples had pesticide residues above the limits allowed by Brazilian law. The application of multivariate analysis of multiple correspondence in the results revealed a correlation between the possible causes of contamination: GNP, average milk production per animal, number of cows milked, the season which sample was collected and the frequency of contamination by region. It was identified that the most contamination occurred between the spring and summer in region which GNP and milk production are both elevated. Besides the toxicological aspect, this work showed the great importance of food safety indicating that urgent actions must be taken to ensure the health of the consumers in Minas Gerais.

Keywords: milk, pesticides, multiresidues, LC-MS / MS, multiple correspondence analysis, food safety.

## 1. INTRODUÇÃO

A dinâmica do setor leiteiro na última década tem apontado para o incremento da oferta de leite, decorrente de expressivas taxas de crescimento na produção interna. A produção de leite no Brasil passou de 23,47 em 2004 para 35,17 bilhões de litros em 2014 (IBGE, 2014), com um aumento de 49,9%. Além do expressivo potencial produtivo do país (grandes áreas, mão-de-obra e clima), há ainda um crescente mercado interno de consumo. Contudo, a produção leiteira no Brasil ainda está muito abaixo do que é necessário (38 bilhões de toneladas/ano), não sendo suficiente para atender as quantidades de consumo interno, recomendadas pelo Ministério da Saúde (IBGE, 2014).

Minas Gerais é o maior produtor de leite do Brasil embora, apesar da significativa importância socioeconômica do setor leiteiro para o estado, a atividade ainda requeira mudanças significativas para alcançar o perfil de negócio efetivamente competitivo e sustentável. A qualidade do leite está relacionada às condições sanitárias do rebanho, manejo nutricional e de ordenha, os quais devem visar às necessidades dos consumidores, às exigências regulamentares e o direcionamento do mercado para a qualidade (Forsythe, 2002).

Nos últimos anos, o Brasil apresentou um significativo desenvolvimento do agronegócio internacional, consolidando sua posição como um dos maiores produtores e exportadores de alimentos para mais de 200 países (Brasil, 2016). O alcance desses resultados só foi possível, dentre outras coisas, pelo estabelecimento de uma relação de confiança e credibilidade entre consumidores e produtores, importadores e exportadores, assim como entre seus respectivos governos, quanto à qualidade e inocuidade dos produtos comercializados. Os resíduos e contaminantes são substâncias que podem estar presentes em determinados gêneros alimentícios, podendo originar-se de contaminação ambiental (dioxinas), práticas de cultivo (micotoxinas e agrotóxicos), uso de medicamentos veterinários na pecuária ou formada durante os processos de produção (acrilamida, 3-MCPD), dentre outros (Meijer e Kan 2007). Tais contaminantes, muitas vezes “silenciosos”, por não apresentarem efeitos ou sintomas de contaminação a curto prazo, acumulando-se no organismo e produzindo efeito danosos cumulativos com o tempo, estão cada vez mais evidentes no dia-a-dia dos consumidores, em função da crescente e vertiginosa escala global de produção, comércio, distribuição e consumo de alimentos. Quando presentes acima de determinados níveis, essas substâncias podem representar uma ameaça para a saúde humana e dos animais, pois muitos destes compostos apresentam elevado potencial carcinogênico, elevada toxicidade ao sistema nervoso e, podem inclusive, afetar o sistema reprodutor dos seres vivos (PPDB, 2016).

Agrotóxicos, em especial organofosforados e carbamatos são bastante utilizados no controle de pragas em plantações. Quando aplicados de forma inadequada na lavoura, essas substâncias podem contaminar cursos de água, além de gerarem resíduos em produtos agrícolas. Tanto as fontes de água como esses produtos agrícolas podem ser destinados ao consumo dos animais, e por meio de seu metabolismo, essas substâncias se depositam na gordura e músculos, podendo ser encontrados também no leite (Rothwell et al., 2001). Outro fato importante é o parasitismo animal, considerado o maior flagelo que acomete os rebanhos mundiais, situação que leva à utilização de diferentes classes de agrotóxicos, utilizados diretamente nos animais para controle de endo e ectoparasitos (Spinosa et al., 2006).

O cenário mundial atual da produção de alimentos revela o grande interesse da sociedade quanto à inocuidade do produto final a ser consumido. Diversos acontecimentos envolvendo a contaminação de alimentos há muito têm despertado a atenção do consumidor, especialmente no que concerne aos resíduos de agrotóxicos (Paschoal et al., 2008). Este quadro tem forçado os países a estabelecerem normas legislativas rígidas que garantam o consumo de alimentos seguros por parte da população.

Para serem capazes de enfrentar com eficiência os desafios relacionados aos perigos emergentes (novos perigos ainda não totalmente conhecidos e para os quais não há prévio preparo) e aos já existentes, os governos têm se preparado, por meio da criação de organizações (*European Food Safety Authority* - EFSA; *Food Standards Agency* - FSA; *Center for Food Safety and Applied Nutrition* - CFSAN; *Food and Drug Administration* - FDA), financiamento de projetos (*Contaminants in Food and Feed: Inexpensive detection for Control of Exposure* - CONFIDENCE; *An EU-funded Network of Excellence working towards the harmonization of analytical methods for monitoring food quality and safety in the food supply chain* - MoniQA; *Dioxins in Food and Feed Reference Methods and New Certified Reference Materials* - DIFFERENCE), ou iniciativas como a Thermo Scientific, na implantação do *The Thermo Fisher Scientific Food Safety Response Center* – FSRC, objetivando o desenvolvimento de métodos e processos para responder às crises e emergências.

Um componente essencial do preparo para o confronto de emergências é a capacidade analítica instalada no país, traduzida principalmente pela disponibilidade de equipamentos e infraestrutura adequadas, de equipe com alto desempenho, capacitada e treinada para responder rapidamente a novas demandas, de métodos analíticos de triagem e confirmatórios, de sistemas de comunicação e gestão eficientes e de acesso à tecnologias de informação.

Os laboratórios que realizam as análises em alimentos precisam ter capacidade técnica comprovada para tal compromisso, a qual é garantida pelas normas de credenciamento estabelecidas por órgãos responsáveis, que no Brasil são representados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), os quais disponibilizam guias para procedimentos de validação de métodos analíticos. Há ainda órgãos internacionais, como a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), Organização Internacional para Padronização (ISO) e a Conferência Internacional em Harmonização (ICH), que também estabelecem procedimentos de validação como critério fundamental no credenciamento de laboratórios.

Métodos analíticos têm sido desenvolvidos para a determinação de resíduos de contaminantes em alimentos como ferramenta principal para assegurar que os produtos estejam enquadrados nas determinações legais. Para que estes métodos garantam a disponibilidade de um alimento seguro, é preciso que sejam normalizados e cumpram requisitos que garantam bons resultados. Com o objetivo de assegurar a confiabilidade dos resultados, são delineados procedimentos de validação do processo analítico empregado, como garantia da qualidade das medições químicas, por meio da comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade.

As nações parceiras comerciais do Brasil vêm se tornando cada vez mais restritivas em relação à presença de resíduos destas substâncias nos alimentos. Assim sendo, é indispensável para o Brasil garantir a qualidade do leite produzido no país e a seguridade dos consumidores internos

e externos, desenvolver programas eficientes de vigilância quanto à presença de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários nos alimentos.

No contexto do planejamento, gestão e produção de informações, a estatística tem papel fundamental no suporte à decisão estratégica, no campo da Segurança Alimentar. A estatística mostra-se, então, cada vez mais, como uma poderosa ferramenta para a análise e avaliação de dados, em várias áreas do conhecimento e a aplicação desta ferramenta é indispensável para garantir a credibilidade das informações e reduzir esforços na produção das mesmas.

Diversas crises relativas à presença de resíduos e contaminantes em alimentos foram, em anos recentes, destaque nos noticiários mundiais e motivo de preocupação de vários países, como, por exemplo, os episódios de detecção de melamina em alimentos para bebês (Huang et al., 2010), a identificação do agrotóxico não registrado, isofenós metil, em morangos e outros eventos de contaminação de alimentos por agrotóxicos (EFSA, 2015; FAO, 2014; FAO, 2015). Como nenhum desses compostos foi alvejado como contaminantes potenciais em análises convencionais, uma investigação mais aprofundada das amostras de alimentos não foi realizada até que os consumidores adoeceram. Isso institui a necessidade de uma abordagem inovadora para o desenvolvimento de métodos de análise (Hernández et al.; 2005; Sturchio et al. 2006; Agyei et al., 2008; Landgraf et al., 2010, Hernández et al., 2011).

O estado de Minas Gerais carece de informações seguras sobre contaminação do leite por resíduos de agrotóxicos e, também, demanda a produção e compartilhamento de dados e informações de maneira dinâmica, com fácil acesso para tornar rápido o gerenciamento e facilitar a predição de alterações nos fatores que influenciam o mercado e a qualidade de lácteos (Souza Filho et al., 2008).

No presente estudo aplicaram-se procedimentos estatísticos descritivos e analíticos. Do ponto de vista descritivo foram empregadas ferramentas de análise multivariada estabelecendo-se o grau de correlação entre as diferentes variáveis elencadas como potenciais influentes e/ou determinantes na presença de resíduos de agrotóxicos em leite. Com a visualização do problema, identificaram-se as microrregiões e as mesorregiões de Minas Gerais com maior ocorrência de contaminantes, além da determinação dos contaminantes mais encontrados e em que níveis estes ocorrem.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Diante deste contexto, o objetivo deste trabalho é ampliar o escopo do método multirresíduos para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite, validado internamente no Laboratório de Pesticidas do Lanagro-MG, e aplicá-lo na análise de amostras de leite cru refrigerado produzido nas doze diferentes mesorregiões do estado de Minas Gerais, realizando a pesquisa de resíduos de agrotóxicos empregando como técnica instrumental a cromatografia de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial, atendendo as normas de qualidade nacionais e internacionais (ABNT, 2005; Brasil, 2011; SANCO, 2010).

### 2.2 Objetivos específicos

- Ampliar o escopo do método de detecção, determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite por meio da técnica LC-MS/MS, já validado, segundo protocolos nacionais e internacionais, aumentando a capacidade analítica do laboratório.
- Avaliar o impacto dos aditivos azidiol e bronopol na análise de resíduos de agrotóxicos em leite com extração pelo método QuEChERS modificado e detecção/quantificação por LC-MS/MS.
- Determinar e quantificar a presença de resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado produzido no estado de Minas Gerais, estabelecendo a frequência de contaminação do leite por estas substâncias e regiões produtoras de leite e, identificar as possíveis causas desta contaminação.
- Estudo da influência de fatores socio-econômicos, políticos, geográficos e climáticos sobre a detecção de resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado produzido no estado de Minas Gerais por LC-MS/MS.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Leite

##### 3.1.1 Conceitos e importância nutricional

O leite, produto de secreção da glândula mamária é um fluido viscoso constituído de uma fase líquida e partículas em suspensão, formando uma emulsão natural, estável em condições normais de temperatura ou de refrigeração. Possui elevado valor nutritivo, sendo o único alimento que satisfaz às necessidades nutricionais e metabólicas do recém-nascido de cada espécie (Sgarbieri, 2004; Voltolini et al., 2010).

O MAPA, por meio de seu Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, de março de 1952, artigo 457, dá a seguinte definição para leite: “Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas”. O mesmo regulamento dispõe sobre a composição e tipos de leite.

Os macrocomponentes do leite bovino são: água (87,30%), lactose (4,90%), gordura (3,80%), proteínas (3,30%) e minerais (0,72%) (BRITO et al., 2016). As partículas suspensas na fase líquida do leite são glóbulos de gordura e micelas de caseína. O leite bovino é comercializado em sua forma líquida, pasteurizado ou esterilizado, integral, semi-desnatado ou desnatado. Essas mesmas apresentações são também comercializadas desidratadas, na forma de leite em pó (Sgarbieri, 2004; Brito et al., 2016).

A proteína contida no leite é classificada como de alto valor biológico, na medida em que contém todos os aminoácidos essenciais. Um copo de leite contém aproximadamente 16% da quantidade diária de proteína necessária em uma dieta padrão de 2000 calorias (Timerman, 2010). Já as proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais a tal ponto que, alguns pesquisadores classificaram as mesmas como proteínas de metabolização rápida chamadas de *fast metabolizing proteins*, muito adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (Sgarbieri, 2004; Voltolini et al., 2010; Brito et al., 2016).

O leite e seus derivados, principalmente queijos e iogurtes, são um dos cinco grupos alimentares incluídos na Pirâmide Alimentar elaborada pelas autoridades sanitárias dos Estados Unidos. Nessa Pirâmide preconiza-se a ingestão de duas ou três porções de um de seus constituintes por dia. Essa mesma sugestão foi incorporada pela Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição (CGPAN) do Ministério da Saúde que, da mesma forma, recomenda a ingestão de três porções de produtos lácteos por dia (Brasil, 2006a). O leite é considerado um alimento nobre por apresentar elevada concentração de cálcio, nutriente essencial para a formação e manutenção dos ossos, e que contém boa quantidade de fósforo e manganês, indispensáveis ao aproveitamento das gorduras e ao funcionamento do cérebro. As proteínas são nutricionalmente completas, propiciando a formação e manutenção dos tecidos. O leite contém ainda vitamina A, B1, B2 e minerais (Voltolini et al., 2010; Wattiaux, 2014; Brito et al., 2016).

Do ponto de vista de saúde pública, o leite ocupa lugar de destaque na nutrição humana, pois se constitui em um alimento essencial para todas as idades, principalmente recém-nascidos, o mesmo se aplicando para todos os derivados lácteos (Oliveira et al., 1999). No entanto, a sua composição química pode ser alterada por uma série de fatores, tais como raça, idade e alimentação do animal, estágio de lactação, variações climáticas, ou ainda infecções do úbere da vaca (Nascimento et al., 2001).

### 3.1.2 Mercado do Leite

Segundo Carvalho (2010), a indústria de alimentos sempre desempenhou um importante papel na economia brasileira representando uma das mais tradicionais estruturas produtivas existentes no País. Com um faturamento de R\$ 291,6 bilhões em 2009, essa indústria contribuiu com quase 10% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil (Tabela 1).

Apesar de a maior parte do PIB da indústria de alimentos ser resultado do mercado doméstico, o setor externo vem tendo participação crescente na receita das empresas. Isso pode ser observado no desempenho da balança comercial de alimentos, que, após registrar um saldo de R\$ 20,9 bilhões em 2001, atingiu R\$ 101,6 bilhões em 2014. Com isso, as exportações da indústria de alimentos representam cerca de 20% das exportações totais brasileiras (Carvalho, 2010; ABIA, 2014).

**Tabela 1.** Desempenho da indústria alimentícia no Brasil nos quadriênios de 2005 a 2014

Valores em R\$ bilhões	2001	2005	2009	2014
<b>Faturamento</b>	117,9	195,7	291,8	596,5
<b>Participação no PIB</b>	9,1 %	9,1 %	9,3 %	9,5 %
<b>Importações</b>	2,9	3,6	6,3	15,9
<b>Exportações</b>	23,8	48,9	61,6	96,5
<b>Saldo Comercial</b>	20,9	45,3	55,3	101,6

Fonte: Carvalho (2010), ABIA (2014)

Leite e produtos lácteos são importantes *commodities* agrícolas, tanto pelo volume de produção quanto pelo seu alto valor nutritivo (Blasco et al., 2009). Dentre os diversos setores da indústria alimentícia, o setor de laticínios destaca-se entre os quatro principais (Tabela 2). A liderança, neste caso, fica com o setor de derivados de carne. Estima-se que a participação dos laticínios no faturamento total da indústria de alimentos seja de aproximadamente 13% (ABIA, 2014).

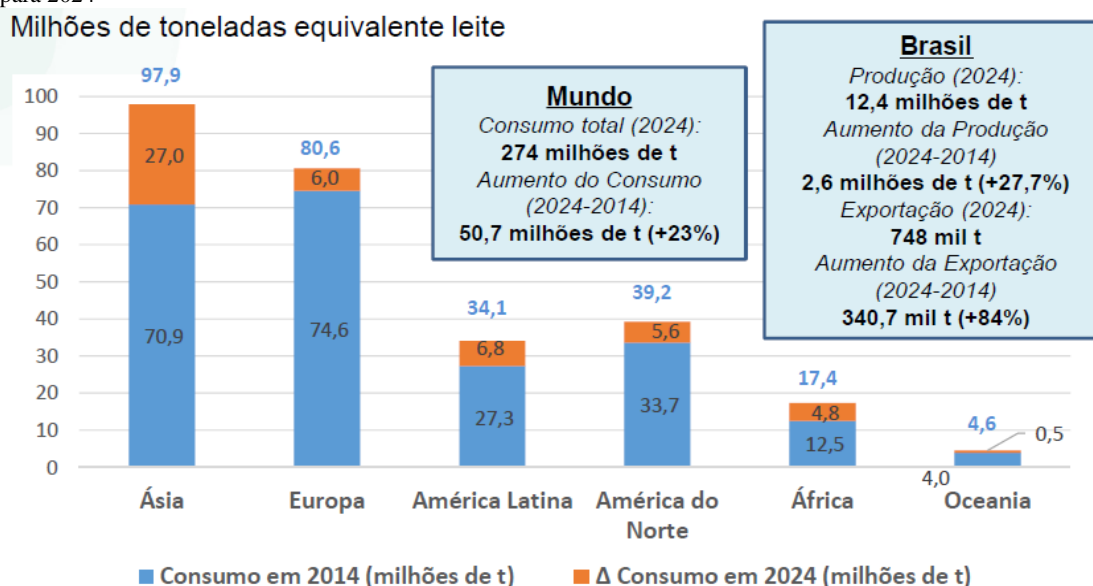
**Tabela 2.** Ranking dos principais setores da indústria de alimentos no Brasil por quadriênio

Produto	2001	2005	2009	2014
Derivados de carne	1º	1º	1º	1º
Beneficiamento de café, chá e cereais	3º	2º	2º	3º
Açúcares	6º	5º	3º	5º
Laticínios	2º	4º	4º	2º
Óleos e gorduras	4º	3º	5º	4º
Derivados do trigo	5º	6º	6º	6º

Fonte: ABIA (2014)

Além de possuir elevado valor nutritivo, o leite está entre os produtos mais importantes na agropecuária brasileira por sua participação na geração de renda e empregos, principalmente no meio rural. A FAO, juntamente com o organismo de saúde dos Estados Unidos e o MAPA projetaram para 2024, um aumento no consumo de lácteos superior a 23% em relação à demanda de 2014 (Figura 1). No mesmo estudo tem-se a projeção do aumento da produção de lácteos no Brasil de cerca de 28% em relação a 2014, com significativa elevação no volume de exportações destes produtos, superior a 84%.

**Figura 1.** Projeções do aumento do consumo mundial de lácteos industrializados (leite em pó, queijo e manteiga) para 2024



Fonte: Brasil (2016)

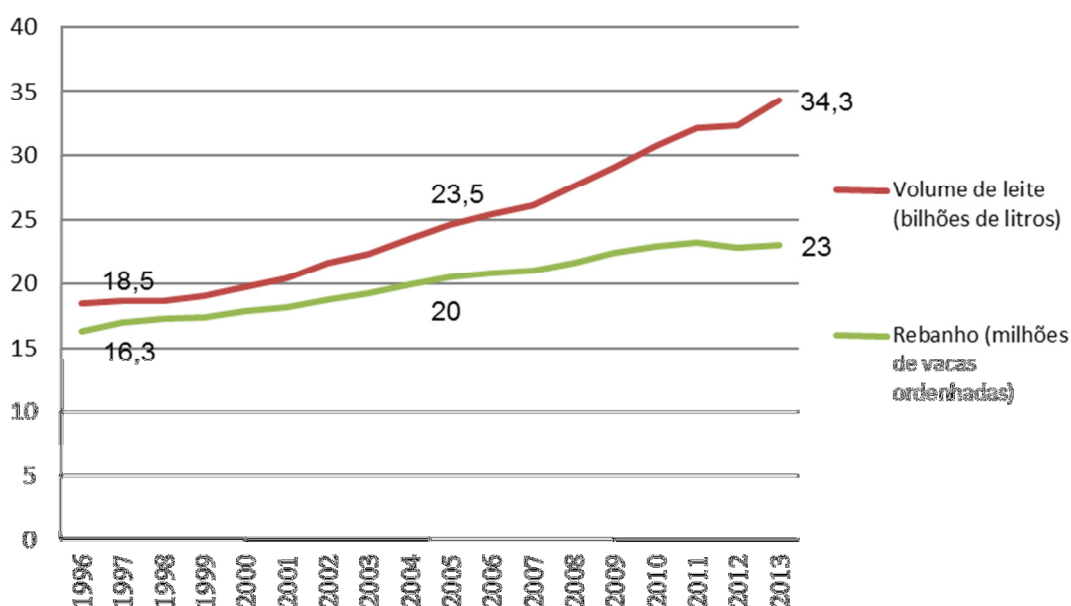
No ranking dos países produtores de leite, o Brasil é o terceiro maior produtor do mundo com uma produção de 37,4 milhões de toneladas em 2014. Ficando atrás dos Estados Unidos (93,5 milhões de toneladas) e da Índia (60,5 milhões de toneladas), ultrapassando a China que teve uma produção de 37,3 milhões de toneladas naquele ano (CONAB, 2016).

Segundo Silva et al. (2012), os dois últimos censos agropecuários realizados no Brasil no período entre 1996 e 2006, revelaram um significativo aumento nos processos de produção pecuária, destacando-se as exportações de carne bovina (de 46.656 t – ou 1,2% da produção –

para mais de um milhão de toneladas – ou 17,8 % da produção) e o aumento da demanda interna de leite. Paralelamente, ocorreu o aumento da produção e no aporte de investimentos em tecnologia para a produção de leite e derivados, que entre 1996 e 2014 cresceu de aproximadamente 18 bilhões para mais de 32 bilhões de litros/ano (EMBRAPA, 2016).

A produção de leite bovino no Brasil cresceu a uma taxa relativamente constante desde 1996 até 2005. A partir deste ano, observou um expressivo aumento na taxa de crescimento da produção embora a taxa de crescimento do rebanho leiteiro tenha permanecido constante (Figura 2). Possivelmente este significativo aumento seja decorrente dos investimentos em tecnologia e melhoramento do rebanho.

**Figura 2.** Produção anual de leite e rebanho leiteiro do Brasil em números, no período de 1996 a 2013.



Fonte: EMBRAPA (2016)

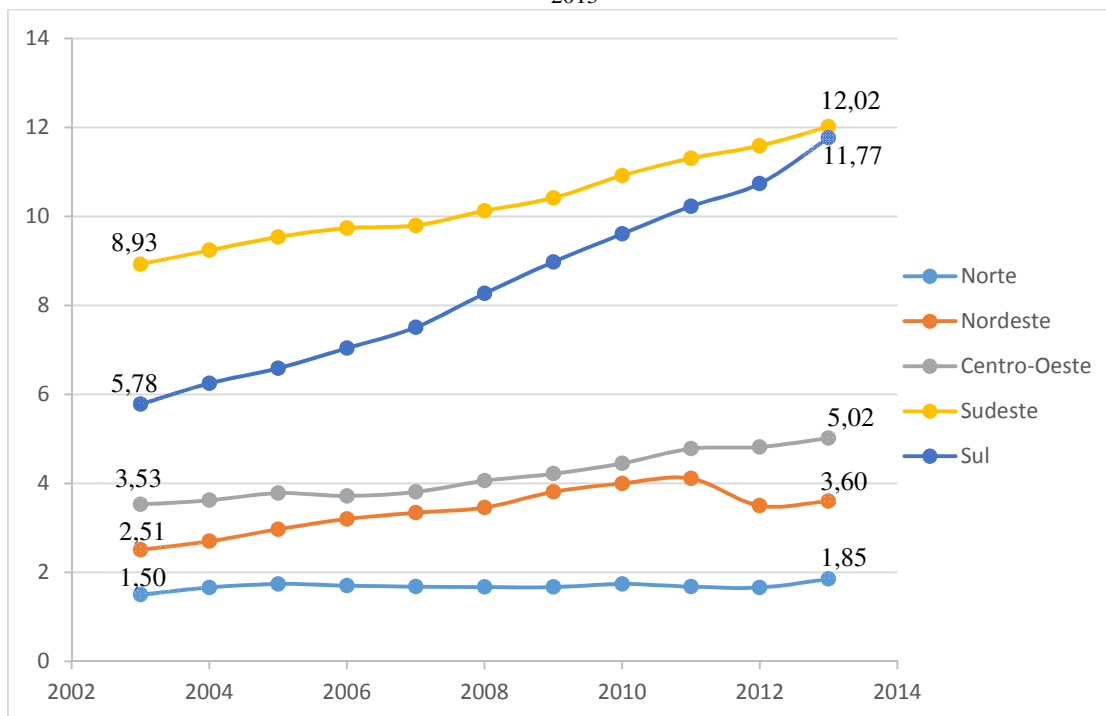
De acordo com projeções do MAPA para o agronegócio, a produção de leite deverá crescer a uma taxa anual entre 2,4% e 3,3%. Isto equivale a um aumento na produção de 37,2 bilhões de litros em 2015 para, segundo projeções, uma produção da ordem de 47,5 e 52,7 bilhões de litros em 2025 (Brasil, 2015).

Paralelamente, estima-se que aumento do consumo deverá acompanhar o aumento na produção. As projeções sugerem que o consumo interno de leite crescerá para cerca de 2,4% ao ano durante o período (Brasil, 2015).

Há décadas, a maior parte do leite produzido no país é oriunda da Região Sudeste. Entretanto, a região, que era responsável por 40% da produção nacional, em 2003, vem perdendo participação relativa e, em 2013, passou a responder por, 35% do leite brasileiro. As regiões Nordeste, Centro-Oeste e Norte mantiveram suas contribuições estáveis, em torno de 11, 15 e 5% da produção, respectivamente. A região Sul apresentou aumento significativo de sua participação na produção total de leite do Brasil, saltando de 25,9% para 34,3 % da produção de leite no país,

no mesmo período (EMBRAPA, 2016). A Figura 3 mostra a variação da produção de leite no Brasil por região no período.

**Figura 3.** Curva de crescimento da produção anual de leite no Brasil, em milhões de litros, por regiões entre 2003 e 2013



Fonte: EMBRAPA (2016)

Neste contexto, o estado de Minas Gerais se destaca como o maior produtor nacional de leite, com 9,3 bilhões de litros/ano (Tabela 3), com uma produção maior que o dobro do Rio Grande do Sul. Sozinho, Minas Gerais responde por quase um terço de toda a produção nacional.

**Tabela 3.** Produção anual de leite dos principais estados brasileiros produtores no ano de 2013

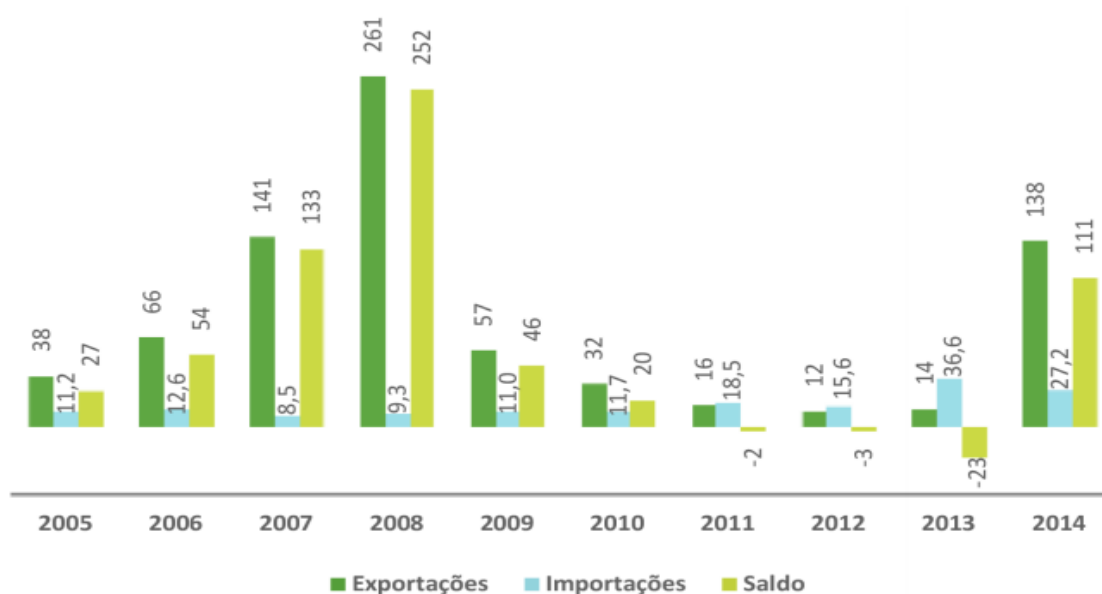
Estado	Produção anual (bilhões de litros)	% da produção nacional
Minas Gerais	9,3	27,2
Rio Grande do Sul	4,5	13,2
Paraná	4,3	12,7
Goiás	3,7	11,0
Santa Catarina	2,9	8,5

Fonte: EMBRAPA, (2016)

O Agronegócio mineiro gerou, em 2015, um PIB de 164,9 bilhões de reais para a economia do estado, representando 13,1 % do PIB do agronegócio brasileiro. Deste montante, o setor lácteo contribuiu com 18,3 bilhões de reais, o que equivale a 11,1 % de toda a riqueza produzida em Minas Gerais em 2015 (CEPEA, 2016).

No agronegócio, a participação do setor lácteo é ainda mais significativa, representando 20,7% do PIB do setor para o mesmo ano (CEPEA, 2016). Destaca-se a recuperação das exportações de lácteos que, embora tenham sofrido um decréscimo nos valores comercializados a partir de 2008, período que coincide com o pico da crise econômica mundial, o setor mostrou sinais de recuperação a partir de 2012 e vem crescendo desde então, com um aumento nos valores comercializados de 909,7% em relação a 2013 conforme mostra a Figura 4.

**Figura 4.** Valores das exportações do setor lácteo em Minas Gerais entre 2005 e 2014 em milhões de dólares



Fonte: SEAPA (2015)

Diante do exposto, é inquestionável a aptidão da atividade leiteira no estado de Minas Gerais. Todavia, embora seja o maior produtor nacional e possua o maior rebanho leiteiro, em relação à produtividade, Minas Gerais ocupa apenas o terceiro lugar, ficando ligeiramente acima da média nacional (Tabela 4).

**Tabela 4.** Número de vacas ordenhadas e produtividade média por vaca nos cinco estados maiores produtores de leite do Brasil em 2013

Estado	Nº de vacas ordenhadas (milhões de animais)	Produtividade (L de leite/vaca/ano)
Minas Gerais	5850737	1591,1
Rio Grande do Sul	1554909	2899,5
Paraná	1715686	2534,0
Goiás	2723594	1386,7
Santa Catarina	1132664	2576,5
Brasil	22954537	1492,3

Fonte: EMBRAPA (2016)

Tanto no Brasil quanto em Minas Gerais, a produção leiteira apresenta grande heterogeneidade entre os produtores. Dentro de uma mesma microrregião, encontra-se desde grandes produtores, com elevado grau de tecnificação e alta produtividade até pequenos produtores que ainda realizam a ordenha manual (Carvalho e Oliveira, 2006). Mesmo sendo um estado com largo histórico de produção leiteira e a atividade tenha grande importância para a composição da renda familiar e para a própria economia e cultura regional, predomina o modelo tradicional de produção, baseado em pequenos produtores familiares. Tipicamente, estes produtores possuem pequenas propriedades familiares e, frequentemente dividem esta atividade com a agricultura para complementação da renda. Assim, a área de pastagem é reduzida e os cuidados com a qualidade do pasto são deficitários. Desse modo, o rebanho se estrutura em um número reduzido de animais, em geral menor que 30, composto basicamente de vacas mestiças para a produção de leite e de bezerras que são vendidos, à desmama, para os pecuaristas de corte. A EMATER no sítio do programa Minas Leite dá a seguinte descrição para a atividade em Minas Gerais: “Trata-se de uma atividade pouco tecnificada apresentando rebanhos com baixo potencial genético, áreas de pastagens com graus variáveis de degradação, deficiência na alimentação suplementar do rebanho no período da seca, manejo sanitário e reprodutivo deficiente, ausência de práticas voltadas à obtenção higiênica do leite, agravados pela baixíssima visão e adoção de instrumentos de gestão da atividade, resultando, de forma geral, em baixo desempenho zootécnico e econômico da atividade, colocando em risco a sustentabilidade da atividade, da propriedade e da própria família” (EMATER-MG, 2016).

Então, fica claro que, o aumento na produtividade passa necessariamente por dois pilares: o melhoramento genético do rebanho e a capacitação técnico-gerencial dos produtores. Embora existam programas de melhoramento como aqueles oferecidos pela EMBRAPA Gado de Leite e o Pró-Genética desenvolvido pela Secretaria Estadual de Agricultura Pecuária e Abastecimento (SEAPA). Muitos produtores, senão a maioria, não tem acesso a estes. Apenas aumentar a produtividade não garante a renda do produtor, diante de uma legislação sanitária rígida e de um consumidor cada dia mais exigente, o fator qualidade e sanidade do produto *in natura* ou transformado em derivados lácteos tornou-se fundamental para dar competitividade ao produto.

A rápida expansão do segmento de produtos de origem animal nos últimos anos e o grande aumento da produção agrícola em geral, colocou sob pressão os sistemas oficiais de saúde e inspeção sanitária no Brasil que, por várias razões, não têm conseguido acompanhar o ritmo imposto pela evolução dos negócios, inclusive os de exportação. Adicionalmente, a ampliação do comércio internacional e do fluxo de pessoas provenientes das mais diversas partes do planeta, como resultado da globalização, traz a ameaça constante de entrada de novas pragas e

doenças no País. Portanto, quanto mais aberto é o mercado, mais vulnerável ele fica e maior é a responsabilidade do seu sistema de defesa agropecuária (Silva, 2011).

### 3.1.3 Segurança alimentar e agrotóxicos

O conceito de Higiene e Segurança Alimentar surgiu a partir da 2ª Grande Guerra Mundial com mais da metade da Europa devastada e sem condições de produzir o seu próprio alimento. Esse conceito leva em conta três aspectos principais: quantidade, qualidade e regularidade no acesso aos alimentos. No que diz respeito à qualidade dos alimentos consumidos, a população não pode estar submetida a qualquer tipo de risco por contaminação (resíduos de agrotóxicos, drogas veterinárias, elementos inorgânicos dentre outros), problemas de deterioração ou outros decorrentes de prazos de validade vencidos. O tema está intimamente relacionado com a saúde dos seres humanos, sua sobrevivência e desenvolvimento (Brasil, 2006).

Os agrotóxicos merecem especial atenção sob o ponto de vista da “Segurança Alimentar”, devido à sua toxicidade e a grande diversidade de compostos quimicamente diferentes. A ampla utilização destes produtos, o desconhecimento dos riscos associados à sua utilização, o conseqüente desrespeito às normas básicas de segurança, a livre comercialização, a grande pressão comercial por parte das empresas distribuidoras e produtoras e os problemas sociais encontrados no meio rural constituem importantes causas que levam ao agravamento dos quadros de contaminação humana, animal e ambiental observados no Brasil (Miranda et al., 2007).

Os alimentos são considerados a principal fonte de exposição dos seres humanos aos agrotóxicos (Picó et al., 2007). Um estudo realizado por Margni et al. (2002) acerca do impacto do uso de agrotóxicos na saúde humana e nos ecossistemas confirma este dado, pois conclui que a ingestão de alimentos é uma fonte toxicológica de exposição, cerca de 103 a 105 vezes maior que a ingestão de água ou por inalação.

A presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos é uma questão importante que causa grande preocupação aos governos dos diferentes países e a diversas organizações internacionais. A Organização Mundial de Saúde (OMS) coloca a segurança alimentar no topo da agenda global de higiene público. Nesta, resíduos de agrotóxicos e drogas veterinárias nos alimentos representam riscos potenciais para a Segurança Alimentar (Pang et al., 2006).

Para efeitos de garantir a inoquidade dos alimentos, a Comissão do *Codex Alimentarius* (CAC), vinculada a FAO/OMS estabelece limites máximos de resíduos (LMR) para 170 agrotóxicos e medicamentos veterinários em mais de 300 variedades de produtos agrícolas e alimentos. Estados Unidos, Canadá, Alemanha e outros países da União Europeia (UE), bem como organizações internacionais regionais promulgaram seus próprios LMRs para resíduos de agrotóxicos para vários tipos de produtos agrícolas e alimentos com base nas características internas de cada país ou região (EC, 2008; EC, 2011; *Codex Alimentarius*, 2015).

Como maior produtor nacional de leite, Minas Gerais deve manter constante preocupação com a manutenção e valorização de seu patrimônio agropecuário, por meio da garantia e da credibilidade na segurança sanitária, na qualidade e proteção do ambiente e dos processos

produtivos, a fim de manter e ampliar a competitividade, a qualidade e a inocuidade dos produtos agropecuários produzidos no estado.

Diante dessas considerações, fica evidente que deve ser fortalecido o sistema de defesa agropecuária sob-risco de colocar Minas Gerais e, em uma escala maior, o Brasil em situação de vulnerabilidade, sujeito a sanções não tarifárias às exportações de produtos agropecuários e aos seus efeitos econômicos e sociais, tais como redução de reservas cambiais, desemprego, diminuição da renda no campo e migração do campo para a periferia dos grandes centros urbanos, com óbvios impactos negativos para o desenvolvimento do país. Na esfera nacional, é esta mesma defesa agropecuária que tem que zelar e garantir uma boa qualidade e inocuidade dos alimentos a serem consumidos pela população brasileira (Silva, 2011).

Portanto, a detecção precoce das fontes de contaminação, a partir do mapeamento de riscos e das análises laboratoriais proporciona a redução de prejuízos advindos do embargo aos produtos nacionais em mercados exigentes como União Européia e Estados Unidos, além da proteção da saúde da população, o que resulta no aumento da competitividade do agronegócio brasileiro no mercado internacional uma vez que a disponibilidade de métodos analíticos para monitoramento dos produtos resulta em garantia de qualidade dos mesmos (Santos, 2009).

A avaliação da segurança alimentar é um exercício científico desenvolvido por pesquisadores e consiste em identificação e caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização do risco. Um pré-requisito importante para a realização de avaliação de risco adequada é a presença de dados gerados por fontes confiáveis e métodos analíticos adequados para estimar o nível de exposição e consumo de contaminantes e resíduos pelo consumidor.

No entanto, considerações de custo e tempo dos gestores da segurança alimentar (em instituições reguladoras e indústria) devem favorecer o desenvolvimento e implementação de métodos rápidos e baratos. A produção global de alimentos e as mudanças climáticas mostram que novos riscos alimentares inesperados para a segurança dos consumidores podem aparecer na cadeia alimentar humana e animal, salientando a necessidade de ferramentas analíticas capazes de alertar para esses riscos emergentes.

### **3.2 Agrotóxicos - Utilização e Mercado**

A história da utilização dos agrotóxicos começou há vários séculos com relatos do emprego de produtos químicos para controle de algumas pestes principalmente insetos. O termo agrotóxico é, contudo, muito mais amplo, aplicando-se a substâncias químicas que apresentam ação fisiológica sobre organismos vivos e normalmente são utilizados para impedir a ação ou destruir, direta ou indiretamente, formas de vida animal ou vegetal prejudiciais, como ervas daninhas, roedores, fungos, ácaros e insetos (Melo et al., 2002).

No Brasil, os agrotóxicos foram primeiramente utilizados em programas de saúde pública, no combate a vetores e controle de parasitas, passando a ser utilizados mais intensivamente na agricultura a partir da década de 1960, quando o Brasil adotou um modelo de produção agrícola baseado na incorporação de alta tecnologia com utilização de insumos mecânicos e químicos (agrotóxicos e fertilizantes). Em 1975, o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), responsável pela abertura do Brasil ao comércio de agrotóxicos, condicionou o agricultor a

comprar estes produtos com recursos do crédito rural, ao instituir a inclusão de uma cota definida de agrotóxico para cada financiamento requerido (Trapé, 1995).

Essa obrigatoriedade, somada à propaganda dos fabricantes, determinou um enorme incremento e disseminação da utilização dos agrotóxicos no Brasil, que é atualmente um dos maiores consumidores mundiais (EMBRAPA 2015), resultando em inúmeros problemas, tanto de saúde humana como animal, além do meio ambiente.

Atualmente existem mais de 800 compostos, pertencentes à cerca de 100 classes químicas diferentes, registrados como ingredientes ativos de produtos comercializados como agrotóxicos em todo o mundo. Se forem incluídos os metabólitos destes compostos, o número supera 1500 substâncias. A aplicação de agrotóxicos aumentou em 50% no mundo, desde 1950. Estima-se que a produção industrial de agrotóxicos é de  $2,5 \times 10^9$  kg ao ano (Cajka et al., 2008; Kovalczuk et al., 2008). Muitos desses produtos não possuem antídotos e são proibidos em seus países de origem (Rice et al., 2007; Khalili-Zanjani et al., 2008).

