

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS

Giane Magrini Pigatto

**AFLATOXINA M₁ E BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM LEITES
PRODUZIDOS EM SISTEMAS CONVENCIONAL E ORGÂNICO**

Santa Maria, RS
2018

Giane Magrini Pigatto

**AFLATOXINA M₁ E BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM LEITES
PRODUZIDOS EM SISTEMAS CONVENCIONAL E ORGÂNICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

Orientadora: Prof^a Dr^a Ijoni Hilda Costabeber

Santa Maria, RS
2018

Pigatto, Giane Magrini
AFLATOXINA M1 E BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM
LEITES PRODUZIDOS EM SISTEMAS CONVENCIONAL E ORGÂNICO /
Giane Magrini Pigatto.- 2018.
75 p.; 30 cm

Orientador: Ijoni Hilda Costabeber
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2018

1. Leite bovino 2. Micotoxina 3. Poluente orgânico
persistente 4. Ingestão diária estimada 5. Segurança
alimentar I. Costabeber, Ijoni Hilda II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFEM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2018

Todos os direitos reservados a Giane Magrini Pigatto. A reprodução no todo ou em partes somente poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Benjamin Constant, 1179. Cep 97050-023, Santa Maria, RS. Fone: (55) 98104-4680.

Email: gipigatto@yahoo.com.br

Giane Magrini Pigatto

**AFLATOXINA M₁ E BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM LEITES
PRODUZIDOS EM SISTEMAS CONVENCIONAL E ORGÂNICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

Aprovada em 02 de março de 2018:

Ijoni Hilda Costabeber, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Bárbara Reichert, Dra. (UFSM)

Claudia Kaehler Sautter, Dra. (UFSM)

Susana Mohr, Dra. (SEAPI/RS)

Vanusa Granella, Dra. (IFFar)

Santa Maria, RS
2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na conclusão deste trabalho e na minha caminhada durante o doutorado na UFSM.

De modo especial, manifesto minha gratidão e respeito:

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de doutorado concedida.

À prof^a Ijoni Hilda Costabeber, pela orientação, confiança a mim depositada, experiências vivenciadas e amizade compartilhada.

À banca examinadora, pela receptividade ao nosso convite, pela compreensão e por todas as considerações.

Ao PPG em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da UFSM, em especial aos seus docentes, pela contribuição em minha formação profissional. Especialmente aos professores Tatiana Emanuelli, Claudia Sautter, Luisa Hecktheuer, Neide Penna, Neila Richards, José Laerte Nörnberg e Roger Wagner. Também ao secretário Vinicyus Guillet, por todo o auxílio sempre que solicitado.

Ao professor José Laerte Nörnberg pela oportunidade de realizar as docências orientadas do doutorado sob sua supervisão, na disciplina de Bromatologia Animal ministrada ao curso de Medicina Veterinária da UFSM, durante o primeiro e segundo semestres de 2014.

Ao NAPO (Núcleo de Análises de Pesticidas Orgânicos) da UFSM, pelo suporte prestado nas análises cromatográficas dos contaminantes em leites.

À professora Dra. Vanusa Granella, do Instituto Federal Farroupilha, pela generosidade e colaboração ao compartilhar as amostras de leites convencionais e orgânicos, coletadas com esforço e dedicação durante a execução do projeto CNPq 559358/2010-5, para a investigação dos resíduos de aflatoxina M₁ e bifenilos policlorados no presente trabalho.

À professora Dra. Joice Sifuentes dos Santos, do curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR) de Londrina, PR, pela orientação acerca da parte analítica para investigação da aflatoxina M₁ em leites.

Ao professor Roger Wagner e a doutoranda Bruna Klein, pela atenção, ensinamentos e experiência compartilhada junto ao CG-MS do NTA da UFSM, no trabalho referente aos contaminantes em pescados.

Ao apoio e suporte das parcerias intelectuais e amizades cultivadas junto aos colegas de LAPP, hoje amigos muito estimados: Susana Mohr, Vanusa Granella, Thiago Schwanz, Joseane Mozzaquatro, Bárbara Reichert e Grazielle Weiss.

À Deus, onipresente em mais essa caminhada!

“A vida não é sobre metas, conquistas e linhas de chegada.

É sobre quem você se torna nessa caminhada.”

(Domínio público)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

AFLATOXINA M₁ E BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM LEITES PRODUZIDOS EM SISTEMAS CONVENCIONAL E ORGÂNICO

AUTORA: GIANE MAGRINI PIGATTO

ORIENTADORA: IJONI HILDA COSTABEBER

Data e local de d

Defesa: Santa Maria, 02 de março de 2018.

Aflatoxina M₁ e bifenilos policlorados (PCBs) são compostos tóxicos carcinogênicos para humanos e ambos tem sua ocorrência difundida pelo leite de modo significativo. Assim, o leite constitui-se em importante fonte de exposição humana a esses compostos também pelo seu expressivo consumo à nível mundial, seja na forma fluida ou de derivados, principalmente por jovens e idosos. O leite orgânico vem ganhando espaço e preferência por muitos consumidores, uma vez que sua produção está normatizada e pode ser certificada conforme preceitos de bem estar animal, sustentabilidade, não utilização de antibióticos, medicamentos sintéticos e hormônios, por exemplo, na perspectiva de obtenção de produtos isentos de resíduos. Neste estudo, um total de 84 amostras de leites foram investigadas em relação à ocorrência de AM₁ e 63 (75%) confirmaram-se contaminadas acima do limite de detecção. Não foram observadas diferenças significativas na contaminação entre amostras produzidas em sistemas convencionais e orgânicos. Também não houve diferença significativa na ocorrência de contaminação por AM₁ entre leites pasteurizados ou crus analisados. Nenhuma das amostras apresentou contaminação acima dos limites máximos permitidos pela legislação brasileira (0,5 µg/kg para leite fluido). Por sua vez, os níveis de onze congêneres de bifenilos policlorados (PCBs) foram avaliados em 60 amostras de leites convencionais e orgânicos coletados em três regiões do Brasil. Os congêneres de quatro DL-PCBs investigados não foram detectados em nenhuma amostra de leite analisada. Os resultados obtidos confirmaram a ocorrência de baixa contaminação pelos PCBs 153 e 180 nos dois sistemas de produção, havendo diferença significativa na concentração média detectada para o PCB 153 nos leites convencionais. PCB 153 apresentou-se em concentrações médias de 0,46 ng g⁻¹ de gordura nos leites orgânicos e de 1,12 ng g⁻¹ de gordura nas amostras convencionais analisadas. O PCB 180 foi detectado em concentrações médias de 0,12 ng g⁻¹ de gordura e 0,18 ng g⁻¹ de gordura em amostras orgânicas e convencionais, respectivamente. Esses níveis detectados estavam de acordo com o permitido pela legislação europeia (40 ng g⁻¹ para somatório de PCBs indicadores). O PCB 153 foi detectado em 50% das amostras de leite convencionais e em 13,33% das amostras orgânicas analisadas. Já o PCB 180 foi detectado em 10% das amostras convencionais e em 6,66% das amostras de leite orgânico analisadas. Não houve diferença significativa entre a ocorrência do PCB 153 e do PCB 180 em leites crus e pasteurizados. A ingestão diária estimada (IDE) de AM₁ e PCBs pelo consumo de leites convencionais e orgânicos do Brasil também foi avaliada. Neste estudo, a ingestão diária estimada de AM₁, PCB 153 e PCB 180 pelo consumo de leites convencionais e orgânicos não representam um risco toxicológico para a população. Porém, sugere-se a consideração dos dados obtidos e o monitoramento sistemático como subsídio à avaliação do risco benefício envolvido no consumo de leite frente à contaminação por AM₁ e por POPs de expressiva toxicidade, como os PCBs. Este estudo foi o primeiro a reportar níveis de AM₁ e PCBs em leites orgânicos do Brasil.

Palavras-chave: Leite bovino; Micotoxina; Poluente Orgânico Persistente; Segurança Alimentar; Ingestão Diária Estimada

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Post-Graduation Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

AFLATOXIN M₁ AND POLYCHLORATED BIPHENYL (PCBs) IN MILKS PRODUCED IN CONVENTIONAL AND ORGANIC SYSTEMS

AUTHOR: GIANE MAGRINI PIGATTO

ADVISER: IJONI HILDA COSTABEBER

Place and date of defense: Santa Maria, March 02, 2018.