As práticas agrícolas modernas dependem, extensivamente, da aplicação de agrotóxicos durante o cultivo e após a coleta, na etapa de estocagem dos produtos agrícolas. O uso de agrotóxicos é essencial para prevenir ou reduzir perdas na agricultura, melhorando, assim, a produção, e para que sejam obtidos produtos isentos de pragas como lesmas e insetos, livres de contaminações por fungos ou que apresentem doenças causadas por estes organismos (Kmešlár et al., 2008a). São ainda largamente empregados na pecuária para o controle de parasitas que provocam danos à saúde dos animais ou desconforto a estes, diminuindo a produção e, por conseguinte, causando prejuízos aos produtores (Silva et al., 2012).

De acordo com dados da EMBRAPA (2015), anualmente são usados no mundo aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos. O consumo anual de agrotóxicos no Brasil tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos comerciais. Expresso em quantidade de ingrediente-ativo, são utilizadas anualmente cerca de 130 mil toneladas de agrotóxicos no país; representando um aumento na utilização de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período.

A utilização desses produtos difere nas várias regiões do país, nas quais se misturam atividades agrícolas intensivas e tradicionais, e nestas últimas não incorporaram o uso intensivo de produtos químicos. Os agrotóxicos têm sido mais usados nas regiões Sudeste (cerca de 38%), Sul (31%) e Centro-Oeste (23%). Na região Norte o consumo de agrotóxicos é, comparativamente, muito pequeno (pouco mais de 1%), enquanto na região Nordeste (aproximadamente 6%) uma grande quantidade concentra-se, principalmente, nas áreas de agricultura irrigada. O consumo de agrotóxicos na região Centro-Oeste aumentou nas décadas de 1970 e 1980 devido à ocupação dos Cerrados e continua crescendo pelo aumento da área plantada de soja e algodão naquela região. Os estados que mais se destacam quanto à utilização de agrotóxicos são: São Paulo (25%), Paraná (16%), Minas Gerais (12%), Rio Grande do Sul (12%), Mato Grosso (9%), Goiás (8%) e Mato Grosso do Sul (5%) (EMBRAPA, 2015).

De acordo com o MAPA (Brasil, 2014b), existem atualmente cerca de 6.600 produtos de uso veterinário autorizados para comercialização no Brasil, com destaque para os antimicrobianos e os produtos para combate de ectoparasitas (em particular os carrapaticidas). Com relação aos carrapaticidas e outros produtos de controle de ectoparasitas, uma importante questão se coloca como tema de grande relevância para a Saúde Coletiva no país: esses produtos são formulados à

base de princípios ativos considerados agrotóxicos (ou pesticidas, tal qual registrado no conceito de produtos de uso veterinário descrito pela legislação), agentes químicos reconhecidamente prejudiciais para a saúde humana, animal e o ambiente (Silva et al., 2012).

### **3.2.1 Toxicidade dos Agrotóxicos**

Agrotóxicos são muitas vezes aplicados topicamente ou administrados por via oral em animais com o objetivo de controlar infestações por insetos nocivos e parasitas ou, utilizados em seu ambiente para controlar uma variedade de pragas. No ambiente rural, as características do sistema de produção de alimentos, de origem animal ou vegetal, em larga escala, acaba por resultar na exposição de animais domésticos à grande variedade de produtos químicos agrícolas atualmente em uso. Esta exposição a agrotóxicos pode ser mínima ou pode ser suficientemente elevada para produzir sinais clínicos e resultar em intoxicações agudas, ou mesmo, deixar resíduos que afetam a segurança dos consumidores pela contaminação da cadeia alimentar (Poppenga e Oehme, 2010).

Um grande número de novas substâncias químicas tem sido desenvolvido para utilização como agrotóxicos em substituição as moléculas de uso corrente na agricultura e pecuária. Agrotóxicos mais modernos têm sido especificamente concebidos para produzir a morte rápida das pragas alvo e aumentar a segurança relativa para os animais e pessoas. A proposta destes novos agrotóxicos é apresentar menor toxicidade a organismos não alvo, menor persistência no ambiente e significativa redução da presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos. A eficácia e segurança destes compostos são resultado da exploração de características fisiológicas específicas de mamíferos e pragas, tais como insetos, parasitas intestinais e carrapatos. Pode-se citar o caso dos inseticidas organofosforados e carbamatos que, em função da legislação moderna têm apresentado significativa redução na utilização em medicina veterinária. Em substituição a estes compostos, inseticidas menos tóxicos, tais como piretrinas e piretróides, os neonicotinóides e os reguladores de crescimento de insetos, têm sido desenvolvidos (Krieger, 2010). Isso tem levado à redução do número de casos de intoxicações agudas de animais domésticos, de produção e humanos, embora ainda ocorram casos de intoxicação deste tipo (Hodgson, 2004; Poppenga e Oehme, 2010).

A OMS classifica os agrotóxicos em classes de acordo com o grau de toxicidade da substância (Tabela 5).

**Tabela 5.** Classificação dos agrotóxicos quanto ao grau de toxicidade de acordo com a sua DL<sub>50</sub> segundo a Organização Mundial de Saúde

Classe	DL <sub>50</sub> para ratos (mg.kg <sup>-1</sup> de massa corporal)		
	Via oral	Via dérmica	
<b>Ia</b>	Extremamente tóxico	< 5	< 50
<b>Ib</b>	Altamente tóxico	5 - 50	50 -200
<b>II</b>	Moderadamente tóxico	50 – 200-	200 - 2000
<b>III</b>	Levemente tóxico	> 2000	> 2000
<b>U</b>	Pouco provável que apresente toxicidade aguda	5000 ou superior	

Fonte: WHO (2009b)

Os agrotóxicos são ainda subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química ou a presença de um grupo funcional característico. Segundo o sítio CRL - Data Pool (EURL, 2014), mantido pelos laboratórios de referência da Comunidade Européia, existem 142 classes quimicamente diferentes de agrotóxicos, incluindo metabolitos. No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, é o órgão responsável pelo registro e credenciamento de agrotóxicos no país. No entanto, cabe a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, estabelecer os limites máximos de resíduos permitidos para as diferentes culturas. A ANVISA relata, no Guia para Controle da Qualidade para a Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos para os Laboratórios Integrantes do PARA (Brasil, 2007), 25 classes distintas de agrotóxicos em uso no Brasil (Tabela 6).

Outra forma de classificação agrupa os agrotóxicos pelo tipo de ação destes compostos. Esta classificação divide os agrotóxicos em inseticidas, herbicidas, fungicidas e rodenticidas (Ecobichon, 1991; Cope et al., 2004; Heinzow. e Andersen, 2006; Poppenga e Oehme, 2010). Neste trabalho serão estudados compostos pertencentes às três primeiras classes.

**Tabela 6.** Principais classes de agrotóxicos em uso no Brasil em função de sua natureza química segundo a ANVISA

Grupo	Classe	Grupo	Classe
1	Ftalamidas	14	Uréia\ uracilas
2	Grupos nitrila/ciano ligados pós-dupla ligação	15	Heterocíclicos nitrogenados
3	Halogenados aromáticos (organoclorados)	16	Metoxi-acetamidas
4	Conazóis e metabolitos	17	Imidazolinonas
5	Clorados (ciclo/ciclodienos - organoclorados)	18	Fenóxi ácido
6	Carbamaldeidos	19	Oxihidrocarbonos
7	Dinitroanilinas	20	Estrobilurinas

Grupo	Classe	Grupo	Classe
8	Piretróides e metabólitos	21	Neonicotínis
9	Triazinas	22	Diacilidrazinas
10	Fenil pirróis	23	Ácidos etanosulfônico, oxanfílico e metab.
11	Organofosforados e metabólitos	24	Sulfonil uréias
12	Carbamatos e metabólitos	25	Ácido tetrônico
13	Tiocarbamatos		

Fonte: Brasil (2007)

### 3.3 Resíduos de agrotóxicos em leite e segurança alimentar

No Brasil, o governo federal, por meio da Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006, criou o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN. Este tem como um de seus objetivos primordiais, garantir a qualidade dos alimentos oferecidos à população. Para tanto o SISAN constitui-se em uma entidade multi-setorial integrado por um conjunto de órgãos e entidades da União, dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios e pelas instituições privadas (Brasil, 2006).

A forte expansão das exportações do agronegócio na última década tem sido um dos aspectos mais destacados da agropecuária brasileira. A partir dos anos 1990, com a expansão da globalização e abertura de novos mercados, ocorreu um rápido incremento do fluxo comercial e aumento do consumo. O consumidor tornou-se mais exigente e seletivo e os mercados, dado o aumento da oferta mundial, entraram em período de grande concorrência. Com a formação dos grandes blocos econômicos (União Europeia, NAFTA, MERCOSUL e outros), o maior desafio das autoridades do Brasil na área tem sido o de adaptar o sistema de defesa agropecuária ao ambiente comercial do mercado globalizado, ao qual está inserido. Todos os países que se destacam no comércio internacional de produtos do agronegócio dispõem de tecnologias avançadas e de um eficiente sistema de defesa agropecuária. Esses sistemas destinam-se a proteger o seu mercado consumidor, sem perda de qualidade ou produtividade, garantindo a conformidade e a inocuidade dos alimentos, evitando assim, riscos à saúde pública e ao meio ambiente.

Neste contexto, a segurança alimentar é um tema estratégico envolvendo não só o aspecto de saúde pública no mercado interno onde tem levado os consumidores a alterarem seus hábitos de consumo (Landgraf et al., 2010), mas também, e cada vez mais, o aspecto de competitividade do País no mercado externo.

A integração comercial em escala global está sendo acompanhada de uma progressiva redução das barreiras tarifárias. Por outro lado, também ocorre uma elevação das barreiras não-tarifárias, particularmente barreiras técnicas ao comércio. As economias mais fortes tendem a tornarem-se cada vez mais restritivas e, apesar do acordo da Organização Mundial do Comércio (OMC), tendem a utilizar esses mecanismos como forma de proteger seus mercados. As nações parceiras

comerciais do Brasil vêm se tornando cada vez mais restritivas em relação à presença de resíduos destas substâncias nos alimentos. Assim, é indispensável ao Brasil, para garantir a qualidade dos alimentos produzidos no país e a seguridade dos consumidores internos e externos, desenvolver programas eficientes de vigilância quanto à presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

Atualmente, a utilização de agrotóxicos em alguma etapa da produção animal é fato indiscutível. Entretanto, o uso inadequado dessas substâncias, seja pela inobservância aos prazos de carência após a aplicação, às dosagens corretas e à via de administração recomendada, ou ainda pela terapia indiscriminada e uso de substâncias proibidas, pode deixar resíduos de agrotóxicos em produtos alimentícios de origem animal (Nero et al., 2007). Outra fonte de contaminação, a aplicação inadequada de agrotóxicos nas lavouras leva à contaminação de produtos agrícolas utilizados na elaboração de rações e forragens oferecidas aos animais além de deixar resíduos nos cursos d'água e pastagens (Rothwell et al. 2001).

Agrotóxicos com alta solubilidade em lipídios tendem a se concentrar no leite e em tecidos com maior teor de gordura, tais como tecido adiposo, cérebro, fígado e rim. A ocorrência de resíduos de agrotóxicos em leite de ruminantes é motivo de preocupação para as autoridades de saúde pública, uma vez que leite e produtos lácteos são amplamente consumidos por crianças, adolescentes e adultos em todo o mundo. Em vista disso, muitos países têm legislação que limita o nível de resíduos de agrotóxicos neste alimento e seus derivados (Prasad e Chhabra, 2001).

Diversos trabalhos relatam a pesquisa de resíduos de agrotóxicos em leite. Pagliuca et al. (2006) avaliaram amostras de leite oriundas de quatro laticínios italianos quanto a presença de organofosforados. Das 135 amostras analisadas, 37 foram positivas em traços e dez mostraram uma contaminação por organofosforados variando entre 5-18 mg.L<sup>-1</sup>. Todavia, em todas as amostras positivas, a contaminação por organofosforados foi inferior ao LMR estabelecido pela Comissão Europeia.

Nero et al. (2004) pesquisaram a presença de resíduos de agrotóxicos organofosforados e carbamatos em leite *in natura* oriundo de 210 propriedades rurais em quatro regiões leiteiras do Brasil (Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul). Agrotóxicos foram observados em 74,4% das amostras empregando a técnica de cromatografia em camada delgada. Em outro estudo, Nero e colaboradores (2007) analisaram 209 amostras de leite *in natura* nas mesmas quatro regiões produtoras, empregando a mesma técnica. Os resultados obtidos mostraram que 93,8% das amostras apresentavam resíduos de organofosforados e/ou carbamatos. Segundo os autores, embora a concentração dos resíduos nas amostras não tenha sido determinada, a sensibilidade da técnica sugere níveis elevados (Nero et al., 2007).

Na Índia, Sharma et al. (2007) coletaram 147 amostras de leite em 14 distritos de Haryana, e as analisaram quanto a presença de resíduos de organoclorados. Das amostras analisadas, 8% excederam o LMR de 0,10 mg.L<sup>-1</sup> para HCH recomendado pela OMS, e 24% das amostras excederam o LMR de 0,05 mg.L<sup>-1</sup> para DDT, um agrotóxico da classe dos organoclorados que teve seu uso banido em diversos países, devido à sua comprovada carcinogenicidade e a sua grande estabilidade, sendo portanto um contaminante persistente no ambiente e cumulativo na cadeia alimentar.

Na Espanha, Mezcuca et al. (2007) investigaram a presença de agrotóxicos em 25 amostras de leite em pó, sendo detectados resíduos de endossulfam I e II, fenitrotona, clorpirifós etil e bifentrina em níveis entre 0,03 a 5,03 mg.L<sup>-1</sup>. Os compostos encontrados nas amostras pertencem à classe dos organoclorados, organofosforados e piretróides. As duas primeiras classes apresentam potencial biocumulativo, especialmente os organoclorados, e elevada toxicidade. Os resultados chamam a atenção por se tratarem de amostras de alimentos infantis, onde o público alvo é particularmente suscetível aos efeitos adversos dos contaminantes encontrados.

Agrotóxicos organoclorados foram encontrados em amostras de leite em diversos países. Na África do Sul, Sereda et al. (2009) pesquisaram a presença de resíduos de agrotóxicos em dez amostras de leite de vaca. Em praticamente todas foram encontrados resíduos de DDT e, em seis amostras foram detectados resíduos de permetrina, um agrotóxico pertencente à classe dos piretróides. Outro estudo realizado em Bengala, utilizando 210 amostras de leite coletadas em supermercados de 17 bairros no distrito de Nadia, revelou a presença de resíduos de organoclorados em 90% das amostras.

No no Egito, foram detectados resíduos de organoclorados em 120 amostras de leite de vaca e 60 de búfala coletadas aleatoriamente em fazendas produtoras por todo o país. Foram encontrados resíduos de lindano em cerca de 50% das amostras coletadas em concentrações variando de 0,34 a 0,46 mg.kg<sup>-1</sup> valores bem acima do LMR internacionalmente adotado para este composto, que é 0,01 mg.kg<sup>-1</sup>. No estudo foi também avaliado o efeito do processamento do leite, pela pasteurização, esterilização térmica e produção de derivados como iogurte, manteiga e creme de leite. Os resultados revelaram que o tratamento/processamento do leite, não tem impacto significativo sobre a concentração de resíduos de agrotóxicos organoclorados em relação à concentração encontrada no leite antes do tratamento/processamento (Abou Donia et al., 2010).

Agrotóxicos organoclorados são potencialmente carcinogênicos e devido à propriedade de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, constituem um grave problema à saúde da população (Sereda et al., 2009; Abou Donia et al., 2010; Singh et al., 2013; EURL-EU, 2014).

Também na Espanha, Melgar et al. (2010) observaram a presença de resíduos de organofosforados empregados diretamente no controle de ectoparasitas em bovinos ou, na ração fornecida a esses animais, em 312 amostras assim distribuídas: 70 amostras de alimentos infantis à base de leite e 242 de leite *in natura*. Somente foram detectados resíduos de organofosforados em 8,67 % das amostras de leite *in natura* principalmente diclorvós, parationa metilíca e coumafós. Todos os agrotóxicos encontrados no estudo apresentam elevada toxicidade a são riscos potenciais à saúde dos consumidores.

Tian (2010) desenvolveu e aplicou um método para pesquisa de 29 agrotóxicos em leite. O método foi aplicado a 100 amostras de leite *in natura* nas quais foram detectados resíduos de agrotóxicos pertencentes a quatro classes diferentes: fipronil (fenilpirazol) encontrado em três amostras, diflufenican (carboximida) em duas amostras, hexaflumurom e teflubenzurom (ambos benzoiluréias) encontrados em duas e cinco amostras respectivamente e piperofós (organofosforado) encontrado em uma amostra. Estes agrotóxicos são neurotóxicos e o piperofós é inibidor da colinesterase, portanto, oferecem riscos reais à saúde humana.

Na China, Liu et al. (2013) relataram a presença de pirimicarbe, carbaril, fenubocarbe e propoxur em amostras de leite coletas nos supermercados na província de Zhejiang. Carbamatos são inseticidas derivados do ácido carbâmico e seu mecanismo de ação ocorre pela inibição da colinesterase, afetando a transmissão do impulso nervoso. Estes agrotóxicos possuem elevada toxicidade, por exemplo, o carbofurano possui  $DL_{50}$  de apenas  $8 \text{ mg.kg}^{-1}$  o que desperta grande preocupação das autoridades. Outro fato preocupante relatado pelos autores é que, embora as concentrações encontradas estejam abaixo dos LMRs, os resultados evidenciam que o tratamento térmico aplicado ao leite no processo de envase não eliminou estas substâncias do produto.

No Brasil, Bastos et al. (2015) coletaram 201 amostras de leite fluido (UAT e pasteurizado) e, 107 amostras de leite em pó oriundas de diversos estados para pesquisa de agrotóxicos, sendo encontrados principalmente, resíduos de acefato, clorpirifós, dissulfotona, etiona e fosmete. Ressalta-se que neste estudo aproximadamente 50% das amostras apresentaram algum tipo de resíduo. Os autores também detectaram de resíduos de organofosforados em amostras de leite fluido, mesmo após os processos de pasteurização, esterilização e secagem, isto demonstra a grande estabilidade química destes compostos.

### 3.4 Legislação e Limites Máximos de Resíduos (LMRs)

Atualmente, os países produtores estão adequando às exigências das organizações internacionais no que concerne a qualidade e a segurança dos produtos agropecuários. Órgãos governamentais competentes têm atualizado sua legislação e implementado seus mecanismos de controle específico, estabelecendo LMRs para resíduos de agrotóxicos em leite e outros alimentos, até transformando-os em barreiras não tarifárias. Em nível mundial, o *Codex Alimentarius*, organismo vinculado à FAO/WHO, estabelece os LMRs de agrotóxicos em leite (*Codex Alimentarius*, 2015).

O governo brasileiro realiza o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite, no âmbito dos produtores e laticínios, através do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) desenvolvido pelo MAPA. Cabe à ANVISA, órgão do Ministério da Saúde, a fiscalização do produto final nos pontos de venda direta ao consumidor. O PNCRC (Brasil, 2015) para produtos de origem animal estabelece os LMRs e os agrotóxicos a serem monitorados em leite (Tabela 7).

A análise da Tabela 7 demonstra que o número de agrotóxicos para os quais há LMR estabelecido no Brasil, é muito reduzido em face ao grande número de compostos distintos disponíveis no mercado. Comparado com o programa de 2014, houve uma redução no número de agrotóxicos pesquisados. Neste sentido o MAPA segue na contramão da comunidade internacional que tem intensificado o controle de resíduos de agrotóxicos em leite por considerar este alimento de grande importância no âmbito da saúde e da segurança alimentar. A União Européia desenvolve uns dos melhores, senão o melhor, programa de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite do mundo. Na Comunidade Européia, são legislados 393 LMRs para resíduos de agrotóxicos em leite, número muito significativo se comparado àqueles definidos pelo *Codex Alimentarius* e Brasil (EC, 2011).

**Tabela 7.** Compilação dos limites máximos de resíduos de agrotóxicos em leite estabelecidos pelos PNCRCs de 2014 e 2015

<b>Agrotóxicos pesquisados no PNCRC 2015</b>		
<b>Grupo</b>	<b>Agrotóxico</b>	<b>LMR (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
Antiparasitários	Abamectina	0,01
Piretróides	Gama Cialtrina	0,025
	Lambda Cialotrina	0,025
	Permetrina	0,05
	Deltametrina	0,030
	Ciflutrina	0,04
	Cipermetrina	0,1
	Fenvarelato	0,04
<b>Agrotóxicos pesquisados no PNCRC 2014 (Brasil, 2014 a) e removidos em 2015</b>		
<b>Grupo</b>	<b>Agrotóxico</b>	<b>LMR (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
Organoclorados	Aldrin	0,006
	Alfa-HCH	0,004
	Lindano	0,01
	Dieldrin	0,006
	Endrin	0,002
	Heptacloro	0,004
	DDT e metabólitos	0,04
	Clordano	0,002
	Mirex	0,002
	Metoxicloro	0,01
Carbamatos	Carbaril	0,02
	Carbofurano	0,10
	Metomil	0,02
	Propoxur	0,05
	Aldicarbe	0,01
	Oxamil	0,05
	Metiocarbe	0,05
Organofosforados	Clorpirifós etil	0,01
	Clorpirifós metil	0,01
	Diazinona	0,01
	Metamidofós	0,01
	Mevinfós	0,05
	Acefato	0,02
	Pirimifós metil	0,05
	Parationa	0,02
	Primifós etil	0,02
	Metidationa	0,02
	Azinfós metil	0,05
	Azinfós etil	0,05

**Fonte:** Brasil (2015)

### 3.5 A Análise de resíduos de agrotóxicos em leite

A análise de resíduos de agrotóxicos em leite desempenha um papel importante para a estimativa da exposição dos seres humanos e do meio ambiente a estas substâncias, bem como para verificar o comportamento dos produtores rurais quanto à conformidade com as Boas

Práticas Agrícolas (BPA), facilitando as decisões regulatórias e comerciais, e ainda fortalecendo a confiança do consumidor com relação a segurança e inocuidade dos alimentos.

Nas análises de resíduos de agrotóxicos em leite, as concentrações dos analitos são geralmente muito baixas, frequentemente com concentrações na ordem de grandeza de partes por bilhão (ppb) e a matriz muito complexa, devido à sua composição química diversa, que inclui açúcares, gordura, proteínas, sais minerais entre outros componentes. Assim, a análise não poderia ser executada com a confiabilidade desejada sem uma etapa prévia de *cleanup* da amostra.

Devido ao fato de que as determinações são normalmente efetuadas em baixos níveis de concentração, as interferências são problemas frequentes que devem ser considerados. O objetivo principal do preparo da amostra é, portanto, promover o fracionamento e o enriquecimento da mesma, com todos os analitos de interesse, e os deixando o mais livre possível das interferências provenientes dos componentes da matriz, que certamente estarão no extrato.

É importante lembrar que, qualquer perda de analito que venha a ocorrer nessa etapa não pode ser compensada por nenhuma das etapas subsequentes. Assim sendo, o *cleanup* da amostra é uma etapa crucial dentro de todo o processo analítico.

As maiores limitações dos procedimentos analíticos mais comumente utilizados, que são a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) e a sólido-líquido (SLE, do inglês *solid-liquid extraction*), são a exigência de muito trabalho, demora, e o fato de serem procedimentos onerosos em termos de materiais e volumes de solventes e muitas vezes não podem ser concluídos antes que os produtos sejam colocados no mercado (Cacho et al., 2003). Para um método ser de aplicação viável, é necessário considerar os custos das análises, incluindo reagentes, equipamento, mão de obra e restrições ambientais (Obana et al., 1999). Em análises de rotina, um processamento rápido de numerosas amostras é desejado. Para isto, é necessário o desenvolvimento de métodos eficientes, rápidos e ambientalmente corretos.

As análises de resíduos envolvem, fundamentalmente, duas etapas:

- a) a extração dos analitos de interesse da matriz, que pode ou não ser acompanhada por uma etapa posterior de purificação, dependendo das características da matriz e do tipo de extração utilizada e
- b) as determinações qualitativa e quantitativa, que frequentemente são realizadas empregando técnicas cromatográficas. Usualmente, cromatografia gasosa com diferentes detectores e cromatografia líquida acoplada a detectores UV-Vis ou fluorescência. Modernamente empregam-se técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas, GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS e LC-MS/MS.

### **3.5.1 Métodos de Extração**

LeDoux (2011) realizou uma revisão sobre os métodos empregados na determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem animal nas duas últimas décadas. Neste trabalho, o autor observou que a LLE ainda é a metodologia preferida pela maioria dos autores para análise de

resíduos de agrotóxicos em leite. Este procedimento consiste na agitação das amostras diversas vezes em solventes orgânicos selecionados para a extração dos resíduos de agrotóxicos da matriz. Vários protocolos de LLE foram normalizados para aplicação à análise de resíduos de organoclorados, organofosforados em leite e derivados.

Atualmente, os métodos multirresíduos mais comumente utilizados para as análises de agrotóxicos envolvem uma extração inicial com acetona, acetonitrila, ou acetato de etila, a partir da qual os analitos de interesse são transferidos para uma camada orgânica, deixando na fase aquosa os co-extrativos indesejáveis e alguns agrotóxicos altamente polares (Anastassiades et al., 2003; Goulart et al., 2008; Mol et al., 2008).

A extração de resíduos de agrotóxicos com fluido supercrítico (*super critic fluid extraction* - SFE) foi testada em carnes (LeDoux, 2011). SFE geralmente é um método de extração eficiente, aplicável, principalmente, a amostras sólidas. Todavia, embora apresente inúmeras vantagens (eficácia, seletividade, tempos de extração reduzidos, baixos volumes de solventes), apresenta diversos inconvenientes (otimização difícil, aparelhos de alto custo de manutenção e altos níveis de interferentes).

Extração em fase sólida (*solid phase extraction* - SPE) e dispersão da matriz em fase sólida, (*matrix solid phase dispersion* - MSPD) foram técnicas, recentemente, introduzidas como métodos alternativos para o preparo de amostras destinadas a análise de resíduos de agrotóxicos. Estes métodos miniaturizados têm como característica a redução no uso de solventes (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005).

Outra técnica bastante difundida é a microextração em fase sólida (*solid phase micro-extraction* - SPME), que também consome um pequeno volume de solventes, onde a extração e concentração dos analitos são realizadas em uma única etapa. SPME tem sido aplicada com bastante sucesso na determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, água e solo. Outra característica desta técnica é o ganho de sensibilidade, uma vez que a fração extraída (na fibra) pode ser introduzida quantitativamente dentro do cromatógrafo a gás utilizando desorção térmica (LeDoux, 2011).

Hernandez et al. (2006) desenvolveram um método que emprega extração sortiva com barra magnética (*stir bar sorptive extraction* - SBSE). O mecanismo desta extração é similar ao da SPME. Porém, apresenta um fator de pré-concentração em torno de 100 vezes maior, dependendo da quantidade de adsorvente, polidimetilsiloxano (PDMS), utilizado. Esta nova metodologia permite que baixos limites de detecção sejam atingidos, especialmente para analitos hidrofóbicos.

### **3.5.1.1 Métodos de *clean-up***

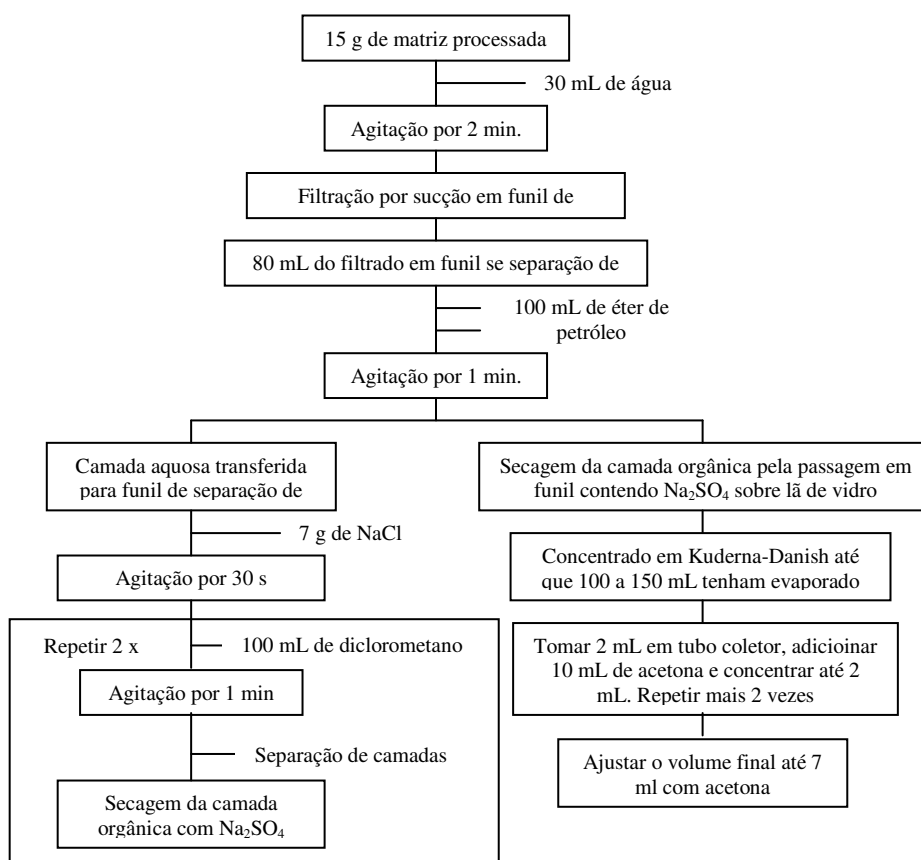
Interferentes da matriz podem ser co-extraídos e posteriormente co-eluídos com os componentes analisados podendo, conseqüentemente, interferir com a identificação e quantificação do analito. Além disso, compostos co-extraídos, principalmente lipídios, tendem a se fixar nos sistemas de GC obstruindo o injetor ou interagindo fortemente com a coluna, resultando em baixo desempenho do sistema cromatográfico (Anastassiades et al., 2003; Hong et al., 2004; Lehotay et al., 2005).

O *cleanup* eficiente do extrato minimiza a presença de interferentes melhorando a sensibilidade e permitindo que resultados mais consistentes e reprodutíveis sejam alcançados. Várias abordagens têm sido testadas para eliminar interferentes co-extraídos, como o congelamento, centrifugação, partição líquido-líquido, cromatografia de permeação em gel (*gel permeation chromatography* - GPC), SPE e SPME (Schenck et al., 2008; Stajnbaher, 2008; LeDoux, 2011).

### 3.5.1.2 Método de Luke

Luke et al. (1975) desenvolveram o chamado e bem conhecido “Método de Luke”, cuja versão original está representada de forma esquemática na Figura 5. O objetivo dos autores foi obter um método capaz de quantificar quase todos os agrotóxicos polares e apolares. Atualmente, a versão mais utilizada desse método, consiste na análise de 15 g da amostra, adicionando-se 30 mL de acetona e agitação em homogeneizador por cerca de 30 s, sendo posteriormente adicionados 15 g de sulfato de sódio anidro, 30 mL de éter de petróleo e 30 mL de diclorometano, agitando-se novamente em homogeneizador por cerca de 1 minuto. Finalmente, o extrato é centrifugado e a parte líquida é transferida para erlenmeyer com tampa (Netherlands, 1996).

**Figura 5.** Diagrama esquemático com a marcha analítica do método de Luke para extração de resíduos de agrotóxicos



### 3.5.1.3 Método QuEChERS

Anastassiades et al. (2003) desenvolveram um método multirresíduos, que utiliza as vantagens e possibilidades oferecidas pela instrumentação analítica moderna, este método foi denominado QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), que foi desenvolvido para gerar extratos que são diretamente aplicáveis tanto para as análises por GC quanto por LC. Durante o desenvolvimento desse método, grande ênfase foi colocada para a obtenção de um procedimento moderno e dinâmico, que pudesse ser aplicado em qualquer laboratório, devido a simplificação ou corte de etapas lentas, trabalhosas e impraticáveis.

O método envolve uma extração inicial com acetonitrila, seguido por uma etapa de partição líquido-líquido após adição da mistura de  $MgSO_4$  e  $NaCl$ , os quais facilitam a remoção de uma quantidade significativa de componentes polares da matriz, e finalmente, uma etapa simples de purificação, na qual o extrato é misturado com uma quantidade de sorvente (SPE) (Anastassiades et al., 2003).

As vantagens desse método incluem a rapidez (preparo de oito amostras em cerca de 30 min), simplicidade, confiabilidade, robustez (poucas e simples etapas), baixo custo, baixo consumo de solventes (somente 10 mL de acetonitrila), praticamente não necessita de vidrarias e cobre um amplo espectro de pesticidas extraídos (incluindo pesticidas com caráter ácido, básico e aqueles muito polares).

Modificações do método original Quechers foram realizadas por diversos pesquisadores. Atualmente, os métodos multirresíduos mais comumente utilizados para as análises de agrotóxicos envolvem uma extração inicial com acetona, acetonitrila, ou acetato de etila, a partir da qual os analitos de interesse são transferidos para uma camada orgânica, deixando na fase aquosa os co-extrativos indesejáveis e alguns pesticidas altamente polares (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005; Goulart et al., 2008; Mol et al., 2008; LeDoux, 2011).

### 3.5.1.4 Separação e determinação de resíduos de agrotóxicos

Em muitos casos, a GC tem sido a técnica selecionada para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (Anastassiades et al., 2003; Hirahara et al., 2005). Entretanto, nos últimos anos com o advento de agrotóxicos mais polares, os quais apresentam menor persistência e toxicidade ao meio ambiente, quando comparados aos apolares, a GC não é capaz de analisar um grande número destes compostos devido a sua alta polaridade. Isto implica no uso de técnicas alternativas. A LC acoplada à espectrometria de massas em série LC-MS/MS é a melhor escolha para estes tipos de compostos, que geralmente apresentam volatilidade baixa ou instabilidade térmica (LeDoux, 2011).

A cromatografia líquida aplica-se à análise de grande número de compostos, principalmente, compostos polares e/ou não-voláteis e/ou termicamente estáveis para os quais as condições de operação da GC não são adequadas, que constituem cerca 80% dos compostos sintéticos e naturais. No caso da análise de agrotóxicos, citam-se, principalmente carbamatos e triazinas, e seus metabolitos e produtos de degradação (Niessen, 2006; LeDoux, 2011).

Com inúmeras aplicações em vários campos da ciência e da análise química, é usada para a análise de uma enorme faixa de compostos orgânicos, desde pequenas moléculas como metabólitos e peptídeos, até moléculas grandes como as biomoléculas, por exemplo, as proteínas (Niessen, 2006).

Sensibilidade inigualável, limites de detecção cada vez mais baixos, velocidade e diversidade de aplicações, são algumas das características que levaram a espectrometria de massas a uma posição de destaque entre os métodos analíticos. Entre as inúmeras aplicações da técnica citam-se: na bioquímica, aplicada em estudos de metabolômica; em controle de poluição ambiental; na garantia da qualidade e segurança dos alimentos; na ciência forense e na química de produtos naturais e muitas outras. Fornecendo informações valiosas para profissionais de diversas áreas: químicos, biólogos, farmacêuticos, físicos, astrônomos, etc (de Hoffmann, 2007; Ekman et al., 2009).

As técnicas de ionização mais comumente usadas pelos analistas de alimentos em espectrometria de massas são a ionização por impacto de elétrons (*electronic impact* - EI) e a ionização química (*chemical ionization* - CI) aplicadas principalmente em combinação com a cromatografia gasosa, GC-MS e GS-MS/MS, e as técnicas de ionização por *eletrospray* (*eletrospray ionization* - ESI), ionização a pressão atmosférica (*atmospheric pressure ionization* - API), fotoionização a pressão atmosférica (*atmospheric pressure photoionization* - APPI), comumente empregadas em combinação com a LC (de Hoffmann, 2007; Ekman et al., 2009). Há ainda diversas outras formas de ionização de uso específico e praticamente restritas à pesquisa.

### 3.6 Validação de métodos analíticos

A demonstração da qualidade de medições químicas por meio de comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Dados analíticos não confiáveis podem comprometer conclusões de estudos e conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, este deve sofrer uma avaliação denominada validação.

A validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência do método validado entre laboratórios ou instituições.

Cada vez mais, empresas, artigos científicos e os órgãos reguladores do Brasil e de outros países exigem a validação de metodologias analíticas e, para isso, a maioria deles tem estabelecido documentos oficiais com diretrizes a serem adotadas no processo de validação. Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e os sistemas de medição são adequados para o uso desejado.

A ABNT NBR ISO/IEC 17025 estabelece que métodos normalizados utilizados fora dos escopos para os quais foram concebidos, ampliados ou modificados; métodos não normalizados; e métodos criados ou desenvolvidos pelos laboratórios devem ser validados. Apesar de não tratar a necessidade de validação para métodos normalizados, esta norma define que os

laboratórios devem confirmar que têm condições de operar adequadamente os métodos normalizados antes da implantação dos ensaios (ABNT, 2005).

### **3.6.1 Desenvolvimento de métodos e parâmetros de validação**

O desenvolvimento de métodos analíticos, em geral, ocorre de diferentes maneiras, num extremo envolvendo adaptações a um método existente por meio de mudanças mínimas, em outro extremo partindo do delineando experimental para criação de um novo método. Nesta última, o processo de desenvolvimento exige muito trabalho e sempre existirá uma dúvida inicial acerca do sucesso do método desenvolvido (EURACHEM, 2014).

A validação de um método que emprega técnicas cromatográficas pode ser considerada como a soma de diferentes etapas de validação a serem incluídas no processo analítico. Em geral, a validação do método envolve a execução e a interpretação de uma série de experimentos planejados a fim de avaliar as características do método. Desta forma, todas as variáveis de um método devem ser consideradas, tais como: procedimento de amostragem, preparação da amostra, separação cromatográfica, detecção e avaliação dos dados (Ribani et al., 2004; De Souza, 2007; SANTE, 2015).

No planejamento e execução da validação é conveniente que sejam seguidos os passos da sequência de eventos abaixo (*Codex Alimentarius*, 2003; INMETRO, 2011):

- ✓ definir a aplicação, objetivo e escopo do método;
- ✓ definir os parâmetros de desempenho e critérios de aceitação;
- ✓ desenvolver um procedimento operacional para validação;
- ✓ definir os experimentos de validação;
- ✓ verificar se as características de desempenho do equipamento estão compatíveis com o exigido pelo método em estudo;
- ✓ qualificar os materiais, por exemplo, padrões e reagentes;
- ✓ executar os experimentos preliminares de validação;
- ✓ ajustar parâmetros do método e/ou critérios de aceitação, se necessário;
- ✓ executar experimentos completos de validação;
- ✓ preparar um procedimento operacional para execução do método, na rotina e
- ✓ definir critérios de revalidação (por exemplo, mudanças de pessoal, condições ambientais, equipamentos, periodicidade, etc.).

As principais figuras de mérito avaliadas em um procedimento de validação dos métodos analíticos são apresentadas na Tabela 8 (INMETRO, 2011; Oliveira, 2011).

**Tabela 8.** Parâmetros de validação conforme a natureza do ensaio

Parâmetro	Tipo de ensaio			
	Qualitativo	Determinação do principal componente	Análise de traços	Propriedades físicas
Precisão		✓	✓	✓
Especificidade / seletividade	✓	✓	✓	✓
Exatidão / recuperação		✓	✓	✓
Robustez	✓	✓	✓	✓
Sensibilidade / linearidade / faixa de trabalho		✓	✓	✓
Limite de detecção	✓		✓	
Limite de quantificação			✓	

Fonte: INMETRO (2011)

### 3.6.1.1 Seletividade (ou especificidade)

É a habilidade de um método para determinar acuradamente e especificamente os analitos de interesse na presença de componentes de matriz sob as condições iniciais do ensaio (EURACHEM, 2014).

É sabido que a matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição. Os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração. Experimentos para avaliação da seletividade descritos na literatura sobre validação de métodos analíticos envolvem ensaios com padrões ou materiais de referência, amostras com e sem o analito, além da avaliação da capacidade de identificação do analito de interesse na presença de interferentes. Quando não há disponibilidade de interferentes, alguns autores sugerem a avaliação da habilidade de medição do analito por diferentes métodos, técnicas ou por meio de variações nas condições instrumentais (De Souza, 2007; INMETRO, 2010).

Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a tendência e a precisão do método estarão seriamente comprometidas.

### 3.6.1.2 Sensibilidade

É a capacidade de o método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas. Sob o ponto de vista prático, a sensibilidade constitui o coeficiente angular do gráfico analítico expresso pela equação 1 (Brito et al., 2003; INMETRO, 2010)

$$S = \frac{dy}{dc}$$

**Equação 1**

Sendo:  $S$  = sensibilidade;

$dy$  = variação da resposta;

$dc$  = variação da concentração.

Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido. Esse critério expressa a capacidade do procedimento analítico gerar variação no valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito. Entretanto, tornou-se comum o uso errôneo desse termo para designar método com baixo limite de detecção (LD) (Brito et al., 2003).

### 3.6.1.3 Curva analítica, linearidade

O termo calibração é mais pertinente para instrumentos de medição e padrões, assim sendo, neste trabalho, será empregado o termo curva analítica para expressar a relação sinal (resposta) em função da concentração do analito, em vez de curva de calibração como empregado por Brito (2003), De Souza (2007), ANVISA (Brasil, 2007) e SANTE (2015).