Aflatoxin M₁ and polychlorinated biphenyls (PCBs) are toxic compounds and carcinogenic to humans. Both have their widespread occurrence through milk in a significant way. Milk is an important source of human exposure to these compounds also due to its expressive consumption worldwide, either in the fluid form or dairy products, mainly by young and elderly. Organic milk is getting space and preference for many consumers, since its production is standardized and can be certified according to animal welfare, sustainability, non-use of antibiotics, synthetic medicines and hormones, for example, with a view to obtaining products without residues. In this study, 84 milk samples were investigated in total, and 63 (75 %) were contaminated with aflatoxin M₁ above the limit of detection. No difference was observed between the samples from organic and conventional systems. There was no difference between pasteurized and raw milk samples. None of the samples contained aflatoxin M₁ above the maximum level permitted by Brazilian Legislation (0,5 µg/kg for fluid milk). The levels of eleven congeners of polychlorinated biphenyls (PCBs) were evaluated in 60 samples of organic and conventional milk collected in three regions of Brazil. The congeners of four DL-PCBs investigated were not detected in any sample of milk analyzed. The results confirm the occurrence of low contamination by PCBs 153 and 180 in the two production systems, with a significant difference in the mean concentration detected for PCB 153 in conventional milks. PCB 153 was present in average concentrations of 0.46 ng g⁻¹ fat in organic milks and 1.12 ng g⁻¹ fat in the conventional samples analyzed. PCB 180 was detected at mean concentrations of 0.12 ng g⁻¹ fat and 0.18 ng g⁻¹ fat in organic and conventional samples, respectively. These detected levels were in line with European legislation (40 ng g⁻¹ for sum of indicator PCBs). PCB 153 was present in average concentrations of 0.46 ng g⁻¹ fat in organic milks and 1.12 ng g⁻¹ fat in the conventional samples investigated. There was no significant difference between the occurrence of PCB 153 and PCB 180 in raw and pasteurized milks. PCB 153 was detected in 50% of the conventional milk samples and in 13.33% of the organic samples analyzed. PCB 180 was detected in 10% of the conventional samples and in 6.66% of the organic milk samples analyzed. The levels detected were in accordance with the European legislation. The estimated daily intake (EDI) of aflatoxin M₁ e PCBs through organic and conventional milk consumption was also evaluated. In this study, the EDI-values for aflatoxin M₁, PCB 153 e PCB 180 did not pose a toxicological risk for the population. However, it is suggested to consider the data obtained, especially in milks from organic production, as an impact factor on organic quality. In this sense, the systematic monitoring can be as a subsidy to the evaluation of the risk involved in the consumption of milk against the contamination by AM₁ and POPs of high toxicity, such as PCBs. To our best knowledge, this is the first report on aflatoxin M₁ and PCBs levels in organic milk from Brazil.

Keywords: Bovine milk; Mycotoxin; Persistent Organic Pollutant; Food safety; Estimated Daily Intake

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema de identificação dos congêneres de PCBs.....29

ARTIGO 1

Table 1 - AFM1 levels ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in organic and conventional pasteurized and raw milk samples36

Table 2 - AFM1 levels ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in organic and conventional pasteurized and raw milk samples, taken in different seasons37

Table 3 - Estimated daily intake ($\text{ng}/\text{kg}/\text{day}$ body weight) of aflatoxi M1 through milk produced under organic and conventional system by different age groups.....38

MANUSCRITO DO ARTIGO 2

Tabela 1 – Níveis de PCBs (ng g^{-1} gordura) em amostras de leite e cru e pasteurizado (n=60)58

Tabela 2 – Níveis de PCBs (ng g^{-1} gordura) em amostras de leite orgânico e convencional (n=60)59

Tabela 3 – Ingestão diária estimada ($\text{ng}/\text{kg}/\text{dia}$ peso corporal) de PCBs através do consumo de leite produzido em sistema orgânico e convencional.....60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM₁ – aflatoxina M₁
bw – peso corporal (*body weight*)
USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture*)
DL-PCB – Bifenilo policlorado semelhante às dioxinas (*Dioxin-like polychlorinated biphenyl*)
DP – Desvio padrão
EC – Comissão Européia (*European Commission*)
ECD – Detector de captura de elétrons (*Electron capture detection*)
EI – Impacto de elétrons (*Electron impact*)
EU – União Européia (*European Union*)
FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
g – Grama
GC – Cromatografia a gás (*Gas chromatography*)
IARC – *International Agency for Research on Cancer*
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDE – ingestão diária estimada
IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*
L – Litro
LOD ou LD – Limite de detecção (*Limit of detection*)
LOQ ou LQ – Limite de quantificação (*Limit of quantification*)
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg – Miligrama
min – Minuto
µL – Microlitro
mL – Mililitro
MS – Espectrometria de massas (*Mass spectrometry*)
ng – Nanograma
OAC - Organismos de Avaliação da Conformidade Orgânica
OCS - Organizações de Controle Social
PMQL - Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
PCB – Bifenilo Policlorado (*Polychlorinated biphenyl*)
PNCRC - Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
pg – Picograma
POP – Poluente Orgânico Persistente (*Persistent Organic Pollutant*)
RIISPOA -
RS – Rio Grande do Sul
SC – Santa Catarina
SD – Desvio padrão (*Standard Deviation*)
seg – Segundo

SIF - Serviço de Inspeção Federal

SP – São Paulo

TEF – Fator de equivalência tóxica (*Toxic equivalent factor*)

TEQ – Total de equivalente tóxico (*Toxic equivalent quantities*)

WHO/OMS – Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C – Grau Celsius

% - Porcentagem

Σ - Somatório

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 LEITE	18
3.1.1 Leite Orgânico	21
3.2 QUALIDADE DO LEITE	22
3.2.1 Qualidade do leite sob o enfoque da contaminação por resíduos tóxicos	24
3.2.2 Ingestão diária estimada	26
3.3 AFLATOXINA M ₁	26
3.4 BIFENILOS POLICLORADOS (PBCs)	28
4 ARTIGOS	33
4.1 ARTIGO 1 – Aflatoxin M ₁ in pasteurized and raw milk from organic and conventional systems	33
Abstract	34
Introduction	34
Material and methods	35
Results and discussion	36
Conclusion	38
References	38
4.2 MANUSCRITO DO ARTIGO 2 – Ingestão diária estimada de Bifenilos Policlorados (PCBs) a partir do consumo de leite bovino produzido em sistemas convencional e orgânico no Brasil	40
Resumo	41
Introdução	43
Materiais e métodos	46
Resultados e discussão	49
Conclusão	53
Referências	53
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	68
APÊNDICE	75

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento importante para o desenvolvimento dos seres humanos, sendo o leite bovino utilizado na elaboração de múltiplos derivados e consumido desde a infância até a idade adulta, inclusive pela população idosa cada vez mais numerosa, haja vista o aumento da longevidade vivenciado na atualidade na maioria dos países desenvolvidos ou em desenvolvimento no mundo.

Tanto o leite quanto os seus derivados fornecem nutrientes essenciais para o crescimento e o desenvolvimento, e o consumo de leite está associado a um risco reduzido de desenvolvimento de doenças não transmissíveis, como osteoporose e, possivelmente, câncer colorretal e diabetes tipo 2. No entanto, o papel do leite e produtos lácteos na nutrição humana tem sido cada vez mais debatido nos últimos anos, mas, em geral, considera-se que os produtos lácteos podem ser consumidos como parte de uma dieta saudável e equilibrada (FAO, 2013).

O leite bovino situa-se como o tipo de leite mais consumido, dominando a produção mundial de leite por causa do grande rebanho (KALYANKAR et al., 2016). Pode-se situar a produção leiteira em um cenário no qual o desenvolvimento industrial e os avanços científicos vem contribuindo historicamente para o desenvolvimento do setor agropecuário como um todo. Tal expansão ocorre pela perspectiva do aumento da produtividade deste setor e pelos investimentos na transformação da matéria-prima em uma vasta gama de produtos derivados, agregando valor econômico e nutricional a muitos desses produtos. Conforme a FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (2013), a natureza dos produtos lácteos mudou dramaticamente nas últimas décadas, com uma maior orientação para a produção de "produtos de valor agregado", alguns dos quais sendo segmentados para o mercado de "saúde e bem-estar".

Nesse cenário de reconhecimento do valor nutricional do leite, especialmente para a alimentação humana, e da importância econômica do mesmo, a qualidade do leite, além de vislumbrar os aspectos físico-químicos e microbiológicos tradicionalmente previstos pelas ações do controle de qualidade que balizam sua produção e processamento, requer mais consideração sob o viés toxicológico. Isto se justifica pela complexidade da cadeia produtiva do leite, a qual envolve, a despeito de toda a tecnologia e profissionalismo empregados, riscos associados à potencial presença de resíduos de contaminantes no leite, os quais são considerados de

elevada toxicidade ao ser humano, como a aflatoxina M₁ (AM₁) e os bifenilos policlorados (PCBs).

A aflatoxina M₁ é uma das mais importantes micotoxinas encontrada em alimentos. Essas micotoxinas são metabólitos secundários, produzidas por fungos (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*), que infectam uma variedade de culturas, como nozes, amendoim, amêndoa, pistache, castanha-do-pará, milho, outros cereais e o leite, podendo causar doenças como cirrose hepática e câncer (EYMAR et al., 2016). Em relação ao leite, deve-se destacar que AM₁ é excretada no leite de vacas alimentadas com rações contaminadas pelo metabólito principal desses fungos, a aflatoxina B₁ (OLIVEIRA & GERMANO, 2011).

Os bifenilos policlorados caracterizam-se como poluentes orgânicos persistentes (POPs) de origem industrial, amplamente disseminados no meio ambiente devido à sua larga utilização durante grande parte do século XX, e capazes de contaminar a cadeia alimentar por processos de biomagnificação e bioacumulação. Como são altamente lipofílicos e se acumulam na cadeia alimentar ainda torna-se necessário monitorar sua presença (KALYANKAR et al., 2016). Destaca-se que estes compostos tem sua fabricação e comercialização atualmente proibidas e não estão naturalmente presentes nos alimentos, sendo detectados à nível de resíduos nos mesmos, grande parte em decorrência da contaminação ambiental. Por serem compostos altamente tóxicos, PCBs podem causar problemas reprodutivos e de desenvolvimento, podem prejudicar o sistema imunológico e interferir com hormônios para causar câncer (EYMAR et al., 2016).

O leite orgânico se apresenta como uma alternativa aos consumidores de leite bovino oriundo de produção convencional. Sua produção está vinculada à obtenção de um leite teoricamente mais saudável, sob o ponto de vista dos parâmetros da produção orgânica, já que o leite orgânico tem sua produção pautada, obrigatoriamente, na sustentabilidade, bem estar animal, restrições ao emprego de antibióticos e medicamentos veterinários, por exemplo, conforme rege a legislação vigente no Brasil (BRASIL, 2003; BRASIL, 2011).

Frente ao crescimento da produção de leite orgânico no Brasil, a qual está amparada em uma legislação consolidada e respaldada por processos de certificação, a investigação de resíduos tóxicos em leites, em geral, se afirma ainda mais como uma necessidade de verificação da garantia de qualidade ao consumidor e, portanto, de segurança alimentar. Ainda, considerando-se que resíduos tóxicos podem colocar

em risco os benefícios consagrados no consumo de leite, seja ele convencional ou orgânico, e tendo em vista a vulnerabilidade da saúde humana às repercussões da contaminação do leite por AM₁ e PCBs, destaca-se a avaliação da ingestão diária estimada de resíduos como ferramenta para dimensionar a exposição dos consumidores a estes compostos.

Nesse contexto, este trabalho envolve uma abordagem toxicológica por meio da análise da qualidade de amostras de leite produzidos em sistemas convencional e orgânico, a partir da identificação e quantificação de aflatoxina M₁ e bifenilos policlorados como base para o cálculo da ingestão diária estimada desses resíduos, e conseqüente avaliação da segurança no consumo desses leites.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade do leite bovino convencional e orgânico sob o enfoque da contaminação por aflatoxina M₁ (AM₁) e bifenilos policlorados (PCBs), bem como a segurança no consumo dos mesmos.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Identificar e quantificar AM₁ em amostras de leites crus e pasteurizados, convencionais e orgânicos, produzidos nas mesmas regiões de coleta;
- b) Identificar e quantificar PCBs indicadores (28,52,101,118,138,153 e 180) em amostras de leites crus e pasteurizados, convencionais e orgânicos, produzidos nas mesmas regiões de coleta;
- c) Determinar os níveis de resíduos de PCBs semelhantes às dioxinas (DL-PCB), PCBs 77, 81, 126 e 169, em amostras de leites crus e pasteurizados, produzidas em sistemas convencional e orgânicos, e coletados nas mesmas regiões, bem como o total de equivalente tóxico (TEQ) através dos fatores de equivalência tóxica (TEF) estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde;
- d) Comparar os níveis de resíduos de AM₁ e PCBs detectados nas amostras analisadas com os parâmetros previstos pela legislação brasileira vigente;
- e) Realizar a avaliação da exposição aos contaminantes investigados por meio do cálculo da ingestão diária estimada (IDE).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LEITE

O leite é caracterizado, sob o ponto de vista biológico, como o produto da secreção normal de glândulas mamárias de fêmeas mamíferas em lactação (JOOSTE et al., 2014), cuja função é a alimentação natural dos recém nascidos. Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias (lactose, glicérides, proteínas, sais, vitaminas, enzimas, etc.), das quais algumas estão em emulsão (a gordura e as substâncias associadas), algumas em suspensão (as caseínas ligadas a sais minerais) e outras em dissolução verdadeira (lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro, sais, etc.) (ORDOÑEZ et al., 2005; FAO, 2013).

Nas caracterizações da composição geral do leite, geralmente registram-se valores médios habituais de gordura, proteínas, carboidratos (quantitativamente esse valor é equivalente ao da lactose), cinzas e extrato seco. Essas caracterizações servem para estabelecer comparações entre o leite procedente de uma e outra espécie ou diferenças entre raças (ORDOÑEZ et al., 2005). Cabe ressaltar que podem influenciar na composição do leite, aspectos individuais que dependem da idade, fase de lactação e da alimentação dos animais, os quais podem sofrer influências sazonais e climáticas (ORDOÑEZ et al., 2005; SWAISGOOD, 2010; FAO, 2013).

De acordo com Swaisgood (2010), a composição média do leite bovino, no que diz respeito às principais classes de compostos inclui os seguintes percentuais: 86,6% água, 4,1% de lipídeos, 3,6% de proteínas, 5,0% de lactose e 0,7% de cinzas. A maior variabilidade de composição é exibida na fração lipídica, especialmente entre as raças produtoras.

Enquanto o consumo de leite está associado a um risco reduzido de algumas doenças não transmissíveis, tem sido expressa a preocupação sobre a possível associação entre o alto consumo de produtos lácteos e outras doenças não transmissíveis, como doenças cardiovasculares e câncer de próstata. Isso ocorre devido a interação entre os constituintes do leite que, muitas vezes, estão envolvidos em mais de um processo biológico, às vezes com efeitos conflitantes sobre a saúde. A gordura do leite fornece um bom exemplo disso (FAO, 2013).

A combinação do aumento do nível de consumo per capita e taxas de crescimento populacional relativamente altas resultou em um grande aumento na produção no mundo em desenvolvimento e uma mudança no equilíbrio de produção entre regiões. Nas últimas décadas, os países em desenvolvimento fecharam a lacuna com os países desenvolvidos na produção de leite (FAO, 2013).

O Brasil foi o quinto maior produtor mundial de leite em 2016, atrás da União Europeia, Estados Unidos, Índia e China. A produção brasileira de leite, em 2016, foi de 33,62 bilhões de litros. A Região Sul respondeu por 37,0% do total nacional mantendo a liderança do ranking, posição que ocupa desde 2014 quando ultrapassou a Região Sudeste. A Região Sudeste, na segunda posição, representou 34,3% da produção total, seguida pelas Regiões Centro-Oeste (11,8%), Nordeste (11,2%) e Norte (5,6%). Minas Gerais manteve a condição de maior produtor de leite do País com 8,97 bilhões de litros. O Paraná manteve a segunda posição com 14,1% da produção nacional, seguido pelo Rio Grande do Sul (13,7%). Santa Catarina (9,3%) registrou a quarta maior produção nacional (IBGE, 2016).

A produtividade média brasileira foi de 1.709 litros/vaca/ano. A Região Sul continuou a apresentar a maior produtividade nacional, com 2.966 litros/vaca/ano. Na sequência, as Regiões Sudeste e Centro-Oeste apresentaram índices de respectivos 1.693 litros/vaca/ano e 1.294 litros/vaca/ano. O Rio Grande do Sul obteve o melhor indicador (3.157 litros/vaca/ano), seguido por Paraná (2.916 litros/vaca/ano) e Santa Catarina (2.787 litros/vaca/ano) (IBGE, 2016).

Conforme Miranda & Freitas (2009), a raça mais utilizada na produção de leite à nível mundial é a Holandês, por ser a de maior especialização leiteira e a que foi mais selecionada para essa finalidade. Porém, os animais da raça Holandês, bem como os animais de todas as demais raças de origem europeia, são mais exigentes em termos de cuidados, de conforto, de manejo e também são os que mais sofrem com as condições tropicais de nosso país, principalmente com os carrapatos, os bernes etc. Na produção de leite no Brasil predominam vacas mestiças de Holandês x Zebu, em seus vários graus de sangue, para aproveitar a capacidade produtiva, a precocidade e a mansidão do Holandês e a rusticidade das raças zebuínas. Ainda, de acordo com os autores, o sistema de produção a ser adotado na propriedade é o item mais importante a ser considerado na escolha da raça ou do tipo de cruzamento mais apropriado com vistas à produção leiteira.

Com relação ao sistema de produção adotado em uma propriedade leiteira, o mesmo tem sido apontado como uma opção tradicionalmente decorrente do desempenho dos animais existentes e das tecnologias utilizadas na propriedade rural. (MIRANDA & FREITAS, 2009). Conceitualmente, esse chamado sistema de produção caracteriza-se como um conjunto de características e práticas adotadas em uma determinada atividade produtiva, tais como: área da propriedade, tipo de mão de obra, disponibilidade de recursos financeiros, grau de adoção de tecnologias, tipo de exploração agropecuária, manejo higiênico-sanitário, etc. (EMBRAPA, 2011).

Portanto, dentro do que se denomina sistema convencional de produção, cabe aqui destacarem-se as colocações de Sarcinelli et al. (2007) sobre a existência de duas formas de classificação para os sistemas de criação de vacas leiteiras. Uma forma é através dos níveis de produção e a outra, a forma em que os animais são criados. O sistema de criação e produção a ser adotado torna-se, então, decorrente do desempenho dos animais existentes e das práticas de criação e produção utilizadas na propriedade. Este desempenho pode ser estimado pela média da produção de leite por lactação, produção de leite diária, dentre outros.

Por sua vez, os sistemas de criação para gado de leite mais utilizados no sistema convencional são três: extensivo, semi intensivo e intensivo. A opção por um modelo ou outro é apresentada como um situação dependente de fatores como análise de mercado; para avaliar a demanda, em quantidade e qualidade; do leite a ser produzido; das condições econômicas do criador; do local e dos meios de produção disponíveis (SARCINELLI et al., 2007).

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), dentre os chamados leites fluidos de produção autorizada no Brasil, encontram-se o leite cru refrigerado e o leite pasteurizado (BRASIL, 2017).

O leite cru refrigerado é mantido nas temperaturas máxima de conservação do leite de 7°C na propriedade rural ou em tanque comunitário e 10°C no estabelecimento processador. Já o leite pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do leite cru refrigerado na propriedade rural. Este leite deve ser classificado quanto ao teor de gordura como integral, semidesnatado ou desnatado e, quando destinado ao consumo humano direto na forma fluida, submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20 segundos, seguindo-se de resfriamento imediato até temperatura igual ou inferior a 4°C e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações (BRASIL, 2011).

3.1.1 Leite Orgânico

No Brasil, a produção orgânica tem como marco legal a Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica no país. Sua regulamentação, no entanto, ocorreu apenas em 27 de dezembro de 2007 com a publicação do Decreto Nº 6.323.