A qualquer método quantitativo, é possível determinar uma faixa de concentrações do analito na qual o método pode ser aplicado. Segundo a ANVISA (Brasil, 2007), a curva analítica representa a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito.

De acordo com as recomendações da *Food and Drug Administration* - FDA (US-FDA, 2001), a curva analítica deve ser construída usando uma amostra branca, amostra zero (amostra branca adicionada do padrão interno) e mais matrizes fortificadas com o analito para seis a oito níveis de concentração, abrangendo a faixa de concentração esperada e incluindo o limite de quantificação (LQ). Como critérios de avaliação, a FDA recomenda que os resultados devam ser analisados por métodos estatísticos (regressão linear pelo método dos mínimos quadrados) e que deva ser usado o modelo mais simples que adequadamente descreve a relação concentração-resposta. Modelos mais complexos podem ser empregados desde que devidamente justificado. Ainda, estabelece que os desvios sejam menores ou iguais a 15 e 20% em relação à concentração nominal para o LQ e à concentração nominal para as outras concentrações da curva analítica, respectivamente (no mínimo quatro dos seis níveis de concentração da curva analítica devem atender a esses critérios, incluindo o LQ e a maior concentração da curva analítica).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry* - IUPAC), em seu relatório técnico resultante do *Symposium on Harmonization of Quality Assurance Systems for Analytical Laboratories* (Thompson et al., 2002) recomenda que os níveis de concentração da curva analítica devem ser igualmente espaçados entre si, estar sobre a faixa de concentração de interesse e abranger a faixa de 0 a 150% do valor esperado. Os padrões analíticos devem ser analisados no mínimo em duplicata, e em ordem aleatória.

A União Européia (DIRECTIVE 657, 2002) recomenda que no mínimo cinco níveis de concentração (incluindo a amostra zero) sejam empregados na construção da curva analítica. Ainda, estabelece que sejam descritas a faixa de trabalho, a equação matemática e o modelo de regressão linear aplicado na construção da curva analítica.

Outro documento recomendado pela União Européia é o SANTE/11945/2015 - Procedimentos de validação de metodologia e controle de qualidade para análise de resíduos de agrotóxicos em

alimentos para consumo humano e animal (SANTE, 2015). Este documento menciona que curvas analíticas alternativas podem ser obtidas, tais como:

- calibração por interpolação entre dois níveis, desde que estes não difiram por um fator maior do que 4 e quando os fatores da resposta média, obtidos de determinações em replicata para cada nível, indicarem linearidade aceitável de resposta, com o maior fator não representando mais de 120% do mais baixo fator de resposta (110% nos casos em que o LMR é alcançado ou excedido).
- calibração em um único nível que, segundo o documento, pode fornecer resultados mais exatos que a calibração realizada em vários níveis se a resposta do detector for variável com o tempo.

O documento trata ainda da obtenção de curvas analíticas com três ou mais níveis de concentração. E recomenda que nestas curvas uma função de calibração apropriada (que pode ou não ser linear) não deve, em geral, ser forçada a passar pela origem. Ainda segundo o documento SANTE/11945/2015, o ajuste da função de calibração deve ser confeccionado e inspecionado visualmente e/ou pelo cálculo dos resíduos, evitando confiar somente nos coeficientes de correlação, para assegurar que o ajuste é satisfatório na região de interesse para os resíduos detectados. Se alguns resíduos isolados se desviarem mais que  $\pm 20\%$  ( $\pm 10\%$  em casos nos quais o LMR é alcançado ou ultrapassado) da curva de calibração na região de interesse, uma função de calibração alternativa deve ser usada. Em geral, o uso de regressão linear ponderada ( $1/x$ ) é recomendado, comparado à regressão linear (SANTE, 2015).

O exame dos resíduos é fundamental para que se possa avaliar a qualidade do ajuste. Estes devem ser pequenos, pois, se o modelo apresenta resíduos elevados, provavelmente é um modelo inadequado (Neto et al., 2010). No modelo ideal, todas as previsões coincidiriam exatamente com as respostas observadas, não havendo, portanto, resíduo algum.

Segundo Sampaio (2007) e Neto e colaboradores (2010), o método mais empregado para se avaliar a qualidade do ajuste de um modelo é a Análise de Variância (*Analysis of Variance* - ANOVA).

#### **3.6.1.4 Faixa de trabalho**

É o intervalo do método analítico correspondente à faixa do maior ao menor nível que possa ser determinado com precisão e exatidão, usando a linearidade do método. A faixa de trabalho deve cobrir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado e a concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho (INMETRO, 2010).

No limite inferior da faixa de concentrações, os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição (De Souza, 2007; INMETRO, 2010).

É desejável que na faixa de trabalho haja um intervalo de concentrações no qual a resposta do sinal do analito estudado terá uma relação linear com o analito ou valor da propriedade. A

extensão dessa faixa deve ser estabelecida durante a avaliação da faixa de trabalho (*Codex Alimentarius*, 2003; Brasil, 2007; INMETRO, 2010).

### **3.6.1.5 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)**

A detectabilidade de um método analítico pode ser definida considerando-se o LD e o LQ apresentado por este.

### **3.6.1.6 Limites de detecção**

A menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas, constitui o limite de detecção (EURACHEM, 2014; Brito et al., 2003).

Frequentemente, o limite de detecção é dado em termos do desvio-padrão de medidas do branco, de acordo com a equação 2 (EURACHEM, 2014; Thompson et al., 2002; Brito et al., 2003; De Souza, 2007;).

$$LD = 3 \cdot S_{\text{branco}} \quad \text{Equação 2}$$

Uma vez que o branco é composto por todos os reagentes, com exceção da amostra e do analito, não reproduz as mesmas condições a que o analito estará sujeito durante a análise. O LD assim determinado conduz a valores extremamente baixos que não representam a realidade da rotina analítica. Fundamentalmente, o LD calculado a partir da equação 2, pode avaliar mudanças ocorridas durante o desenvolvimento do método, ou para comparação de instrumentos. O limite de detecção pode ser determinado mediante o sinal/ruído, o desvio-padrão da resposta ou do coeficiente angular e por processos estatísticos (INMETRO, 2010).

Experimentalmente o LD é determinado empregando a análise de diluições sucessivas da solução do analito em estudo até o nível de interesse ou, o nível de concentração que apresente relação sinal ruído maior que 3. Todavia, há várias outras maneiras de se calcular e/ou estimar do valor do LD, tanto do instrumento de medição quanto do método, como pela utilização do método visual, método da relação sinal/ruído e aquele baseado em parâmetros da curva analítica. Nesse estudo, a maneira utilizada para a obtenção dos valores de LD do instrumento e do método está descrita na parte experimental.

### **3.6.1.7 Limite de quantificação**

Definido como o menor nível de concentração fortificado, que pode ser quantificado na amostra com exatidão e precisão aceitáveis (recuperação média entre 70 e 120% e desvio padrão relativo (%RSD) ou coeficiente de variação (CV%) < 20%, sob as condições experimentais adotadas (SANTE, 2015).

Comumente é determinado analisando-se 20 replicatas do branco e posterior aplicação da equação 3. Embora, como no caso do LD, este procedimento conduza a valores extremamente baixos e muitas vezes distantes da realidade de uma rotina analítica (Thompson et al., 2002; Brito et al., 2003; De Souza, 2007; INMETRO, 2010; EURACHEM, 2014).

$$LQ = 10 \cdot S_{\text{branco}} \quad \text{Equação 3}$$

O LQ pode ser determinado experimentalmente pelos ensaios de recuperação. Neste caso, o LQ será o menor nível de concentração que apresente recuperação média entre 70 e 120% e CV% < 20%.

De modo análogo ao que ocorre com o LD, há várias outras maneiras de se calcular e/ou estimar do valor do LQ, tanto do instrumento de medição quanto do método, como empregando o método visual, método da relação sinal/ruído e aquele baseado em parâmetros da curva analítica.

Nesse estudo, a maneira utilizada para a obtenção dos valores de LQ do instrumento e do método está descrita na parte experimental.

### 3.6.1.8 Precisão

Grau de concordância entre **indicações** ou **valores medidos**, obtidos por **medições** repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas (INMETRO, 2009).

Estudos de precisão avaliam a dispersão dos resultados de ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou soluções analíticas de referência, analisadas em condições definidas.

A precisão pode ser numericamente expressa em termos do desvio padrão relativo (RSD%) ou coeficiente de variação (CV%), pode ser calculada empregando-se a equação 4 (INMETRO, 2010).

$$RSD\% = \frac{s}{X_m} \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

sendo:

$s$  = estimativa do desvio padrão absoluto

$X_m$  = média das respostas das repetições para aquele nível de concentração de interesse.

Para métodos empregados em determinações em nível de traços, valores de RSD% de até 20% são aceitáveis (DIRECTIVE 657, 2002; *Codex Alimentarius*, 2003; INMETRO, 2010; SANTE, 2015).

A precisão pode ser determinada em termos de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade (Ribani et al., 2004; De Souza, 2007).

### 3.6.1.9 Exatidão

Grau de concordância entre um **valor medido** e um **valor verdadeiro** de um **mensurando** (INMETRO, 2009).

A exatidão representa a existência de erros sistemáticos, e é um dos critérios mais importantes para o julgamento do desempenho de um método analítico.

Na indisponibilidade de material de referência certificado, a exatidão pode ser avaliada analisando-se os dados dos ensaios de fortificação e recuperação (geralmente expressa em percentual), podendo esta ser calculada empregando a equação 5 (*Codex Alimentarius*, 2003).

$$Re\ c\% = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \cdot 100$$

**Equação 5**

sendo:

$C_1$  = Concentração determinada na amostra fortificada (branco);

$C_2$  = Concentração determinada na amostra não fortificada;

$C_3$  = Concentração usada para fortificação.

Em geral, são aceitos intervalos de recuperação entre 70 e 120%, com precisão de até 20% para a maioria dos métodos analíticos (DIRECTIVE 657, 2002; *Codex Alimentarius*, 2003; INMETRO, 2010; SANTE, 2015).

### 3.6.1.10 Robustez

A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Um método diz-se robusto quando se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse está sendo executado (INMETRO, 2010).

O parâmetro robustez é frequentemente considerado fora do processo de validação, como parte de estudos de desenvolvimento do método (De Souza, 2007; EURACHEM, 2014). Assim, o estudo da robustez em processos de validação somente é considerado necessário quando os limites para os parâmetros experimentais e seus respectivos desvios permitidos não forem previamente estabelecidos (Thompson et al., 2002). De qualquer forma, a robustez é importante para fornecer informações sobre o efeito de parâmetros experimentais significativos para a estimativa da incerteza (EURACHEM/CITAC, 2002).

### 3.6.1.11 Incerteza de medição

Quando se relata o resultado de uma medição de uma grandeza, é desejável que seja dada uma indicação quantitativa da qualidade do resultado de forma tal que aqueles que o utilizam possam

avaliar sua faixa de dúvidas. Sem esta indicação, resultados das medições não podem ser comparados, seja entre eles mesmos ou com valores de referência dados numa especificação ou numa norma. É, portanto, necessário que haja um procedimento prontamente implementado, facilmente compreendido e de aceitação geral para caracterizar a qualidade de um resultado de uma medição, isto é, para avaliar e expressar sua incerteza (ABNT, 2005).

Incerteza de medição é um parâmetro, associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentadamente atribuídos a um mensurando (EURACHEM/CITAC, 2012).

A medida da incerteza é um indicador quantitativo da confiabilidade dos dados analíticos e descreve o intervalo em torno de um resultado experimental no qual o valor verdadeiro se encontra com uma dada probabilidade (nível de confiança). Os intervalos de incerteza devem ser determinados considerando todas as fontes de erro. Com a exatidão, constituem os dois mais importantes parâmetros de qualidade de um resultado de medição, permitindo a comparabilidade e a avaliação da conformidade do resultado de medição em relação às normas, limites legais ou contratuais (INMETRO, 2010; JCGM, 2010).

Um dos requisitos da norma ISO/IEC 17025 é que os laboratórios determinem e disponibilizem o valor da incerteza associada aos resultados (ABNT, 2005). Para isto o laboratório deve utilizar-se de dados, os quais serão aplicados para a determinação da incerteza associada, oriundos da validação/verificação metodológica, ensaios de proficiência e outros estudos inter-laboratoriais e controle interno da qualidade analítica. A medida da incerteza é um indicador quantitativo da confiabilidade dos dados analíticos e descreve o resultado de uma avaliação com o propósito de determinar o intervalo dentro do qual se estima o valor verdadeiro, geralmente associado a um nível de confiança (Brasil, 2007; SANTE, 2015).

Os dados da incerteza de medição devem ser aplicados cautelosamente para que se evite a falsa sensação de certeza sobre o valor verdadeiro da medição. Estimativas de incerteza típicas são baseadas em dados prévios e podem não refletir a incerteza associada à análise da amostra corrente (SANTE, 2015). Portanto, deve-se avaliar cuidadosamente quais são as principais fontes de incerteza envolvidas na metodologia empregada.

Na prática, existem muitas fontes possíveis de incerteza em uma medição, incluindo (EURACHEM/CITAC, 2002):

- a) definição incompleta do mensurando;
- b) realização imperfeita da definição do mensurando;
- c) amostragem não representativa - a amostra medida pode não representar o mensurando;
- d) conhecimento inadequado dos efeitos das condições ambientais sobre a medição ou medição imperfeita das condições ambientais;
- e) erro de tendência pessoal na leitura de instrumentos analógicos;
- f) resolução finita do instrumento ou limiar de mobilidade;
- g) valores inexatos dos padrões de medição e materiais de referência;
- h) valores inexatos de constantes e de outros parâmetros obtidos de fontes externas e usados no algoritmo de redução de dados;

- i) aproximação e suposições incorporadas ao método e procedimento de medição;
- j) variações nas observações repetidas do mensurando sob condições aparentemente idênticas.

Estas fontes não são necessariamente independentes e algumas das fontes de “a” até “i” podem contribuir para a fonte “j”. Naturalmente, um efeito sistemático não reconhecido não pode ser levado em consideração na avaliação da incerteza do resultado de medição, porém contribui para seu erro.

### 3.7 Análise estatística multivariada

Segundo Alves (2007), a demanda crescente de informações implica um melhor conhecimento de técnicas para a organização e interpretação de dados bem como para a interpretação do grande volume de dados que é gerado em diversas linhas de pesquisa, permitindo o estabelecimento de relações entre as variáveis e a proposição de leis que explicam os fenômenos observados. Nesse contexto, a Análise Multivariada dispõe de uma diversidade de técnicas que favorecem o entendimento de muitos fenômenos (Hair Jr. et al., 2005).

Ao analisarmos variáveis podemos fazer a abordagem estatística de duas maneiras. Observando as variáveis isoladamente – estatística univariada ou, fazendo a análise de forma conjunta – estatística multivariada (Vicini, 2005).

Até o advento e a rápida evolução dos computadores, com a contínua elevação da capacidade e velocidade de tratamento de dados, a única forma de se analisar as variáveis era isoladamente. Esta abordagem permitia, de modo limitado, fazer inferências sobre a realidade. No entanto, quando o objeto de estudo é um fenômeno que depende de muitas variáveis, geralmente esse tipo de análise falha, pois não basta conhecer informações estatísticas isoladas, sendo necessário o conhecimento do fenômeno na totalidade das informações coletadas, analisando o conjunto das variáveis e suas relações (Vicini, 2005).

A denominação “Análise Multivariada” corresponde a um grande número de métodos e técnicas que utilizam, simultaneamente, todas as variáveis na interpretação teórica do conjunto de dados obtidos (Vicini, 2005).

Técnicas analíticas multivariadas estão sendo largamente aplicadas na indústria, na esfera governamental para auxiliar a tomada de decisões e nos centros de pesquisas das universidades. Somente pela aplicação de técnicas de análise multivariada é que as múltiplas relações obtidas entre as variáveis sob estudo podem ser adequadamente examinadas para se obter um entendimento completo e realista na tomada de decisão. (Kachigan, 1986; Hair Jr. et al., 2005).

Diversas são as técnicas disponíveis para aplicação da análise multivariada a um determinado conjunto de dados. Para Hair et al. (2005), tais técnicas podem ser divididas em dois grandes grupos:

- I **Técnicas de Dependência:** Regressão Múltipla e Correlação Múltipla, Análise Conjunta, Análise Discriminante Múltipla, Modelos Lineares de Probabilidade (*Logit* e *Probit*), Análise de Correlação Canônica, Análise Multivariada de Variância

(MANOVA), Análise Multivariada de Covariância (MANCOVA) e Modelagem de Equações Estruturais;

## II **Técnicas de Interdependência:** Análise Fatorial, Análise de Agrupamentos, Escalonamento Multidimensional e Análise de Correspondência.

Todas as técnicas multivariadas exceto a análise de conglomerados e a redução multidimensional (*multidimensional scaling*) são baseadas em inferências de valores populacionais ou no relacionamento entre variáveis de uma amostra extraídas ao acaso de uma população (Viali, 2015).

Ainda segundo Viali (2015), a interpretação de inferências estatísticas requer a especificação de níveis aceitáveis de erro. Sendo mais comum o emprego do erro do Tipo I, cuja probabilidade é representada por  $\alpha$  (alfa). O erro do Tipo I consiste em rejeitar a hipótese nula quando ela é verdadeira. Outro erro que se pode cometer é o erro do Tipo II, isto é, aceitar a hipótese nula quando ela não deveria ser aceita. A probabilidade de se cometer o erro do tipo II é representada por  $\beta$  (beta). No entanto, uma probabilidade mais interessante é  $1 - \beta$ , que é a probabilidade de tomar uma decisão correta.

A probabilidade  $1 - \beta$  não é apenas uma função de  $\alpha$ , sendo consequência de três fatores (Viali, 2015):

- ✓ **Tamanho do efeito:** a probabilidade de se obter significância estatística é baseada não somente em considerações estatísticas, mas também na real magnitude do efeito de interesse sendo estudado (por exemplo, a diferença de médias entre dois grupos ou a correlação entre variáveis) na população, denominado de tamanho do efeito. O tamanho do efeito é definido em termos de desvios padrões para facilitar comparações.
- ✓ **Alfa:** à medida que a probabilidade de se cometer erro do tipo I (alfa) diminui a probabilidade  $1 - \beta$  também decresce. Isto significa que se o analista reduz a chance de encontrar um efeito incorreto significativo, a probabilidade de encontrar corretamente o efeito também diminui. Normalmente os níveis utilizados para a significância ficam em 5% e 1%.
- ✓ **Tamanho da amostra:** aumentando o tamanho da amostra efeitos cada vez menores serão detectados como estatisticamente significativos até que para uma amostra muito grande quase todo efeito será significativo. O analista deve estar sempre ciente que o tamanho da amostra pode afetar o teste estatístico tanto tornando-o insensível (para pequenos tamanhos de amostra) ou então extremamente sensível (para amostras realmente grandes).

A Análise de Correspondência é uma técnica estatística multivariada interdependente para análise exploratória de simplificação da estrutura da variabilidade de dados multivariados, que utiliza de variáveis categóricas dispostas em tabelas de contingência, levando em conta medidas de correspondência entre as linhas e colunas da matriz de dados (Hair Jr. et al, 2005; Viali, 2005). Ela tem por objetivo, facilitar tanto a redução dimensional da posição em uma escala (por exemplo, produtos, pessoas, etc.) em um conjunto de atributos quanto a visualização em um *mapa perceptual* das relações entre as variáveis em estudo e estes atributos (Viali, 2005). Segundo Lúcio (1999) a Análise de Correspondência possibilita a determinação de um sistema de associações entre os elementos de dois ou mais conjuntos, buscando explicar como tais associações entre as diferentes variáveis se estruturam. Assim, são construídos gráficos com as

componentes principais das linhas e das colunas permitindo a visualização da relação entre os conjuntos, onde a proximidade dos pontos referentes à linha e a coluna indicam associação e o distanciamento uma repulsão.

Exatamente por estar interessada em estudar a correspondência entre variáveis, é que esta técnica recebeu o nome de Análise de Correspondência. Sua geometria e álgebra fazem com que pertença a uma família de técnicas de disposição gráfica que são baseadas em aproximação de uma matriz por outra de posto menor, por meio da decomposição em valores singulares. Ou seja, o objetivo desta análise é achar um subespaço que melhor ajuste o conjunto (nuvem) de pontos no espaço euclidiano. Este ajuste é feito pelo método de mínimo quadrado ponderado onde a distância euclidiana generalizada (ponderada) é utilizada em um sistema de massas pontuais (Carvalho et al., 2002).

De acordo com Hair (2005), é uma técnica de análise exploratória de dados adequada para analisar tabelas de duas entradas ou tabelas de múltiplas entradas, levando em conta algumas medidas de correspondência entre linhas e colunas. Os conceitos principais da Análise de Correspondência são os perfis de linha ou coluna e a distância Chi-quadrado. (Carvalho et al., 2002; Fox, 2010).

As primeiras considerações matemáticas a respeito da Análise de Correspondência foram feitas por Hirschfeld, em 1935. A partir daí os procedimentos numéricos e algébricos foram aplicados em diferentes contextos, especialmente em ecologia e psicologia. A Análise de Correspondência foi redescoberta e se popularizou nas décadas de 60 e 70 através do estatístico francês Jean-Paul Benzécri, primeiramente na França e, posteriormente, se estendendo pela Europa (Fox, 2010). A partir de 1975, a técnica passou a ser utilizada em diversas áreas do conhecimento (Hair Jr. et al, 2005).

A Análise de Correspondência difere de outras técnicas interdependentes na habilidade para acomodar tanto dados não-métricos quanto relacionamentos não-lineares, permitindo a visualização gráfica das categorias das variáveis em uma tabela de contingência (Figura 6) e, assim, verificar o grau de interação entre as mesmas.

**Figura 6.** Tabela de contingência típica aplicada à análise de correspondência

A	B							Total da linha
	1	2	3	...	...	...	j	
1	$n_{11}$	$n_{12}$	$n_{13}$	...	...	...	$n_{1j}$	$n_{1+}$
2	$n_{21}$	$n_{22}$	$n_{23}$	...	...	...	$n_{2j}$	$n_{2+}$
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
i	$n_{i1}$	$n_{i2}$	$n_{i3}$	...	...	...	$n_{ij}$	$n_{i+}$
Total da coluna	$n_{+1}$	$n_{+2}$	$n_{+3}$	...	...	...	$n_{+j}$	<b>N</b>

Fonte: o autor

Cada elemento  $n_{ij}$  da Figura 6 representa um elemento pertencente à categoria  $i$  da variável A e à categoria  $j$  da variável B. E ainda:  $n_{i+}$  é o total da linha  $i$ ;  $n_{+j}$  é o total da coluna  $j$  e  $N$  é o total geral das frequências observadas (Hair Jr. et al, 2005; Viali, 2005).

Com o objetivo de estudar as associações existentes entre as variáveis A e B, representadas pelas categorias  $i$  e  $j$ , extrai-se uma matriz que transforma cada frequência observada  $n_{ij}$  da tabela de contingência, em uma proporção ou probabilidade ( $P_{i \times j}$ ), empregando a equação 6 a seguir (Hair Jr. et al, 2005; Viali, 2005):

$$P_{i \times j} = \frac{n_{ij}}{n} \quad \text{Equação 6}$$

Tem-se então, a matriz de frequências relativas, ou matriz de correspondência (Figura 7).

**Figura 7.** Matriz de correspondência

A	B							Total da linha
	1	2	3	...	...	...	j	
1	$p_{11}$	$p_{12}$	$p_{13}$	...	...	...	$p_{1j}$	$p_{1+}$
2	$p_{21}$	$p_{22}$	$p_{23}$	...	...	...	$p_{2j}$	$p_{2+}$
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
i	$p_{i1}$	$p_{i2}$	$p_{i3}$	...	...	...	$p_{ij}$	$p_{i+}$
Total da coluna	$p_{+1}$	$p_{+2}$	$p_{+3}$	...	...	...	$p_{+j}$	<b>1</b>

Fonte: o autor

Na Figura 7, cada elemento  $p_{ij}$ , representa uma proporção de explicação da frequência  $n_{ij}$  em relação ao total  $N$ . A quantidade  $p_{i+}$  representa a linha  $i$  em relação à frequência total. De forma análoga,  $p_{+j}$  descreve a representatividade da coluna  $j$  em relação ao total  $N$  (Hair Jr. et al, 2005).

A partir dos valores correspondentes aos totais de cada linha e coluna da matriz de correspondência **P**, definem-se os vetores de massas das linhas  $r$  e o vetor de massas das colunas  $c$ , respectivamente como segue:

$$r = [p_{1+} \ p_{2+} \ p_{3+} \ \dots \ p_{i+}]^T \quad \text{Equação 7}$$

$$c = [p_{+1} \ p_{+2} \ p_{+3} \ \dots \ p_{+j}]^T \quad \text{Equação 8}$$

A técnica, nos permite ainda, encontrar associações entre as linhas e as colunas da matriz de correspondência, por meio de vetores de frequências relativas ou perfis. Os perfis linha e coluna são vetores compostos pelo total de cada proporção da matriz **P**, dividido pelos totais referentes às marginais da matriz de correspondência. Desta forma, definimos o  $i$ -ésimo perfil linha  $a_i$  e o  $i$ -ésimo perfil coluna  $b_i$ , empregando as equações matriciais a seguir (Hair Jr. et al, 2005):

$$a_i = \left[ \frac{p_{i1}}{p_{i+}} \quad \frac{p_{i2}}{p_{i+}} \quad \frac{p_{i3}}{p_{i+}} \quad \dots \quad \frac{p_{ij}}{p_{i+}} \right] \quad \text{Equação 9}$$

$$b_j = \left[ \frac{p_{1j}}{p_{j+}} \quad \frac{p_{2j}}{p_{j+}} \quad \frac{p_{3j}}{p_{j+}} \quad \dots \quad \frac{p_{ij}}{p_{j+}} \right] \quad \text{Equação 10}$$

Estes vetores podem ser entendidos como medida de significância de cada linha ou coluna dentro da matriz original dos dados, agindo de modo a diminuir a sobreposição de uma linha ou coluna em relação a outra. Cada um dos vetores de perfis (linhas ou colunas), representam proporcionalmente um peso relativo aos dados originais, sendo que as distâncias entre os perfis linha/coluna aos seus respectivos centróides não são calculadas pela métrica Euclidiana, mas sim pela métrica Chi-quadrado  $\chi^2$ . A estatística  $\chi^2$  pode ser encontrada por meio da equação 11 (Hair Jr. et al, 2005):

$$\chi^2 = \sum(i, j) \frac{(n_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad \text{Equação 11}$$

Sendo:  $n_{ij}$  o número de observações de ordem  $ij$

$E_{ij} = n_{i+} n_{j+} / N$  valor esperado da variável sob um modelo de independência

Um valor elevado para a estatística Chi-quadrado indica que, geometricamente, existe uma diferença significativa entre os perfis e seus respectivos centróides, esse fato indica que as variáveis são independentes.

De acordo com o descrito acima, a técnica multivariada de Análise de Correspondência, basicamente, converte uma matriz de dados não negativos em um tipo particular de representação gráfica em que as linhas e colunas da matriz são simultaneamente representadas em dimensão reduzida, isto é, por pontos no gráfico denominado *mapa perceptual*. Este método permite a visualização das relações mais importantes de um grande conjunto de variáveis entre si. De forma resumida, gera gráficos onde os atributos categóricos de uma variável são dispostos num plano bidimensional. A associação, ou não, entre as categorias é dada pela proximidade entre elas no gráfico (Greenacre, 2007; Knop, 2008).

Este método permite estudar as relações e semelhanças existentes entre as categorias de linhas e as categorias de colunas de uma tabela de contingência, e o conjunto de categorias de linhas e o conjunto categorias de colunas (Carvalho et al., 2002).

A Análise de Correspondência mostra como as variáveis dispostas em linhas e colunas estão relacionadas e não somente se a relação existe. Embora seja considerada uma técnica descritiva e exploratória, esta simplifica dados complexos e produz análises exaustivas de informações que suportam conclusões a respeito das mesmas (Infantosi et al., 2014).

A técnica apresenta diversos aspectos que a distinguem de outras técnicas de análise de dados. Destaca-se, sua alta flexibilidade quanto a pressuposições sobre os dados: o único requisito é o de uma matriz retangular com entradas não negativas (Hair Jr. et al, 2005) e o fato de a técnica não fazer exigência de normalidade para a resposta estudada. Em outras palavras, os testes estatísticos inferenciais não são aqui utilizados, estando a solução sugerida pela distribuição

gráfica de seus resultados, o que se constitui na base da escola francesa para as análises multivariadas (Knop, 2008).

A Análise de Correspondência pode ser considerada como um caso especial da análise de componentes principais, porém, dirigida a dados categóricos organizados em tabelas de contingência e não a dados contínuos. O problema é análogo a encontrar o maior componente principal de um conjunto de I observações e J variáveis, com modificações devido à ponderação das observações e à métrica ponderada (Hair Jr. et al., 2005; Greenacre, 2007).

É possível, empregando Análise de Correspondência, transformar qualquer característica quantitativa em qualitativa, realizando-se uma partição de seu domínio de variação em classes. A análise de correspondência é mais efetiva se a matriz de dados é bastante grande, de modo que a inspeção visual ou análise estatística simples não consegue revelar sua estrutura (Greenacre, 2007).

## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Ampliação do escopo analítico do método

Foram selecionados 45 agrotóxicos para a extensão do escopo do método previamente validado por Oliveira (2011), dos quais 43 foram validados, ampliando-se o escopo do método de 154 para 197 agrotóxicos, analisados pelo sistema LC-MS/MS. Os agrotóxicos integrantes do escopo original do método e os novos compostos incluídos neste trabalho são apresentados nas Tabelas 10 e 11.

O desenvolvimento experimental consistiu na otimização dos parâmetros instrumentais para a detecção dos analitos, por meio da infusão individual dos padrões analíticos de cada um dos 45 agrotóxicos selecionados. As análises instrumentais foram realizadas no sistema LC-MS/MS Triple Quad 5500 (AB Sciex, Canadá).

#### 4.1.1 Instrumentação

A instrumentação utilizada no desenvolvimento do método está descrita a seguir:

- Centrífuga refrigerada Jouan CR 4i, Thermo Electron Corporation (Ohio, Estados Unidos);
- Ultra-som UltraClean 1400, Unique (Inadaiatuba, SP);
- Balança analítica de precisão modelo AUW200D, com resolução de 0,00001g, Shimadzu (Kyoto, Japão), calibrada por laboratório certificado pela RBC (Rede Brasileira de Calibração);
- Balança semi analítica, modelo MARK 500, com resolução de 0,001g, calibrada junto a RBC, BELEngineering (Piracicaba, SP);
- Dispensador automático de solventes Dispensette III, com faixa de trabalho de 1 a 25 mL (Wertheim, Alemanha), calibrado junto a RBC;
- Micropipeta eletrônica Linear, com faixa de trabalho de 100 a 1000 mL, (Curitiba, PR), calibrada junto a RBC;
- Micropipeta eletrônica PIPETMAN Concept, com faixa de trabalho de 5 a 100 mL, Gilson (Middleton, Estados Unidos), calibrada junto a RBC;
- Micropipeta eletrônica FISHERBrant e5000, com faixa de trabalho de 100 a 5000 mL, Fisher Scientific (Finlândia), calibrada junto a RBC;
- Agitador orbital tipo vortex, modelo MS 3 basic, IKA® Works INC., (Wilmington, Estados Unidos);
- Freezer Biomédico Sanyo, modelo MDF-U537/U537D, com capacidade para atingir temperatura de -30° C (Osaka, Japão);
- Sistema de purificação de água Direct-Q UV3 Millipore (Molsheim, França);
- Sistema de cromatografia líquida de ultra-eficiência, Shimadzu (Kyoto, Japão), composto por:
  - duas bombas binárias modelo LC20ADXR;

- injetor automático modelo SIL20ACXR;
- forno de coluna modelo;
- Detector MS, Triple Quad 5500 (AB Sciex, Canadá) com fonte API, utilizando o modo de ionização por Electrospray;
- Sistema de aquisição de dados através do software Analyst 1.5.1 (AB Sciex, Canadá).
- Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics Instruments Ltda. (Escócia).

#### 4.1.2 Reagentes solventes e materiais

- Acetonitrila grau HPLC, pureza mínima 99,0%, Lote: I478830, Lichrosolv, Merck (Darmsdat, Alemanha);
- Metanol grau HPLC, pureza mínima 99,0%, lote 9093-03, J. T. Baker (Xalostoc, México);
- Ácido fórmico 96%, lote FR0629-015, Tedia (Ohio, Estados Unidos);
- Ácido acético glacial, lote K37658163, Merck (Darmsdat, Alemanha);
- Sulfato de magnésio anidro, pureza mínima 97%, lote 07818JH Sigma-Aldrich (Sant Louis, Estados Unidos);
- Acetato de amônio p.a. ACS, pureza mínima 98%, lote 0701036, Vetec (Rio de Janeiro, RJ);
- Bondesil – C18, 40 µm, lote 0726809, Varian (Palo Alto, Estados Unidos);
- Água purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade 18,2 MW cm);
- Tubo de polipropileno, com tampas rosqueadas, capacidade de 50 mL (Sarstedt, Alemanha);
- Tubos de centrífuga graduados de 2,0 mL de polipropileno, tipo Eppendorf (Sarstedt, Alemanha);
- Balões volumétricos calibrados por laboratório certificado pela RCB de 10, 25, 50, 100 e 1000 mL;
- Espátulas metálicas;
- Garrafas lavadeiras;
- Proveta de 1000 mL;
- Grades para tubo de 2,0 e 50 mL;
- Frascos de vidro, tipo *vial*, de 2 mL com tampa e septos de silicone ou teflon (PTFE).

#### 4.1.3 Condições cromatográficas

Na análise cromatográfica dos resíduos de agrotóxicos foi empregada a eluição por gradiente de concentração da fase móvel conforme descrito na Tabela 9.



**Tabela 9.** Composição do gradiente de fase móvel empregado na análise cromatográfica de resíduos de agrotóxicos em leite

Tempo (min)	Solução de acetato de amônio 10 mmol/L acidificada a 0,1 % com ácido fórmico (%)	Metanol (%)
1.00	50	50
7.00	20	80
11.00	10	90
11.50	50	50
13.00	50	50

O fluxo de fase móvel empregado nas análises foi de  $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , com forno de coluna mantido a  $60^\circ\text{C}$ .

#### 4.1.4 Padrões analíticos dos agrotóxicos estudados

Todos os 45 padrões analíticos (Tabela 11) utilizados neste trabalho apresentam grau de pureza superior a 98% e foram adquiridos da Riedel-de Haën grau PESTANAL (Selze, Alemanha) ou Sigma-Aldrich (Sant Louis, Estados Unidos).

As soluções analíticas estoque dos agrotóxicos foram preparadas individualmente através da dissolução em acetonitrila de não menos que 10,0 mg de padrão para um volume final de solução de 10 mL. Este procedimento permite obter soluções estoque de concentrações em torno de  $1000 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , conforme recomendação do documento SANTE/11945/2015.

Após o preparo, as soluções foram transferidas para frascos âmbar (tampa contendo batoque de PTFE) rotulados de forma indelével, e armazenados em freezer ( $-20^\circ\text{C}$ ). Estas soluções estoques apresentam estabilidade de cerca de três anos, desde que armazenadas nas condições citadas e corretamente manipuladas (SANTE, 2015).

**Tabela 10.** Agrotóxicos que compõem o escopo original do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite por LC-MS/MS, validados por Oliveira (2011), apresentados pela classe, grupo químico, fórmula molecular, classificação toxicológica e LMR legislado

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	LMR		
					MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
2,4,5-T	H	Ácido ariloxialcanóico	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	III			
2,4-D	H	Ácido ariloxialcanóico	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	I		0,01	0,01
2,4-DB	H	Ácido ariloxialcanóico	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	II			0,01
3-hidroxycarbofurano	I	Carbamato	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>	I			0,1
Acefato	I	Organofosforado	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>3</sub> PS	III	0,02	0,02	0,02
Acetamiprido	I	Neonicoticoíde	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	II			0,05
Aldicarbe	I	Carbamato	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	Ia		0,01	0,01
Aldicarbe sulfona	I (metabólito)	Carbamato	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	Ia		0,01	0,01
Aldicarbe sulfóxido	I (metabólito)	Carbamato	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	Ia		0,01	0,01
Amitraz	A / I	Amidina	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub>	II		0,01	
Aramita	A	Éster sulfito	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ClO <sub>4</sub> S	n. e.			0,01
Azinfós etil	A / I	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	Ib	0,05		0,01
Azinfós metil	I	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	Ib	0,05		0,01
Azoxistrobina	Fg	Estrobirulina	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	III			0,01
Barban	H	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	n. e.			0,05
Benalaxil	H	Acilalanina	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	III			0,05
Benfuracarbe	I / N	Carbamato	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	II			0,05
Benomil	Fg	Benzimidazol	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	U			
Bentazona	H	Benzotiadiazinona	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	II		0,05	0,05
BF 500-3 (metabólito da piraclostrobina)	Fg (metabólito)	N-demetoxilado	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> Cl N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	II			0,01
Bifentrina	A / I	Piretróide	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	II		0,05	0,01
Boscalida	Fg	Carboxamida	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	III			0,05
Carbaril	I	Carbamato	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	II	0,02	0,05	0,05
Carbendazim	Fg	Benzimidazol	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	III		0,05	0,05
Carbofurano	I	Carbamato	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	Ib	0,1	0,05	0,1
Carbossulfano	I	Carbamato	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	II		0,03	0,05
Ciazofamida	Fg	Imidazol	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	III			
Cimoxanil	Fg	Cianoacetamida óximo	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	III			0,05
Cinidon etílico	H	Fitalimida	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>4</sub>	n. e.			
Ciproconazol	Fg	Triazol	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O	III			0,05
Ciprodinil	Fg	Anilino piridina	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub>	III			0,05
Ciromazina	I	Triazina	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>6</sub>	III		0,01	0,02

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	LMR		
					MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
Clorbufan	H	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> ClNO <sub>2</sub>	n. e.			0,05
Clorfenvinfós	A / I	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	Ib			0,01
Cloroxuron	H	Uréia	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	n. e.			0,05
Clorpirifós	A / I	Organofosforado	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	II	0,01	0,02	0,01
Clorpirifós metil	A / I	Organofosforado	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	III	0,01	0,01	0,01
Cresoxim metil	Fg	Estrobirulina	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	III		0,01	0,05
Deltametrina	I / F	Piretróide	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Br <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	III		0,05	0,05
Di-alato	A / H	Tiocarbamato	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> NOS	n. e.			0,2
Diazinona	A / I / N	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	II	0,01	0,02	0,01
Diclofluanida	Fg	Sulfamida	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	U			
Diclorprope	R / N	Ácido ariloxialcanóico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	II			0,05
Diclorvós	I	Organofosforado	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> C <sub>12</sub> O <sub>4</sub> P	Ib		0,02	
Difenoconazol	Fg	Triazol	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	III		5,0	0,01
Diflubenzuron	I	Benzoiluréia	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III		0,02	0,05
Dimetoato	I	Organofosforado	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	II		0,05	
Dinocape	A / Fg	Dinitrofenol	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	II			0,05
Dinosebe	H	Dinitrofenol	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	n. e.			0,01
Dinoterbe	H	Dinitrofenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ib			0,05
Dissulfotona	A / I	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Ia		0,01	0,02
Dissulfotona sulfona	A / I (metabólito)	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>3</sub>	Ia			0,02
Dissulfotona sulfóxido	A / I (metabólito)	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>3</sub>	Ia			0,02
Espiroxamina	Fg	Morfolino	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>	II			
Etiona	A / I	Organofosforado	C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> P <sub>2</sub> S <sub>4</sub>				
Etofumesato	H	Benzo furano	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> S	U			
Etoprofós	I / N	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	Ia		0,01	0,01
Etoxissulfurom	H	Sulfoniluréia	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub> S	n. e.			
Etrinfós	A / I	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> OPS	n. e.			
Famoxadona	Fg	Oxazol	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	U			0,05
Fenamidona	Fg	Imidazolinona	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS	III			0,01
Fenamifós	N	Organofosforado	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> PS	Ib		5,0	5,0
Fenamifós sulfona	N (metabólito)	Organofosforado	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>5</sub> PS	Ib			5,0

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	LMR		
					MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
Fenamifós sulfóxido	N (metabólito)	Organofosforado	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub> PS	Ib			5,0
Fenarimol	Fg	Pirimidina	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	III			0,02
Fenexamida	Fg	Hidroxianilida	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	U		0,01	0,05
Fenpropimorfe	Fg	Morfolínico	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO	III		0,01	0,01
Fentiona	I	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	II			0,01
Fentiona sulfóxido	I (metabólito)	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	II			0,01
Fentoato	A / I	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	II			
Fipronil	I	Pirazol	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> OS	II		0,02	5,0
Fipronil sulfona	I	Pirazol	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	II		0,02	5,0
Fluasifope p-butílico	H	Ácido ariloxifenoxipropiônico	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>	III			0,1
Fludioxonil	Fg	Fenilpirrol	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	U		0,01	0,05
Flumetrina	I	Piretróide	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> FNO <sub>3</sub>	n. e.			
Fluquinconazol	Fg	Triazol	C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>5</sub> O	III			0,03
Fluroxipir	H	Ácido piridinocarboxílico	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	U			0,05
Flutriafol	Fg	Traizol	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O	III			0,01
Foransulfurom	H	Sulfoniluréia	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>7</sub> S.	n. e.			
Forato	A / I / N	Organofosforado	C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Ia		0,01	0,02
Forato sulfóxido	A / I / N (metabólito)	Organofosforado	C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>3</sub>	Ia			0,02
Fosalona	A / I	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	II			0,01
Fosmete	A / I / TV	Organofosforado	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	II			0,05
Furatiocarbe	I	Carbamato	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	II			0,05
Hexaconazol	Fg	Triazol	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O	U			
Hexitiazoxi	A	Tiazolidinacarboxamida	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	U			0,02
Imazalil	Fg	Imidazol	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	II			0,05
Imidacloprido	I	Neonicotóide	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	II		0,02	0,1
Indoxacarbe	I	Oxadiazina	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	I		0,1	0,02
Iprodiona	Fg	Dicarboximida	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	III			0,05
Iprovalicarbe	Fg	Carbamato	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	U			
Isoproturon	H	Uréia	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O	II			
Isoxaflutol	H	Isoxazol	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub> S.	III			

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	LMR		
					MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
Linuron	H	Uréia	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III			
Malationa	I	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	III			0,02
Metalaxil	Fg	Fenilamida	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	II			0,05
Metamidofós	I	Organofosforado	C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>2</sub> PS	Ib	0,01	0,02	
Metazaclor	H	Cloroacetamida	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O	III			0,05
Meticonazol	Fg	Triazol	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	III			0,01
Metidationa	I	Organofosforado	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>3</sub>	Ib	0,02	0,001	0,02
Metissulfotom metil	H (metabólito)	Sulfoniluréia	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S	U			
Metomil	I	Carbamato	C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	Ib	0,02	0,02	0,02
Mevinfós	A / I	Organofosforado	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub> P	Ia	0,05		
Miclobutanil	Fg	Triazol	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	II		0,01	0,01
Monocrotofós	I	Organofosforado	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>5</sub> P	Ib			
Monolinuron	H	Uréia	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III			0,05
Ometoato	I	Organofosforado	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS	Ib			
Oxamil	I	Carbamato	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	Ib	0,05	0,02	
Oxassulfurom	H	Sulfoniluréia	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S	n. e.			
Oxifluorfem	H	Difenil éter	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>	U			0,05
Parationa etílica	A / I	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>5</sub> PS	Ia	0,02		0,05
Pencicuron	Fg	Feniluréia	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O	U			0,05
Penconazol	Fg	Traizol	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	III		0,01	0,01
Pendimetalina	H	Dinitroanilina	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	II			0,05
Picolinafen	H	Piridínico	C <sub>19</sub> H <sub>12</sub> F <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	n. e.			
Pimetrozina	I	Triazina	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O	III			0,01
Piraclostrobina	Fg	Metoxicarbamto	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	n. e.		0,03	0,01
Pirazofós	Fg	Fosforotiolato	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> PS	II			0,01
Piridaben	I	Organoclorado	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> OS	II			0,02
Piridato	H	Fenilpiridazina	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	III			0,05
Pirimetanil	Fg	Anilino pirimidina	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	III		0,01	
Pirimicarbe	I	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	II		0,01	0,05
Pirimifós etil	A / I	Organofosforado	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	n. e.	0,02		
Pirimifós metil	A / I	Organofosforado	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	II	0,05	0,01	0,05
Procloraz	Fg	Imidazol	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	II		0,05	0,02
Profam	H / R	Carbamato	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	U			0,05
Profenofós	I	Organofosforado	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> BrClO <sub>3</sub> PS	II		0,01	0,05

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	LMR		
					MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
Propargito	H	Éster sulfito	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> S	III		0,1	0,1
Propiconazol	Fg	Traizol	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	II		0,01	0,01
Propizamida	H	Benzimidazol	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO	U			0,01
Propoxur	I	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	II	0,05		0,05
Prossulfuron	H	Sulfoniluréia	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub> S	n. e.			
Quinalfós	A / I	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	II			
Tebuconazol	Fg	Triazol	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	II		0,01	0,05
Tebufenozida	I	Diacilhidrazina	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III			0,05
TEPP (tetraetil pirofosfato)	A / I	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub> P <sub>2</sub>	n. e.			
Tiabendazol	Fg	Benzimidazol	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	III		0,2	
Tiacloprido	I	Neonicotóide	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S	II		0,05	0,03
Tiametoxam	I	Neonicotóide	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	III			0,02
Tifensulfurom metil	H	Sulfoniluréia	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>	U			
Tiodicarbe	I	Carbamato oxima	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S <sub>3</sub>	II			
Tiofanato metílico	Fg	Benzimidazol	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	U			0,05
Tolilfluanida	Fg	Fenilsulfamida	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	Ib			0,02
Triadimefon	Fg	Triazol	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	II		0,01	0,01
Triadimenol	Fg	Traizol	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	II		0,01	
Triassulfurom	H	Sulfoniluréia	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>5</sub> S	U			
Triazofós	I / A / N	Organofosforado	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	Ib			0,01
Triclorfon	I	Organofosforado	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	II			0,1
Tridemorfe	Fg	Morfolina	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> NO	II			0,05
Trifloxistrobina	Fg	Oximinoacetato	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	III		0,02	0,01
Triforin	Fg	Piperazina	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	U			0,05

**Legenda:**

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

LMR – Limite máximo de resíduos permitido pela legislação

n.e. – não estabelecida

**Tabela 11.** Identificação nominal, classe, grupo químico, fórmula molecular, classificação toxicológica e LMR legislado para os 45 agrotóxicos selecionados para os estudos de validação da ampliação de escopo do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite por LC-MS/MS, validados por Oliveira (2011)

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	LMR	
						Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
Alacloro	H	Cloroacetamida	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>	III	Proibido		
Aletrina	I	Piretróide	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	II	Proibido		
Ametrina	H	Triazina	C <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> S	III	Proibido		
Avermectina B1a	I / A	Avermectina	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	Ib	10		
Bitertanol	F	Triazol	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	III	Proibido		
Bupropenzina	I / A	Não classificado	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS	III	Proibido		
Cadusafós	I / N	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	III	Proibido		
Carpopamida	F	Ciclopropanocarboxamida	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> C <sub>13</sub> NO	III	Proibido		Proibido
Cialofope Butil	H	Ariloxifenoxipropionato	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> FNO <sub>4</sub>	III	Proibido		
Ciflufenamida	F	Amida	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III	Proibido		
Cipermetrina	I / V	Piretróide	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>	III	100		
Clofentezina	A	Tetrazina	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub>	III	Proibido		
Clortiofós	I / A / M	Osganofosfato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	III	Proibido		Proibido
Dicrotofós	I / A	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>3</sub> P	III	Proibido		Proibido
Diflufenicam	E	Carboxamida	C <sub>19</sub> H <sub>11</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	III	Proibido		
Dimetoato	I / A / M	Organofosforado	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	III	Proibido		
Dimetomorfe	F	Morfolina	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>4</sub>	III	Proibido		
Diurom	E	Feniluréia	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	III	Proibido		
Dodemorfe	F	Morfolina	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO	III	Proibido		
Epoxiconazol	F	Triazol	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	III	Proibido		
Etiofencarbe sulfona	I / M	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub> S	III	Proibido		Proibido
Etiofencarbe sulfóxido	I / M	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub> S	III	Proibido		Proibido
Etiprole	I	Fenilpirazol	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> C <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> OS	III	Proibido		Proibido
Fenazaquina	I / A	Quinazolina	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	III	Proibido		
Fenpiroximato	I / A	Pirazolium	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	III	Proibido		
Flazassulfurom	H	Sulfoniluréia	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> S	III	Proibido		
Fluzilazol	F	Triazol	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> Si	III	Proibido		Proibido
Fosfamidona	I / A	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>5</sub> P	III	Proibido		Proibido
Metiocarbe	I / Mo / RA	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> S	III	Proibido		
Metiocarbe sulfóxido	I / Mo / RA	Carbamato	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NSO <sub>3</sub>	III	Proibido		

Agrotóxico	Classe **	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Classificação toxicológica *	MAPA (mg.L <sup>-1</sup> )	LMR	
						Codex Alimentarius (mg.kg <sup>-1</sup> )	União Européia (mg.kg <sup>-1</sup> )
/ Metabolito							
Metoxifenozida	I	Diacilhidrazina	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	III	Proibido		
Nuarimol	F	Primidicina	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> ClFN <sub>2</sub> O	III	Proibido		Proibido
Paclobutrazol	F / RC	Triazol	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	III	Proibido		
Paraoxon etil	I / Metabólito	Organofosforado	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>6</sub> P		Proibido		
Piraclofós	I / N / VD	Organofosforado	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	III	Proibido		Proibido
Pirifitalida	H	Não classificado	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	III	Proibido		Proibido
Pirimetamina	F	Anilino pirimidina	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>		Proibido		
Quizalofop p-etil	H	Ariloxifenoxipropionato	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	III	Proibido		
Sulfotepe	I / A	Organofosforado	C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> P <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	III	Proibido		Proibido
Tebufempirade	A	Pirazolium	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>3</sub> O	III	Proibido		
Temefós	I / SV	Organofosforado	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> P <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	III	Proibido		Proibido
Terbufós	I / N	Organofosforado	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	III	Proibido		Proibido
Tetraconazol	F	Triazol	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O	III	Proibido		
Triciclazol	F	Triazolobenzotiazol	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	III	Proibido		Em análise
Triticonazol	F	Triazol	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	III	Proibido		

**Legenda:**

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

LMR – Limite máximo de resíduos permitido pela legislação

#### 4.1.4.1 Preparação de pools de trabalho

Foram preparadas duas misturas (*pools*) de agrotóxicos de 100 mL, na concentração de 8,0 ng.L<sup>-1</sup>. Uma contendo todos os agrotóxicos listados nas Tabelas 10 e 11, que foi empregada na análise das amostras de leite cru refrigerado realizadas neste trabalho. A outra mistura (*pool*) contendo apenas os agrotóxicos descritos na Tabela 11, foi empregada nos estudos de validação para ampliação do escopo do método.

Para o preparo destes dois *pools*, transferiu-se o volume adequado de cada solução estoque, para um balão volumétrico de 100 mL, contendo um pequeno volume de acetonitrila, sendo, posteriormente, o volume completado com este mesmo solvente. O *pool* assim obtido foi armazenado em frascos âmbar (tampa contendo batoque de PTFE), com capacidade de 40 mL, rotulados de forma indelével.

Esses *pools* foram utilizados para os ensaios de fortificação e construção das curvas analíticas de cada composto através de sua diluição, nas concentrações de 0,5; 1,0, 4,0 e 8,0 ng.L<sup>-1</sup> (estabilidade de cerca de três anos).

Todos os *pools* foram preparados em acetonitrila e armazenadas em *freezer* a -20°C. Antes da utilização dos mesmos, estes foram retiradas do *freezer*, deixados para atingir a temperatura ambiente e em seguida, agitados para completa homogeneização.

#### 4.1.5 Ensaios de fortificação e extração com o Método QuEChERS para avaliação da recuperação

A exatidão foi investigada por meio da média de recuperação obtida para as seis replicatas de amostras adicionadas em cada nível de concentração para os analitos descritos na Tabela 11. Os critérios adotados para considerar os resultados como satisfatórios foram recuperações de 70 % a 120 % (SANTE, 2015). Este procedimento de fortificação foi realizado em seis replicatas (n = 6), para cada nível de fortificação, respectivamente, 10 e 100 µg.kg<sup>-1</sup>.

Para tanto, mediu-se 10,00 ± 0,01 mL de leite, diretamente em tubos de PTFE com tampa rosqueada (capacidade de 50 mL), e logo após, efetuou-se a fortificação, utilizando-se micropipetas calibradas, conforme descrito na Tabela 12.

**Tabela 12.** Volume de *pool* a ser adicionado às amostras de leite isentas de resíduos de agrotóxicos a serem empregados nos ensaios de recuperação, de acordo com o nível de concentração desejado e a concentração do *pool*

Nível de fortificação (µg.L <sup>-1</sup> )	Volume de amostras amostra (mL)	Conc. do pool (ng/mL)	Volume adicionado do pool (µL)
10	10	4,0	25
100	10	8,0	125

Após as fortificações, os tubos foram tampados e levados ao banho ultrasônico por 10 min. Para garantir a completa absorção dos agrotóxicos pela matriz. Após este período, adicionaram-se,

---

utilizando-se um *dispenser*, 10 mL de acetonitrila contendo 1% de ácido acético, em cada tubo, e após fechá-los efetuou-se agitação em vortex (3000 rpm, 1 min). Em seguida, acrescentaram-se 4,0g de sulfato de magnésio e 1,0 g de acetato de sódio (cuidou-se para que estes sólidos não ficassem nas bordas superiores dos tubos, prejudicando o contato com o líquido). Repetiram-se as agitações, assegurando-se da completa interação entre o extrato líquido e os reagentes sólidos.

Os ensaios foram repetidos mais duas vezes, por pelo menos dois analistas diferentes, a fim de permitir a determinação de precisão intermediária e reprodutibilidade do método, totalizando três dias de validação.

#### 4.1.6 Preparação dos extratos para a construção da curva analítica

Para a construção da curva analítica foram injetados sete níveis de concentração em seis replicatas cada correspondendo respectivamente a 5,0; 7,5; 10,0; 25; 50; 75 e 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ .

Foram empregados na construção da curva analítica dez extratos brancos obtidos conforme descrito, exceto pela não adição de padrões antes do procedimento de extração.

Todas as soluções foram preparadas de maneira independente. Alíquotas de 1,00 mL do extrato branco foram transferidas para microtubos de centrífuga (Ependorf®) de 2,5 mL e evaporadas até cerca de 0,5 mL utilizando centrífuga de evaporação, a uma temperatura não superior a 35 °C. A cada alíquota foi adicionado o volume requerido de solução padrão para a obtenção de uma curva matrizada (curva na qual os padrões de agrotóxicos são adicionados ao extrato de matriz isenta de resíduos) nos níveis mostrados na Tabela 13. O volume final foi completado para 1,0 mL com extrato branco de matriz. Todos os níveis foram preparados em seis replicatas, com duas leituras por nível, totalizando doze leituras por nível de concentração da curva analítica.

**Tabela 13.** Preparo da curva de calibração matrizada para quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite

Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Volume final solução (mL)	Conc. do pool (ng/ $\mu\text{L}$ )	Vol. sol. padrão adicionada ( $\mu\text{L}$ )
5,0	1,00	1	50
7,5	1,00	1	75
10,0	1,00	1	100
25,0	1,00	8	31,3
50,0	1,00	8	62,5
75,0	1,00	8	93,8
100,0	1,00	8	125

Fonte: Oliveira (2011)

A qualidade do ajuste das curvas de calibração ao modelo matemático da regressão foi verificada pela análise dos resíduos e pela aplicação na Análise de Variância aos resíduos da regressão.

O exame dos resíduos é fundamental para que se possa avaliar a qualidade do ajuste do modelo selecionado. Os resíduos devem ser os menores possíveis, pois, valores elevados para os resíduos indicam que provavelmente o modelo aplicado para o ajuste da curva analítica não é adequado. No modelo ideal, todas as predições coincidiriam com as respostas observadas e não haveria resíduo algum (Sampaio, 2007; Neto et al, 2010).

Segundo Sampaio (2007) e Neto e colaboradores (2010), o método mais empregado para se avaliar a qualidade do ajuste de um modelo é a Análise de Variância (*Analysis of Variance* - ANOVA). O teste é feito através do cálculo da razão das médias quadráticas, ou seja,

$$F_{(m-p);(n-m)} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$$

e compara-se o valor obtido com o valor de referência,  $F_{\text{tabelado}} = F_{(m-p);(n-m)}$

para o nível de significância de 5%. Se  $F_{\text{calculado}} \leq F_{\text{tabelado}}$ , aceita-se a linearidade, ou seja, o ajuste do modelo é considerado satisfatório. Caso contrário, novo modelo para o ajuste deverá ser proposto. Por exemplo, ajustes polinomiais.

As tabelas de ANOVA comuns em diversos tipos de estudos estatísticos, e frequentemente incorporadas nos programas dedicados à regressão e nas folhas de cálculo que incluem este tipo de estudos seguem normalmente a organização dos valores indicada na Tabela 14.

**Tabela 14.** Tabela de ANOVA para o ajuste pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear dos parâmetros

Fonte de variação	Nº de graus de liberdade	Soma quadrática	Média quadrática	F
Regressão	$p - 1$	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	$MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$	$F_{(p-1);(n-p)} = \frac{MQ_R}{MQ_r}$
Resíduos	$n - p$	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$	
Falta de ajuste	$m - p$	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$	$F_{(m-p);(n-m)} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$
Erro puro	$n - m$	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$	
<b>Total</b>	<b><math>n - 1</math></b>	<b><math>SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2</math></b>		

$n_i$  = número de repetições do nível  $i$ ;

$m$  = número de níveis distintos da variável independente;

$n = \sum n_i$  = número total de observações ;

$p$  = número de parâmetros do modelo.

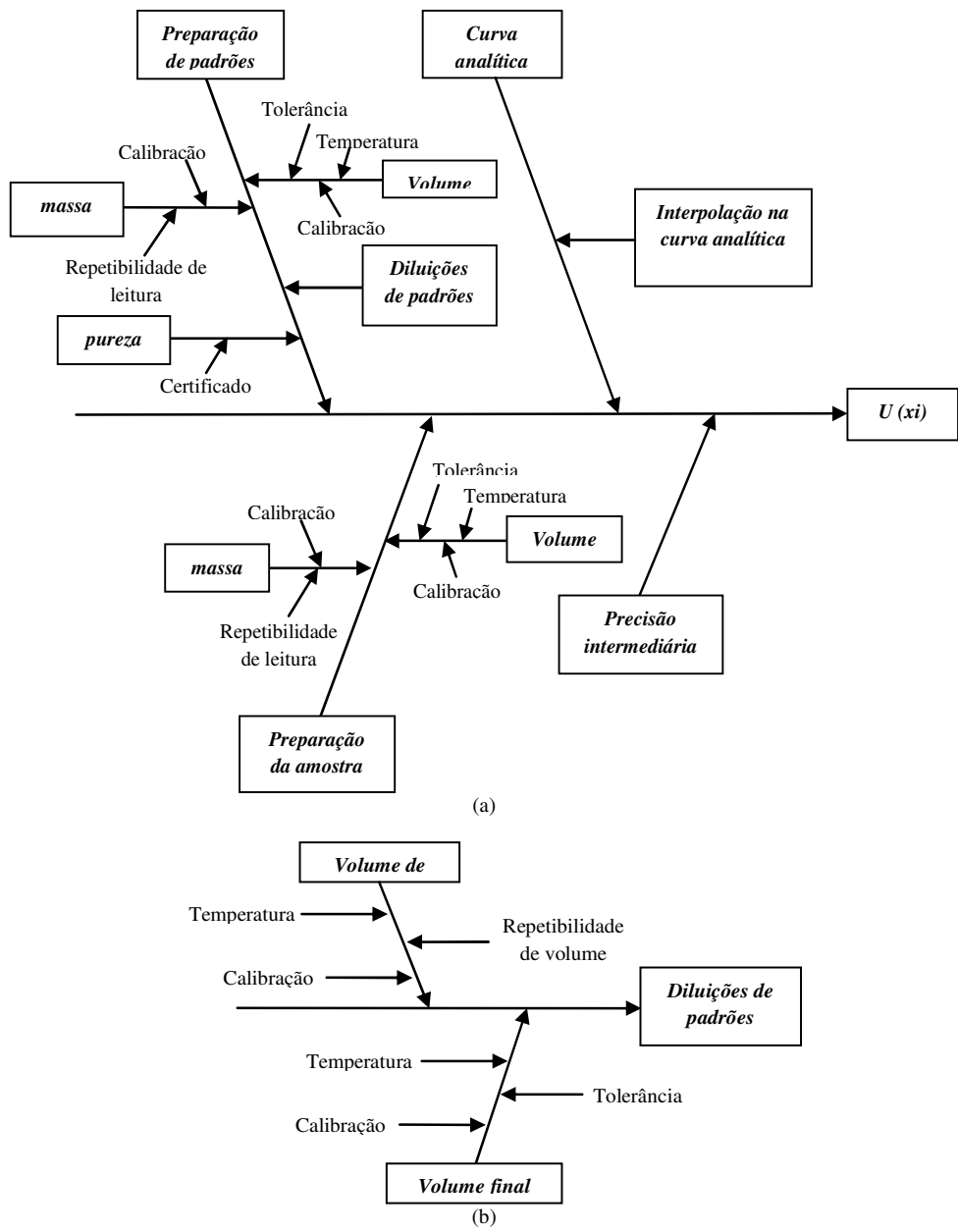
---

#### **4.1.7 Determinação da incerteza de medição**

Os ensaios de quantificação da incerteza de medição associada à determinação/quantificação de cada analito foram realizados pelo tratamento dos dados gerados pelos três dias de validação. Preliminarmente foram levantadas, via diagrama de causa e efeito, ou diagrama de Hishikawa, Figura 8 (EURACHEM/CITAC, 2012), as principais fontes de incerteza do método. Baseando-se nos parâmetros levantados pelo diagrama de causa e efeito, os dados dos ensaios de validação foram tratados e a incerteza de medição do método determinada para cada agrotóxico individualmente.

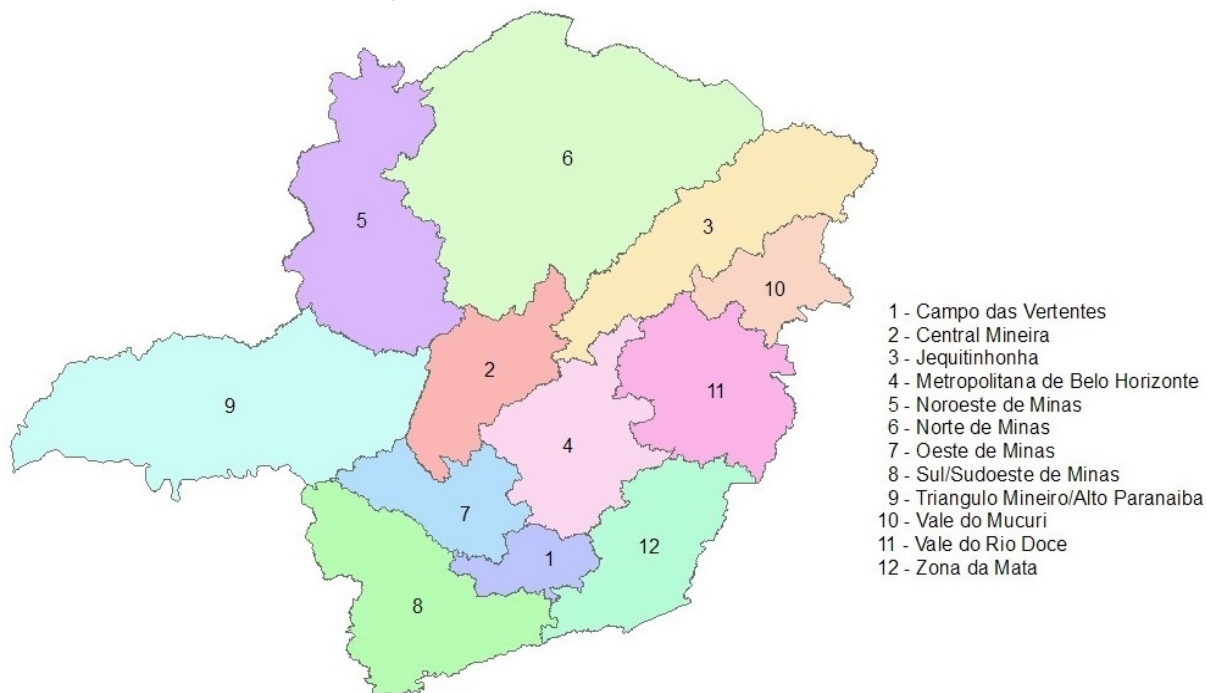
#### **4.2 Amostragem e análise do leite**

Neste estudo foram coletadas amostras de leite oriundas das 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais, conforme IBGE (Figura 9).



**Figura 8.** Diagrama de causa e efeito com levantamento das principais fontes de incerteza (a), detalhamento das fontes de incerteza presentes na diluição dos padrões (b).

**Figura 9.** Mesorregiões de Minas Gerais de acordo com critérios do IBGE



**Fonte:** SEAPA-MG (2015)

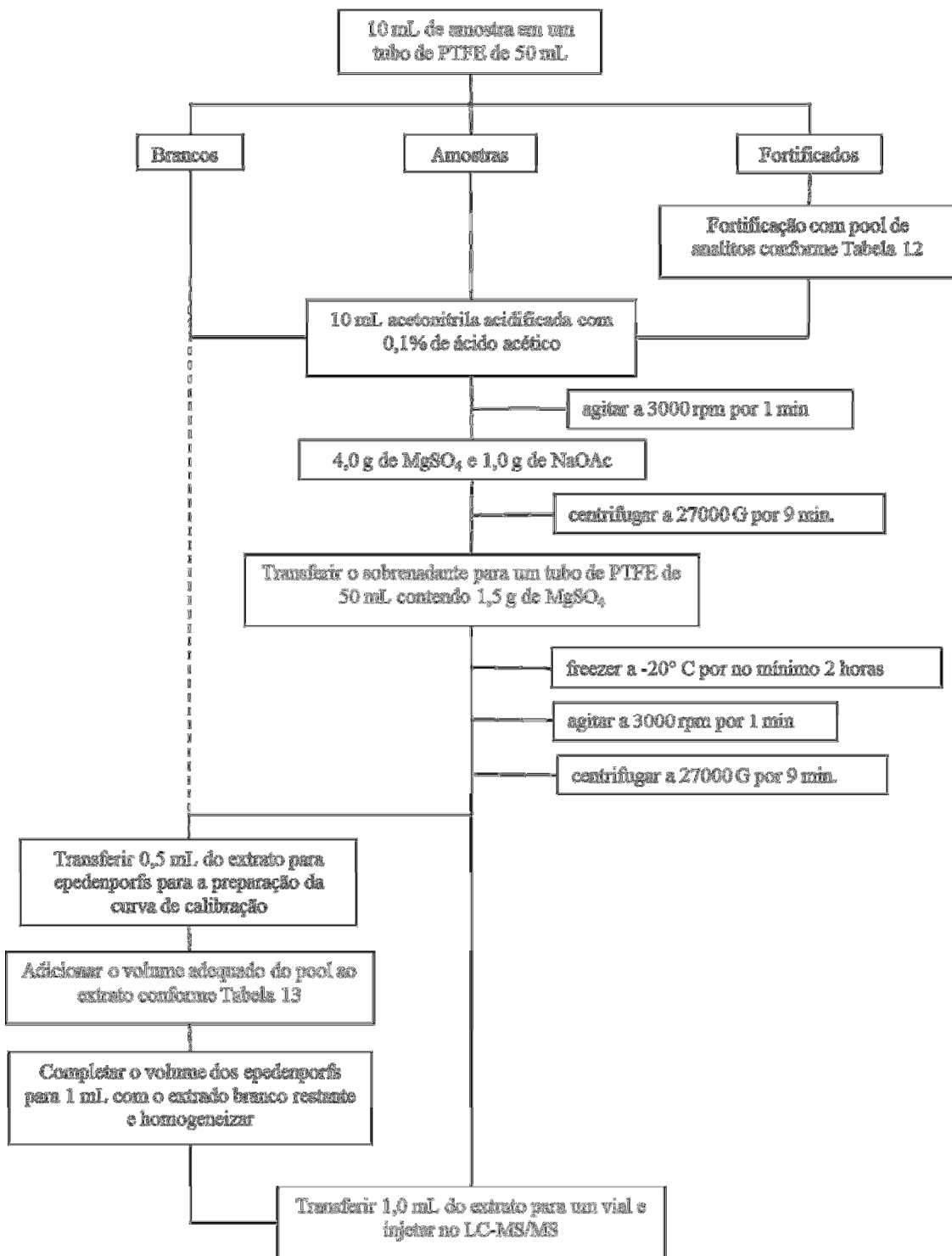
Foi definido, estatisticamente, com base no número de detecções de resíduos de agrotóxicos estimadas pela análise de 30 amostras de leite, em um “piloto”, um número mínimo de 60 amostras de leite por mesorregião.

As amostras foram preparadas, extraídas e analisadas segundo os procedimentos validados (Oliveira, 2011). O diagrama apresentado da Figura 10 resume a marcha analítica à qual as amostras foram submetidas nas concentrações 10 e 100  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , correspondendo respectivamente ao limite de quantificação (LQ) do método e ao maior nível de concentração da curva de calibração.

- Uma amostra controle (branco) isenta de resíduos de agrotóxicos constituintes do método validado.
- Amostras extraídas em duplicata de acordo com a metodologia validada.

Todo o lote de amostras, incluindo a curva de calibração, os brancos e os QCs foram injetados em ordem aleatória para evitar possíveis erros oriundos de *carry over*.

**Figura 10.** Marcha analítica do método de extração QuEChERS modificado e validado por Oliveira (2011), aplicada as amostras de leite cru nos estudos de validação e de frequência de contaminação do leite, seguido pela análise instrumental no sistema LC-MS/MS



Todas as violações foram confirmadas pela presença das duas transições selecionadas para a detecção e quantificação dos agrotóxicos e pela razão de íons entre a primeira e segunda transições (SATRE, 2015), garantindo assim a identificação inequívoca do agrotóxico na amostra, confirmando sua presença em casos qualitativos ou, permitindo a quantificação onde aplicável.

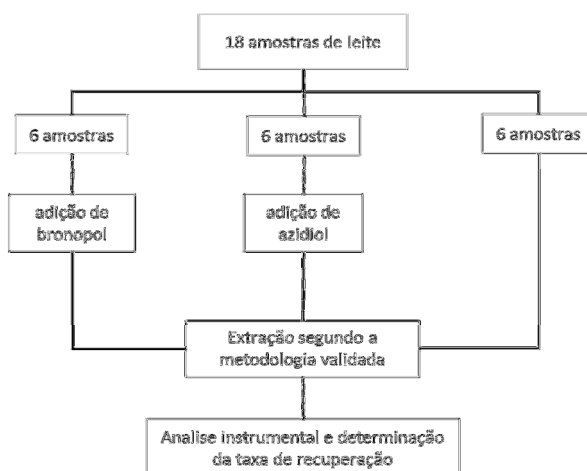
#### 4.3 Avaliação de efeito de conservantes às amostras de leite cru sobre os resultados das análises

As amostras de leite utilizadas neste trabalho foram obtidas do LabUFMG (Laboratório de Análise da Qualidade do Leite) da Escola de Veterinária da UFMG e da Universidade Federal de Viçosa. Todas as amostras coletadas continham os conservantes, bronopol (2-bromo-2nitropropano-1,3diol) para amostras destinadas às análises de composição química e de contagem de células somáticas (CCS) ou azidiol (azida sódica 0,1% e cloranfenicol), para amostras destinadas à análise de contagem bacteriana total (CBT). Estes foram adicionados às amostras, visando manter a integridade das mesmas desde a coleta até sua análise.

Devido à presença de conservantes nas amostras, antes de iniciar as análises de leite cru refrigerados, foi realizado um pequeno ensaio para determinar se os conservantes adicionados ao leite teriam alguma influência sobre a análise de resíduos.

Para tanto, foram fortificadas 18 amostras de leite cru, obtidas no Laboratório de Produtos de Origem Animal (POA) do Lanagro-MG, divididas em três grupos de seis amostras cada. Um dos grupos foi composto de amostras isentas de resíduos de agrotóxicos, grupo controle. Outro composto por amostras de leite nas quais foi adicionado bronopol e o terceiro grupo, composto por amostras de leite adicionadas de azidiol. Todas as amostras foram fortificadas no nível  $10\mu\text{g.L}^{-1}$ , com o *pool* de agrotóxicos constituintes do método (Tabelas 10 e 11). As amostras foram extraídas, de acordo com o fluxograma descrito na Figura 10 e analisadas, por LC-MS/MS, para a avaliação do efeito dos conservantes sobre o método conforme planejamento descrito na Figura 11.

**Figura 11.** Planejamento e execução do ensaio para avaliação dos efeitos dos conservantes bronopol e azidiol na análise de resíduos de agrotóxicos em leite empregando o método QuEChERS de extração



#### 4.4 Análise multivariada de correspondência múltipla

Na análise estatística dos dados produzidos neste trabalho foi empregada a técnica de análise multivariada de correspondência múltipla. Os dados foram tratados no *software* InfoStat (Di Rienzo et al., 2015), onde foram geradas as tabelas de contribuições para Chi-quadrado de cada variável e os *mapas perceptuais*.

Foram selecionadas para a análise estatística, além das variáveis mesorregião e frequência de ocorrência de contaminações em relação ao número de amostras analisadas por mesorregião, outras seis variáveis que se julgou terem influência na ocorrência de contaminações como: produto interno bruto (PIB) de cada mesorregião, produção total de leite, número de vacas ordenhadas e média de produção de leite por vaca/ano por mesorregião. Os dados relativos a cada uma das variáveis selecionadas foram obtidos da base de dados de IBGE (2014 a, b). Foi ainda avaliada a influência da época de coleta das amostras, se primavera, verão, outono ou inverno, sobre a ocorrência de contaminações das amostras de leite cru refrigerado por resíduos de agrotóxicos, por mesorregião do estado de Minas Gerais. As variáveis contínuas selecionadas e seus valores por mesorregião são apresentadas na Tabela 15.

**Tabela 15.** Número de amostras de leite cru refrigerado analisadas, valores de PIB, produção de leite, número de vacas ordenhadas, média de produção por vaca por mesorregião do estado de Minas Gerais.

Mesorregião	Número de amostras analisadas	PIB em mil reais	Produção de leite (mil L)	Número de vacas ordenhadas	Média de produção de leite por vaca (L / vaca / ano)
Noroeste de Minas	84	8.186.137	549.782	262.952	2.091
Norte de Minas	63	16.455.965	397.780	446.693	890
Jequitinhonha	60	5.100.202	154.663	258.258	599
Vale do Mucuri	65	3.508.402	189.177	267.847	706
Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba	66	63.507.374	2.335.167	1.306.768	1.787
Central Mineira	62	6.250.294	851.637	398.530	2.137
Metropolitana de BH	112	174.508.252	645.993	354.026	1.825
Vale do Rio Doce	84	22.437.974	750.554	596.953	1.257
Oeste de Minas	76	15.996.576	742.298	381.831	1.944
Sul / Sudoeste de Minas	16	49.617.024	1.531.150	906.893	1.688
Campo das Vertentes	64	7.752.889	357.508	172.408	2.074
Zona da Mata	75	30.230.229	803.456	497.578	1.615
<b>Totais</b>	<b>827</b>	<b>403.551.318</b>	<b>9.309.165</b>	<b>5.850.737</b>	<b>1.591</b>

A estas variáveis, foram adicionadas as frequências de contaminação por resíduos de agrotóxicos obtidas após a análise das amostras de leite cru refrigerado, coletadas para cada uma das doze mesorregiões de Minas Gerais e a época de coleta das amostras.

Para facilitar a análise, devido ao grande número de dados envolvidos e a presença tanto de dados contínuos quanto categóricos, as variáveis após tabuladas por amostra/mesorregião foram

categorizadas de acordo com os critérios definidos nas Tabelas 16 e 17. Os critérios de categorização foram estabelecidos de maneira a serem o mais equitativo possível, considerando o perfil de cada variável e seu possível impacto sobre a análise. Algumas variáveis foram divididas em apenas quatro categorias, considerada, a melhor abordagem diante do perfil dos dados.

**Tabela 16.** Critérios de categorização das variáveis contínuas: frequência de contaminações, PIB e produção de leite

Categorias	Frequência de contaminações em relação ao número de amostras analisadas por mesorregião		PIB (mil Reais)		Produção de leite (mil L)	
	Critério	Categoria	Critério	Categoria	Critério	Categoria
1	$f \leq 40\%$	Frequência baixa (FBa)	$\leq 6.000.000$	MUITO BAIXO	Prod. $\leq 200.000$	Produção muito baixa (PMB)
2	$40\% < f \leq 60\%$	Frequência mediana (FMe)	$6.000.000 < \text{PIB} \leq 10.000.000$	BAIXO	$200.000 < \text{Prod} \leq 500.000$	Produção baixa (PB)
3	$60\% < f \leq 80\%$	Frequência alta (FAI)	$10.000.000 < \text{PIB} \leq 30.000.000$	MÉDIO	$500.000 < \text{Prod} \leq 750.000$	Produção mediana (PM)
4	$f < 80\%$	Frequência muito alta (FMAI)	$30.000.000 < \text{PIB} \leq 70.000.000$	ALTO	$750.000 < \text{Prod} \leq 1.000.000$	Produção elevada (PE)
5	-----	-----	$70.000.000 < \text{PIB}$	MUITO ALTO	$1.000.000 < \text{Prod}$	Produção muito elevada (PME)

**Tabela 17.** Critérios de categorização das variáveis contínuas: número de vacas ordenhadas e média de produção de leite por vaca

Categorias	Número de vacas ordenhadas		Média de produção (leite / vaca / ano)	
	Critério	Categoria	Critério	Categoria
1	$n^\circ \text{ vacas} \leq 200.00$	Número de vacas muito baixo (NVOmb)	$\text{Média} \leq 750$	muito baixa (m_baix)
2	$200.000 < n^\circ \text{ vacas} \leq 300.000$	Número de vacas baixo (NVOb)	$750 < \text{Média} \leq 1300$	baixa
3	$300.000 < n^\circ \text{ vacas} \leq 400.000$	Número de vacas médio (NVOm)	$1300 < \text{Média} \leq 1850$	Mediana (med)
4	$400.000 < n^\circ \text{ vacas} \leq 600.000$	Número de vacas alto (NVOa)	$1850 < \text{Média} \leq 2400$	alta
5	$600.000 < n^\circ \text{ vacas}$	Número de vacas muito alto (NVOma)	-----	-----

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Otimização do sistema de detecção de massas LC-MS/MS para os novos analitos a serem incluídos no escopo do método

A etapa inicial da infusão consistiu na determinação do íon precursor (íon pai) para cada um dos 45 padrões de agrotóxicos a serem avaliados no estudo de validação da ampliação do escopo do método. Este íon é obtido através da formação de um aduto entre a molécula neutra do agrotóxico e um dos seguintes íons  $H^+$  ou  $NH_4^+$ , em modo ESI+, gerando uma espécie carregada de massa igual a massa molecular do agrotóxico somada à massa do íon  $[M + \text{massa do íon}]^{+ \text{ ou } -}$ . A seleção do íon precursor foi baseada na intensidade do mesmo em um espectro de massas em “full scan” obtido no primeiro quadrupolo (Q1). Neste experimento foram estabelecidos os valores da energia de declusterização (DP) característica de cada composto.

Os íons produzidos pela fragmentação do íon precursor no segundo quadrupolo (Q2), íons produto, foram otimizados em modo semiautomático no qual foram selecionados os cinco íons mais intensos. Cada um dos íons foi otimizado em relação à energia de colisão (CE) e ao potencial de saída da célula de colisão (CXP), que são responsáveis pela ótima fragmentação do íon pai no Q2 e sua posterior passagem pelo terceiro quadrupolo (Q3). Os resultados experimentais obtidos para os valores de DP, CE e CXP para cada um dos agrotóxicos infundidos são apresentados na Tabela 18.