A Lei dos orgânicos estabelece como sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

Em dezembro de 2008 entrou em vigência a Instrução Normativa nº 64/2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que aprovou o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. De acordo com este regulamento, para um produto receber a denominação de orgânico, deverá ser proveniente de um sistema de produção onde tenham sido aplicados os princípios e normas estabelecidos na regulamentação da produção orgânica, por um período variável de acordo com a espécie cultivada, a utilização anterior da unidade de produção, a situação ecológica atual, a capacitação em produção orgânica dos agentes envolvidos no processo produtivo e as análises e as avaliações das unidades de produção pelos respectivos Organismos de Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC) ou Organizações de Controle Social (OCS). Portanto, cada propriedade deve ter um plano de manejo orgânico com informações do manejo sanitário, instalações, nutrição, reprodução e material de multiplicação, bem-estar animal, procedimentos para pós-produção, envase, armazenamento, processamento, transporte e comercialização (GARCIA et al., 2014).

Já a Instrução Normativa Nº 46 do MAPA, de 06 de outubro de 2011, estabeleceu as exigências para a certificação dos sistemas orgânicos de produção animal, quanto aos aspectos de nutrição, alimentação, ambiente de criação, práticas

de manejo permitidas e sanidade (BRASIL, 2011). Além de proporcionar um ambiente harmônico para os animais, o responsável pela unidade deve manter a higiene e saúde dos animais, compatível com a legislação sanitária vigente e utilizar apenas os produtos permitidos para a produção orgânica, além de adotar técnicas sanitárias preventivas e destinar de forma correta os resíduos da produção (SIGNOR et al., 2011).

Destaca-se que os sistemas orgânicos de produção animal devem ser planejados de maneira que sejam produtivos e respeitem as necessidades de bem-estar dos animais, optando-se por animais de raças adaptadas às condições climáticas e ao tipo de manejo empregado. Devem ser respeitadas as necessidades de liberdade inerentes à cada espécie (nutricional, sanitária, de comportamento, psicológica e ambiental) por manter os animais livres de fome, sede e desnutrição; livres de ferimentos e enfermidades; por proporcionar manejo, ambiente e instalações apropriados ao comportamento natural da espécie; por livrá-los da sensação de medo e de ansiedade; por proporcionar liberdade de movimentos em instalações que sejam adequadas a sua espécie. As instalações devem ser projetadas e todo o manejo deve ser realizado de forma a não gerar estresse aos animais (FIGUEIREDO & SOARES, 2012).

O efetivo atendimento da legislação vigente relacionada a produção leiteira orgânica, seus preceitos e diretrizes, torna esse tipo de sistema apto à produção do então designado leite orgânico.

3.2 QUALIDADE DO LEITE

O marco inicial de organização da produção leiteira brasileira data de 29 de março de 1952, quando o então presidente Getúlio Vargas assinou o Decreto 30.691, aprovando o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa), aplicado nos estabelecimentos que realizam comércio interestadual ou internacional, tornando obrigatória à pasteurização, bem como a inspeção e o carimbo do Serviço de Inspeção Federal (SIF) (MAIA, 2013).

A diferença entre o total de leite produzido no Brasil (33,62 bilhões de litros), apurados pelos relatórios da produção pecuária municipal e a quantidade de leite cru adquirida pelos laticínios sob inspeção sanitária (23,17 bilhões de litros), obtida pela Pesquisa Trimestral do Leite, do IBGE, reflete a produção nacional de leite não

fiscalizada. A produção de leite fiscalizada correspondeu a 69,0% do total de leite produzido no País em 2016 (IBGE, 2016).

A consolidação histórica da legislação relacionada a produção leiteira contribuiu para o estabelecimento de parâmetros de produção nessa atividade, o que certamente contribuiu também na perspectiva do alcance de maiores índices, ao longo do tempo, em termos de produtividade, e mostrou-se aliada na obtenção de melhorias em relação a qualidade do alimento.

Nesse contexto, toma-se como exemplo a diferenciação do leite, por exemplo, por meio de medidas que remunerassem o produtor não só pelo volume produzido, mas também pela qualidade do leite, as quais permitiram com que os mesmos aumentasse seus ganhos. Ainda, o estímulo a produzir leite com maior teor de sólidos (gordura e proteína), aliado a melhores indicadores de sanidade e higiene, tornou-se indicado para elevar a qualidade da matéria-prima desde a base da cadeia produtiva (MAIA, 2013).

No conjunto dessa legislação alguns documentos assumem destaque. O Riispoa foi parcialmente modificado algumas vezes desde sua publicação, e uma das mais importantes modificações foi introduzida em função da adesão do Brasil ao Mercado Comum do Sul (Mercosul). O estabelecimento de um Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PMQL) culminou, em 1999, na publicação da Portaria nº 56. Como resultado, em setembro de 2002, foi publicada pelo MAPA a Instrução Normativa 51 (IN 51), aprovando os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado (BRASIL, 2002). Em virtude da dificuldade do produtor de se adequar aos novos padrões, a Instrução Normativa 51 foi substituída pela Instrução Normativa 62, de 29 dezembro de 2011 (IN 62), que estabelece os requisitos de identidade e qualidade do leite (BRASIL 2011).

O sistema orgânico de produção já apresenta vários manuais e a competência dos produtores, de modo a permitir a migração do sistema convencional para o orgânico, apresentando-lhes todas as vantagens econômicas e ecológicas. Porém, ressalta-se que quanto aos critérios físico-químicos e microbiológicos, não há legislação específica, devendo ser adotados os constantes na Instrução Normativa Nº 62/2011, do MAPA, e pode-se apontar que há uma grande carência de informações sobre a qualidade do leite orgânico produzido no país (GARCIA et al., 2014).

Assim, considera-se o leite orgânico como derivado de produção favorável ao meio ambiente e ao consumidor, desde que sejam seguidos os conceitos definidos pelas leis vigentes e cumpridos os parâmetros legais para a qualidade do leite. No entanto, considera-se que no Brasil o controle de qualidade do leite orgânico, realizado no âmbito geral pelo governo e no que diz respeito às características próprias dos orgânicos pelas certificadoras, deve ser aprimorado para que o produto realmente atenda aos padrões estabelecidos para os orgânicos, sem dar margem para os produtores que estão em desacordo com as regras ambientais e de segurança alimentar (GALDINO et al., 2012).

Nesse sentido, a qualidade do leite expõe sua representatividade no âmbito da segurança alimentar, na medida em que, segundo o Conselho Nacional de Segurança Alimentar (CONSEA, 2006), o conceito de segurança alimentar e nutricional está relacionado ao direito a uma alimentação saudável, acessível, de qualidade, em quantidade suficiente e de modo permanente. Ainda, deve estar totalmente baseada em práticas alimentares promotoras da saúde.

3.2.1 Qualidade do leite sob o enfoque da contaminação por resíduos tóxicos

A produção e o consumo de leite isento de contaminação por substâncias tóxicas podem ser situados como uma preocupação no âmbito da qualidade de alimentos, e apontados como meta sanitária para proporcionar maiores garantias em termos de segurança alimentar aos consumidores.

Com relação aos perigos para a segurança alimentar que são conhecidos como tais, medidas podem ser tomadas para a prevenção e mitigação desses perigos com base nas suas características, comportamento e ponto de entrada na cadeia alimentar. Por exemplo, o emprego das boas práticas agrícolas e de fabricação, entre outras. No entanto, pode-se imaginar que, para uma série de perigos, medidas como essas e outras podem não ser aplicáveis, uma vez que esses perigos possam ser desconhecidos ou imprevisíveis (KLETER et al., 2009).

Segundo o *Codex alimentarius*, considera-se um perigo químico, por exemplo, um agente químico com potencial para causar um efeito adverso à saúde. Conforme Kleter et al., (2009), o termo "perigo" apresenta-se como a melhor descrição de um risco em uma fase inicial de desenvolvimento. Ainda, como exemplo, um perigo pode ser a ocorrência de um composto tóxico (por exemplo, um contaminante alimentar),

enquanto o risco apresenta-se como a probabilidade e a gravidade dos efeitos tóxicos, após a exposição a este composto (nesse caso, pelo consumo alimentar). Em síntese, conforme Caldas (2009), risco pode ser definido como a probabilidade de um efeito adverso ocorrer em um organismo, sistema ou (sub) população causado sob condições específicas pela exposição a um agente.

A avaliação de risco caracteriza-se como um processo de base científica, que avalia os dados disponíveis relativos à toxicologia da substância que se quer avaliar, a dieta da população em estudo e a incidência da substância nesta dieta. Esse risco dependerá do grau de toxicidade da substância e da quantidade à qual a população foi exposta. Vários fatores influenciam os dados de concentração de uma substância no alimento, incluindo o processo de amostragem e coleta das amostras e o método analítico utilizado, sua precisão, exatidão, limite de detecção (LOD) e/ou quantificação (LOQ). A fonte dos dados de concentração deve fornecer valores confiáveis, caso contrário o resultado da avaliação da exposição poderá apresentar um alto grau de incerteza (CALDAS, 2009).

Considerando-se a avaliação da contaminação do leite por resíduos, os quais se constituem em perigos de diferentes fontes, destaca-se que o Brasil, por meio do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta os limites máximos de resíduos em alimentos através do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC/Animal (BRASIL, 2017). Esse plano é apontado como uma ferramenta de gerenciamento de risco adotada pelo MAPA, tendo como objetivo promover segurança química dos alimentos de origem animal produzidos no Brasil. A principal base legal do programa é a Instrução Normativa SDA N.º 42, de 20 de dezembro de 1999.

No contexto do PNCRC para alimentos de origem animal estipulam-se os limites máximos de resíduos para leite no Brasil (BRASIL, 2017). Na classe de resíduos de micotoxinas, a aflatoxina M₁ (AM₁) apresenta como limite de referência o valor de 0,5 µg/L. Dentre a classe de dioxinas, furanos e bifenilos policlorados (PCBs), os PCBs apresentam como limite de referência o valor de 5,5 pg/g de gordura.