**Tabela 18.** Tempos de retenção e condições instrumentais otimizadas DP, CE e CXP para as transições MRM (1ª transição/quantificadora e a 2ª transição/qualificadora) utilizadas no desenvolvimento e validação do método

Composto	TR (min.)	Íon precursor	Tipo de íon	Íon Produto	DP (V)	CE (MR1, MR2) (V)	CXP (MR1, MR2) (V)
1 Alacloro	5,66	270,11	$[M + H]^+$	238,0 / 162,1	76	(15, 27)	(22, 14)
2 Aletrina	8,29	303,1	$[M + H]^+$	135,1 / 91,1	106	(17, 55)	(12, 8)
3 Ametrina	4,30	228,0	$[M + NH_4]^+$	186 / 116	71	(25, 35)	(16, 10)
4 Avermectina B1a	10,56	890,5	$[M + H]^+$	305,2 / 145,1	91	(33, 53)	(28, 28)
5 Bitertanol	6,90	338,1	$[M + H]^+$	269,1 / 99	51	(13, 21)	(24, 10)
6 Bupropenzina	8,24	306,3	$[M + H]^+$	201,1 / 116	56	(17, 21)	(18, 10)
7 Cadusafós	7,27	271,1	$[M + H]^+$	159 / 215	76	(13, 15)	(18, 14)
8 Carpropamida	6,41	333,9	$[M + H]^+$	139 / 103	81	(25, 59)	(12, 10)
9 Cialofope Butil	7,51	375,1	$[M + H]^+$	256 / 120	61	(23, 41)	(22, 10)
10 Ciflufenamida	7,13	413,1	$[M + H]^+$	294,9 / 241	56	(21, 31)	(26, 22)
11 Cipermetrina	9,64	433,1	$[M + NH_4]^+$	190 / 193	66	(21, 21)	(16, 18)
12 Clofentézina	6,92	303,3	$[M + H]^+$	137,9 / 102	21	(21, 53)	(12, 8)
13 Clortiofós	8,9	360,9	$[M + H]^+$	304,8 / 192	86	(23, 39)	(28, 16)
14 Dicrotofós	0,71	238,1	$[M + H]^+$	112 / 193	71	(17, 13)	(10, 18)
15 Diflufenicam	7,49	395,0	$[M + H]^+$	266 / 246	141	(31, 51)	(24, 22)
16 Dimetoato	0,90	230	$[M + H]^+$	125 / 198,8	71	(31, 13)	(12, 12)
17 Dimetomorfe	4,92	388,1	$[M + NH_4]^+$	300,9 / 165,1	66	(29, 43)	(26, 14)
18 Diurom	3,11	233,1	$[M + H]^+$	71 / 159,9	81	(23, 35)	(8, 14)
19 Dodemorfe	10,77	281,7	$[M + H]^+$	116,1 / 98,1	51	(29, 35)	(10, 10)
20 Epoxiconazol	5,6	330,5	$[M + NH_4]^+$	121 / 101	66	(27, 65)	(10, 100)
21 Etiofencarbe sulfona	0,75	275,0	$[M + H]^+$	107 / 201	51	(29, 15)	(10, 18)
22 Etiofencarbe sulfóxido	0,78	242,1	$[M + H]^+$	107 / 185	66	(25, 11)	(10, 16)

Composto	TR (min.)	Íon precursor	Tipo de íon	Íon Produto	DP (V)	CE (MR1, MR2) (V)	CXP (MR1, MR2) (V)	
23	Etiprole	4,47	397,0	[M + H] <sup>+</sup>	350,9 / 254,9	156	(29, 47)	(30, 22)
24	Fenazaquina	9,71	307,2	[M + H] <sup>+</sup>	57 / 91	66	(37, 87)	(14, 34)
25	Fenpiroximato	9,26	422,1	[M + H] <sup>+</sup>	366,1 / 135	81	(25, 41)	(34, 12)
26	Flazassulfurom	1,12	408,1	[M + H] <sup>+</sup>	182 / 301	71	(27, 19)	(16, 26)
27	Fluzilazol	5,96	316,0	[M + H] <sup>+</sup>	247 / 165,1	86	(37, 27)	(14, 12)
28	Fosfamidona	1,42	300,0	[M + H] <sup>+</sup>	127 / 226,9	91	(27, 19)	(12, 20)
29	Metiocarbe	4,26	226,1	[M + H] <sup>+</sup>	169,1 / 121,1	76	(13, 25)	(14, 10)
30	Metiocarbe sulfóxido	0,80	242,1	[M + H] <sup>+</sup>	185,1 / 122,1	81	(19, 39)	(16, 12)
31	Metoxifenozida	4,99	369,1	[M + H] <sup>+</sup>	149 / 313,1	71	(14, 28)	(22, 14)
32	Nuarimol	4,28	314,9	[M + H] <sup>+</sup>	252 / 81,1	81	(22, 8)	(26, 10)
33	Paclobutrazol	4,79	294,1	[M + H] <sup>+</sup>	70,1 / 125 / 70	81	(55, 55, 57)	(6, 12, 6)
34	Paraoxon etil	2,89	276,0	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	220 / 174	81	(21, 33)	(20, 16)
35	Piraclofós	6,93	361,0	[M + H] <sup>+</sup>	256,9 / 111	111	(31, 81)	(24, 10)
36	Pirifitalida	3,89	318,9	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	139 / 220,1	96	(37, 33)	(12, 40)
37	Pirimetamina	2,17	249,1	[M + H] <sup>+</sup>	176,9 / 198	121	(14, 16)	(28, 28)
38	Quizalofope p-etil	7,86	373,0	[M + H] <sup>+</sup>	299 / 271	151	(27, 35)	(26, 22)
39	Sulfotepe	6,30	322,9	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	96,9 / 171	91	(10, 16)	(16, 26)
40	Tebufempirade	8,14	334,1	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	145,1 / 117,1	111	(39, 67)	(4, 6)
41	Temefós	8,19	466,9	[M + H] <sup>+</sup>	418,9 / 125	86	(25, 41)	(34, 12)
42	Terrbufós	8,00	288,9	[M + H] <sup>+</sup>	57,1 / 103,1	71	(31, 13)	(8, 10)
43	Tetraconazol	5,54	371,9	[M + H] <sup>+</sup>	159 / 161	101	(39, 39)	(14, 14)
44	Triciclazol	1,17	190,0	[M + H] <sup>+</sup>	163 / 136	61	(31, 39)	(14, 12)
45	Triticonazol	5,54	318,1	[M + H] <sup>+</sup>	70 / 69,9	71	(43, 43)	(12, 12)

**TR:** tempo de retenção

**MRM:** multiple reaction monitoring

**DP:** declustering potential

**CE:** collision energy

**CXP:** cone extraction potential

Os parâmetros otimizados para as condições de operação da fonte ESI foram estabelecidos através do experimento FIA: voltagem do capilar de electrospray (IS) 5500 V; curtain gas 20 psi; gás nebulizador (GS 1) 30 psi; gás auxiliar (GS 2) 30 psi, temperatura da probe de 550 °C e potencial de entrada (EP) 10 V. O gás de colisão (CAD) foi otimizado em 8 psi.

O número de transições m/z para cada composto deve ser tal que permita a identificação inequívoca do mesmo. A Diretiva 2002/657 (DIRECTIVE 657, 2002) estabelece um sistema de pontuação, quando se emprega a técnica de detecção de íons por MRM em espectrometria de massas, que leva em consideração o número de íons gerados de acordo com a técnica empregada. Para a LC-MS/MS é atribuído 1,0 ponto para cada íon precursor e 1,5 pontos para cada íon protudo selecionado. A diretiva estabelece ainda que deve-se atingir um número mínimo de 4 pontos de identificação para garantir a confiabilidade dos resultados analíticos.

Desta forma, foram selecionados, no mínimo, um íon precursor e dois íons produto para cada um dos compostos estudados. Um número maior de transições m/z poderia ser selecionado, somando mais pontos de identificação por agrotóxico, contudo, este procedimento comprometeria a resolução do sinal já que o sistema de detecção estaria monitorando um número elevado de transições em um pequeno intervalo de tempo. Assim, a escolha de duas transições derivadas de um íon precursor permite otimizar o sistema de detecção de massas e a resolução dos sinais.

## 5.2 Extensão de escopo e validação dos novos analitos incluídos no método

Após o estabelecimento das condições de detecção pelo espectrômetro de massas, foram iniciados os trabalhos de ampliação do escopo da metodologia analítica com a utilização do *pool* de trabalho contendo todos os analitos listados na Tabela 18.

Os resultados obtidos em cada uma das etapas de validação serão discutidos nos itens subsequentes. Todo o tratamento estatístico dos dados oriundos dos experimentos de validação foi realizado em planilha do Excel® desenvolvida para este fim.

A avaliação dos parâmetros de desempenho estudados durante a validação, descritos na Tabela 8, bem como a breve descrição dos critérios de aceitabilidade destes são resumidos na Tabela 19. Os critérios de aceitabilidade para os parâmetros avaliados foram os mesmos estabelecidos por Oliveira (2011) na validação original do método.

**Tabela 19.** Parâmetros (figuras de mérito) avaliados na validação da extensão de escopo do método validado por Oliveira (2011), critérios de aceitabilidade e resumo dos resultados dos ensaios de validação

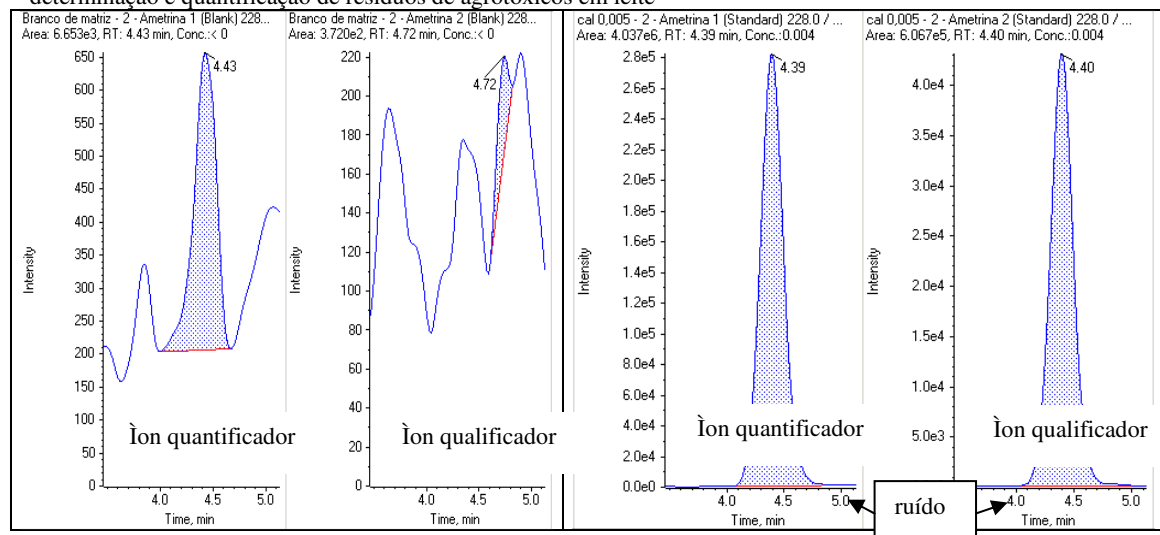
Parâmetro (figura de mérito)	Crítérios de aceitabilidade	Resultados
<b>Especificidade / Seletividade</b>	Ausência de sinais provenientes de compostos interferentes da matriz no mesmo tempo de retenção dos analitos, considerando as respectivas transições m/z, e razão sinal/ruído (S/R) > 3:1 para as duas transições monitoradas.	Para todos os agrotóxicos estudados não houve interferentes co-eluinto com as transições selecionadas e obteve-se razão S/R > 3:1 no menor nível calibrado.
<b>Linearidade</b>	Apresentar ajuste e regressão significativos para o modelo definido, após eliminação de <i>outliers</i> , aplicação de ANOVA aos resíduos da regressão e valor de R <sup>2</sup> adequado de acordo com teste específico.	Todos os analitos validados satisfizeram os critérios de aceitabilidade.
<b>Limite de detecção (LD)</b>	Transições devem apresentar razão S/R > 3:1 e, nos níveis de calibração de 5,0 e 7,5 µg.L <sup>-1</sup> não pode haver falso negativo ou falso positivo.	Todas as amostras satisfizeram os requisitos no nível de concentração 5,0 µg.L <sup>-1</sup> . Assim foi estabelecido o LD = 5,0 µg.L <sup>-1</sup> .
<b>Limite de quantificação (LQ)</b>	Menor concentração na qual é possível detectar e quantificar o analito com recuperações dentro da faixa de 70 a 120% e CV% ≤ 20%. Os ensaios foram realizados usando o mesmo LQ da validação original.	As amostras que satisfizeram os requisitos para validação no método quantitativo, apresentaram LQ = 10,0 µg.L <sup>-1</sup> .
<b>Precisão intermediária</b>	Apresentar CV% ≤ 20% nos ensaios de recuperação, para a transição de quantificação, ao final dos três dias de ensaio.	Todos os analitos validados no método quantitativo, apresentaram precisão satisfatória (Tabela 20).
<b>Exatidão</b>	Atingir recuperações dentro do intervalo de 70 a 120%.	Para a maioria dos analitos validados as Rec% encontram-se dentro do intervalo estabelecido (Tabela 20).
<b>Incerteza de medição</b>	Estimativa da incerteza de medição, para a incerteza expandida U(%) < 50%.	A maioria dos analitos satisfaz o critério de aceitabilidade (Tabela 20).

### 5.2.1 Avaliação da seletividade / especificidade do método

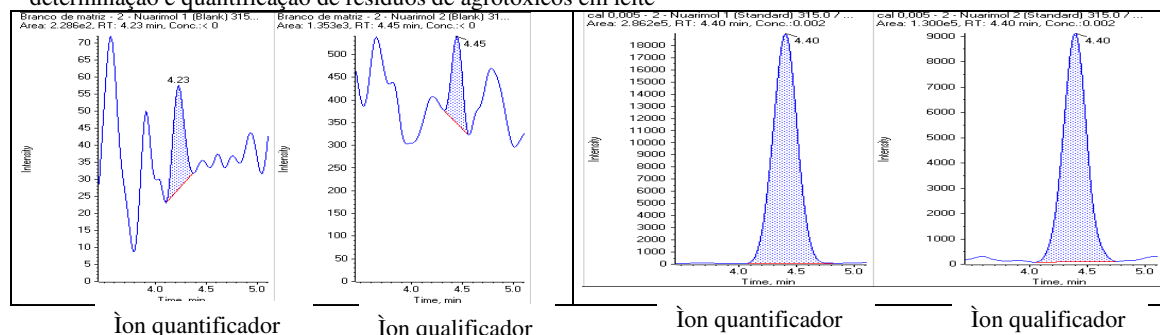
A seletividade/especificidade do método para determinação de resíduos de agrotóxicos em leite foi avaliada através da análise dos cromatogramas obtidos para amostras controle (isentas de resíduos de agrotóxicos), denominadas brancos de matriz e amostras da curva de calibração na concentração de 5,0 mg.L<sup>-1</sup> (5 µg.L<sup>-1</sup>). As Figuras 12 e 13 apresentam os cromatogramas, das

transições de quantificação e qualificação, obtidos para os brancos e o nível 5 µg.L<sup>-1</sup> da curva de calibração, para os agrotóxicos ametrina e nuarimol, durante os ensaios de validação da ampliação de escopo do método.

**Figura 12.** Cromatogramas das transições de quantificação e qualificação do analito ametrina, nos brancos e nível 5µg.L<sup>-1</sup> da curva de calibração obtidos dos ensaios de validação da ampliação do escopo do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite



**Figura 13.** Cromatogramas das transições de quantificação e qualificação do analito nuarimol, nos brancos e nível 5µg.L<sup>-1</sup> da curva de calibração obtidos dos ensaios de validação da ampliação do escopo do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite



A análise das Figuras 12 e 13 revela que o método é específico/seletivo, como revelam os cromatogramas das transições de quantificação e qualificação para os agrotóxicos, o método é capaz de discriminar entre os agrotóxicos analisados e substâncias análogas (produtos de degradação, componentes da matriz, isôbaros e componentes que possam gerar interferência poliômica), não apresentando sinais de intensidade significativa nas amostras de brancos de matriz destes agrotóxicos para as duas transições estudadas - a de quantificação e a de qualificação - e razão sinal ruído superior a 3:1 para as amostras do nível 5 µg.L<sup>-1</sup> da curva de calibração.

## 5.2.2 Avaliação da linearidade e das curvas de calibração

As Figuras 14 e 15 apresentam os resultados dos testes de qualidade do ajuste realizados automaticamente pela planilha de Excel® desenvolvida pelo autor, no Laboratório de Pesticidas do Lanagro-MG, para os agrotóxicos ametrina e nuarimol, aplicados aos dados de validação da ampliação de escopo do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite.

**Figura 14.** Imagem em *print screen* do teste de qualidade do ajuste da regressão realizado pela planilha de validação, para o agrotóxico ametrina, nos ensaios de validação do método de determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite

ANOVA DA REGRESSÃO					
Fonte de variação	Grau de liberdade	SQ	MQ	F <sub>teste</sub>	F <sub>crítico</sub>
Regressão	1	9,0404E+14	9,0404E+14	4346,1931	4,1960
Resíduos	28	5,8242E+12	2,0801E+11		
Falta de ajuste	3	4,5012E+11	1,5004E+11	0,7259	2,9752
Erro puro	26	5,3741E+12	2,0670E+11		
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>9,0986E+14</b>			
Qualidade do ajuste: Significância da regressão:		<b>Ajuste significativo</b> <b>Regressão significativa</b>			
Teste t para o Coeficiente de Correlação					
t <sub>crítico</sub> =	<b>1,7011</b>	t <sub>teste</sub> =	65,9257		
R <sup>2</sup>	<b>Adequado</b>				

**Figura 15.** Imagem em *print screen* do teste de qualidade do ajuste da regressão realizado pela planilha de validação, para o agrotóxico nuarimol, nos ensaios de validação do método de determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite

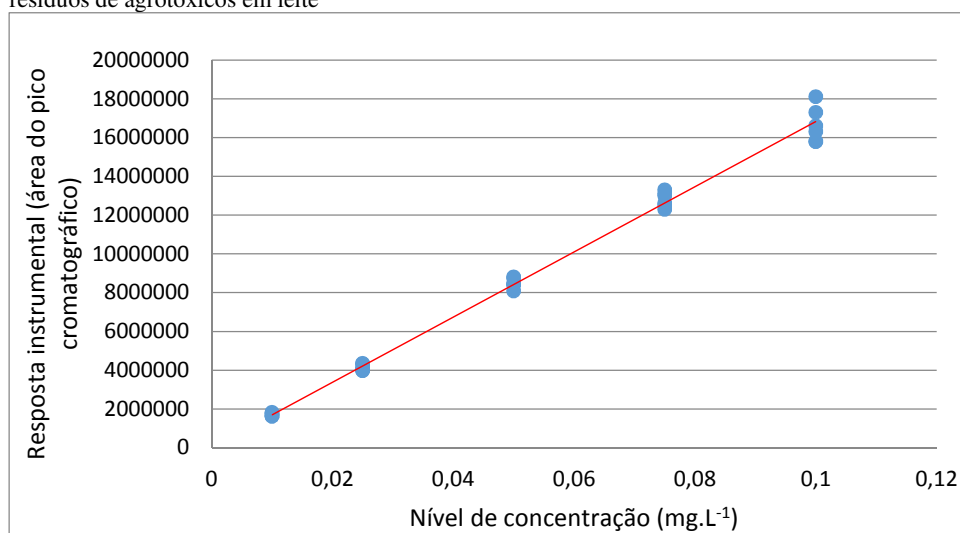
ANOVA DA REGRESSÃO					
Fonte de variação	Grau de liberdade	SQ	MQ	F <sub>teste</sub>	F <sub>crítico</sub>
Regressão	1	1,7612E+12	1,7612E+12	6705,3890	4,1960
Resíduos	28	7,3545E+09	2,6266E+08		
Falta de ajuste	3	1,3276E+08	4,4254E+07	0,1593	2,9752
Erro puro	26	7,2217E+09	2,7776E+08		
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>1,7686E+12</b>			
Qualidade do ajuste: Significância da regressão:		<b>Ajuste significativo</b> <b>Regressão significativa</b>			
Teste t para o Coeficiente de Correlação					
t <sub>crítico</sub> =	<b>1,7011</b>	t <sub>teste</sub> =	81,8864		
R <sup>2</sup>	<b>Adequado</b>				

Nas Figuras 14 e 15, observa-se que tanto para a ametrina quanto para o nuarimol o resultado do teste de qualidade do ajuste foi satisfatório, sendo que ambos os agrotóxicos apresentaram regressão e qualidade do ajuste significativos, indicado que o modelo escolhido, mínimos quadrados ponderados por 1/x (aplicado quando os resíduos da regressão são heterocedástico) para ametrina e mínimos quadrados ordinários (aplicado para resíduos da regressão homocedásticos) para nuarimol foram adequados aos dados obtidos experimentalmente, não havendo portanto, necessidade de se buscar um modelo de ordem superior (quadrático, por

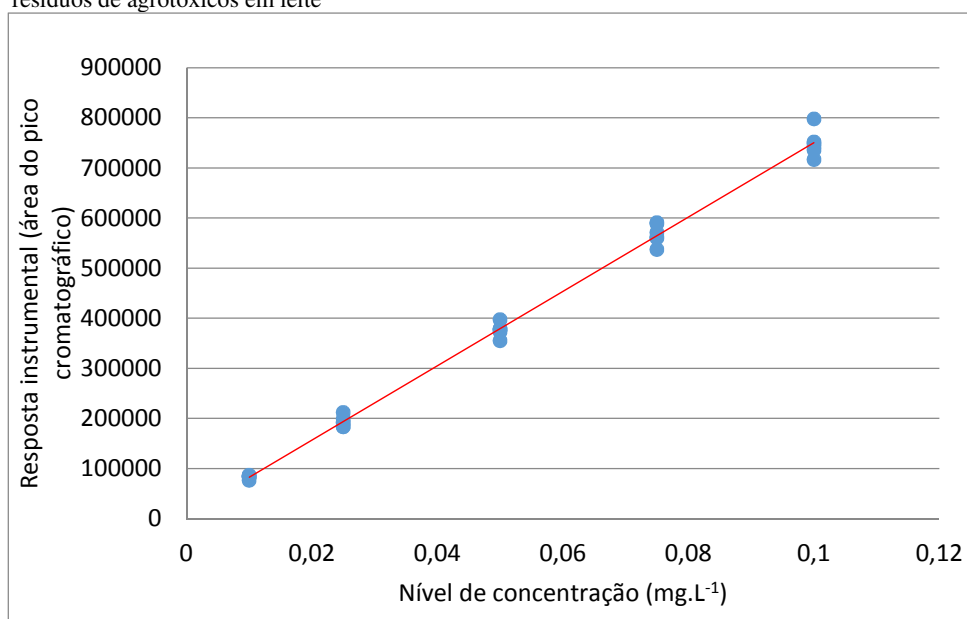
exemplo) para o ajuste da curva de calibração. Ainda, para ambos os agrotóxicos, o valor do coeficiente de correlação foi adequado de acordo com a estatística *t* de Student aplicada a este parâmetro, resultado que corrobora a significância da regressão e a qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais.

A seguir são apresentadas as curvas de calibração obtidas do ajuste linear pelos métodos dos mínimos quadrados ponderado por  $1/x$ , para ametrina (Figura 16) e ordinários, para nuarimol (Figura 17). Observando o gráfico da Figura 16, é possível perceber que os resíduos da regressão apresentam dispersão crescente ao longo da curva, caracterizando um perfil de dados heterocedástico, para os quais foi aplicado o modelo de ajuste ponderado. Já na Figura 17, nota-se que os resíduos apresentam, aproximadamente a mesma dispersão ao longo de toda a faixa de concentrações, indicando, claramente, que os dados apresentam um perfil homocedástico. Podendo, portanto, ser aplicado o ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários sem comprometimento da qualidade do ajuste (Figura 13).

**Figura 16.** Gráfico do ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados ponderado por  $1/x$  para o agrotóxico ametrina, obtido nos ensaios de validação do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite



**Figura 17.** Gráfico do ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários para o agrotóxico nuarimol, obtido nos ensaios de validação do método de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em leite



Os estudos de precisão intermediária (neste caso, o termo é mais adequado que precisão, pois, não houve comparação com outro laboratório) foram realizados em três dias distintos por dois analistas diferentes (INMETRO, 2009). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 20.

**Tabela 20.** Recuperações médias (%), coeficientes de variação (CV%), incerteza expandida, limites de detecção e limites de quantificação do método para cada agrotóxico

Agrotóxicos/nível de concentração	10 µg.L <sup>-1</sup>			100 µg.L <sup>-1</sup>			LD µg.L <sup>-1</sup>	LQ µg.L <sup>-1</sup>
	Média	CV (%)	U (%)	Média	CV (%)	U (%)		
Alacloro	97,9	8,1	24,4	101,7	9,8	18,0	5,0	10,0
Aletrina	97,5	13,3	30,0	102,1	15,8	19,5	5,0	10,0
Ametrina	100,1	9,6	18,3	99,3	7,2	15,3	5,0	10,0
Avermectina B1a	103,4	6,3	37,7	104,1	8,2	20,3	5,0	10,0
Bitertanol	101,2	17,5	46,4	95,7	14,5	30,0	5,0	10,0
Bupropenzina	100,4	9,3	23,6	103,7	8,5	15,9	5,0	10,0
Cadusafós	77,3	11,9	74,7	68,3	29,2	39,5	5,0	----
Carpropamida	94,6	16,4	30,1	93,9	14,2	23,4	5,0	10,0
Cialofope Butil	95,2	8,5	44,9	94,8	14,7	24,6	5,0	10,0
Ciflufenamida	96,1	12,8	27,4	105,4	17,2	19,0	5,0	10,0
Cipermetrina	75,8	10,6	45,0	81,9	19,8	23,8	5,0	10,0
Clofentezina	101,1	9,5	22,0	97,0	7,7	16,4	5,0	10,0
Clortiofós	100,6	8,4	35,2	103,9	13,5	21,6	5,0	10,0
Dicrotofós	97,4	10,8	37,9	104,8	15,7	29,3	5,0	10,0
Diflufenicam	104,2	10,5	27,5	104,4	14,9	18,9	5,0	10,0
Dimetoato	41,3	25,7		32,5	36,9		5,0	----
Dimetomorfe	102,8	7,3	18,9	100,6	8,7	15,9	5,0	10,0
Diurum	206,0	886,7		92,3	132,3		5,0	----
Dodemorfe	100,9	15,9	30,9	104,2	16,3	19,9	5,0	10,0
Epoxiconazol	103,1	12,7	31,1	92,9	14,4	18,8	5,0	10,0

Agrotóxicos/nível de concentração	10 µg.L <sup>-1</sup>			100 µg.L <sup>-1</sup>			LD µg.L <sup>-1</sup>	LQ µg.L <sup>-1</sup>
	Média	CV (%)	U (%)	Média	CV (%)	U (%)		
<b>Etiofencarbe sulfona</b>	92,0	18,7	36,0	98,7	12,3	19,5	5,0	10,0
<b>Etiofencarbe sulfóxido</b>	93,0	13,8	26,9	88,1	10,7	17,6	5,0	10,0
<b>Etiprole</b>	93,2	14,4	27,9	88,4	10,7	19,6	5,0	10,0
<b>Fenazaquina</b>	98,3	10,3	22,4	101,3	17,0	18,6	5,0	10,0
<b>Fenpiroximato</b>	99,8	9,8	31,7	98,7	10,1	18,4	5,0	10,0
<b>Flazassulfurom</b>	96,0	8,7	20,5	94,0	7,4	14,8	5,0	10,0
<b>Fluzilazol</b>	99,1	14,0	25,0	96,1	9,9	17,6	5,0	10,0
<b>Fosfamidona</b>	98,7	8,4	23,0	100,9	10,8	17,7	5,0	10,0
<b>Metiocarbe</b>	92,2	15,2	28,0	96,3	18,9	19,9	5,0	10,0
<b>Metiocarbe sulfóxido</b>	99,7	21,9	37,7	96,2	13,1	29,2	5,0	10,0
<b>Metoxifenoazida</b>	99,3	12,2	24,9	99,4	9,9	16,1	5,0	10,0
<b>Nuarimol</b>	100,9	10,5	23,7	103,4	7,2	17,2	5,0	10,0
<b>Paclobutrazol</b>	66,0	18,6	58,3	70,4	19,9	35,8	5,0	10,0
<b>Paraoxon etil</b>	102,8	16,7	35,3	94,6	15,3	21,2	5,0	10,0
<b>Piraclofós</b>	101,5	5,6	24,0	100,0	9,2	17,0	5,0	10,0
<b>Pirifitalida</b>	101,4	12,8	42,6	99,5	9,9	22,1	5,0	10,0
<b>Pirimetamina</b>	101,4	12,3	32,8	100,6	10,6	20,5	5,0	10,0
<b>Quizalofope p-etil</b>	97,2	6,6	36,4	92,2	5,8	18,7	5,0	10,0
<b>Sulfotepe</b>	97,1	11,9	36,2	92,0	10,7	21,2	5,0	10,0
<b>Tebufempirade</b>	97,9	7,6	31,1	93,3	7,8	18,7	5,0	10,0
<b>Temefós</b>	89,7	19,1	31,1	93,6	14,7	20,1	5,0	10,0
<b>Terbufós</b>	98,9	10,6	22,9	101,7	9,9	15,7	5,0	10,0
<b>Tetraconazol</b>	101,8	7,2	19,1	102,1	7,5	15,8	5,0	10,0
<b>Triciclazol</b>	103,9	5,2	22,8	101,4	6,2	15,1	5,0	10,0
<b>Triticonazol</b>	96,2	9,5	23,7	100,1	14,0	18,9	5,0	10,0

Os analitos cadusafós, dimetoato e diurom não foram validados para o método quantitativo por não atenderem a pelo menos um dos critérios de aceitabilidade para a precisão intermediária, exatidão e incerteza expandida do método, conforme estabelecido na Tabela 19.

O analito cadusafós apresentou valor de incerteza expandida superior a 50% para o primeiro nível de concentração, que corresponde ao LQ do método. Assim não pode ser considerado como validado. Os analitos dimetoato e diurom apresentaram coeficientes de variação nos ensaios de precisão intermediária superiores a 20%, além de recuperações fora da faixa estabelecida como aceitável, desta forma estes analitos não foram validados. Os demais 43 analitos foram validados. Elevando o escopo de agrotóxicos analisados pelo método dos originalmente 154 para 197 agrotóxicos monitorados.

### 5.3 Amostras analisadas e resultados encontrados

#### 5.3.1 Número amostral teórico e amostras efetivamente analisadas

O número mínimo de amostras para a realização deste trabalho foi estabelecido como igual a 60 amostras por mesorregião, o que totalizaria 720 amostras. Este valor foi definido após a realização de um ensaio piloto, no qual foram coletadas 30 amostras de cinco mesorregiões

escolhidas aleatoriamente. Foram elas: Metropolitana de BH, Campo das Vertentes, Noroeste de Minas, Triangulo Mineiro/Alto Paranaíba e Vale do Rio Doce. As amostras obtidas foram analisadas pela metodologia validada e os resultados obtidos no ensaio sugeriram uma frequência de contaminação de cerca de 10%. Com base nesta frequência de contaminações fez-se então a estimativa do número amostral. O valor definido para “n” amostral permitiria o emprego de técnicas estatísticas de análise multivariada com segurança dada à natureza do estudo proposto nos objetivos deste trabalho.

Ao longo deste estudo, foram coletadas 1154 amostras. Como demonstrado na Tabela 21, apenas a mesorregião do Sul/Sudoeste de Minas não atingiu o número de 60 amostras. O pequeno número de amostras obtidas dessa mesorregião foi devido ao fato de o LabUFMG receber poucas amostras desta região. Conforme informado pela equipe do laboratório, a maioria das amostras da região Sul/Sudoeste de Minas são direcionadas para laboratórios de São Paulo. As tentativas de obter amostras desta região foram infrutíferas e, assim, optou-se por dar continuidade ao estudo mesmo com um número reduzido de amostras.

Observa-se ainda na Tabela 21 que para algumas mesorregiões foram coletadas um número de amostras superior ao mínimo estabelecido. Estes valores são explicados pela dinâmica de coleta de amostras inicialmente estabelecida quando do planejamento dos experimentos. Para que o projeto pudesse ser executado sem contratempos e dentro dos prazos inicialmente planejados, as amostras seriam coletadas quinzenalmente no LabUFMG. Como o volume de amostras recebido pelo laboratório é muito grande, não haveria condições de manter armazenadas essas amostras em suas instalações. Assim, optou-se por coletar as amostras disponíveis no momento da coleta, o que acarretou maior número de amostras para algumas mesorregiões devido à logística de recebimento de amostras do LabUFMG. Esta estratégia foi estabelecida para que as amostras pudessem ser coletadas e, o mais breve possível, submetidas ao processo de extração e análise.

**Tabela 21.** Amostras analisadas por mesorregião e número de amostras que apresentaram pelo menos um tipo de contaminação por resíduos de agrotóxicos

	Mesorregião	Amostras analisadas
1	Noroeste de Minas	84
2	Norte de Minas	63
3	Jequitinhonha	60
4	Vale do Mucuri	65
5	Triangulo Mineiro / Alto Paranaíba	66
6	Central Mineira	62
7	Metropolitana de BH	112
8	Vale do Rio Doce	84
9	Oeste de Minas	76
10	Sul / Sudoeste de Minas	16
11	Campo das Vertentes	64
12	Zona da Mata	75
	<b>Totais</b>	<b>827</b>

Das 1154 amostras coletadas, 827 foram analisadas e tiveram seus resultados quantificados. Houve a perda de 327 amostras por duas razões, ambas de ordem técnica. A primeira, devido a uma falha de conexão entre o *software* empregado para controlar o sistema de cromatografia líquida acoplado à espectrometria de massas, que levou à perda dos resultados de 154 amostras.

---

Com a interrupção da transferência dos dados adquiridos pelo espectrômetro de massas para o computador, não foi possível processar os resultados das análises. Dada a pequena quantidade de extratos restante não foi possível executar a reanálise das amostras e uma simples reinjeção no sistema instrumental poderia comprometer a qualidade dos resultados obtidos. As outras 173 amostras, embora tenham sido submetidas ao processo de extração, não foram injetadas no sistema instrumental, devido à parada de funcionamento do equipamento, por razões técnicas, por cerca de três meses, o que inviabilizou a execução da análise instrumental das amostras. De modo análogo ao que ocorreram com as 154 amostras inicialmente perdidas, não foi possível armazenar os extratos por um período de tempo tão longo.

### **5.3.2. Avaliação do efeito da adição de conservantes às amostras sobre a análise de resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado**

Os resultados obtidos para as recuperações nas amostras contendo bronopol e azidiol ficaram dentro dos valores preconizados para a validação que são de 70 a 120% (SANTE, 2015). Para azidiol foram obtidas recuperações entre 75 e 115%, enquanto que para o bronopol as recuperações ficaram na faixa entre 87 e 105%. As recuperações obtidas para as amostras de leite sem aditivos fortificadas ficaram entre 88 e 98%. Estes resultados indicam que nenhum dos aditivos afeta a análise de resíduos de agrotóxicos em leite, de acordo com a metodologia validada. Possivelmente, isto se deve à natureza química destes que não leva a interações entre os agrotóxicos presentes nas amostras e os aditivos, mantendo assim, a concentração dos resíduos inalterada durante a análise

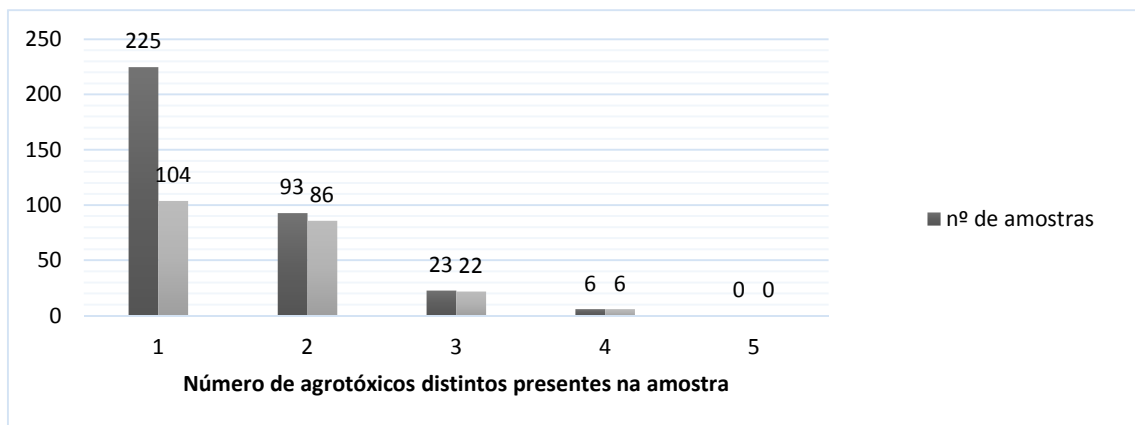
No entanto, observa-se que os resultados obtidos para as amostras adicionadas de bronopol encontram-se mais próximos daqueles obtidos para as amostras controle e mais distantes dos limites de tolerância para a recuperações experimentais. Assim, optou-se por realizar o estudo, preferencialmente, com amostras adicionadas de bronopol.

### **5.3.3 Análise descritiva dos dados**

Foram encontrados resíduos de agrotóxicos em 347 amostras das 827 analisadas, o que representa 41,95% de contaminação. Destas 347 amostras 27% apresentaram violações confirmadas um número superior a quatro vezes o estimado no planejamento inicial, no qual esperava-se cerca de 10% de contaminações. Considerando que em várias amostras foram confirmadas as presenças dos agrotóxicos diclorvós, dimetomorfe, forato, tebufempirade e triclorfon, todos de uso proibido no Brasil, existe um quadro alarmante no que tange a segurança alimentar dos consumidores, principalmente quando se associa a estes números, a toxicidade dos agrotóxicos encontrados, devido aos efeitos nocivos que estes podem causar à saúde humana.

Ao se considerar as detecções individuais dos resíduos, nas amostras contaminadas ocorreram 502 detecções. Isto significa que algumas amostras apresentam mais de um contaminante, conforme demonstrado no gráfico da Figura 18.

**Figura 18.** Número de amostras contaminadas e violadas em função do número de resíduos de agrotóxicos encontrados por amostra de leite refrigerado no estado de Minas Gerais



A interpretação da Figura 18 revela que 122 das 347 amostras contaminadas apresentam dois ou mais agrotóxicos presentes o que equivale a 35,2%. Ressalta-se o grande número de amostras que apresentam resíduos de agrotóxicos acima dos limites máximos permitidos (LMR) pela legislação, que totalizou 218 amostras, 62,8% de violações.

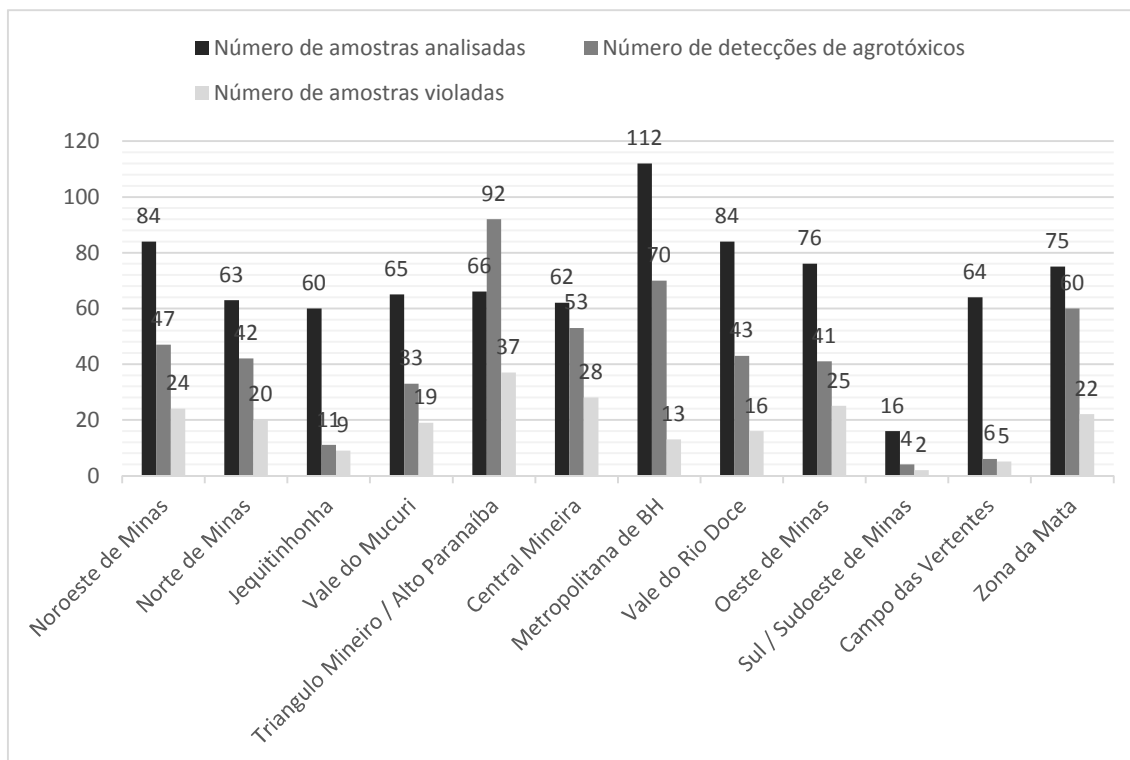
Casos preocupantes são aqueles para amostras com dois ou mais contaminantes diferentes, para os quais o número de amostras com violação dos limites legais equivale à quase totalidade das amostras representando 93,4% destas.

As amostras contaminadas que apresentam resíduos de apenas um agrotóxico, representam 45% do total de detecções individuais de agrotóxicos, 504 - valor obtido da Figura 18 pelo cálculo do produto do número de amostras pelo número de agrotóxicos distintos por amostras  $[(225 \times 1) + (93 \times 2) + (23 \times 3) + (6 \times 4)]$  - e 65,1% das amostras contaminadas. Amostras com detecção de dois agrotóxicos também apresentam um percentual significativo, 26,5% das amostras contaminadas.