Aflatoxinas são consideradas carcinogênicas para humanos (WHO, 2012) e PCBs tiveram uma avaliação global de sua toxicidade atualizada para o Grupo 1 pela IARC (International Agency for Research on Cancer), sendo considerados carcinogênicos para humanos (WHO, 2016).

3.2.2 Ingestão diária estimada

A avaliação da exposição dos consumidores que ingerem determinado alimento que contém um perigo pode ser estimada. Conforme a Organização Mundial da Saúde definiu, esta etapa caracteriza-se como uma das partes para avaliação científica dos riscos, conforme um modelo internacionalmente harmonizado (WHO, 1995).

De acordo com Caldas (2009), a avaliação da exposição é definida como a estimativa qualitativa e/ou quantitativa da ingestão provável de agentes biológicos, químicos ou físicos via alimento. Como exemplo, para estimar a exposição humana às substâncias químicas presentes nos alimentos são necessários três dados essenciais: a concentração da substância no alimento (mg/kg), o consumo do alimento (kg) e o peso corpóreo (kg) (individual ou da população em estudo). A estimativa da exposição, dada em mg/kg de peso corpóreo, pode ser definida de uma maneira geral pela seguinte equação:

$$\text{Ingestão} = \text{concentração da substância} \times \frac{\text{consumo do alimento}}{\text{peso corpóreo}}$$

3.3 AFLATOXINA M₁

A ocorrência de fungos do gênero *Aspergillus*, bem como das aflatoxinas nos alimentos e rações animais, apresenta distribuição mundial, com predomínio nas regiões de clima tropical e subtropical. Os produtos agrícolas como milho, trigo, arroz, por exemplo, podem ser contaminados por meio do contato com os esporos do fungo, presentes no ambiente, sobretudo no solo, durante as etapas de colheita e secagem. O armazenamento inadequado, sob umidade e sem ventilação, também é apontado por favorecer a contaminação e o desenvolvimento fúngico nos produtos já contaminados (OLIVEIRA & GERMANO, 2011).

A aflatoxina M₁ (AM₁), principal metabólito produzido por fungos do gênero *Aspergillus* é um potente hepatocarcinógeno excretado no leite de vacas alimentadas com rações contaminadas por aflatoxina B₁ (OLIVEIRA & GERMANO, 2011; SABINO, 2014; SANTOS et al., 2014).

Espécies como *A. flavus* e *A. parasiticus* são capazes de produzir aflatoxinas contaminando, portanto, grãos ou rações produzidas a partir de materiais contaminados (SANTOS et al., 2014). A ocorrência de resíduos de aflatoxinas em alimentos de origem animal ocorre, portanto, a partir da biotransformação de aflatoxina B₁ presente em ingredientes utilizados nas rações administradas aos animais (OLIVEIRA & GERMANO, 2011). Portanto, a contaminação do leite se dá de forma indireta, através da metabolização de contaminantes pelo organismo animal e excreção sob a forma hidrossolúvel no leite. Assim, a principal fonte de contaminantes, como as micotoxinas, se dá através da dieta do rebanho leiteiro (SANTOS et al., 2014).

Após a metabolização hepática de aflatoxina B₁ em aflatoxina M₁, esta pode ser excretada através do leite durante as 12-24 h após a ingestão de alimento contaminado pela aflatoxina B₁, e se não for detectada, a contaminação pode se espalhar para produtos de origem lácteos. O nível de transferência é variável, entre 0,08 e 6% dependendo da espécie ou do nível de lactação do animal (BERRUGA et al., 2016). Ainda, considerando-se os produtos lácteos, Oliveira e Germano (2011) ressaltam que estudos sugeriram que a AM₁ no leite associa-se à fração proteica (caseína), ficando nela retida mesmo após a pasteurização e o beneficiamento para a produção de derivados. Nesse sentido, a concentração da matéria-prima, como a que se obtém na fabricação de leite em pó, condensado, requeijão e queijos, conseqüentemente, pode aumentar a proporção de AM₁ no produto final, em função da diminuição do teor de água.

A contaminação do leite de consumo humano por AM₁ assume destacada relevância em saúde pública, tendo em vista a demonstração de seus efeitos tóxicos agudos e carcinogênicos em diversas espécies (OLIVEIRA & GERMANO, 2011). Porém, destaca-se que a contaminação por AM₁ foi referida como de ocorrência sazonal, uma vez que índices menores de contaminação foram encontrados durante os meses de verão, quando os animais são geralmente alimentados com pastagens ao invés de rações concentradas (SABINO, 2014).

A aflatoxina M₁ foi reclassificada pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como integrante do Grupo 1, o qual reúne os agentes carcinogênicos para humanos (WHO, 2012).

3.4 BIFENILOS POLICLORADOS (PBCs)

Em maio de 2001, em Estocolmo, na Suécia, noventa países, inclusive o Brasil, assinaram um Tratado Internacional para banir doze dos compostos classificados oficialmente como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) e considerados os mais perigosos para o meio ambiente e a saúde pública. O objetivo da chamada Convenção de Estocolmo foi proteger a saúde humana e o meio ambiente dos efeitos danosos dos poluentes orgânicos persistentes, e promover a utilização, a comercialização, o gerenciamento e o descarte de poluentes orgânicos persistentes de maneira sustentável e ambientalmente correta (UNEP 2001).

A partir da caracterização dos POPs e, especialmente para o entendimento do impacto de sua dispersão na cadeia alimentar, ressaltam-se dentre seus aspectos de interesse, o fato de apresentarem propriedades tóxicas, serem resistentes à degradação, serem capazes de sofrer bioacumulação, de serem transportados pelo ar, pela água e pelas espécies migratórias através das fronteiras internacionais e depositados distantes do local de sua liberação, onde se acumulam em ecossistemas terrestres e aquáticos (UNEP 2001; UNEP 2013).

Inicialmente, os doze POPs reconhecidos pela Convenção de Estocolmo (2001) como causadores de efeitos adversos em seres humanos e do ecossistema foram distribuídos em três categorias: pesticidas; produtos químicos industriais e subprodutos de vários tipos de manufaturas. Os bifenilos policlorados (PCBs) foram incluídos na categoria dos produtos químicos industriais. Esses compostos caracterizam-se como uma classe de compostos organoclorados formados por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação de carbono-carbono, com 1 a 10 átomos de cloro substituindo os átomos de hidrogênio, nas posições 2-6 e 2'-6' dos anéis. A fórmula molecular dos PCBs é representada por $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$, onde n é o número de cloros presente na molécula, que pode variar entre 1 e 10, resultando em até 209 isômeros possíveis, os quais denominam-se de congêneres. (PENTEADO & VAZ, 2001; WHO, 2016).

A nomenclatura utilizada para os PCBs segue as regras propostas pela União Internacional para Química Pura e Aplicada (*International Union for Pure and Applied Chemistry* – IUPAC) (SILVA, 2007). A regra da IUPAC considera a posição relativa dos átomos de cloro na estrutura bifenil, sendo a posição número 1 reservada para a ligação entre os anéis. A partir desta, no anel da esquerda, as posições são

numeradas em ordem crescente no sentido anti-horário. No anel da direita, as posições são numeradas da mesma forma, mas em sentido horário, adicionando-se um índice para diferenciar do outro anel (PENTEADO & VAZ 2001; WHO, 2016). Em 1980, Ballschmiter & Zell propuseram uma nova sistemática para a nomenclatura usual dos PCBs, a qual é adotada até os dias atuais e onde os congêneres são numerados de 1 a 209 (SILVA, 2007). Na tabela 1 apresentam-se como exemplos dessa nomenclatura usual os onze congêneres de PCBs investigados no presente trabalho.

Tabela 1 - Sistema de identificação dos congêneres de PCBs

Nº Cloros	Usual	IUPAC
3	PCB 28	2,4,4' – triclorobifenil
4	PCB 52	2,2',5,5'- tetrachlorobiphenyl
5	PCB 101	2,2',4,5,5'- pentachlorobiphenyl
4	PCB 81	3,4,4',5- tetrachlorobiphenyl
4	PCB 77	3,3',4,4' – tetraclorobifenil
5	PCB 118	2,3',4,4',5- pentachlorobiphenyl
6	PCB 153	2,2',4,4',5,5'- hexachlorobiphenyl
6	PCB 138	2,2',3,4,4',5'- hexachlorobiphenyl
5	PCB 126	3,3',4,4',5 – pentaclorobifenil
7	PCB 180	2,2', 3,4,4',5,5' – heptaclorobifenil
6	PCB 169	3,3',4,4',5,5'- hexachlorobiphenyl

Fonte: elaborado pela autora.

Os congêneres de PCBs que não contém átomos de cloro na posição *orto*, mas possuem átomos de cloro na posição *para* e tem no mínimo um par de cloros na posição *meta*, são considerados os mais tóxicos devido à alta afinidade com o receptor Ah (*aryl hydrocarbon*), como os PCBs 77, 81, 126 e 169. Os mecanismos de ação bioquímico e toxicológico destes compostos são semelhantes aos da 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-*p*-dioxina (TCDD) e, por isso, estes congêneres são chamados de PCBs semelhantes às dioxinas (*DL-PCBs: dioxin-like PCBs*) (SAFE et al., 1985; VAN DEN BERG et al., 2006; SILVA et al., 2007).

Entretanto, a maioria das misturas comerciais de PCBs está baseada nos chamados PCBs indicadores (28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180). O somatório de seis destes indicadores, com exceção do PCB 118, representa cerca de 50% do total da contaminação ambiental e dos alimentos por PCBs não semelhantes às dioxinas (*NDL-PCBs: non-dioxin like PCBs*) (EFSA, 2005; FERRANTE et al., 2011). Os

congêneres NDL-PCBs, apesar de apresentarem uma toxicidade menor, são igualmente perigosos, pois foram os mais utilizados em misturas comerciais e, conseqüentemente, os mais detectados em amostras ambientais, seres humanos, animais e alimentos. Estudos já comprovaram que esses congêneres, apesar de possuírem pequena afinidade pelos receptores Ah, estão envolvidos em mecanismos de neurotoxicidade, disrupção endócrina e imunossupressão (MOHR & COSTABEBER, 2012).

Segundo Tanabe (1988), os PCBs foram sintetizados pela primeira vez antes da virada do século XX e, a partir de 1929 começaram a ser produzidos em escala industrial. Dentre as características desses compostos, os mesmos destacam-se por serem pouco solúveis em água, sendo que a solubilidade decresce com o aumento do número de átomos de cloro na molécula, assim como seu ponto de fusão e ebulição. São caracterizados, também, como facilmente solúveis em carboidratos, gorduras e outros compostos orgânicos, sendo rapidamente absorvidos por tecidos gordurosos (WHO, 2016).

O pico da produção de PCBs foi referenciado como o ano de 1970, sendo que a maior parte dessa produção foi consumida pela indústria eletro eletrônica. Porém, ressalta-se a inexistência de registros acerca da produção de PCBs no Brasil, sendo o país caracterizado como um importador, principalmente de países como Estados Unidos e Alemanha (PENTEADO & VAZ, 2001).

A proibição de comercialização e utilização de PCBs foi adotada em 1985. Na década de 1980 até o início da década de 1990, foram tomadas várias medidas para detectar possíveis fontes para esses contaminantes e para parar ou reduzir sua liberação para o meio ambiente. Durante a década de 1990, uma série de incidentes de contaminação adversos concentraram a atenção da mídia e do público em geral sobre segurança alimentar (MALISCH & KOTZ, 2014).

Mesmo estando proibidos, associa-se a ocorrência de contaminação ambiental por PCBs, tanto a partir do descarte de equipamentos elétricos antigos em locais não apropriados para este fim, contaminando o solo e as águas, como quando pela incineração do lixo industrial e municipal não são efetivas em sua destruição (MOHR & COSTABEBER, 2012).

No Brasil, as restrições à utilização dos PCBs foram implementadas através da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981. Essa portaria estabeleceu a proibição da fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo o país. Entretanto,

continuou-se permitindo que os equipamentos já instalados permanecessem em funcionamento até sua substituição integral ou a troca do fluído dielétrico por produto isento de PCBs. Esta portaria também proibiu o descarte de PCBs ou produtos contaminados em cursos d'água, exposição de equipamentos contendo PCBs a intempéries, além de regulamentar o local de instalação dos equipamentos que contenham PCBs e que ainda estivessem em funcionamento (BRASIL, 1981). Além dessa Portaria, houve a publicação da Instrução Normativa 001 SEMA/STC/CRC, do Ministério do Interior, de 10 de junho de 1983, que disciplina as condições a serem observadas no manuseio, armazenagem e transporte de PCBs e/ou resíduos contaminados.

A alta lipofilicidade é uma característica que resulta na capacidade dos PCBs de persistirem ambientalmente, sofrendo bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (ALMEIDA-GONZÁLES et al., 2012). Nesse sentido, a mais importante via de exposição humana aos PCBs foi associada à ingestão de alimentos contaminados (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003; BAPTISTA et al., 2013) sendo essa via de exposição estimada em responsável por aproximadamente 90% da contaminação ao ser humano, especialmente através dos alimentos de origem animal (SHEN et al., 2017).

Destaca-se que a excreção de PCBs no leite caracteriza-se como o principal caminho de eliminação destes compostos para vacas em lactação e, em termos de contribuição estimada para a ingestão de PCBs via consumo de leite, o percentual varia de 15 a 40% aproximadamente (ROSE, 2014).

Cerca de 160 bifenilos policlorados, dos 209 teoricamente possíveis, já foram identificados no leite (KALYANKAR et al., 2016). No entanto, como os alimentos não são a única fonte da contaminação por PCBs, estimou-se que menos de 10% da contaminação por PCBs pode ocorrer, também, através de absorção dérmica e inalação de ar (BINELLI & PROVINI, 2003). Independente da via, todas as formas de exposições aos PCBs foram apontadas como capazes de ocasionar intoxicações crônicas (COSTABEBER, 1999).

O efeito da exposição cumulativa ao longo da vida e fatores como eficiência de absorção, biotransformação potencial no trato gastrointestinal e taxas de metabolismo e depuração são importantes na determinação dos níveis endógenos de PCBs (ALCOCK et al., 1998). Os compostos mais clorados foram indicados como os mais persistentes e capazes de acumularem-se nos tecidos gordurosos, enquanto que as

formas menos cloradas podem ser metabolizadas e excretadas (WHO, 1993; COSTABEBER & EMANUELLI, 2003; MOHR & COSTABEBER, 2012). As principais rotas de eliminação dos PCBs são as fezes, urina e o leite materno (WHO, 2003).

Dentre os aspectos toxicológicos dos PCBs, salientam-se a identificação de suas ações teratogênicas e carcinogênicas; sua capacidade de afetar os sistemas reprodutor e endócrino, além de provocarem alterações cutâneas, imunotóxicas e neurotóxicas (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003; EYMAR et al., 2016) e por sua condição de poderosos desreguladores endócrinos (MEZZETTA et al., 2011; UNEP 2013; HO et al., 2017). A intoxicação humana através dos alimentos contaminados caracteriza-se também pelo aparecimento de afecções dérmicas, hipersecreção ocular, pigmentação das unhas e mucosas, fadiga, náuseas e vômitos. A toxicidade dos congêneres de PCBs está relacionada com a sensibilidade do indivíduo, a disposição dos átomos de cloro e o número destes na molécula, da via e duração da exposição à mistura de PCBs (HOIVIK & SAFE, 1998; DEKONING & KARMAUS, 2000).

3 ARTIGOS

3.1 ARTIGO 1

Aflatoxin M1 in pasteurized and raw milk from organic and conventional systems

SANTOS, J.S., GRANELLA, V., PIGATTO, G.M., REINIGER, L.R., COSTABEBER, I.H., Aflatoxin M1 in pasteurized and raw milk from organic and conventional systems. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**. 11:299–304. 2016. DOI 10.1007/s00003-016-1039-z



RESEARCH ARTICLE

Aflatoxin M₁ in pasteurized and raw milk from organic and conventional systems

Joice Sifuentes dos Santos¹ · Vanusa Granella² · Giane Magrini Pigatto³ · Lia Rejane Silveira Reiniger⁴ · Ijoni Hilda Costabeber⁵

Received: 18 April 2016 / Accepted: 14 July 2016 / Published online: 23 July 2016
 © Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) 2016

Abstract Aflatoxin M₁ is one of the most common toxic natural substances found worldwide. It metabolizes from aflatoxin B₁ that is present in the diet of mammals. In this study, 84 milk samples were investigated in total, and 63 (75 %) were contaminated with aflatoxin M₁ above the limit of detection. No difference was observed between the samples from organic and conventional systems (0.021 vs. 0.018 µg/kg; $p > 0.05$). There was no difference between pasteurized and raw milk samples (0.018 vs. 0.020 µg/kg; $p > 0.05$). None of the samples contained aflatoxin M₁ above the maximum level permitted by Brazilian Legislation (0.5 µg/kg for fluid milk). The estimated daily intake (EDI) of aflatoxin M₁ through organic and conventional milk consumption was also evaluated. In this study, the EDI-values for aflatoxin M₁ did not pose a toxicological risk for the population. To our best knowledge, this is the first

report on aflatoxin M₁ levels in organic milk from Brazil.

1 Introduction

The consumer demand for organic foods has motivated milk producers to change their rural properties from the conventional production to an organic system.

The organic production system in Brazil is regulated by Law 10381, 12/23/2003, that legislates organic agriculture and other measures (Brasil 2003). The marketing and export of organic products requires specific certification. According to the guidelines for organic production it has to contribute to local, social and economically sustainable development, preserve the biodiversity of ecosystems, offer healthy products, be free of contaminants for consumers and use good handling practices (Brasil 2007). The United States Department of Agriculture (USDA) says that organic production is a system that has to be managed in accordance with the law and regulations, respond to site-specific conditions by integrating cultural, biological and mechanical practices that foster resource cycling, promote ecological balance, and conserve biodiversity (USGPO 2000). The organic regulations of the United States emphasize prevention rather than treatment of disease. Organic cattle must also have year-round access to the outdoors, at least a 120-day grazing season on organic pastures, and obtain at least 30 % of their dry matter intake from those pastures during the grazing season (USDA 2013). In Brazil, organic milk production also follows specific regulations, including all production stages that

✉ Joice Sifuentes dos Santos
 joice.sifuentes@gmail.com

- ¹ Master Science Program on Milk Science and Technology, University North of Paraná, Londrina, PR 86041-140, Brazil
- ² Farroupilha Federal Institute-Campus de São Vicente do Sul, São Vicente do Sul, RS 97420-000, Brazil
- ³ Doctorate in Food Science and Technology, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil
- ⁴ Department of Crop Science, Center of Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil
- ⁵ Department of Morphology, Center of Health Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

differ from conventional production regarding management practices, especially animal feed. The feed should mostly be obtained following organic practices, making maximum use of the pasture system. Non-organic feed can have a maximum proportion of 15 % daily consumption of dry matter to ruminants. Preferably, the livestock environment should be in free-living arrangements. Regarding animal health, the use of artificial substances and hormones is prohibited (Brasil 2011a).

Brazilian organic milk production is still incipient with about 6.8 m L in 2010, which is 0.02 % of the national milk production (30 bn L) (Soares and Salman 2012).