Os resultados obtidos indicam, não apenas grande número de amostras contaminadas, mas também, de amostras violadas. A presença de resíduos de agrotóxicos nas amostras pode ser atribuída a diversas fontes, tais como: uso indiscriminado de produtos para o combate a parasitas que atacam os rebanhos, uso de parasiticidas proibidos para aplicação em animais, alimentos fornecidos aos animais contaminados por agrotóxicos, entre outras.

Um perfil simplificado do número de amostras analisadas por mesorregião, do número de detecções individuais de agrotóxicos e de amostras violadas é apresentado na Figura 19.

**Figura 19.** Panorama do número de detecções individuais de resíduos de agrotóxicos e número de amostras com resíduos acima do LMR em relação ao número total de amostras de leite cru refrigerado analisadas por mesorregião do estado de Minas Gerais



Dentre as 12 mesorregiões de Minas Gerais analisadas, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba é a que apresenta o maior número de detecções, 92 em 66 amostras analisadas e, também, o maior número de amostras violadas 37. A proporção entre o número de detecções e o número de amostras analisadas claramente indica que existem amostras com duas ou mais contaminações por diferentes agrotóxicos. No entanto, outras regiões apresentaram detecção de mais de um agrotóxico por amostra, embora isto não fique claramente demonstrado na Figura 19.

Em todas as 12 mesorregiões de Minas Gerais ocorreram violações dos limites legais para a presença de resíduos de agrotóxicos em leite, estando a presença de resíduos de agrotóxicos amplamente difundida no estado. Este dado é muito preocupante sob as óticas da saúde pública e da segurança alimentar, pois os consumidores de Minas Gerais estão expostos a substâncias que podem, dependendo da classe química a que pertencem, apresentar elevado potencial de toxicidade à saúde humana. O problema se agrava, no caso do leite, por se tratar de um alimento fornecido às crianças, que estão num período da vida no qual o organismo é mais suscetível aos efeitos danosos dos agrotóxicos e, pelo fato de o tratamento ou processamento do leite não eliminar os resíduos de agrotóxicos do produto, conforme demonstrado por Abou Donia e colaboradores (2010), Melgar e colaboradores (2010), Liu e colaboradores (2013) e Bastos e colaboradores (2015).

A Tabela 22 resume os resultados obtidos para as detecções individuais de resíduos de agrotóxicos por mesorregião. Observa-se que somente as mesorregiões do Jequitinhonha, Sul/Sudoeste de Minas e Campo das Vertentes apresentaram apenas um agrotóxico detectado por amostra contaminada. As demais nove mesorregiões apresentaram amostras com pelo menos dois agrotóxicos distintos detectados.

As mesorregiões Metropolitana de BH, Noroeste de Minas e Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba apresentaram amostras com até quatro agrotóxicos diferentes detectados. Embora estas representem apenas seis amostras, equivalente a 1,7% das 347 amostras contaminadas (Figura 19) podem indicar uso abusivo e inadequado de agrotóxicos nos animais ou, incidência de fontes de contaminações exógenas à propriedade. Mais investigações devem ser realizadas para

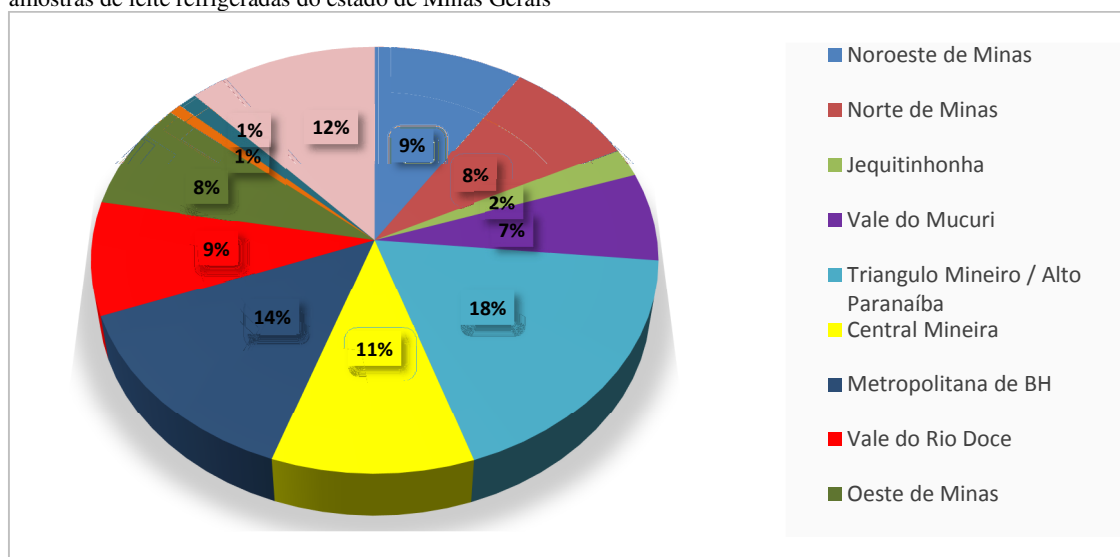
a determinação exata das causas deste elevado número de resíduos de agrotóxicos nas amostras destas quatro regiões.

**Tabela 22.** Distribuição das detecções de resíduos de agrotóxicos em relação ao número de resíduos detectados por amostra para cada uma das doze mesorregiões de Minas Gerais

Mesorregião	Número de amostras analisadas	Número de amostras contaminadas em relação ao número de resíduos detectados				Total de amostras contaminadas	Total de detecções individuais de resíduos de agrotóxicos
		1	2	3	4		
Noroeste de Minas	84	15	6	4	2	28	47
Norte de Minas	63	26	5	2	-	32	42
Jequitinhonha	60	11	-	-	-	11	11
Vale do Mucuri	65	22	4	1	-	27	33
Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba	66	25	24	5	1	55	92
Central Mineira	62	23	9	4	-	36	53
Metropolitana de BH	112	20	18	2	2	42	70
Vale do Rio Doce	84	25	6	2	-	33	43
Oeste de Minas	76	28	5	1	-	34	41
Sul / Sudoeste de Minas	16	4	-	-	-	4	4
Campo das Vertentes	64	6	-	-	-	6	6
Zona da Mata	75	21	15	3	-	39	60
<b>Totais</b>	<b>827</b>	<b>226</b>	<b>92</b>	<b>24</b>	<b>5</b>	<b>347</b>	<b>502</b>

Outro dado preocupante que se obtém da Tabela 22 diz respeito a regiões que apresentam amostras de leite contendo até três agrotóxicos detectados por amostra. As contribuições relativas de cada uma das mesorregiões no número total de detecções de resíduos de agrotóxicos são mostradas na Figura 20. A simples inspeção visual da figura revela que, apenas três mesorregiões, Metropolitana de BH, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba e Vale do Rio Doce, são responsáveis por praticamente 50% de todas as detecções obtidas neste trabalho. Enquanto que as regiões Sul/Sudoeste de Minas e Campo das Vertentes representam apenas 2% do total.

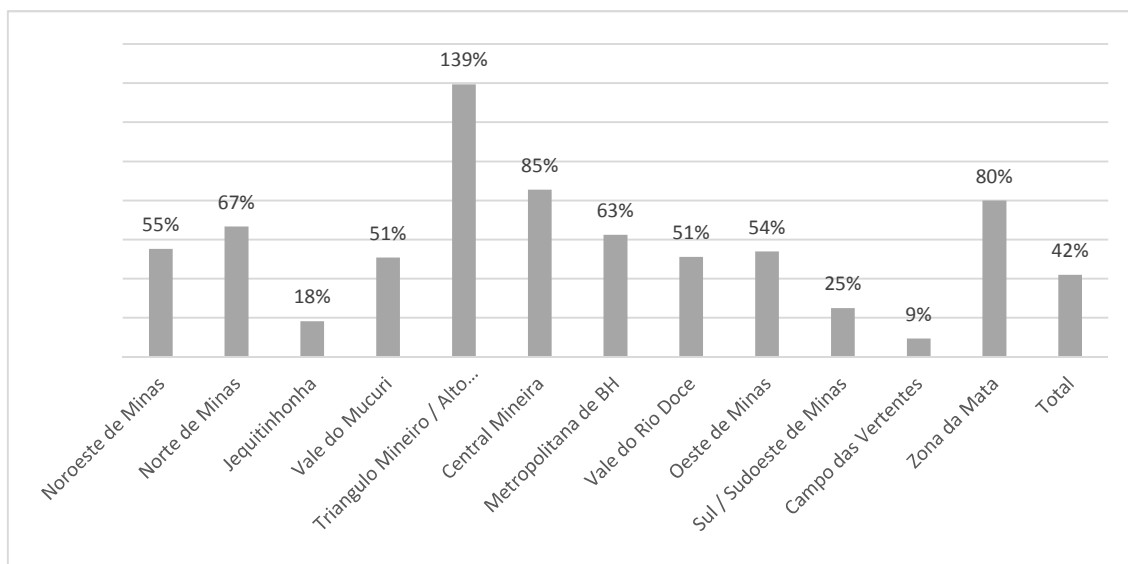
**Figura 20.** Participações relativas das diferentes mesorregiões no total de detecções individuais de agrotóxicos em amostras de leite refrigeradas do estado de Minas Gerais



As frequências de detecções de resíduos de agrotóxicos em relação ao número de amostras de leite cru refrigerado analisadas por mesorregião do estado de Minas Gerais (Figura 21), indicam que a maioria apresenta mais de 50% de frequência de detecção de resíduos nas amostras coletas nestas regiões. Estes dados chamam ainda mais atenção se considerarmos que muitas destas detecções resultam em violações dos limites estabelecidos pela legislação.

Particularmente, em relação as mesorregiões do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba maior produtora de leite de Minas Gerais com mais de 2.3 bilhões de litros de leite/ano, para um rebanho de vacas em lactação de 1.306.768 animais, Central Mineira com produção de 0,85 bilhões de litros de leite/ano e um rebanho de 398.530 vacas ordenhadas e Zona da Mata, com produção de 0,80 bilhões de litros de leite/ano para um rebanho de 497.578 vacas ordenhadas (IBGE, 2014b), observa-se que a frequência de detecções está acima de 80%. Estes dados indicam que, possivelmente, há utilização em grande quantidade de produtos para o combate de parasitas. Além da grande quantidade de produtos aplicados no rebanho, a possibilidade de fontes externas de contaminação, como por exemplo, a pastagem e a ração fornecidas ao rebanho, não pode ser descartada e deve ser investigada.

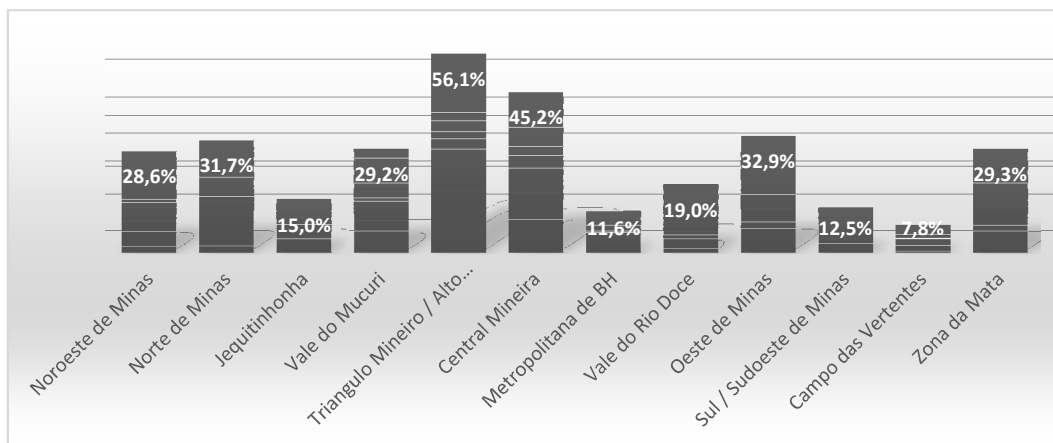
**Figura 21.** Frequências relativas de detecções individuais de resíduos de agrotóxicos em leite refrigerado nas



diferentes mesorregiões de Minas Gerais em relação ao número de amostras analisadas

A Figura 22 apresenta a porcentagem de amostras de leite violadas em relação ao número total de amostras analisadas por mesorregião. Identificam-se percentuais de violações muito significativos para as mesorregiões do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba (56,1%) e Central Mineira (45,2%). Entre as outras dez mesorregiões, cinco apresentam percentuais superiores a 25%, ou seja, mais de ¼ das amostras analisadas apresentam, pelo menos, uma violação. Apenas a mesorregião de Campo das Vertentes tem menos que dez por cento das amostras de leite violadas.

**Figura 22.** Porcentagem de amostras de leite que apresentaram violação do limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação em relação ao número de amostras analisadas por mesorregião de Minas Gerais



Todos os agrotóxicos encontrados nas amostras de leite cru refrigerado são de moderadamente a extremamente tóxicos, conforme revela a Tabela 23.

**Tabela 23.** Classificação toxicológica dos agrotóxicos detectados nas amostras de leite cru refrigerados do estado de Minas Gerais analisadas, de acordo com a classificação ONU

Classificação toxicológica	Agrotóxicos
<b>Extremamente tóxicos</b>	aldicarbe, dissulfotona, forato e parationa etílica
<b>Altamente tóxicos</b>	abamectina B1a e tolifluanida
<b>Moderadamente tóxicos</b>	aletrina, benfuracarbe, bifentrina, carbossulfano, clorpirifós, fentiona, fipronil, piridabem e triclorfon
<b>Levemente tóxicos</b>	cipermetrina, ciromazina, deltametirna, dimetomorfe, quincloraque e tebufempirade.

Fonte: WHO (2009)

Dos 197 agrotóxicos avaliados em todas as amostras, foram encontrados resíduos de apenas 21 nas 347 amostras contaminadas. Os agrotóxicos encontrados foram aldicarbe (e seu metabolito aldicarbe sulfóxido), abamectina B1a, aletrina, benfuracarbe, bifentrina, carbossulfano, cipermetrina, ciromazina, clorpirifós, deltametirna, diclorvós, dissulfotona, fentiona (e seu metabolito fentiona sulfóxido), fipronil, forato (e seu metabolito forato sulfóxido), parationa etílica, piridabem, quincloraque, tebufempirade, tolifluanida e triclorfon. Dentre estes há agrotóxicos que são de uso proibido no Brasil, por não apresentarem registro no MAPA (Brasil 2014c) e outros que nem constam na lista de resíduos monitorados pelo PNCRC-Animal em leite (Tabela 7). A presença de resíduos destes compostos no leite pode causar sérios danos à saúde humana, conforme demonstrado na Tabela 23. Os efeitos nocivos causados pela presença de resíduos destes agrotóxicos no leite vão desde complicações neurológicas, distúrbios no aparelho reprodutor até câncer (Margni et al., 2002; Cope et al., 2004; Mezcua et al., 2007; Landgraf et al., 2011; Oliveira, 2011).

A Tabela 24 revela que os agrotóxicos benfuracarbe, diclorvós, dimetomorfe, forato, parationa etílica, tebufempirade e triclorfon são de uso proibido no Brasil, de acordo com a ANVISA que é o órgão responsável pelo estabelecimento dos LMRs destas substâncias no país. Ressalta-se que, o agrotóxico parationa etílica é de uso proibido segundo a ANVISA, já que não possui LMR definido para nenhuma cultura mas, permitido pelo MAPA, que é o órgão responsável pelo registro destes produtos no Brasil, até 2014 (Tabela 7).

Dentre os agrotóxicos encontrados nas amostras de leite existem aqueles que, embora permitidos no Brasil, são de uso exclusivamente agrícola ou de uso agrícola e domissanitário, de acordo com a ANVISA. Estes dados chamam atenção para o fato de que está ocorrendo a entrada, no

país, de produtos de uso proibido no Brasil. E estes estão contaminando o leite, por fontes de contaminação ainda desconhecidas. Outra observação importante que se pode fazer sobre os dados apresentados na Tabela 24 é a detecção de inseticidas e acaricidas para os quais a presença de resíduos em leite é proibida pelo MAPA (Brasil, 2015a).

Chama ainda a atenção a amplitude de concentrações encontrada para os agrotóxicos presentes nas amostras de leite. Para clorpirifós, as concentrações obtidas variam de 10 a 106  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Para este agrotóxico toda a faixa de concentrações determinada representa violação do LMR legislado. Foram identificadas 47 violações em dez das 12 mesorregiões. Apenas as mesorregiões do Jequitinhonha e Sul/Sudoeste de Minas não apresentaram violações pela presença de resíduos de clorpirifós. A grande maioria das violações por este agrotóxico concentra-se nas mesorregiões do Vale do Mucuri e Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

**Tabela 24.** Agrotóxicos detectados nas amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, sua classe, LMRS definidos pelos órgão de fiscalização, amplitude de concentrações encontradas e *status* em relação ao registro na ANVISA

	Agrotóxico	Classe	LMR do PNCRC-Animal ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Amplitude de concentração encontrada na amostra ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Situação das monografias dos agrotóxicos junta à ANVISA (Brasil, 2015 b)
1	Aldicarbe	Inseticida, acaricida e nematicida	10,0	10 a 127	Apenas uso agrícola autorizado.
2	Aletrina	Inseticida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 60$	Uso agrícola e domissanitário autorizados
3	Abamectina B1a	Acaricida, inseticida e nematicida	10,0	10 a 18	Usos agrícola e não agrícola autorizados
4	Benfuracarbe	Inseticida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	PROIBIDO
5	Bifentrina	Inseticida, formicida e acaricida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Usos agrícola e não agrícola autorizados
6	Carbossulfano	Acaricida, inseticida e nematicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Apenas uso agrícola autorizado
7	Cipermetrina	Inseticida e formicida	100,0	10 a 138	Usos agrícola e não agrícola autorizados
8	Ciromazina	Inseticida	PROIBIDO	10 a 38.	Uso agrícola e domissanitário autorizados.
9	Clorpirifós	Acaricida, inseticida e formicida	10,0	10 a 106	Usos agrícola, não agrícola e domissanitário autorizados.
10	Deltametrina	Inseticida e formicida	30,0	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Usos agrícola e não agrícola autorizados
11	Diclorvós	Inseticida e acaricida	PROIBIDO	26	PROIBIDO
12	Dimetomorfe	Fungicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	PROIBIDO
13	Dissulfotona	Inseticida, acaricida e fungicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 22$	Apenas uso agrícola autorizado
14	Fentiona	Inseticida, formicida, acaricida e cupinicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 28$	Usos agrícola e não agrícola autorizados
15	Fipronil	Inseticida, formicida e cupinicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 21$	Usos agrícola, não agrícola e domissanitário autorizados.
16	Forato	Inseticida, acaricida e nematicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	PROIBIDO
17	Parationa etílica	Inseticida e acaricida	20,0	12 a 27	PROIBIDO
18	Piridabem	Acaricida e inseticida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Apenas uso agrícola autorizado
19	Quincloraque	Herbicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Apenas uso agrícola autorizado
20	Tebufempirade	Acaricida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 107$	PROIBIDO
21	Tolilfluana	Fungicida	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} < \text{LQ}$	Apenas uso agrícola autorizado

Agrotóxico	Classe	LMR do PNCRC-Animal ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Amplitude de concentração encontrada na amostra ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Situação das monografias dos agrotóxicos junta à ANVISA (Brasil, 2015 b)
22 Triclorfon	Insetívica e substância de uso veterinário	PROIBIDO	$\text{LD} < \text{C} \leq 10$	PROIBIDO

**Fonte:** Brasil (2014b e 2015b)

LD < C < LQ indica que o resíduo foi detectado, mas não quantificado

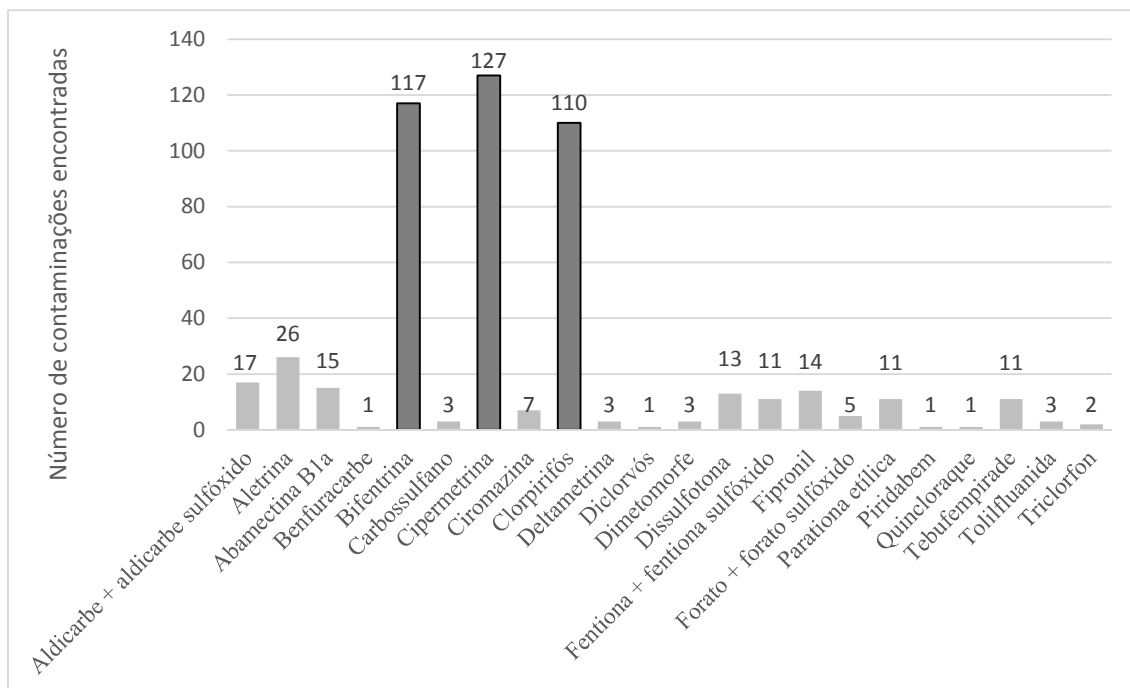
Caso semelhante ocorre com aldicarbe, para o qual a faixa de concentrações determinadas varia de 10 a 127  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e foram identificadas dez violações, com destaque para a região da Zona da Mata onde uma amostra apresentou concentração de resíduo de 127  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , resultado cerca de 13 vezes acima do LMR estabelecido no PNCRC-Animal (Brasil, 2014b e 2015b). Considerando que nesta região o aldicarbe foi detectado em cinco amostras, tem-se um percentual de 60% de violações. Para cipermetrina, as concentrações encontradas nas amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais variam de 10 a 138  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Embora tenham sido encontradas concentrações elevadas, o número de violações foi baixo, apenas três, pois que o LMR estabelecido na legislação é de 100  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Todas as detecções de analitos para os quais a presença de resíduos de agrotóxicos é definida como proibida constituem violações e, em análises de monitoramento de resíduos de agrotóxicos devem ser, inequivocamente confirmadas e comunicadas imediatamente ao MAPA. Para os agrotóxicos para os quais há LMR estabelecido na legislação, as violações podem ou não ocorrer, dependendo da concentração destes na amostra. Nos anexos, ao final deste trabalho, são apresentados os resultados para todas as amostras de leite das doze mesorregiões do estado de Minas Gerais para as quais houve detecção e/ou quantificação de resíduos de agrotóxicos.

A Figura 23 apresenta um panorama dos agrotóxicos detectados nas amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais em relação ao número total de ocorrências destes agrotóxicos nas amostras. Percebe-se claramente que o maior número de detecções ocorreu para bifentrina e cipermetrina, ambos piretróides, e clorpirifós, um organofosforado. Estes três produtos são de uso tanto agrícola, quanto veterinário, no combate à parasitas. No entanto, de acordo com o PNCRC-Animal (Brasil 2014b; Brasil 2015b), a presença de resíduos de bifentrina no leite é proibida.

Felizmente, o número de detecções dos agrotóxicos: benfuracarbe (1), diclorvós (1), triclorfon (2), dimetomorfe (3) e forato (5), todos de uso proibido no Brasil, foi pequeno. No entanto, parationa etílica e tebufempirade apresentaram 11 detecções cada um, um número preocupante, pois juntos representam 4,38% de frequência, praticamente a metade da frequência estimada no experimento piloto deste trabalho. Também, observa-se elevado número de detecções para aletrina (26), dissulfotona (13) fentiona (11) e fipronil (14), todos proibidos no leite pelo MAPA (Brasil 2014b; Brasil 2015b).

**Figura 23.** Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos encontrados em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, por agrotóxico detectado no estudo



Nas Tabelas 25 e 26 são apresentados os números de amostras contaminadas em relação a cada agrotóxico detectado por mesorregião de Minas Gerais. Foi possível observar que contaminações por bifentrina apareceram mais frequentemente nas mesorregiões Norte de Minas, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, Central Mineira e Metropolitana de BH. Resíduos de cipermetrina por sua vez, foram mais frequentemente observados nas mesmas mesorregiões, além da Zona da Mata, e resíduos de clorpirifós ocorreram com maior frequência nas mesorregiões Vale do Mucuri, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, Central Mineira, Metropolitana de BH e Zona da Mata.

**Tabela 25.** Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante em amostras de leite cru refrigerado para as mesorregiões de Noroeste de Minas, Norte de Minas, Jequitinhonha, Vale do Mucuri, Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba e Central Mineira

Agrotóxicos encontrados	Mesorregiões					
	Noroeste de Minas	Norte de Minas	Jequitinhonha	Vale do Mucuri	Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba	Central Mineira
Aldicarbe + aldicarbe sulfóxido	1	3	--	2	2	1
Abamectina B1a	--	--	--	1	1	--
Aletrina	9	6	--	2	--	2
Benfuracarbe	--	--	--	--	--	--
Bifentrina	9	13	--	8	26	13
Carbossulfano	--	--	--	--	1	--
Cipermetrina	8	17	--	--	24	16
Clorpirifós	8	3	--	18	24	11
Deltametrina	--	--	--	--	--	--
Diclorvós	--	--	--	--	--	1
Dimetomorfe	3	--	--	--	--	--
Dissulfotona	--	--	--	--	6	3

Agrotóxicos encontrados	Mesorregiões					
	Noroeste de Minas	Norte de Minas	Jequitinhonha	Vale do Mucuri	Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba	Central Mineira
Fentiona + fentiona sulfóxido	3	--	--	--	2	1
Fipronil	--	--	--	2	3	1
Forato + forato sulfóxido	4	--	--	--	1	--
Parationa etílica	--	--	3	--	--	--
Piridabem	--	--	--	--	--	1
Quincloraque	--	--	--	--	--	--
Tebufempirade	3	--	--	--	2	--
Tolilfluánida	--	--	--	--	--	3
Triclorfon	--	--	--	--	--	--

**Tabela 26.** Número de contaminações por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante em amostras de leite cru refrigerado para as mesorregiões Metropolitana de BH, Vale do Rio Doce, Oeste de Minas, Sul / Sudoeste de Minas, Campo das Vertentes e Zona da Mata

Agrotóxicos encontrados	Mesorregiões					
	Metropolitana de BH	Vale do Rio Doce	Oeste de Minas	Sul/Sudoeste de Minas	Campo das Vertentes	Zona da Mata
Aldicarbe + aldicarbe sulfóxido	--	1	2	--	--	5
Aletrina	--	--	5	--	--	2
Abamectina B1a	1	5	2	--	--	5
Benfuracarbe	1	--	--	--	--	--
Bifentrina	16	3	15	1	3	8
Carbossulfano	2	--	--	--	--	--
Cipermetrina	25	11	9	--	1	16
Ciromazina	--	1	--	--	--	--
Clorpirifós	20	6	4	--	2	14
Deltametrina	3	--	--	--	--	--
Diclorvós	--	--	--	--	--	--
Dimetomorfe	--	--	--	--	--	--
Dissulfotona	1	1	--	--	--	2
Fentiona + fentiona sulfóxido	--	3	--	--	--	2
Fipronil	--	1	3	1	--	3
Forato + forato sulfóxido	--	--	--	--	--	--
Parationa etílica	--	8	--	--	--	--
Piridabem	--	--	--	--	--	--
Quincloraque	--	1	--	--	--	--
Tebufempirade	1	--	1	--	--	4
Tolilfluánida	--	--	--	--	--	--
Triclorfon	--	2	--	--	--	--

Resíduos de benfuracarbe e diclorvós foram encontrados apenas nas mesorregiões Metropolitana de BH e Central Mineira, respectivamente. Triclorfon foi encontrado apenas da mesorregião do Vale do Rio Doce; de forma análoga às detecções de dimetomorfe que estão concentradas em uma única mesorregião, a Noroeste de Minas. Forato teve resíduos detectados nas amostras de leite cru refrigerado das regiões Noroeste de Minas e Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

Mesmo que grande parte das violações encontradas tenha ocorrido em níveis muito baixos, acima do limite de detecção, porém abaixo do limite de quantificação do método, não sendo portanto, possível calcular a concentração dos resíduos presentes nas amostras, a simples detecção e confirmação da presença de agrotóxicos definidos como proibidos constitui violação grave. E, muitas vezes, encontrar um agrotóxico proibido em uma amostra constitui um problema mais sério do que encontrar analitos que possuem LMRs definidos pela legislação brasileira em níveis de concentração quantificáveis, mesmo que violados. Pois a presença de resíduos de agrotóxicos proibidos nas amostras de leite pode indicar que estes produtos estão entrando no Brasil pelas das fronteiras do país via contrabando o que constitui crime perante a lei. E talvez, estejam chegando ao produtor ou sendo aplicados em algum momento na cadeia produtiva do leite, gerando resíduos no leite e colocando em risco a saúde dos consumidores.

A análise conjunta destes dados revela a fragilidade e as dificuldades que o sistema de monitoramento e fiscalização do emprego destas substâncias enfrenta. Sem o aprimoramento contínuo do sistema de vigilância, trabalho integrado das esferas federal, estadual e municipal, com ações de conscientização, capacitação e punição quando aplicáveis, a garantia da segurança da inocuidade do leite que chega aos consumidores de Minas Gerais, em relação à presença de resíduos de agrotóxicos, estará seriamente comprometida.

### 5.3.4 Análise multivariada de correspondência múltipla aplicada aos resultados das análises das amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

Após categorização das variáveis a serem empregadas na análise de correspondência múltipla, de acordo com os critérios definidos nas Tabelas 15 e 16, obteve-se o resultado apresentado na Tabela 27.

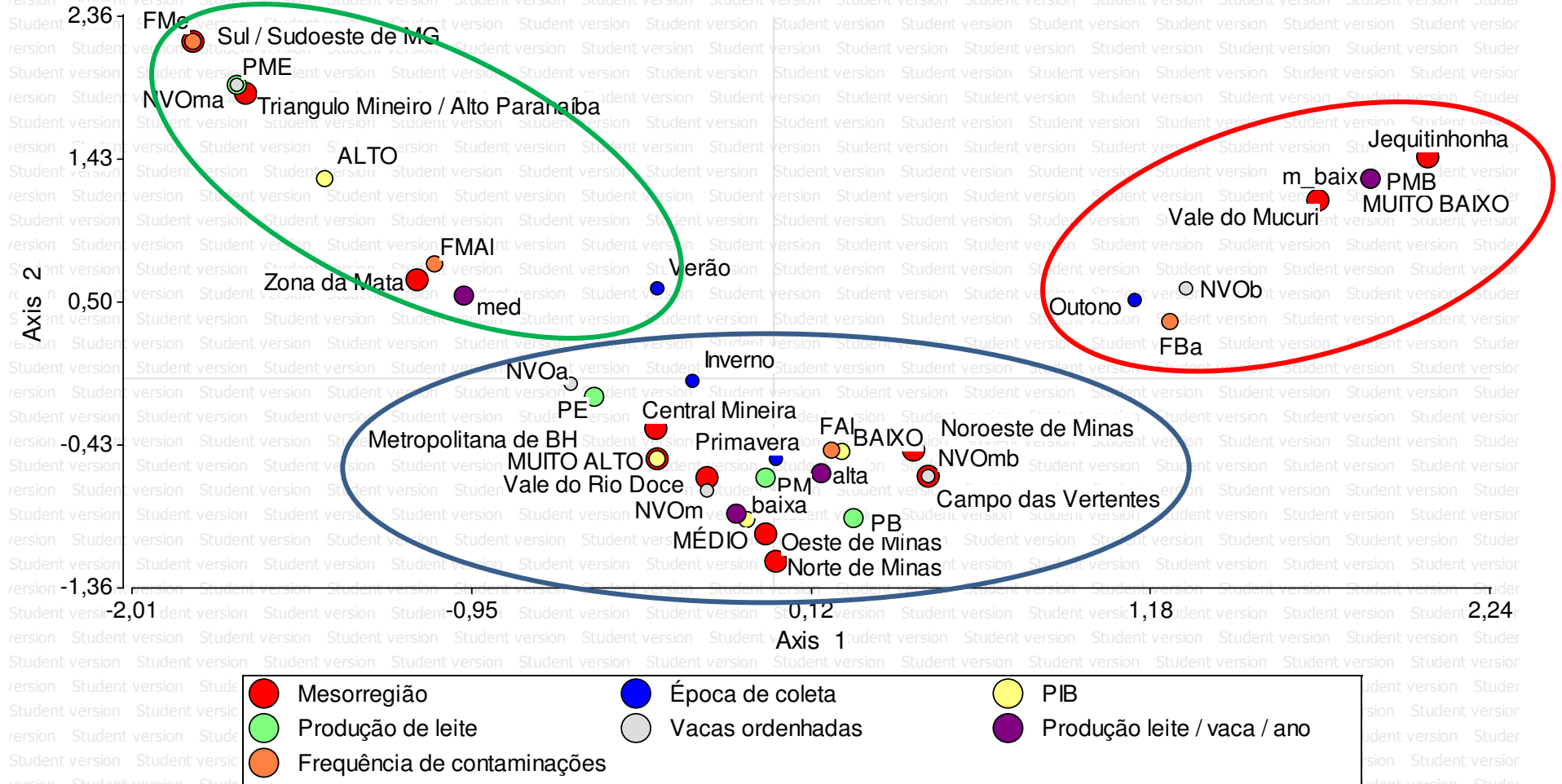
**Tabela 27.** Resultados da categorização para as variáveis frequência de contaminações, PIB, produção de leite, número de vacas ordenhadas e produção média por animal utilizadas na análise de correspondência múltipla para as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais

Mesorregião	Frequência de contaminações	PIB (Bilhões de reais)	Produção de leite (mil L)	Número de vacas ordenhadas	Produção média por animal (L/vaca/ano)
Noroeste de Minas Norte de Minas	FAI	BAIXO	PM	NVOb	alta
	FAI	MÉDIO	PB	NVOm	baixa
Jequitinhonha	FBa	MUITO BAIXO	PMB	NVOb	muito baixa
Vale do Mucuri	FAI	MUITO BAIXO	PMB	NVOb	muito baixa
Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba	FMAI	ALTO	PME	NVOma	mediana
Central Mineira	FMAI	BAIXO	PE	NVOm	alta
Metropolitana de BH	FAI	MUITO ALTO	PM	NVOm	mediana
Vale do Rio Doce	FAI	MÉDIO	PE	NVOa	baixa

<b>Oeste de Minas</b>	FAI	MÉDIO	PM	NVOm	alta
<b>Sul / Sudoeste de Minas</b>	FMe	ALTO	PME	NVOma	mediana
<b>Campo das Vertentes</b>	FBa	BAIXO	PB	NVOmb	alta
<b>Zona da Mata</b>	FMAI	ALTO	PE	NVOa	mediana

Em seguida procedeu-se a análise estatística dos resultados experimentais obtidos ao longo deste trabalho. A primeira abordagem foi realizada com a inclusão de todas as variáveis definidas para o estudo. Com esta abordagem, após a análise estatística empregando o software *InfoStat*, o número de dimensões definidas foi  $n = 7 - 1 = 6$ . Das interações entre todas estas dimensões foram obtidos 14 *mapas perceptuais* correspondendo às combinações duas a duas das seis dimensões. De modo geral, a primeira escolha para avaliação dos resultados é o mapa de interações das dimensões I e II (Figura 24). Observa-se que este apresenta um grande número de pontos plotados com a identificação de três possíveis regiões de similaridade, destacadas pelas elipses. A elipse verde sugere ocorrem frequências médias (FMe) e muito altas (FMAI) de contaminações, envolvendo mesorregiões de PIB alto. Ainda nesta elipse observa-se que as mesorregiões nela contidas possuem produção de leite muito elevada (PME) com um número muito de alto de vacas ordenhadas (NVOma), embora a média de produção por vaca seja mediana (med).

**Figura 24** Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido para a primeira abordagem na análise dos resultados experimentais pela técnica de análise de correspondência múltipla, incluindo todas as variáveis da Tabela 27 e a época de coleta das amostras de leite



Na elipse vermelha encontram-se regiões com PIB muito baixo, baixa produção de leite (PMB) e rendimento por vaca (m\_baix) além de poucos animais (NVOB). O *mapa perceptual* sugere que estes fatores tem influência sobre a baixa frequência de contaminações (FBa) observadas para as mesorregiões da elipse vermelha..

Finalmente a elipse central, em azul, na qual agrupam-se a maioria das mesorregiões (Central Mineira, Metropolitana de BH, Campo das Vertentes, Noroeste de Minas, Vale do Rio Doce, Oeste de Minas e Norte de Minas) e concentram-se aquelas com os PIBs mais elevados do estado, encontram-se as mesorregiões de frequência de alta contaminações (FAL). Estas são regiões nas quais a produção de leite varia muito, de baixa a elevada, não permitindo que a análise de similaridade seja conclusiva em relação a esta variável, o mesmo ocorrendo com a produção média por vaca e o número de animais ordenhados.

Percebem-se ainda nas três elipses da Figura 24, pontos relativos à época de coleta das amostras de leite cru refrigerado. Mas dada a complexidade, ao grande volume de dados e à possibilidade de confundimento na interpretação destes resultados, já que em todas as regiões as amostras foram coletadas em pelo menos duas estações do ano distintas, não se pode tirar conclusões em relação ao efeito da época de coleta das amostras e à frequência de contaminação por resíduos de agrotóxicos. A análise dos outros 13 mapas perceptuais revelou que em sete deles o estabelecimento de um padrão de similaridade, mesmo que mínimo como o obtido para as dimensões I e II torna-se uma tarefa muito difícil.

A Tabela 28 revela que utilizando seis dimensões é possível explicar 69,60 % das relações entre as variáveis, em todas as dimensões a inércia destas foi superior a 0,2 e, de acordo com Hair Jr (2005), devem, se possível, ser mantidas na análise. No entanto, como já mencionado, a complexidade de interpretação dos *mapas perceptuais* e das tabelas de resultados aumenta significativamente com o aumento do número de dimensões e inviabilizaria a análise. Optou-se, então, por estabelecer uma relação entre a capacidade acumulada de explicação e a minimização da dificuldade para interpretação dos resultados.

Quando se observa a Tabela 28, visualiza-se que, a quinta e sexta dimensões contribuem com menos de 10% para explicação da relação em ter as variáveis. Com quatro dimensões é possível explicar 53,86 % das relações, mas ainda assim, a complexidade da análise dos mapas perceptuais torna o processo de interpretação extremamente lento e complexo, pois o volume de autovalores a ser avaliado e suas contribuições para cada dimensão, além das interações entre estes nas diferentes dimensões, permanece muito elevado.

**Tabela 28.** Contribuições para o Chi-quadrado do *mapa perceptual* da Figura 24

Dimensão	Auto valores	Inércia	Chi-quadrado	Contribuição para explicação (%)	Acumulado (%)
1	0,87	0,76	14026,55	16,57	16,57
2	0,81	0,66	12151,33	14,35	30,92
3	0,74	0,55	10227,27	12,08	43,00
4	0,70	0,50	9198,20	10,86	53,86
5	0,62	0,38	7049,58	8,33	62,19
6	0,58	0,34	6273,64	7,41	69,60

Assim, optou-se por avaliar as relações entre as diferentes variáveis de forma escalonada, aplicando a análise estatística a pequenos grupos de variáveis por vez. Este procedimento reduz o número de dimensões e facilita a análise dos *mapas perceptuais*, sem, no entanto, comprometer a confiabilidade dos resultados, já que os *mapas perceptuais*, ficam apenas menos congestionados. Mas podem ser convertidos, prontamente, no *mapa perceptual* total da Figura 24. A expectativa era que o *mapa perceptual* obtido desta forma mostrasse que a sazonalidade das estações do ano revelasse um padrão de frequência de contaminações característico.

O *mapa perceptual* obtido no tratamento das variáveis, frequência de contaminações e época de coleta das amostras, é mostrado na Figura 25. A Tabela 29 que apresenta as contribuições para Chi-quadrado para o *mapa perceptual* da Figura 24, revelando que o uso de duas dimensões explica 99,04% da variação.