Several studies discussed the differences between organic and conventional systems in terms of milk quality, especially focused on pesticides (Granella et al. 2013), antibiotics (Zwald et al. 2004), microbiological quality (Coccollone et al. 2009), somatic cell count (Coccollone et al. 2009; Mullen et al. 2013) and mycotoxins (Pattono et al. 2011). However, studies focusing on the factors influencing milk composition (e.g. diet, breed, and stage of lactation) have been considered individually, whereas interactions between multiple factors have been largely ignored (Schwendel et al. 2015).

Mycotoxins are natural contaminants in raw materials, foods and feeds. Some mycotoxins can cause autoimmune disorders, allergies, and present carcinogenic, mutagenic and teratogenic properties (CAST 2003). Among mycotoxins, aflatoxins are the most studied and toxic. Aflatoxins are mainly produced by *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in cereals and other food products. Aflatoxin B₁ (AFB₁) in contaminated feed metabolizes to monohydroxylated derivative aflatoxin M₁ (AFM₁), which in turn excretes in cow's milk, urine and feces. In 1993, AFM₁ was originally classified as a Group 2B—possibly carcinogenic to humans—but subsequent evidence of its cytotoxic, genotoxic and carcinogenic effects led to a new categorization to Group 1, carcinogenic to humans (IARC 2002).

The prevalence of AFM₁ in Brazilian milk has been reported before (Oliveira et al. 2006; Shundo et al. 2009; Oliveira et al. 2006; Santos et al. 2014; Sifuentes dos Santos et al. 2015). However, there is little data comparing AFM₁ presence in milk from organic and conventional systems. Hence, the aim of the present study was to evaluate the natural occurrence of AFM₁ in raw and pasteurized milk produced according to organic and conventional practices and estimate the daily AFM₁ intake for consumers.

2 Materials and methods

2.1 Samples

In total, 84 milk samples were investigated, 43 from organic (15 pasteurized, 28 raw milk) and 41 from conventional (15 pasteurized, 26 raw milk) production systems. Pasteurized organic milk samples were obtained from 5 brands of certified organic farms from Rio Grande do Sul (1 brand), São Paulo (3 brands) and the Federal District (1 brand). Pasteurized conventional milk samples (5 brands) were collected from the same cities that also produced organic milk. Organic and conventional raw samples were collected from Santa Catarina State. The raw samples were collected directly from rural properties. Conventional samples were collected close to the organic farms. All samples were collected at 4 different time points:

- 10 samples in fall 2011,
- 10 samples in winter 2011,
- 37 samples in summer 2012 and
- 27 samples in fall 2012.

Samples were transported in isothermic boxes containing recyclable ice to maintain the temperature between 4 and 7 °C. The samples were kept at −18 °C until analysis.

2.2 Determination of aflatoxin M₁

The samples were centrifuged for 10 min at 3500g and 15 °C. The defatted supernatant was measured by ELISA for AFM₁ (Ridascreen, R-Biopharm AG, Germany). According to the manufacturer, the limit of detection is 5 ng/L for fluid milk (corresponding to 0.004 µg/kg) and the recovery rate is 85 %. The calibration curve was constructed with AFM₁ standard solutions at 0, 5, 10, 20, 40 and 80 ng/L. Samples were analyzed in duplicates.

2.3 Estimations of aflatoxin M₁ intake

The intake estimates are based on food consumption data collected by the National Household Food Budget Survey, POF 2008–2009, conducted by the Brazilian Institute for Geography and Statistics from May 2008 to May 2009. The data from the survey showed the average daily food intake (g/day) for 3 different age groups: adolescents (10 to 19 years old), adults (20 to 64 years old), and the elderly (over 65 years). The data referred to raw food consumption, without specification about organic or

conventional products. The sampling survey consisted of 13,569 households and 34,003 inhabitants. The body weight (bw) was calculated as the arithmetic mean of the median age groups (IBGE 2011). The dietary AFM₁ exposure was estimated by the amount of the compound found in organic and conventional milk ($\mu\text{g}/\text{kg}$), the daily intake of dairy products by the age groups (g), and the mean body weight of the age groups (kg). Samples with AFM₁ levels that were lower than LOD were taken as $\frac{1}{2}$ LOD for intake estimation.

2.4 Statistical analysis

AFM₁ levels in pasteurized and raw organic and conventional milk were statistically analyzed with the Mann–Whitney non-parametric test. We used the Kruskal–Wallis non-parametric test for milk samples taken in different seasons. The number of positive samples was compared by the Chi square test (χ^2). Differences were considered to be significant at $p < 0.05$.

3 Results and discussion

Table 1 shows the natural occurrence of AFM₁ in pasteurized and raw milk from organic and conventional farms in 84 samples from South Brazil. AFM₁ was detected in 75 % samples ranging from not detected to 0.068 $\mu\text{g}/\text{kg}$. All samples were below the maximum permitted level of 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFM₁ in fluid milk in Brazil (Brasil 2011b). According to the European Commission (EC 2010), the maximum limit is 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFM₁ in raw milk, heat-treated milk and milk for the manufacture of milk-based products. In our study, 6 samples (7.1 %) exceeded the European limits; 2 (2.4 %) from the conventional system and 4 (4.8 %) from the organic system.

We found lower AFM₁ levels (Table 1) than those reported by Atanda et al. (2007), Herzallah (2009) and

El Marnissi et al. (2012) worldwide, and Oliveira et al. (2006), Shundo et al. (2009), Oliveira et al. (2013) and Santos et al. (2014) in Brazil. Atanda et al. (2007) detected AFM₁ in cow milk from 2.04 to 4.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in Nigeria; Herzallah (2009) found very high AFM₁ levels in raw and pasteurized sheep, cow and goat milk, ranging from 0.16 to 5.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in samples collected in the winter in Jordan. However, the samples collected in summer had lower levels than the limit of detection (0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$), probably due to the low quality of animal feed in winter. In Morocco, AFM₁ was detected in 13 samples (27 %), ranging between 0.01 and 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (El Marnissi et al. 2012); 4 samples were above the European limit. Samples of pasteurized and UHT milk ($n = 48$) from São Paulo, Brazil, were analyzed by Oliveira et al. (2006) of which 77.1 % were contaminated with 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFM₁ in pasteurized and UHT milk, respectively. Also in São Paulo, Shundo et al. (2009) investigated 125 samples and observed a high AFM₁ frequency (95.2 %) with 33 % of the samples exceeding the European limits. Oliveira et al. (2013) analyzed 75 samples from Minas Gerais State, Brazil, and showed that 23 (30.7 %) samples contained AFM₁. Different from the present study, all of the contaminated samples were found to be higher than the maximum acceptable limit for fluid milk in Brazil. A unique result for AFM₁ in pasteurized milk was observed by Santos et al. (2014), who did not find this contaminant in any of the 82 samples analyzed in a region of Paraná State, Brazil.

We observed no significant difference in AFM₁ levels between organic and conventional dairy farms (Table 1). The mean level in positive organic samples (pasteurized + raw milk) was 0.021 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.018 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in conventional samples (pasteurized + raw milk), ($p > 0.05$). However, the number of mycotoxin-positive samples was higher in conventional farming (80.5 %) compared to organic production (69.8 %; χ^2 , $p < 0.05$). Different to our results, Ghidini et al. (2005) observed higher AFM₁ levels in organic samples (0.035 $\mu\text{g}/\text{kg}$) compared to conventional samples (0.021 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Coccollone et al.

Table 1 AFM₁ levels ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in organic and conventional pasteurized and raw milk samples

Type of milk	System of production	Positive samples	Mean \pm standard deviation	Median	Range
Pasteurized	Organic	8/15	0.015 ^a \pm 0.019	0.007	ND–0.061
	Conventional	8/15	0.021 ^a \pm 0.020	0.014	ND–0.064
Raw	Organic	22/28	0.023 ^a \pm 0.019	0.017	ND–0.063
	Conventional	25/26	0.017 ^a \pm 0.016	0.009	ND–0.068

ND not detected

^a Values in the same column that have the same lowercase letter are not significantly different by Mann–Whitney test ($p > 0.05$) of organic and conventional milk or of pasteurized and raw milk

(2009) also found higher AFM₁ levels in organic (0.043 µg/kg) than conventional (0.026 µg/kg) Italian milk. Malissiova et al. (2013) observed no statistical difference in AFM₁ levels in organic and conventional sheep and goat milk from Italy. In Turkey, Tosun and Ayyıldız (2013) detected AFM₁ in 39 (100 %) organic UHT milk samples (mean 0.065 µg/kg), a level quite above the one detected in the present work.

The presence of AFM₁ in milk derives from AFB₁ present in animal feed and food. The amount of AFB₁ converted to AFM₁ in milk is influenced by several factors including breed, health, type of diet, milk production, rate of ingestion and digestion (Duarte et al. 2013). Considering that mycoflora responsible for mycotoxin production are ubiquitous, food and feed produced in organic and conventional systems are subject to fungi growth and consequently to mycotoxin contamination. However, the use of fungicides for cereal and feed production is prohibited in organic systems. Theoretically, this may result in a different composition of the products, not only in terms of natural ingredients, but also with regard to contaminants and microorganisms (Hoogenboom et al. 2008). It is important to highlight that good agricultural and storage practices are the major factors influencing mycotoxins in the cultivation systems. Our information on the feed supplied to the animals on the organic farms where we collected the raw milk samples was that 79 % (14) used tillage, mainly corn, and the majority (86 %) used homemade feed, containing grains produced on the property and/or acquired in local commerce. Otherwise, 54 % (13) of the conventional properties used commercial feed and 62 % tillage. Only one of the 5 pasteurized milk farms did not use tillage, and all of them used homemade feed.