**Tabela 29.** Contribuições para o valor de Chi-quadrado convertido em distâncias para o *mapa perceptual* das variáveis frequência de contaminações e época de coleta das amostras de leite cru refrigerado para a análise de resíduos de agrotóxicos

Variáveis Dimensão	Inverno	Outono	Primavera	Verão	FBa	FMAI	FAI	FMe
I	0,41	0,23	-0,58	-0,25	0,82	0,22	-0,33	0,84
II	0,12	-0,61	-0,08	0,40	-0,40	0,45	-0,10	0,48

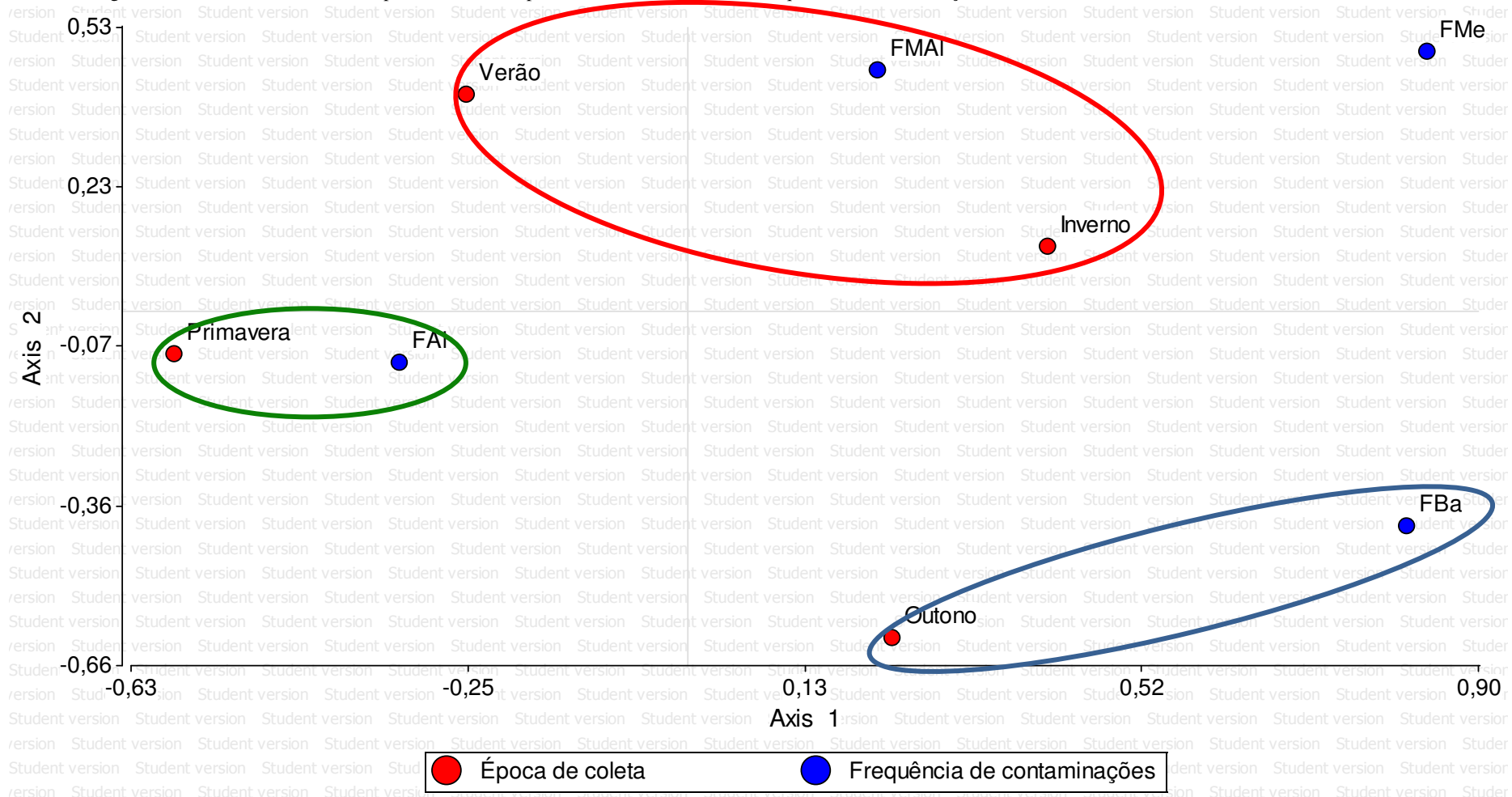
A análise conjunta do *mapa perceptual* (Figura 25) e da Tabela 29 permitiu estabelecer a similaridade entre a frequência alta de contaminações e a coleta de amostras na primavera, indicando que nesta estação aumenta o número de detecções de resíduos de agrotóxicos em leite. Esta similaridade é corroborada pelos valores de Chi-quadrado transformados (distâncias) mostrados na Tabela 30, na qual valores próximos apresentam alta similaridade. Valores equivalentes em módulo, mas com sinais distintos, indicam grandes diferenças. Como se pode notar, os valores das distâncias entre primavera e frequência alta de contaminações, sugerem similaridade em ambas as dimensões (Tabela 29).

**Tabela 30.** Contribuições para o Chi-quadrado para o *mapa perceptual* das variáveis frequência de contaminações e época de coleta das amostras das amostras de leite cru refrigerado para a análise de resíduos de agrotóxicos

Dimensão	Auto valores	Inércia	Chi-quadrado	Contribuição para explicação (%)	Acumulado (%)
1	0,43	0,19	153,16	68,45	68,45
2	0,29	0,08	68,45	30,59	99,04

A elipse azul representada na Figura 25 indica que há similaridade entre os resultados das amostras coletadas no outono e a baixa frequência de contaminações. Este resultado está em concordância com o obtido no *mapa perceptual* da Figura 23, embora na tabela para a dimensão I haja maior similaridade entre a baixa frequência e inverno do que com o outono; na dimensão II a similaridade com o outono é mais pronunciada, o que permitiu a construção da elipse azul.

**Figura 25.** Mapa perceptual para duas dimensões obtido da análise de similaridade dos resultados experimentais para a análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais, para as variáveis época de coleta das amostras e frequência de contaminações



---

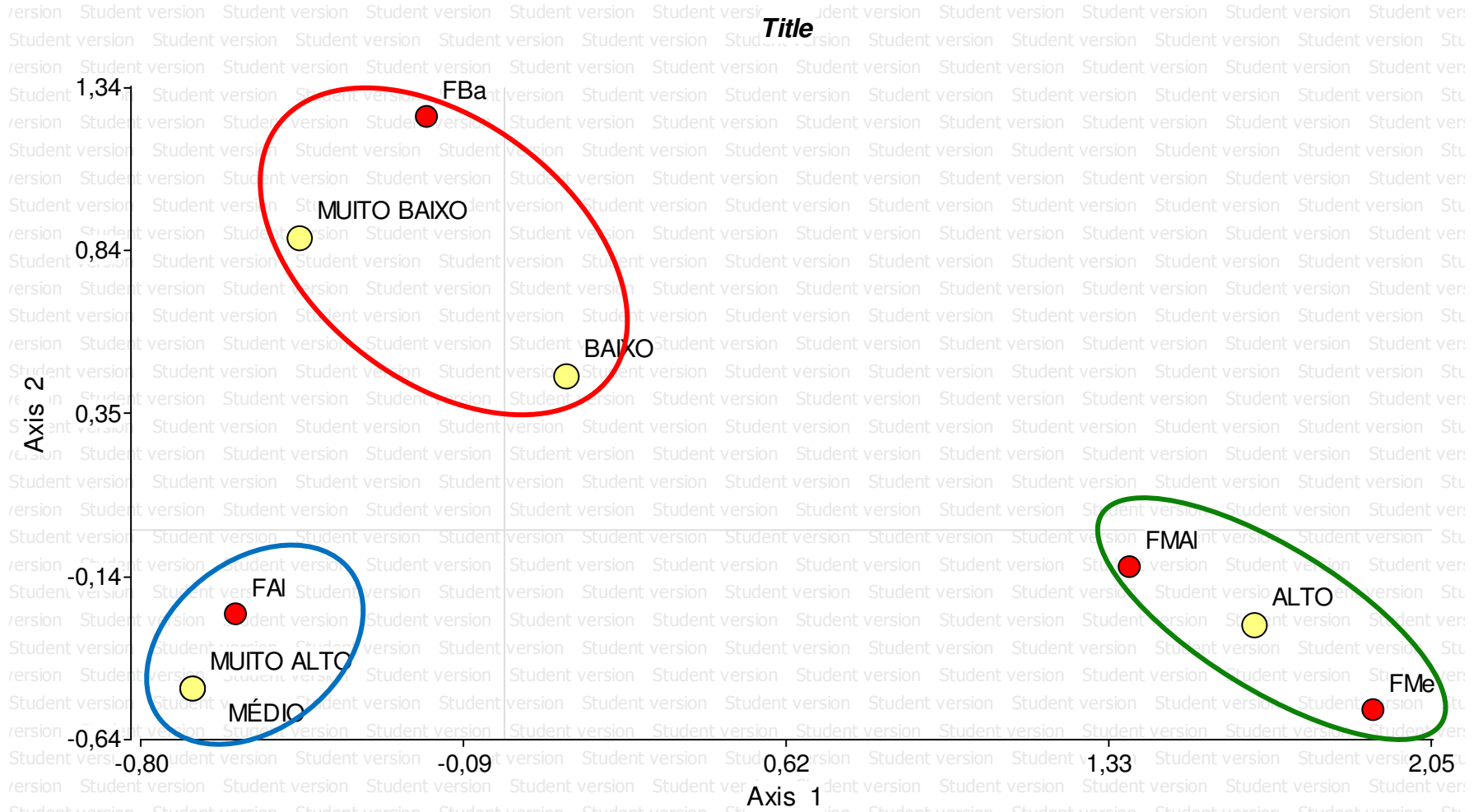
Quando se analisam as tabelas 29 e 30, na tentativa de estabelecer relações de similaridade entre as estações verão e inverno e as frequências de contaminações, percebe-se que as distâncias entre verão e FMAI e FMe são: 0,47 (  $| -0,25 - 0,22 |$  ) e 109 (  $| -0,25 - 0,84 |$  ) para a dimensão I e 0,05 (  $| 0,40 - 0,45 |$  ) e 0,08 (  $| 0,40 - 0,48 |$  ) para a dimensão II. Enquanto que a mesma análise para inverno revela que as distâncias são: 0,19 (  $| 0,41 - 0,22 |$  ) e 0,42 (  $| 0,41 - 0,84 |$  ) para a dimensão I e 0,33 (  $| 0,12 - 0,45 |$  ) e, 0,36 (  $| 0,12 - 0,48 |$  ) para a dimensão II, em relação a FMAI e FMe, respectivamente. Assim, foi possível traçar a elipse vermelha uma vez que as distâncias entre verão e FMAI são menores nos dois planos e portanto, indicam maior similaridade entre estas variáveis (Hair et al., 2005). No entanto, não foi possível estabelecer de forma segura uma relação entre a frequência média para a ocorrência de contaminações e estas duas estações. Isto se deve ao fato de que, apenas a mesorregião Sul/Sudoeste de Minas foi classificada com frequência média de contaminações de acordo com os critérios de categorização das variáveis estabelecidos neste trabalho. Soma-se a isto o reduzido número de amostras coletadas para esta região, o que dificultou a distribuição da amostragem de maneira equitativa ao longo das estações do ano.

Os resultados obtidos na análise das relações entre a época de coleta das amostras e a frequência de contaminações revelaram, de modo geral, que a maioria das detecções ocorreram nas coletadas nas estações primavera e verão, que coincidem com a época do ano de maior calor e precipitação, na região sudeste. Este período corresponde ao pico de desenvolvimento do carrapato, principal parasita do rebanho, que pode comprometer a produção, e é a época em que seu ciclo reprodutivo é mais curto (Barbosa et al., 2002, Rocha, 2016). Apesar de ser recomendado pela EMBRAPA o uso do controle estratégico dos carrapatos ao longo de 120 dias, geralmente iniciando em dezembro, com aplicações em intervalos regulares de cerca de 21 dias (Barbosa et al., 2002), praguicidas são aplicados no rebanho durante todo o ano, muitas vezes em sub-doses e não respeitando os períodos de carência estabelecidos pelos fabricantes contribuindo para o aumento da presença de resíduos destas substâncias no leite. Além do carrapato, a ocorrência de outros parasitas como berne e mosca do chifre por exemplo, levam o produtor a adotar medidas químicas de controle ao longo de todo o ano o que, frequentemente culmina na utilização de produtos que contêm, como princípio ativo, agrotóxicos. Contudo não se pode abandonar a tese de que a maior frequência de contaminações identificada no verão e primavera, decorre da aplicação, muitas vezes indiscriminada e sem protocolo devidamente estabelecido, de grandes quantidades de produtos para controle de carrapatos nestas estações.

Outra análise que se procurou fazer foi avaliar o impacto que a renda dos produtores pudesse ter sobre a frequência de contaminações observada nas amostras de leite cru refrigerado. Então foi feito o estudo da relação entre o PIB de cada mesorregião e a frequência de contaminações. O *mapa perceptual* da Figura 26 revela os padrões de comportamento e similaridade para as variáveis PIB e frequência de contaminações.

Nas Tabelas 31 e 32 são apresentados os valores de Chi-quadrado transformados em distâncias e as contribuições para o valor de Chi-quadrado ao longo de cada uma das dimensões. A Tabela 31 mostra que o *mapa perceptual* explica 99,4% das relações entre estas variáveis utilizando apenas as duas dimensões, não sendo portanto necessária a utilização de dimensões adicionais para o estudo das relações entre estas variáveis.

**Figura 26.** Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis PIB e frequência de contaminações das amostras de leite cru refrigerado oriundas das doze mesorregiões do estado de Minas Gerais



**Tabela 31.** Contribuições para o Chi-quadrado para o *mapa perceptual* das variáveis PIB e frequência de contaminações

Dimensão	Auto-valores	Inércia	Chi-quadrado	Contribuição para explicação (%)	Acumulado (%)
1	0,86	0,75	614,09	72,15	72,15
2	0,53	0,28	231,92	27,25	99,40

A Tabela 32 indica claramente a similaridade entre valores de PIB muito alto e médio com a frequência alta (FAI) de contaminações, levando ao agrupamento, por similaridade, indicado na elipse azul da Figura 26. Mais dois agrupamentos são claramente visualizados tanto no *mapa perceptual* quanto na Tabela 32. Estes estão indicados pelas elipses vermelha e verde. Fica então evidente que a o PIB de uma determinada mesorregião tem, de fato, impacto sobre a frequência de contaminações, como se percebe no *mapa perceptual* das Figuras 26 e 27. As regiões que apresentam PIB alto possuem frequência de contaminação muito alta e média. Mais uma vez, mesorregião Sul/Sudoeste de Minas, influenciou o agrupamento. Pois, como já observado, apenas para esta mesorregião foi obtida frequência média de contaminações.

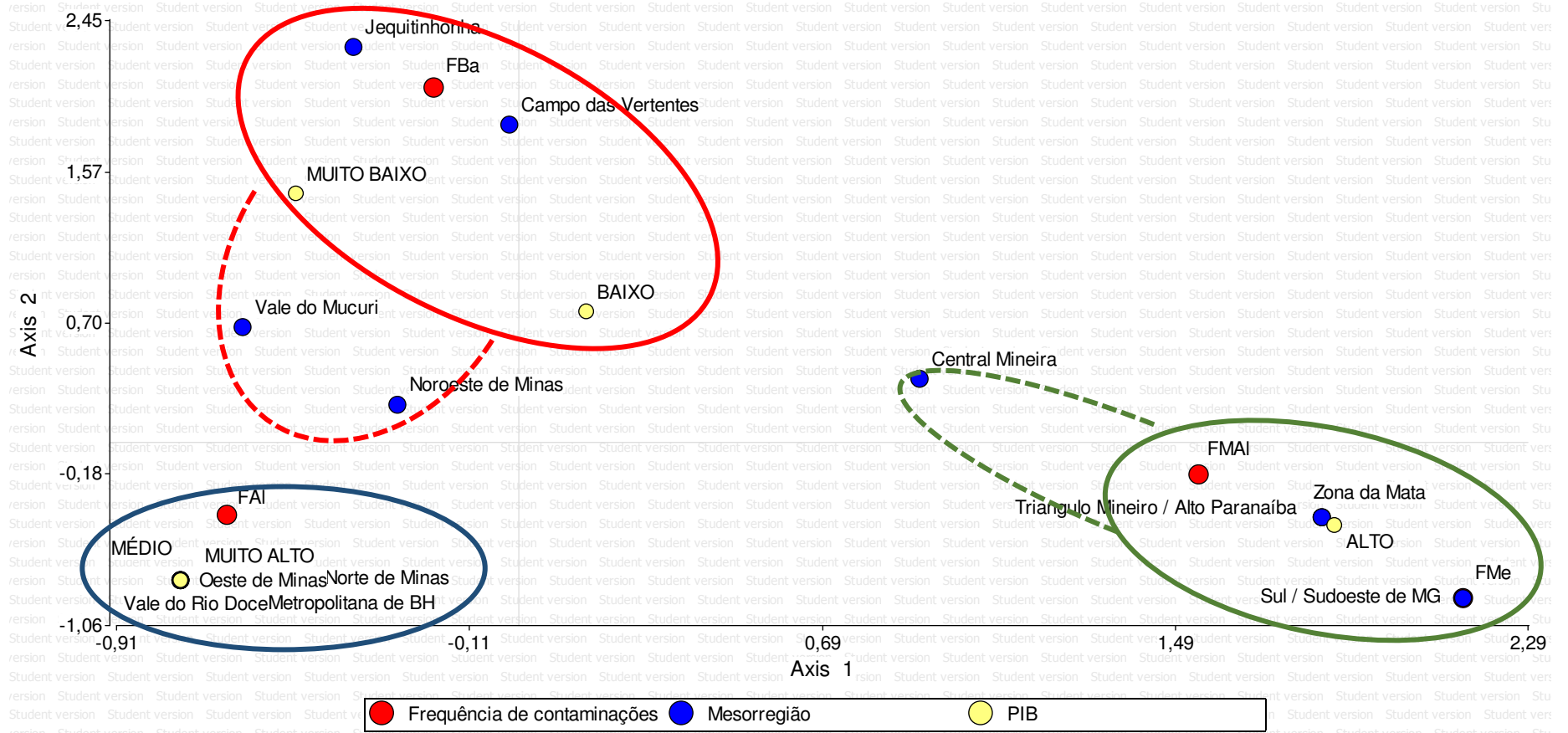
**Tabela 32.** Contribuições para o valor de Chi-quadrado convertido em distâncias para o *mapa perceptual* das variáveis PIB e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

Variáveis Dimensão	PIB					Frequência de contaminações			
	BAIXO	MUITO BAIXO	MUITO ALTO	MÉDIO	ALTO	FBa	FMAI	FAI	FMe
I	0,14	-0,45	-0,69	-0,69	1,66	-0,17	1,38	-0,59	1,92
II	0,46	0,88	-0,48	-0,48	-0,29	1,25	-0,11	-0,26	-0,55

FBa: Frequência de contaminações muito baixa  
 FMAI: Frequência de contaminações muito alta  
 FAI: Frequência de contaminações alta  
 FMe: Frequência de contaminações média

Quando se adiciona a variável correspondente às mesorregiões para análise (Figura 27), percebe-se novamente o mesmo padrão com três agrupamentos bem delimitados pelas elipses vermelha, azul e verde. Há três mesorregiões que podem levar a dubiedade de interpretação devido ao seu posicionamento no mapa perceptual. No entanto pode-se dirimir a dúvida analisando as Tabelas 33 e 34 que mostram as contribuições de cada variável para o valor de Chi-quadrado e as distâncias entre variáveis no mapa percentual em relação a cada uma das dimensões.

**Figura 27. Mapa perceptual** para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais



Na Tabela 33 pode-se observar a contribuição para o valor de Chi-quadrado para as regiões Noroeste de Minas e Vale do Mucuri de 183,01 e 308,34, respectivamente, em relação ao PIB e, 24,54 e 18,99 em relação à frequência de contaminação de cada mesorregião. Assim, estas regiões podem ser incorporadas no *mapa perceptual* à elipse azul (linha pontilhada) da Figura 27.

**Tabela 33.** Contribuições ao Chi-quadrado para o *mapa perceptual* das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

	FBa	FMAI	FAI	FMe	BAIXO	MUITO BAIXO	MUITO ALTO	MÉDIO	ALTO
<b>FBa</b>	594,66	30,55	72,68	2,11	33,21	90,19	16,85	33,41	23,33
<b>FMAI</b>	30,55	468,01	118,99	3,45	2,04	30,79	27,59	54,69	276,83
<b>FAI</b>	72,68	118,99	141,12	8,21	12,42	0,93	32,72	64,86	90,86
<b>FMe</b>	2,11	3,45	8,21	796,24	3,57	2,12	1,90	3,77	49,06
<b>Campo das Vertentes</b>	306,92	15,77	37,51	1,09	139,43	9,71	8,70	17,24	12,04
<b>Central Mineira</b>	9,33	<b>142,94</b>	36,34	1,05	<b>135,08</b>	9,41	8,43	16,70	11,66
<b>Jequitinhonha</b>	287,74	14,78	35,17	1,02	15,29	284,62	8,16	16,17	11,29
<b>Metropolitana de BH</b>	16,85	27,59	32,72	1,90	28,54	16,99	615,22	30,17	21,07
<b>Noroeste de Minas</b>	12,64	20,69	<b>24,54</b>	1,43	<b>183,01</b>	12,74	11,42	22,63	15,80
<b>Norte de Minas</b>	9,33	15,27	18,11	1,05	15,80	9,41	8,43	122,83	11,66
<b>Oeste de Minas</b>	11,44	18,72	22,20	1,29	19,37	11,53	10,33	150,57	14,30
<b>Sul / Sudoeste de MG</b>	2,11	3,45	8,21	796,24	3,57	2,12	1,90	3,77	49,06
<b>Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba</b>	9,93	152,16	38,69	1,12	16,82	10,01	8,97	17,78	231,28
<b>Vale do Mucuri</b>	9,78	16,01	<b>18,99</b>	1,10	16,57	<b>308,34</b>	8,83	17,51	12,23
<b>Vale do Rio Doce</b>	12,64	20,69	24,54	1,43	21,41	12,74	11,42	166,41	15,80
<b>Zona da Mata</b>	11,29	172,91	43,96	1,27	19,11	11,38	10,19	20,21	262,82

FBa: Frequência de contaminações muito baixa

FMAI: Frequência de contaminações muito alta

FAI: Frequência de contaminações alta

FMe: Frequência de contaminações média

Este resultado é corroborado pelos valores das distâncias em cada uma das dimensões, mostrados na Tabela 34 onde se observa que a distância destas mesorregiões em relação ao PIB é menor que aquela em relação à frequência de contaminação.

---

**Tabela 34.** Contribuições para o Chi-quadrado convertido em distâncias para o *mapa perceptual* das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

	Dimensão I	Dimensão II	Distancia da em relação à frequência de contaminações	Distância em relação ao PIB
<b>FBa</b>	-0,19	2,06		
<b>FMAI</b>	1,55	-0,19		
<b>FAI</b>	-0,66	-0,42		
<b>FMe</b>	2,15	-0,90		
<b>Campo das Vertentes</b>	-0,02	1,84		
<b>Central Mineira</b>	0,91	0,37	0,64 (I) e 0,56 (II)	0,76 (I) e 0,39 (II)
<b>Jequitinhonha</b>	-0,37	2,29		
<b>Metropolitana de BH</b>	-0,77	-0,80		
<b>Noroeste de Minas</b>	-0,27	0,22	1,82 (I) e 0,66 (II)	0,42 (I) e 0,54 (II)
<b>Norte de Minas</b>	-0,77	-0,80		
<b>Oeste de Minas</b>	-0,77	-0,80		
<b>Sul / Sudoeste de MG</b>	2,15	-0,90		
<b>Triângulo Mineiro / Alto P..</b>	1,83	-0,44		
<b>Vale do Mucuri</b>	-0,63	0,67	0,03 (I) e 1,09 (II)	0,12 (I) e 0,78 (II)
<b>Vale do Rio Doce</b>	-0,77	-0,80		
<b>Zona da Mata</b>	1,83	-0,44		
<b>BAIXO</b>	0,15	0,76		
<b>MUITO BAIXO</b>	-0,51	1,45		
<b>MUITO ALTO</b>	-0,77	-0,80		
<b>MÉDIO</b>	-0,77	-0,80		
<b>ALTO</b>	1,86	-0,48		
<b>FBa</b>	-0,19	2,06		
<b>FMAI</b>	1,55	-0,19		

FBa: Frequência de contaminações muito baixa

FMAI: Frequência de contaminações muito alta

FAI: Frequência de contaminações alta

FMe: Frequência de contaminações média

Para a mesorregião Central Mineira, tem-se as seguintes contribuições para Chi-quadrado: 135,08 em relação ao PIB e 142,94 em relação a frequência de contaminações (Tabela 33), praticamente iguais, com ligeira tendência para maior similaridade com a frequência de contaminação. A análise das distâncias entre estas três variáveis apresentadas na Tabela 34 revela que na dimensão II, a distância entre a mesorregião e a variável PIB é menor em relação à frequência, mas as diferenças entre as duas dimensões para estas variáveis são praticamente da mesma ordem 0,12 ( | 0,64 – 0,76 | ) para Central Mineira e frequência de contaminações e 0,15 ( | 0,56 – 0,39 | ) para Central Mineira e PIB. A contribuição % para o valor acumulado de Chi-

quadrado e os auto-valores para ambas as dimensões também são muito semelhantes 15,91 e 14,06 e, 0,98 e 0,92 respectivamente, para as dimensões I e II (Tabela 35), o que dificulta a tomada de decisão em relação à inclusão da região Central Mineira em uma das elipses. No entanto, como já foi demonstrado, a frequência de contaminações nas demais regiões sofre grande influência do PIB. Assim, como a distância da variável mesorregião Central Mineira em relação a variável PIB é menor que aquela em relação à frequência de contaminações, a mesorregião Central Mineira foi incluída na elipse verde, conforme indica a linha tracejada na Figura 27.

**Tabela 35.** Contribuições acumuladas para o Chi-quadrado e inércia das variáveis representados no *mapa perceptual* das variáveis PIB, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

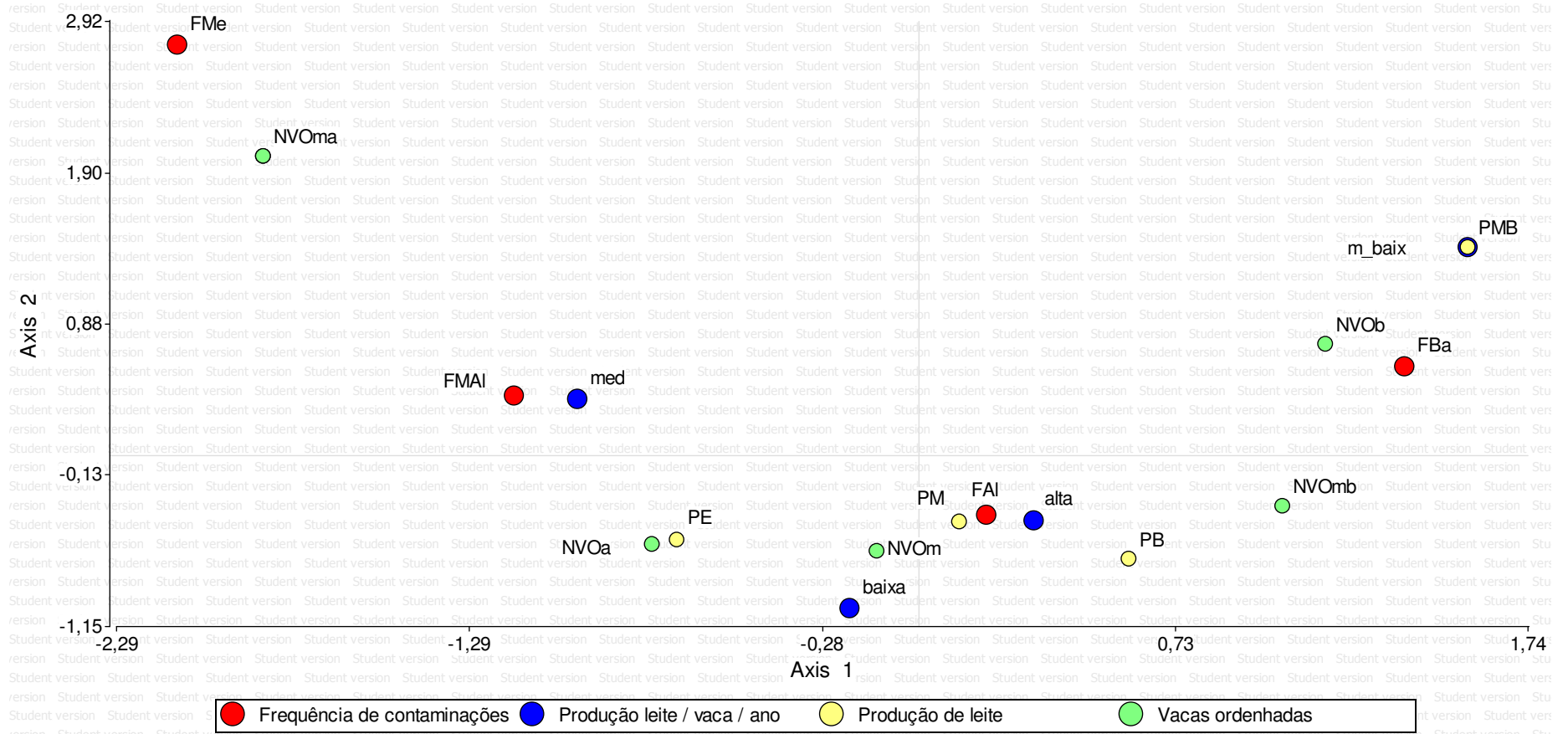
Dimensão	Auto valores	Inércia	Chi-quadrado	Contribuição para explicação (%)	Acumulado (%)
1	0,98	0,95	4465,17	15,91	15,91
2	0,92	0,84	3946,26	14,06	29,97

De modo análogo, as mesorregiões Noroeste de Minas e Vale do Mucuri foram incluídas na elipse azul, devido à forte influência da variável PIB para as quais a contribuição desta variável para a explicação das correlações é bastante elevada 308,34 para a mesorregião Noroeste de Minas em relação ao PIB muito baixo e 183,01 para o Vale do Mucuri em relação ao PIB baixo. Estes valores são muito superiores aos obtidos para as correlações entre estas variáveis, 18,99 e 24,54 respectivamente.

Como evidencia a Figura 27, mesorregiões com PIB mais elevado tendem a apresentar maior frequência de contaminações, possivelmente porque nestas regiões a maior disponibilidade de recursos provém maior acesso aos diferentes produtos para aplicação nos animais ou nas pastagens. Além disso, nessas mesorregiões, os produtores podem fornecer maior volume de ração e concentrado aos animais e estes alimentos podem ser fontes potenciais de contaminação caso apresentem resíduos de agrotóxicos nos ingredientes de sua formulação. No entanto, este resultado contrasta com a expectativa de que em regiões com maior renda, o nível conscientização e a facilidade de acesso à informação dos produtores seja mais elevado, o que levaria a produtores mais conscientes e, portanto, a um menor índice de contaminações.

Ao analisarmos a influência das variáveis produção de leite, número de vacas ordenhadas e média de produção por animal, na Figura 28, percebemos que há grande proximidade entre estas, sugerindo a possibilidade de redução no número de variáveis a serem avaliadas, simplificando então, a análise dos *mapas perceptuais* e diminuindo o número de dimensões necessárias à explicação. Desta forma a variável média de produção de leite por vaca ao ano, foi realocada e combinada com a variável produção de leite. A análise da Figura 28 sugere ainda, a existência de pelo menos três agrupamentos em relação à influência das variáveis sobre a frequência de contaminações. No entanto, a localização de alguns pontos em um agrupamento específico é dificultada pelo posicionamento destes no mapa, como é o caso, por exemplo, dos pontos relativos FMAI, med, NVomb.

**Figura 28.** Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, média de produção por vaca e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais



**Tabela 36.** Contribuições para o valor total de Chi-quadrado para a análise conjunta das variáveis frequência de contaminação por resíduos de agrotóxicos, produção de leite, número de vacas ordenhadas e média de produção por vaca, para amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

Variáveis	PB	PE	PMB	PM	PME	NVOmb	NVOm	NVOb	NVOma	NVOa
<b>FBa</b>	<b>106,98</b>	33,26	<b>90,19</b>	40,93	12,04	<b>306,92</b>	46,95	25,91	12,04	23,93
<b>FMAI</b>	31,04	<b>125,18</b>	30,79	67,01	108,73	15,77	2,87	51,49	<b>108,73</b>	32,77
<b>FAI</b>	1,90	16,01	0,93	<b>79,47</b>	46,89	37,51	24,63	5,73	<b>46,89</b>	0,91
<b>FMe</b>	2,14	3,75	2,12	4,62	<b>117,56</b>	1,09	5,30	3,55	<b>117,56</b>	2,70

FBa: Frequência de contaminações muito baixa  
 FMAI: Frequência de contaminações muito alta  
 FAI: Frequência de contaminações alta  
 FMe: Frequência de contaminações média  
 PB: Produção baixa  
 PMB: Produção muito baixa  
 PM: produção média  
 PME: produção muito elevada

NVOmb: número de vacas ordenhadas muito baixo  
 NOVm: número de vacas ordenhadas médio  
 NVOb: número de vacas ordenhadas baixo  
 NVOma: número de vacas ordenhadas muito alto  
 NVOa: número de vacas ordenhadas alto

Refazendo-se a análise e empregando apenas as variáveis frequência de contaminação, produção de leite, número de vacas ordenhadas e mesorregião, obteve-se o *mapa perceptual* da Figura 29. A análise da Figura 29 revela dois agrupamentos bem distintos, indicados pelas elipses azul e vermelha. A elipse azul revela claramente que as regiões com a menor produção de leite e o menor número de vacas ordenhadas apresentam a menor frequência de contaminações. Isto pode ser confirmado ao analisarmos os valores das contribuições para o valor de Chi-quadrado apresentados na Tabela 36., onde observamos 106,98 e 90,19 para as relações entre FBa→PB e FBa→PMB respectivamente.

A elipse vermelha revela que as regiões que apresentam produção de leite mediana e elevado número de vacas ordenhadas caracterizam-se por apresentar frequência média de contaminações, 117,56 para FMe→PME e FMe→NVOma (Tabela 36). Chama a atenção a presença da mesorregião do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba na elipse vermelha, uma vez que esta mesorregião se caracteriza por frequência muito alta de contaminações como demonstrado pelos valores das distâncias representados nas linhas 4, 8, 14 e 23 da Tabela 37. Na Tabela 37. No entanto, o peso da contribuição das variáveis produção de leite e número de vacas ordenhadas, deslocou a região, no plano cartesiano, em direção à estas variáveis, revelando a importância da produção de leite e número de vacas ordenhadas na análise, que inclusive apresentam o mesmo valor de 117,56 para a contribuição para Chi-quadrado na Tabela 36.

**Tabela 37.** Contribuições para o Chi-quadrado convertido em distâncias para o *mapa perceptual* das variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais

	Variáveis	Dimensão I	Dimensão II
1	FBa	-1,11	1,71
2	FMAI	1,30	-0,02
3	FAI	-0,34	-0,50
4	FMe	2,85	2,25
5	NVOmb	-1,18	2,29
6	NVOM	-0,19	-0,55
7	NVOB	-0,76	0,17
8	NVOMA	2,37	1,43
9	NVOA	0,66	-0,79
10	PB	-0,86	1,20
11	PE	0,66	-0,72
12	PMB	-0,89	0,58
13	PM	-0,43	-0,65
14	PME	2,37	1,43
15	Campo das Vertentes	-1,18	2,29
16	Central Mineira	0,67	-0,57
17	Jequitinhonha	-1,04	1,09
18	Metropolitana de BH	-0,36	-0,75
19	Noroeste de Minas	-0,58	-0,43
20	Norte de Minas	-0,52	0,06
21	Oeste de Minas	-0,36	-0,75
22	Sul / Sudoeste de MG	2,85	2,25
23	Triangulo Mineiro / Alto Paranaíba	2,27	1,25
24	Vale do Mucuri	-0,75	0,11
25	Vale do Rio Doce	0,36	-0,89
26	Zona da Mata	0,98	-0,67

---

Fenômeno semelhante ocorreu com a mesorregião Norte de Minas que embora apresente frequência alta de contaminações foi localizada dentro da elipse azul devido à grande influência das variáveis produção de leite e número de vacas ordenhadas, como revelam os valores das distâncias indicados na Tabela 37, linhas 3, 7, 10 e 20 para a dimensão I.

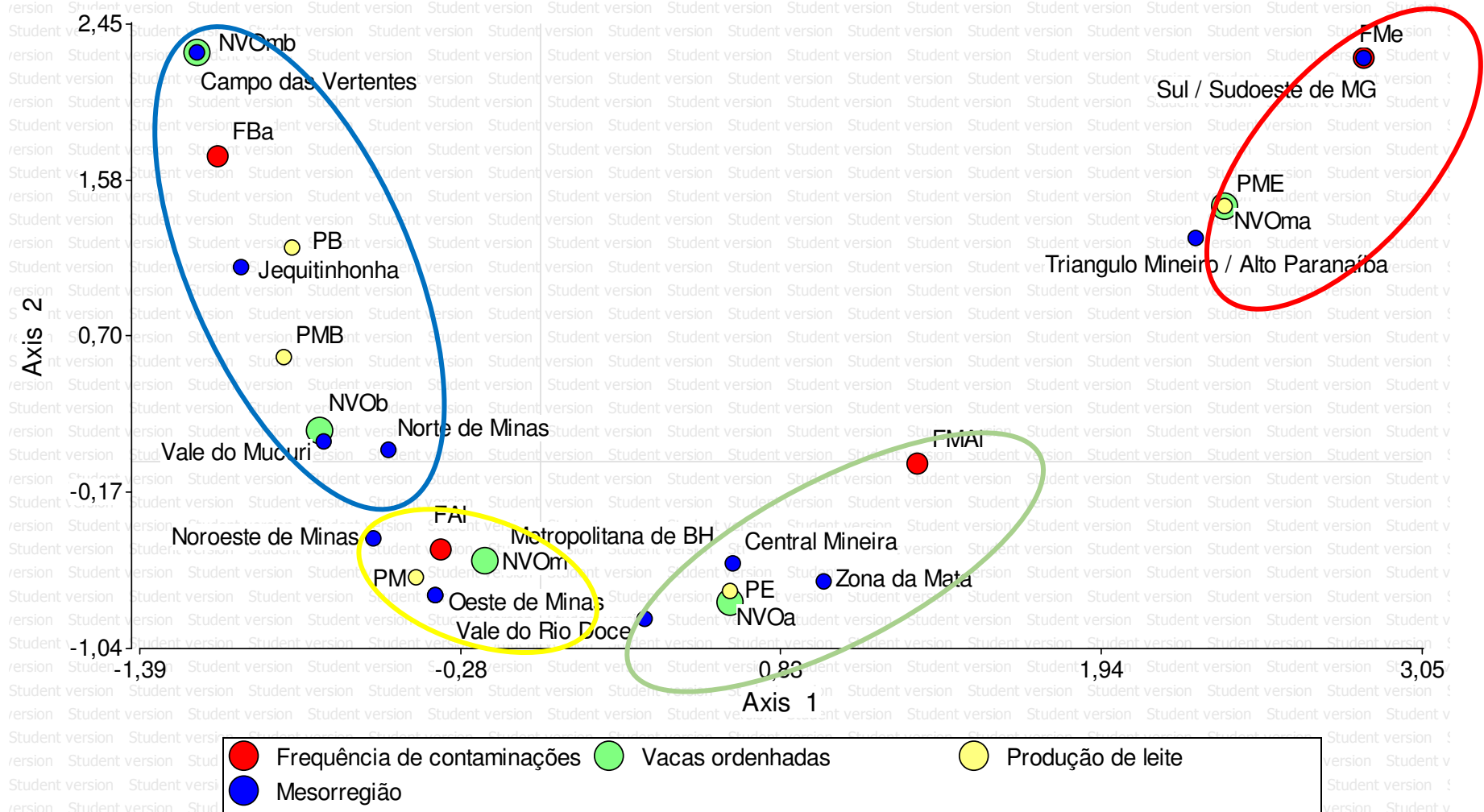
A análise da elipse verde nos revela que as mesorregiões Central Mineira, Vale do Rio Doce e Zona da Mata, que apresentam elevados número de vacas ordenhadas e produção de leite caracterizam-se por apresentar frequência muito alta de contaminações. Isto se deve provavelmente ao grande número de animais presente nas propriedades o que acaba por dificultar o manejo destes, favorecendo o desenvolvimento de parasitas e, conseqüentemente demandando o uso de parasiticidas. O posicionamento da região Vale do Rio Doce na elipse verde foi definido após a análise das distâncias na Tabela 37, na qual os valores apresentados nas linhas 9, 11 e 25 na dimensão I e 9, 11, 13 e 25 na dimensão II mostram o impacto da produção de leite e do número de vacas ordenhadas sobre a mesorregião.

Finalmente, a elipse amarela concentra as mesorregiões Noroeste de Minas, Oeste de Minas e Metropolitana de BH, que apresentam produção de leite e número de vacas ordenhadas medianas associadas a frequência alta de contaminações, como revelam as proximidades entre estas mesorregiões a a variável frequência alta de contaminações, obtidas a partir dos valores das distâncias calculados da Tabela 37 para as dimensões I e II. Para a mesorregião Metropolitana de BH temos 0,02 (  $|-0,36 - (-0,34)|$  ) e 0,25 (  $|-0,75 - (-0,50)|$  ) para as dimensões I e II respectivamente. A mesorregião Noroeste de Minas apresenta para estas dimensões distâncias de 0,24 (  $|-0,58 - (-0,34)|$  ) para a dimensão I e 0,13 (  $|-0,43 - (-0,50)|$  ) para a dimensão II e, a mesorregião Oeste de Minas com valores para as distâncias iguais a 0,02 (  $|-0,36 - (-0,34)|$  ) na dimensão I e 0,25 (  $|-0,75 - (-0,50)|$  ) na dimensão II.

Após análise de todos os *mapas perceptuais* obtidos pela aplicação da análise de correspondência múltipla aos dados, pode-se concluir que as variáveis PIB, produção de leite e número de vacas ordenhas e estações do ano na qual foram coletadas as amostras são determinantes no número de contaminações por resíduos de agrotóxicos presente nas amostras de leite cru refrigerado de cada mesorregião do estado de Minas Gerais. Regiões com maior PIB, maior produção de leite de média a alta, número de vacas ordenhas elevado, tendem, a apresentar maior frequência de contaminações para as amostras coletas no verão e primavera.

Os resultados obtidos neste trabalho trouxeram diversos esclarecimentos sobre a situação do controle de resíduos de agrotóxicos no estado de Minas Gerais. O que se vê, é que os mecanismos atualmente aplicados ao monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite no estado são ineficazes, praticamente não há coleta de amostras de leite para a análise de resíduos de agrotóxicos. Em sua grande maioria, as amostras de leite coletadas no estado são submetidas à ensaios físico-químicos e microbiológicos que visam avaliar a qualidade do leite em relação a parâmetros como contagem de células somáticas, acidez, adição de água, teor protéico, resíduos de antibióticos entre outros. Estes ensaios não são capazes de determinar e/ou quantificar a presença de resíduos de agrotóxicos em leite. Soma-se a isto o pequeno número de substâncias que compõem o PNCRC-Animal do MAPA, programa de referência para monitoramento de resíduos em todo o território nacional, e para as quais há LMR estabelecido na legislação é muito pequeno.

**Figura 29.** Mapa perceptual para as dimensões I e II obtido da análise de similaridade entre as variáveis produção de leite, números de vacas ordenhadas, mesorregião e frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos em para amostras de leite cru refrigerado do estado de Minas Gerais



---

Salienta-se que, de acordo com Hair Jr. (2005), a análise de correspondência é capaz de estabelecer as relações de similaridade entre múltiplas variáveis, mas não é capaz de identificar a fonte de tal similaridade. Assim, estudos mais aprofundados devem ser realizados para estabelecer as causas do efeito do PIB sobre a frequência de contaminações.

## **6. CONCLUSÕES**

Os estudos de validação adicionais permitiram a ampliação de escopo do método com a inclusão de 43 novos analitos. O método mostrou-se preciso e reprodutível, atendendo a todos os parâmetros de validação estabelecidos, além de apresentar baixo custo e de rápida e fácil execução, estando apto para ser empregado nas análises de rotina do Laboratório de Pesticidas do Lanagro-MG.

A aplicação do método na análise de resíduos de agrotóxicos em 827 amostras de leite cru refrigerado, obtidas das 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais permitiu estabelecer um panorama da ocorrência e frequência de contaminações do leite produzido no estado por resíduos de agrotóxicos. As análises revelaram uma situação preocupante, na qual 347 apresentaram algum tipo de contaminação por resíduos de agrotóxicos. E destas, 218 amostras apresentaram resíduos acima dos limites permitidos pela legislação brasileira.

O emprego da análise multivariada de correspondência múltipla permitiu estabelecer a correlação entre a frequência de contaminação e as variáveis PIB, produção de leite e número de vacas ordenhas e estações do ano são determinantes no número de contaminações. Regiões com maior PIB, maior produção de leite de média a alta, número de vacas ordenhas elevado, tendem, a apresentar maior frequência de contaminações por resíduos de agrotóxicos para as amostras de leite cru refrigerado coletas no verão e primavera. Confirmando as hipóteses de que fatores econômicos, de produção e sazonais têm efeito sobre o número de contaminações encontradas em leite em cada uma das 12 mesorregiões de Minas Gerais.

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante da fragilidade dos programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite em Minas Gerais, e no Brasil, e da redução do escopo de agrotóxicos pesquisados em 2014 para 2015, o que se constitui um retrocesso na garantia da segurança alimentar da população, é premente a necessidade de revisão e readequação dos mecanismos de controle da qualidade do leite, com a inclusão imediata do monitoramento e fiscalização da presença de resíduos de agrotóxicos em leite, para que se possa garantir a segurança alimentar dos consumidores

---

Os resultados obtidos suscitaram ainda, a demanda por diversas outras ações, entre as principais podemos citar o desenvolvimento de projeto para

- Investigar as causas da influência do PIB sobre a frequência de contaminações.
- Investigar as possíveis fontes de contaminação das amostras de leite cru refrigerado como, por exemplo, pastagens, ração fornecida aos animais e outras fontes de alimento, coletando e analisando quanto à presença de resíduos de agrotóxicos amostras de alimentos fornecidos aos animais nas diferentes regiões estudadas neste trabalho.
- Investigar se há alguma correlação entre a produção de grãos e a frequência de contaminações nas mesorregiões de Minas Gerais.

Propor ações conjuntas para melhoria do sistema de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em leite e da capacidade do Instituto Mineiro de Agropecuário (IMA) e do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) em responder a emergências pela construção de uma estratégia alicerçada:

- no desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos direcionados para atender às demandas geradas pelos métodos de pesquisa de analitos não-alvo ou desconhecidos, que atendam a legislação nacional e internacionalmente estabelecida e expressa na existência de limites máximos de resíduos e contaminantes, além aqueles já estabelecidos como “lista prioritária” para avaliação pelo *Codex Alimentarius*;
- no estabelecimento da ocorrência de contaminações em leite possibilitando a localização dos principais polos de contaminação e, assim, fornecendo informações valiosas para o desenvolvimento de programas de educação sanitária, monitoramento e fiscalização pelas autoridades competentes e,
- na comunicação eficiente de informação e dos achados de prospecção.

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAMODT G., SAMUELSEN S.O., SKRONDAL A. A simulation study of three methods for detecting disease clusters. **International Journal of Health Geographics**, v. 5, n.15, p. 1-11, 2006.
- ABIA - Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação. **Relatório Anual ABIA 2014**. São Paulo. 2014. 25 p.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro. 43 p. 2005.
- ABOU DONIA, M.A., ABOU-ARAB, A.A.K., ENB, A., EL-SENAITY, M.H., ABD RABOU, N.S. Chemical composition of raw milk and the accumulation of pesticide residues in milk products. **Global Veterinaria**, v. 4, n. 1, p. 06–14, 2010.
- AGYEI, N.; OKONKWO, J.O.; MUTSHATSHI, T.N.; BOTHA, B. DDT, DDE and DDD in Human Milk from South Africa. **Bull Environ Contam Toxicol**. v. 81, p.348–354, 2008.
- AMARAL, D. A. **Intoxicações por agrotóxicos: diagnóstico e tratamento**. CIT/SC – Centro de Informações Toxicológicas do Estado de Santa Catarina. Florianópolis. 25 p. 1998.
- ALVES, L. B. **Tratamento de Dados Multivariados por Análises de Correspondência e de Agrupamentos em dados de idosos de São José dos Campos**. 2007.110 p. Dissertação de Mestrado Instituto Tecnológico de Aeronáutica – Curso de Engenharia Aeronáutica e Mecânica, São José dos Campos, 2007
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, 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 the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.
- AUCHINCLOSS, A.H., GEBREAB, S.Y., MAIR, C., ROUX, A.V.D. A Review of Spatial Methods in Epidemiology, 2000–2010. **Annual Review of Public Health**, v. 33, p. 107-122, 2012.
- BARBOSA, P. F.; PEDROSO, A. F.; NOVO, A. L. M.; et al. Produção de Leite no Sudeste do Brasil. **Série Sistema de Produção**, EMBRAPA Gado de Leite, 2002. Disponível em <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteSudeste>>. Acesso em 20 jan 2016.
- BASTOS, L.H.P., GOUVÊA, A.V., ORTIZ, N. D., WOHLERS, M.H., CARDOSO, M., JACOB, S.C., NÓBREGA, A.W. Monitoramento de resíduos de agrotóxicos da classe dos organofosforados por cgdfc em amostras de leite fluído e em pó. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 178-184, 2015.

---

BLASCO, C.; PICO, Y.; ANDREU, V. Analytical method for simultaneous determination of pesticide and veterinary drug residues in milk by CE-MS. **Electrophoresis I**, v. 30, p. 1698-1707, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Internacional**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/internacional>>. Acesso em: 24 mar. 2016.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Estratégia de Abertura de Mercados: Perspectivas 2016**. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/acs/2015/Estrategia-Internacional.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2015/Estrategia-Internacional.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2016.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Projeções do agronegócio, Brasil 2014/2015 a 2024/2025. Projeções de longo prazo**. Assessoria de Gestão Estratégica. 6. ed. Brasília. 2015. 133p.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa SDA nº 13. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 jul. 2015, n 36 Seção 1, p. 5-12, 20 jul 2015a.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **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>>. Acesso em: 30 nov. 2015b.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília. 2014a. 158 p.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA No 11. Brasília, 07 mai 2014. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/CRC/IN%2011%20-%20PNCRB%202014.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/IN%2011%20-%20PNCRB%202014.pdf)> Acesso em: 20 jul 2015c.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários. **Relatório de produtos com licença vigente. 2014**. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Registros\\_Autorizacao/listas%20de%20produtos/Produtos%20Vigentes-%20Abril-2014.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Registros_Autorizacao/listas%20de%20produtos/Produtos%20Vigentes-%20Abril-2014.pdf)>. Acesso em: 06 jul. 2015d.

\_\_\_\_\_. **Guia para o controle da qualidade para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para os laboratórios integrantes do PARA**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Gerência-Geral de Laboratórios de Saúde Pública – GGLAS, 2007. 46p.

\_\_\_\_\_. Lei n. 11.346. 15 set 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 set. 2006, seção 1, p. 1-2, 2006.

- 
- BRITO, M.A.; BRITO, J.R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA G. Agronegócio do leite – Composição. **EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Agência de Informação, Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_128\\_21720039243.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html)>. Acesso em: 01 abr. 2016.
- BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.
- CACHO, C.; TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A.; PÉREZ-CONDE, C.; CÁMARA, C. Clean-up of triazines in vegetable extracts by molecularly imprinted solid-phase extraction using a propazine-imprinted polymer. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, p. 491-496, 2003.
- CAJKA, T.; HAJŠLOVA, J.; LACINA, O.; MASTOVSKA, K.; LEHOTAY, S. J. Rapid analysis of multiple pesticide in fruit-based baby food using programmed temperature vapouriser injection low-pressure gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1186, n. 2, p. 281-294, 2008.
- CARVALHO, G. R. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. **Circular Técnica n.102**. Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora. 2010. 12 p.
- CARVALHO, J.R.P.; VIEIRA, S.R.; MORAN, R.C.C.P. Análise de correspondência– uma ferramenta útil na interpretação de mapas de produtividade. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 26, p. 435-443, 2002.
- CARVALHO, G.R.; OLIVEIRA, A. F. O setor lácteo em perspectiva. **Boletim de conjuntura agropecuária**. Embrapa Monitoramento por Satélite, Campinas. Disponível em <[http://www.cnpm.embrapa.br/conjuntura/0609\\_Leitederivados.pdf](http://www.cnpm.embrapa.br/conjuntura/0609_Leitederivados.pdf)>. Acesso em: 16 out. 2015.
- CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **RELATÓRIO PIBAGRO Minas Gerais – Análise referente a setembro/15, elaborada com dados disponíveis até novembro/2015**. Disponível em: <[http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq\\_Relatorios/Conjuntura/PIB/PIB\\_12\\_2015.pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq_Relatorios/Conjuntura/PIB/PIB_12_2015.pdf)> Acesso em: 03 jan. 2016.
- CODEX ALIMENTARIUS. Guidelines on Good Laboratory Practice In Residue Analysis: CAC/GL 40-1993**. v. 1. Roma, 36 p., 2003.
- CODEX ALIMENTARIUS. Pesticide Residues in Food: Maximum Residue Limits; Extraneous Maximum Residue Limits.** Disponível em: <[http://www.codexalimentarius.net/mrls/servlet/PesticideServlet?Pesticides=0&Items=36&Items=%3E36&out\\_style=by+substance&Domain=PesticideMRLs&Language=english&query\\_form=%2Fmrls%2Fpestdes%2Fpest\\_q-e.htm](http://www.codexalimentarius.net/mrls/servlet/PesticideServlet?Pesticides=0&Items=36&Items=%3E36&out_style=by+substance&Domain=PesticideMRLs&Language=english&query_form=%2Fmrls%2Fpestdes%2Fpest_q-e.htm)>. Acesso em: 04 out. 2015.
- CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura Mensal. Leite e Derivados**. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_09\\_11\\_15\\_49\\_37\\_leite\\_agosto\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_11_15_49_37_leite_agosto_2015.pdf). Acesso em: 04 jan. 2016.

---

COPE, W. G.; LEIDY, R. B.; HODGSONA, E. Classes of Toxicants: Use Classes. In ERNEST HODGSON (Ed.). **Textbook of Modern Toxicology**. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2004. Cap. 5, p. 49-74.

EURL–EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides. **DATA POLL**. 2014. Disponível em: <<http://www.crl-pesticides-datapool.eu>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

De SOUZA, S. V. C. **Procedimento para Validação Intralaboratorial de Métodos de Ensaio: Delineamento e Aplicabilidade em Análises de Alimentos**. 2007. 296 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. InfoStat versión 2015. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponível em: <http://www.infostat.com.ar>. Acesso em: 01 dez. 2015.

DIRECTIVE 657, EC. European Commission. Commission decision 2002/657/EC of 12 August 2002. Implementing Council Directive 96/23/EC concerning performance of analytical methods and the interpretation of results. **Official Journal of the European Communities**. Bruxelas. 12 ago. 2002. L 221/8.

EC (European Commission), Regulamento (CE) n° 1213/2008. Relativo a um programa comunitário coordenado plurianual de controlo para 2009, 2010 e 2011, destinado a garantir o respeito dos limites máximos de resíduos de pesticidas no interior e à superfície dos alimentos de origem vegetal e animal e avaliar a exposição dos consumidores a estes resíduos. **Jornal Oficial da União Européia**. Bruxelas. 5 dez. 2008.

ECOBICHON, D.J. Toxic effects of pesticides. In CASARETT e DOULL'S. **Toxicology: the basic science of poisons**. 4 ed. New York: Pergamon Press, 1991. Cap 22, p. 763-810.

EMATER-MG, Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Minas Leite, programa estadual da cadeia produtiva do leite**. Disponível em: <[http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site\\_tpl\\_minas\\_leite&id=7530](http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_tpl_minas_leite&id=7530)>. Acesso em: 03 jan. 2016.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, unidade de Gado de Leite. **Centro de Inteligência do Leite**. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br/content/panorama-do-leite>>. Acesso em: 03 jan. 2016.

\_\_\_\_\_. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Agência Embrapa de Informação e Tecnológica. Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTA\\_G01\\_40\\_210200792814.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTA_G01_40_210200792814.html)>. Acesso em: 06 mai. 2015.

EFSA - European Food Safety Authority. **Chemicals in food 2015**. Overview of Data Collection Reports. Italy. 2015

- 
- EURACHEM, **The fitness for purpose of analytical methods**: A laboratory guide to method validation and related topics. Teddington: LGC, 2. ed. 2014. 70 p.
- EURACHEM/CITAC, **Quantifying uncertainty in analytical measurements**. Teddington: LGC, 3. ed. 2012. 141 p.
- FAO, Pesticide residues in food - 2014. **Report of the Joint Meeting of the FAO**: Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group. FAO Plant Production and Protection Paper, 221, 2014.
- FAO, Pesticide residues in food - 2015. **Report of the Joint Meeting of the FAO**: Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group. FAO Plant Production and Protection Paper, 223, 2015
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre. Artmed. 2002.
- FOX, J. **Series editor's introduction**, p. VIII - IX, em LE ROUX, B; ROUANET, H. Multiple Correspondence Analysis. Ed. ilustrada. v. 163. Londres. SAGE, 2010.
- GOMES, A. T.; ALVES, E. R. A.; GOMES, A. L.; ZOCCAL, R. Mercado de leite: Uma análise dos preços recebidos pelos produtores nos últimos anos. **Revista de Política Agrícola**, n. 3, p. 5-12, 2004.
- GOULART, S. M.; de QUEIROS, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; de QUEIROS, J. H. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, p. 1320-1323, 2008.
- GREENACRE M. **Correspondence Analysis in Practice**. 2. ed.. Boca Raton. Chapman & Hall/CRC. 2007. 270 p.
- HAIR Jr, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W, C. **Análise Multivariada de Dados**. 5. ed. Porto Alegre. Bookman. 2005. Cap. 10. p. 421-461.
- HEINZOW, B. e ANDERSEN, H. R. **Biocides and Pesticides**. In DUFFUS, J. H. (Ed) & WORTH, H. G. J. (Ed). *Fundamental Toxicology*. Londres. The Royal Society of Chemistry. 2006. Cap. 22. p.291-302.
- HERNÁNDEZ, F.; POZO, O.J, J.; SANCHO, V.; LÓPEZ, F.J.; MARÍ, J.M.; IBÁNÑEZ; M. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 596-610, 2005.
- HERNANDEZ, F.; POZO, O. J.; SANCHO, J. V.; BIJLSMA, L., BARREDA, M.; PITARCH, E. Multiresidue liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 52 non gas chromatography-amenable pesticides and metabolites in different food commodities. **Journal of Chromatography A**, v. 1109, n. 2, p. 242-252, 2006.
- HERNÁNDEZ, F., PORTOLÉS, T., PITARCH, E., LÓPEZ, F. J. Gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry to analyze trace-level organic compounds in the environment, food safety and toxicology. **Trends in Analytical Chemistry**, v.30, n. 2, p. 388-400, 2011.

- 
- HIRAHARA, Y.; KIMURA, M.; INOUE, T.; UCHIKAWA, S.; OTANI, S.; HAGANUMA, A.; MATSUMOTO, N.; HIRATA, A.; MARUYAMA, S.; TIZUKA, T.; UKYO, M.; OTA, M.; HIROSE, H.; SUZUKI, S.; UCHIDA, Y. Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in 11 agricultural products using gas chromatography. **Journal of Health Science**, v. 51, n. 5, p. 617-627, 2005.
- HONG, J.; KIM, H.-Y.; KIM, D.-G.; SEO, J.; KIM, K. J. Rapid determination of chlorinated pesticides in fish by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1038, n. 1, p. 2-35, 2004.
- HUANG, H.; LI, L.; MA, Q.; FENG, Y. Q.; HE, Z. K. Determination of melamine in milk by fluorescent spectrophotometry with cetyltrimethyl ammonium bromide. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 38, p. 249-252, 2010.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal 2014**. Rio de Janeiro. Brasil. v. 42. 2014. 39 p.
- \_\_\_\_\_. b. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de leite**. Disponível em: <[www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)>. Acesso em: 01 jul. 2014.
- INFANTOSI, A. F. C., COSTA, J. C. G. D., ALMEIDA, R. M. V. R., Análise de Correspondência: bases teóricas na interpretação de dados categóricos em Ciências da Saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 3, p. 473-486, 2014.
- \_\_\_\_\_. - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados**. 1. ed. Brasileira. Rio de Janeiro. 2009. 78 p.
- \_\_\_\_\_. – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos: DOQ-CGCRE-008**. 4. rev. Rio de Janeiro. Jul. 2011. 20 p.
- JCGM – Joint Committee for Guides in Metrology. **Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM 2008)**. Corrected version 2010, Sèvres, France. 2010. 55 p.
- KACHIGAN, SAM KASH. **Statistical Analysis: An Interdisciplinary Introduction to Univariate & Multivariate Methods**. New York. Radius Press. 1986, 589 p.
- KHALILI-ZANJANI, M. R.; YAMINI, Y.; YAZDANFAR, N.; SHARIATI, S. Extraction and determination of organophosphorus pesticides in water samples by a new liquid phase microextraction-gas chromatography-flame photometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, n. 2, p. 202-208, 2008.
- KMELLÁR, B.; FODOR, P.; PAREJA, L.; FERRER, C.; MARTINEZ-UROZ, M. A.; VALVERDE, A.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Validation and uncertainty study of a comprehensive analysis of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1215, n. 1, p. 37-50, 2008a.

- 
- KMELLÁR, L.; HERNÁNDEZ-BROGES, J.; RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A.. Multi-walled carbonnanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices. **Journal of Chromatograph. A**, v. 1211, n. 1, p.33-42, 2008b.
- KNOP, M. N. H. **A escolha de curso superior dos vestibulandos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: um estudo quantitativo com utilização de Análise de Correspondência Múltipla**. 2008. 130p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.
- KRIEGER, R. (Ed.) Hayes's. **Handbook of Pesticide Toxicology**. 3. ed. San Diego, CA, USA. Elsevier Inc. v.1. 2010. 522 p.
- KOVALCZUK, T.; LACINA, O.; JECH, M.; POUSTKA, J.; HAJŠ;LOVA', J. Novel approach to fast determination of multiple pesticide residues using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Food Additives and Contaminants**, v. 25, n. 4, p. 444-457, 2008.
- LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos: RiMa, 2004, 62 p.
- LANDGRAF, M.; BEHRENS, J. H., BARCELLOS, M. N., FREWER, L. J.; NUNES, T. P.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Consumer purchase habits and views on food safety: A Brazilian study. **Food Control**, v. 21, p. 963-969, 2010.
- LeDOUX, M. Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 1021-1036, 2011.
- LEHOTAY, S. J., DE KOK, A., HIEMSTRA, M., van BODEGRAVEN, PETER. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 88, n. 2, p. 595-614, 2005.
- LIU, SHAO-YING; JIN, QUAN; HUANG, XI-HUI; ZHU, GUO-NIAN. Determination of Residues of Seven Carbamate Pesticides in Milk Using Ultra-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry and QuEChERS Methods. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 96, n. 3, p. 657-662, 2013.
- LUCIO, P. S.; TOSCANO, E. M. M.; ABREU, M. L. Caracterização de séries climatológicas pontuais via análise canônica de correspondência - estudo de caso. **Revista Brasileira de Geofísica**, Minas Gerais, v. 17, p. 41, 1999.
- LUKE, M. A., FROBERG, J. E., MASUMOTO, H. T. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 58, n. 5, p. 1020-1026, 1975.

- 
- MAIA, G. B. S.; PINTO, A. R.; MARQUES, C. Y. T.; ROITMAN, F. B.; LYRA, D. D. Produção leiteira no Brasil. **Agropecuária**. BNDES Setorial 37, p. 371-398, 2012.
- MARGNI, M.; ROSSIER, D.; CRETZAZ, P.; JOLLIET, O. Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 93, p. 379-392, 2002.
- MEIJER, G.A.L.; KAN, C.A. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 84-108, 2007.
- MELGAR, M. J.; SANTAEUFEMIA, M.; GRACIA, M. A. Organophosphorus pesticide residues in milk and infant formulas from Spanish northwest. **Journal of environmental Science & Health**, v. 45, n. 7, p. 595-600, 2010.
- MELO, M. M.; OLIVEIRA, N. J. F.; LAGO, L. A. Intoxicações causadas por pesticidas em cães e galos. Parte I. Organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v. 5, n. 2, p. 188-195, 2002.
- MEZCUA, M.; REPETTI, M. R.; AGÜERA, A.; FERRER, C.; GARCÍA-REYES, J. F.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Determination of pesticides in milk-based infant formulas by pressurized liquid extraction followed by gas chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 6, p. 1833-1840, 2007.
- MIRANDA, A. C.; MOREIRA, J. C.; CARVALHO, R.; PERES, F. Neoliberalismo, uso de agrotóxicos e a crise da soberania alimentar no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 7-14, 2007.
- MOL, H. G. J.; PLAZA-BOLANOS, P.; ZOMER, P.; De RIJK, T. C.; STOLKER, A. A. M.; MULDER, P. P. J. Toward a Generic Extraction Method for Simultaneous Determination of Pesticides, Mycotoxins, Plant Toxins, and Veterinary Drugs in Feed and Food Matrixes. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 9450-9459, 2008.
- NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de Resíduos de Antibióticos do Leite Comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Hazards in non-Pasteurized Milk on Retail Sale in Brazil: Prevalence of *Salmonella* Spp, *Listeria Monocytogenes* and Chemical Residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 211-215, 2004.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; NETTO, D. P.; 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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 201-204, 2007.

- 
- NETHERLANDS. **General Inspectorate for Health Protection**: Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs. 6. ed. The Hague: Ministry of Health, Welfare and Sport. 1996.
- NETO, B. B., SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos**. 4. ed. Porto Alegre. Bookman, 2010. 413 p.
- OBANA, H.; AKUTSU, K.; OKIHASHI, M.; KAKIMOTO, S.; HORI, S. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits using a high capacity absorbent polymer for water. **The Analyst**, v. 124, p. 1159-1165, 1999.
- OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 10-16, 1999.
- OLIVEIRA, FABIANO A.S. Validação de um Método Multirresíduos e Multiclasses para Determinação e Quantificação de 154 Resíduos de Agrotóxicos em Leite Através da Técnica LC-MS/MS. 2011. 147 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.
- PAGLIUCA, G.; SERRAINO, A.; GAZZOTTI, T.; ZIRONI, E.; BORSARI, A.; ROSMINI, R. Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk. **Journal of Dairy Research**, v. 73, n. 3, p. 340-344, 2006.
- PANG, GUO-FANG; FAN, C.L.; LIU, Y.M.; CAO, Y.Z.; ZHANG, J.J.; LI, X.M.; LI, Z. Y.; YAN-PINGWU; GUO, T.T. Determination of Residues of 446 Pesticides in Fruits and Vegetables by Three-Cartridge Solid-Phase Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 89, n. 3, p. 740-771, 2006.
- PASCHOAL, J.A.R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F.G.R. Validação de Métodos Cromatográficos para a Determinação de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1190-1198, 2008.
- PICÓ, Y.; FARRÉ, M.; SOLER, C.; BARCELÓ, D. Confirmation of fenthion metabolites in oranges by IT-MS and QqTOF-MS. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 24, p. 9350-9363, 2007.
- PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. Análise de resíduos de agrotóxicos em tomates empregando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 92-98, 2009.
- PPDB: Pesticide Properties Data Base. University of Hertfordshire. Disponível em: <[www.herts.ac.uk/top-level-redirects/ppdb](http://www.herts.ac.uk/top-level-redirects/ppdb)>. Acessado em: março 2016.
- PRASSAD, K. S. N.; CHHABRA, A. Organochlorine pesticide residues in animal feeds and fodders. **Indian Journal of Animal Science**, v. 71, n. 12, p. 1178-1180, 2001.

- 
- POPPENGA, R. H. e OEHME, F. W. **Pesticide Use and Associated Morbidity and Mortality in Veterinary Medicine**. In: ROBERT KRIEGER (Ed). Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. 3. ed. Londres. Academic Press – Elsevier, 2010. v. 1, Cap. 7, p. 285-301.
- REZAEIAN M, DUNN G, LEGER SS, APPLEBY L. Geographical epidemiology, spatial analysis and geographical information systems: a multidisciplinary glossary. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 61, n. 2, p. 98–102, 2007.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H. Validation of chromatographic methods: Evaluation of detection and quantification limits in the determination of impurities in omeprazole. **Journal of Chromatography A**, v. 1156, p. 201–205, 2007.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.
- RICE, P. J.; ARTHUR, E. L.; BAREFOOT, A. C. Advances in pesticide environmental fate and exposure assessments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5367-5373, 2007.
- ROCHA, C. M. B. M. **Aspectos Relevantes da Biologia do *Boophilus micropulus* (Cannestrini, 1887)**. Universidade Federal de Lavras. Disponível em <<http://livraria.editora.ufla.br/upload/boletim/tecnico/boletim-tecnico-32.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2016.
- ROTHWELL, J.T.; BURNETT, T.J.; HACKET, K.; CHEVIS, R.; LOWE, L.B. Residues of zeta-cypermethrin in bovine tissues and milk following pour-on and spray application. **Pesticides Management Science**, v. 57, p. 993-999, 2001.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**: Associação de Variáveis Quantitativas. 3. ed. Belo Horizonte. Fundação de ensino e Pesquisa em medicina Veterinária e Zootecnia, 2007, p. 122-139.
- SANTE, Commission of the European Communities. **Document nº SANTE/11945/2015**. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Bruxelas, 31 dez 2015. 46 p.
- SANTOS, M. G. S. **Determinação de Resíduos de Carbofurano e do Metabólito 3-Hidroxí-Carbofurano em Águas de Lavouras de Arroz Irrigado em Santa Catarina**. 2009. 200 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.
- SCHENCK, F. J.; BROWN, A. N.; PODHORNIAK, L. V. A rapid multiresidue method for determination of pesticides in fruits and vegetables by using acetonitrile extraction/partitioning and solid-phase extraction column cleanup. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 91, n. 2, p. 422-438, 2008.

- 
- SEAB-PR. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. DERAL - Departamento de Economia Rural. **ANÁLISE DA CONJUNTURA AGROPECUÁRIA, LEITE - ANO 2014**. Disponível em: <[http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura\\_leite\\_14\\_15.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2016.
- SEAPA-MG – Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Geras. **Panorama do Comércio Exterior no Agronegócio de Minas Gerais**. Belo Horizonte. 2015. 128 p.
- SEREDA, B.; BOUWMAN, H.; KYLIN, H. Comparing water, bovine milk, and indoor residual spraying as possible sources of DDT and pyrethroid residues in breast milk. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 72, n. 13, p. 842-851, 2009.
- SGARBIERI, V. C. Physiological-functional properties of milk whey proteins. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.
- SHARMA, H. R.; KAUSHIK, A.; KAUSHIK, C.P. Pesticide residues in bovine milk from a predominantly agricultural state of Haryana, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 129, p. 349-357, 2007.
- SILVA, A. E. Em entrevista que concedeu à Assessoria de Comunicação da Embrapa Gado de Corte (site <http://www.cnpqc.embrapa.br>). 2011.
- SILVA, M. F., SILVA, A. C, Produção de leite: Análise dos dados no Brasil, estado de Minas Gerais, zona da mata e microrregião de Viçosa. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 3, n. 2, p. 74-83, 2013.
- 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 e Saúde Coletiva**, v. 17, n. 2, p. 311-325, 2012.
- SINGH, A.K., SAR, T.K., MANDAL, T.K., Monitoring of Pesticide Residue in Bovine Milk from Nadia District, West Bengal. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 91, n. 1, p. 13-17, 2013.
- SOUZA FILHO, T. A.; TAMADA, M. M., PASSOS, R. M., ABI-ABIB, N. P., Modelagem de banco de dados de geoprocessamento aplicado na agricultura, in XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, **Anais**. Rio Branco, AC, Brasil. 2008.
- SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2006. 897p.
- STAJNBAHER, D.; ZUPANCIC-KRALJ, L. Optimisation of programmable temperature vaporizer-based large volume injection for determination of pesticide residues in fruits and vegetables using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, n. 2, p. 316-326, 2008.

- 
- STURCHIO, E.; BOGIALLI, S.; CURINI, R.; DI CORCIA, A.; LAGAN, A.; STABILE, A. Development of a multiresidue method for analyzing herbicide and fungicide residues in bovine milk based on solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1102, p. 1–10, 2006.
- THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R., WOOD, R. Harmonized Guidelines for Single laboratory Validation of Methods of Analysis. **Pure Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.
- TIAN, H. Determination of chloramphenicol, enrofloxacin and 29 pesticides residues in bovine milk by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, 2010.
- TIMERMAN, A. **Beba Leite**. 2010. Disponível em: <<http://www.bebaleite.com.br/livros/especialistas/index.html>>. Acesso em: 01 jul. 2014.
- TRAPÉ, A. Z. **Doenças Relacionadas a Agrotóxicos: Um Problema de Saúde Pública**. 1995. 175p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp. Campinas, 1995.
- US-FDA - United States Food and Drug Administration, **Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation**. May 2001. Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine, Department of Health and Human Services, Rockville. 2001. 20 p.
- VIALI, Lori. Série: **Estatística Multivariada**. Texto i: Introdução. Faculdade de Matemática. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2015. 22 p.
- VICINI, Lorena. **Análise multivariada da teoria à prática**. 2005, 215 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Santa Maria : Centro de Ciências da Natureza e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; IMAIZUMI, H.; CLARINDO, R.L.; PENATI, M.A. Produção e composição do leite de vacas mantidas em pastagens de capim-elefante submetidas a duas frequências de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p.121-127, 2010.
- WATTIAUX, MICHEL A. Composição do Leite e seu Valor Nutricional. **Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional University of Wisconsin-Madison**. 2014. Disponível em: <<http://www.universidadedoleite.com.br/artigo-composicao-do-leite-e-seu-valor-nutricional>>. Acesso: 10 jul. 2015.
- WHO – World Health Organization. **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard And Guidelines to Classification**. Geneva. 2009. Disponível em: <[http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard\\_2009.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf)>. Acesso em: 01 jul. 2014.

## 9. ANEXOS

As tabelas de 37 a 38 mostram os resultados das amostras que apresentaram algum tipo de contaminante para as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais. Nessas, são relatados os valores das concentrações determinadas para cada agrotóxico, quando quantificáveis e aqueles que não tiveram suas concentrações determinadas por estarem em níveis inferiores ao LQ do método, são indicados com “D”. Todas as violações estão indicadas em **negrito itálico** e foram estabelecidas com base nos LMRs legislados.

**Tabela 38.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Norte de Minas

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16
Agrotóxico																
Aldicarbe																
Aletrina		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>								<i>D</i>		
Bifentrina	<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>				<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>						
Cipermetrina		<i>D</i>					26	<i>D</i>				12	21	30	13	32
Clorpirifós												<i>D</i>	16			

Amostras	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Agrotóxico																
Aldicarbe								<i>D</i>		<i>19</i>	<i>64</i>					
Aletrina																
Bifentrina		<i>D</i>		<i>D</i>	<i>D</i>							<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	
Cipermetrina	11		14		33	30	24		10					30		12
Clorpirifós														10		

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . *D* = detectado, mas não quantificado

**Tabela 39.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Jequitinhonha

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
Agrotóxico											
Bifentrina										<i>D</i>	<i>D</i>
Ciromazina				<i>38</i>	<i>14</i>	<i>D</i>		<i>10</i>	<i>10</i>	<i>25</i>	
Parationa etflica	12	<i>54</i>					12				

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . *D* = detectado, mas não quantificado

**Tabela 40.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Central Mineira

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Agrotóxico</b>																		
Aldicarbe																		
Aletrina																		
Bifentrina			<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>		<i>D</i>					<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>		
Cipermetrina	<i>D</i>	<i>D</i>	<b>138</b>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>							
Clorpirifós	<i>D</i>	<b>79</b>	<b>95</b>		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>										<i>D</i>
Diclorvós																		
Dissulfotona									<i>D</i>									
Fentiona					<b>12</b>													
Fipronil																		<i>D</i>
Piridabem																		
Tolifluanida												<i>D</i>		<i>D</i>	<i>D</i>			

Amostras	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
<b>Agrotóxico</b>																		
Aldicarbe												<b>11</b>						
Aletrina								<b>13</b>	<b>10</b>									
Bifentrina			<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>											<i>D</i>
Cipermetrina												37	21	22	11	19		25
Clorpirifós											<i>D</i>	<b>114</b>		<b>18</b>				
Diclorvós											<b>26</b>							
Dissulfotona	<i>D</i>	<b>22</b>																
Fentiona																		
Fipronil																		
Piridabem																		<i>D</i>
Tolifluanida																		

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . *D* = detectado, mas não quantificado

**Tabela 41.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Vale do Rio Doce

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
<b>Agrotóxico</b>																	
Aldicarbe																	
Abamectina																D	D
Bifentrina																	
Cipermetrina					60	D				D	14	D	10				
Ciromazina																	
Clorpirifós	D			D	33						20	10	21				
Dissulfotona			D														
Fentiona							28	23	27								
Fipronil		10															
Parationa etílica														24	13		
Quincloraque																	
Triclorfon													D	10			

Amostras	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
<b>Agrotóxico</b>																
Aldicarbe								17								
Abamectina		10					D		D							
Bifentrina													D	D	D	
Cipermetrina			12								14	19			10	12
Ciromazina					22											
Clorpirifós																
Dissulfotona																
Fentiona																
Fipronil																
Parationa etílica				27	18	D	13	D		18						
Quincloraque	D															
Triclorfon																

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado

**Tabela 42.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Oeste de Minas

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17
<b>Agrotóxico</b>																	
Aldicarbe		D															
Aletrina																	
Abamectina										D							
Bifentrina		D	D								D	D	D	D	D	D	
Cipermetrina					11	15	48	50									
Clorpirifós	28			13					10								47
Fipronil																	
Tebufempirade		47															

Amostras	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
<b>Agrotóxico</b>																	
Aldicarbe					46												
Aletrina			D						11	10		D	11				
Abamectina													D				
Bifentrina	D	D		D	D	D				D							D
Cipermetrina							20	25			13			12	11		
Clorpirifós																	
Fipronil														D	D	D	
Tebufempirade																	

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado

**Tabela 43.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Sul / Sudoeste de Minas

Amostras	01	02	03	04
<b>Agrotóxico</b>				
Bifentrina		D		
Cipermetrina			10	
Clorpirifós				D
Fipronil	10			

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado

**Tabela 44.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião da Zona da Mata

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Agrotóxico																					
Aldicarbe									D		D										
Aletrina														60							
Abamectina	D		D																		
Bifentrina		D		D			D		D												
Cipermetrina																		19	11	10	11
Clorpirifós	21		25	94	21	19		17	D	D	D	D	13		10						
Dissulfotona																				18	
Fentiona																				D	
Fipronil																					
Tebufempirade		36				12		20			18										

Amostras	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Agrotóxico																				
Aldicarbe														127		38			20	
Aletrina														10						
Abamectina				D								18	D							
Bifentrina										D					D			D	D	
Cipermetrina		12		11	D	18	11	11	D	29		D			46		14			13
Clorpirifós											D				21					
Dissulfotona				12																
Fentiona				D																
Fipronil	21	D										D								
Tebufempirade																				

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado.

**Tabela 45.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Campo das Vertentes

Amostras	01	02	03	04	05	06
Agrotóxico						
Bifentrina				D	D	D
Cipermetrina	13					
Clorpirifós		20	13			

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado



**Tabela 48.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Agrotóxico																						
Abamectina																						
Benfuracarbe																			<i>D</i>			
Bifentrina	<i>D</i>				<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>					<i>D</i>						
Carbossulfano																	<i>D</i>					
Cipermetrina	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>		18	<i>D</i>	18	<i>D</i>	<i>D</i>		
Clorpirifós		<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>								<i>D</i>	<b>16</b>				<i>D</i>	<i>D</i>
Deltametrina																<i>D</i>						
Dissulfotona					<i>D</i>	<i>D</i>																
Tebufempirade																						

Amostras	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
Agrotóxico																						
Abamectina										<i>D</i>												
Benfuracarbe																						
Bifentrina								<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>				<i>D</i>				
Carbossulfano								<i>D</i>														
Cipermetrina			<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>														<i>D</i>	12	64	84
Clorpirifós	<i>D</i>				<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>								<b>27</b>	<i>D</i>	<i>D</i>			<b>15</b>	<b>22</b>	
Deltametrina		<i>D</i>		<i>D</i>																		
Dissulfotona																						
Tebufempirade																						<b>25</b>

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . *D* = detectado, mas não quantificado

**Tabela 49.** Relação de amostras contaminadas por resíduos de agrotóxicos, por tipo de contaminante e concentração determinada para a Mesorregião do Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba

Amostras	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
Agrotóxico																												
Aldicarbe																											D	
Aletrina																												
Bifentrina	D	D	D	D		D	D	D	D	D	D		D	D	D	D	D					D		D			D	
Carbossulfano																												
Cipermetrina	D	D		D	D	D		D	D	D	D	D	D	D	D		D	D	D	D	D	D	D	145				
Clorpirifós																			D	D	D	D		66	103	22	57	86
Dissulfotona	D				D		D					D		D		D												
Fentiona															162	127												
Fipronil	D		D																									
Forato																												
Tebufempirade																										D	101	

Amostras	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
Agrotóxico																											
Aldicarbe			D																								
Abamectina																											
Bifentrina	D	D										D							D	D			D			D	
Carbossulfano																											D
Cipermetrina				D					D	D	D							D									
Clorpirifós	18				46	86	D	12					D	D	106	81	49					D	D		D	D	
Dissulfotona																											
Fentiona																											
Fipronil		21																									
Forato											D																
Tebufempirade																											

**Nota:** concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . D = detectado, mas não quantificado