On the topic of milk heat processing, AFM₁ levels in the pasteurized and raw milk were not significantly different ($p > 0.05$; Mann–Whitney test). The mean level in the positive pasteurized milk samples (organic + raw milk) was 0.018 µg/kg and in the raw positive milk samples (organic + raw milk) 0.020 µg/kg. The number of mycotoxin-positive samples was

higher in the raw milk samples (87.0 %) compared to the pasteurized milk samples (53.3 %; X^2 , $p < 0.05$). It is well known that mycotoxins are not degradable by heat (Van-Egmond et al. 1977; Picinin et al. 2013). The higher number of positive raw milk samples is probably related to the location of sample collection (Santa Catarina State, Brazil). Horn et al. (2014) evaluated silage samples from South Brazil in the years 2010, 2011 and 2012 and found between 64.4 and 87.5 % positive samples for aflatoxin B₁ + B₂ + G₁ + G₂ in Santa Catarina, with levels ranging from 5.0 to 105.4 µg/kg. According the authors, taking into account the maximum allowed levels (0.5 µg/kg for fluid milk), 11.6 % silage samples had aflatoxins above the limit for animal food. Keller et al. (2013) investigated the effect of fermentation on aflatoxin levels in corn silage. They observed an increase in aflatoxin levels post-fermentation. The ensiling process is supposed to minimize fungal contamination since the pH is reduced to an unfavorable acid condition and oxygen is consumed in anaerobiosis. However, bad storage conditions and practices during the ensiling process or even after a silo is cut for feed can lead to contamination.

The AFM₁ levels in milk samples taken in different seasons shows Table 2. There was no significant difference in the samples ($p > 0.05$; Kruskal–Wallis Test). Mean levels ranged from 0.013 µg/kg (2011 and fall 2012) to 0.028 µg/kg (winter 2011). In Serbia, Tomašević et al. (2015) examined raw and heat treated milk in 2013 and 2014. They observed no significant difference during winter and spring, but AFM₁ in milk in summer and fall season was significantly lower in both kinds of milk.

Determining the exposure degree is one of the most important parameters on risk assessment from chemical compounds. The EDI of AFM₁ from organic and conventional milk (Table 3) was obtained by using the consumed milk volume and the corresponding mean concentrations of AFM₁ detected in each milk type, taking into account the mean body weight of the age groups. According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE 2011), the whole milk consumption is 38.6 g/day for

Table 2 AFM₁ levels (µg/kg) in organic and conventional pasteurized and raw milk samples, taken in different seasons

Season	Positive samples	Mean ± standard deviation	Median	Range
2011 Fall	4/10	0.013 ^a ± 0.008	0.011	ND–0.024
2011 Winter	7/10	0.028 ^a ± 0.025	0.013	ND–0.064
2012 Summer	30/37	0.023 ^a ± 0.020	0.012	ND–0.068
2012 Fall	22/27	0.013 ^a ± 0.011	0.008	ND–0.044

ND not detected

^a Values within the same column that have the same lowercase letter are not significantly different Kruskal–Wallis test ($p > 0.05$)

Table 3 Estimated daily intake (ng/kg/day body weight) of aflatoxin M₁ through milk produced under organic and conventional system by different age groups

Age group	Organic milk	Conventional milk
Adolescents	0.013	0.011
Adults	0.009	0.007
Elderly	0.012	0.010

adolescents, 31.5 g/day for adults and 45.6 g/day for the elderly. Considering organic milk ingestion, the EDI for AFM₁ ranged from 0.009 ng/kg bw/day for adults to 0.013 ng/kg bw/day for adolescents (Table 3). Considering conventional milk ingestion, the EDI for AFM₁ ranged from 0.007 ng/kg bw/day for adults to 0.011 ng/kg bw/day for adolescents (Table 3).

Because aflatoxins are carcinogenic, international expert committees (JECFA 2001) have not specified a tolerable daily intake (TDI) for these substances and concluded that a daily exposure <1 ng/kg bw contributes to the risk of liver cancer. Therefore, the levels should be reduced to as low as possible. Kuiper-Goodman (1990) proposed a TDI for AFM₁ determined by dividing the median toxic dose (TD₅₀) by an uncertainty factor of 5000. The proposed value is 0.2 ng/kg of b.w, which is equivalent to a risk level of 1:100,000. Considering these values, the population that consumes organic and conventional milk are not under toxicological risk to AFM₁ exposure.

Deterioration by fungi and mycotoxin contamination is a big risk in stored feed. Apart from reducing palatability and feed consumption, fungal growth leads to nutrient and dry matter loss and harms animal performance (O'Brien et al. 2005). To reduce AFM₁ levels in milk to a minimum, the focus should be on the prevention of AFB₁ formation in food and feed. For this, it is necessary to control the food and feed given to dairy animals. Contamination of feeds is influenced by weather conditions during harvest and by feed storage practices. Improvement in agronomic practices and the search for resistant plant varieties can diminish the occurrence of this natural toxin. Nonetheless, the presence of resistant fungus strains can lead mycotoxin production.

4 Conclusion

In this study, the difference of aflatoxin M₁ levels between organic and conventional produced pasteurized and raw milk samples was not significant. Our results revealed that AFM₁ levels found in

Brazilian dairy products are of the same order or lower than those observed in other countries. No sample exceeded the Brazilian legislation limit while 6 samples exceeded the European legislation limit for AFM₁ in milk. We observed no difference in AFM₁ levels in milk samples taken in different seasons (fall and winter 2011 and summer and fall 2012). Continuous monitoring of AFM₁ is necessary because of its toxicological risk, especially to children and to elderly, the most susceptible population.

Acknowledgments The authors thank Dr^a Ivana Beatrice Mânica da Cruz for kindly supplying the ELISA reader and to milk producers that furnished raw milk samples.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Atanda O, Oguntubo A, Adejumo O, Ikeroah J, Akpan I (2007) Aflatoxin M₁ contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere* 68:1455–1458
- Brasil Decreto n° 6.323, de 27 de dezembro de (2007) Regulamenta a Lei n° 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências
- Brasil Instrução Normativa n° 46, de 6 de outubro de (2011a) Estabelece regulamento técnico para os sistemas de produção animal e vegetal, bem como as listas de substâncias permitidas para uso nos sistemas orgânicos de produção animal e vegetal. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Organicos/Legislacao/Nacional/Instrucao_Normativa_n_0_046_de_06-10-2011_regulada_pela_IN_17.pdf. Accessed 13 July 2016
- Brasil Lei n° 10831, de 23 de dezembro de (2003) Dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências
- Brasil Resolução n° RDC n° 7, de 18 de fevereiro de (2011b) Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CAST Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems (2003) Task Force report, no. 139. Ames, Iowa, USA. http://www.cast-science.org/publications/?mycotoxins_risks_in_plant_animal_and_human_systems&show=product&productID=2905. Accessed 13 July 2016
- Coccollone A, Canever A, Trevisani M, Borsari A, Giacometti F, Serraino A (2009) Aflatoxina M₁, carica batterica totale e cellule somatiche nel latte da produzione biologica e convenzionale. *Rivista Dell'Associazione Italiana dei Veterinari Igienisti* 5:49–54
- Duarte SC, Almeida AM, Teixeira AS, Pereira AL, Falcão AC, Pena A, Lino CM (2013) Aflatoxin M₁ in marketed milk in Portugal: assessment of human and animal exposure. *Food Control* 30(2):411–417
- EC (2010) Commission Regulation (EU) No 165/2010 of 26 February 2010. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. <http://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2010/165/oj>. Accessed 13 July 2016

- El Marnissi B, Belkhou R, Morgavi DP, Bennani L, Boudra H (2012) Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk collected from traditional dairies in Morocco. *Food Chem Toxicol* 50(8):2819–2821
- Ghidini S, Zanardi E, Battaglia A, Varisco G, Ferretti E, Campanini G, Chizzolini R (2005) Comparison of contaminant and residue levels in organic and conventional milk and meat products from northern Italy. *Food Addit Contam* 22(1):9–14
- Granella V, Ventorini CG, Pigatto GM, Nörrnberg JL, Costabeber IH (2013) Resíduos de agrotóxicos em leites pasteurizados orgânicos e convencionais. *Semin Cienc Agrar* 34(4):1731–1739
- Herzallah SM (2009) Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chem* 114(3):1141–1146
- Hoogenboom LAP, Bokhorst JG, Northolt MD, van de Vijver LPL, Broex NJG, Mevius DJ, Van der Roest J (2008) Contaminants and microorganisms in Dutch organic food products: a comparison with conventional products. *Food Addit Contam Part A* 25(10):1195–1207
- Horn MB, Luchtenberg R, Assunção MA, Santos SA, Scussel VM (2014) Qualidade de silagens de milho para gado leiteiro produzidas na Região Sul do Brasil quanto às micotoxinas. *Pubvet* 8(2):84–114
- IARC (2002) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>. Accessed 13 July 2016
- IBGE (2011) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof>. Accessed 13 July 2016
- JECFA (2001) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. In Prepared by the 56th meeting of the food additives Series No. 47. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je01.htm>. Accessed 13 July 2016
- Keller LAM, González Pereyra ML, Keller KM, Alonso VA, Oliveira AA, Almeida TX, Barbosa TS, Nunes LMT, Cavagliari LR, Rosa CAR (2013) Fungal and mycotoxins contamination in corn silage: monitoring risk before and after fermentation. *J Stored Prod Res* 52:42–47
- Kuiper-Goodman T (1990) Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxin, ochratoxin and zearalenone. *Can J Physiol Pharmacol* 68:1017–1024
- Malissiova E, Tsakalof A, Arvanitoyannis IS, Katsafliaka A, Katsioulis A, Tserkezou P, Koureas M, Govaris A, Hadjichristodoulou C (2013) Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe's and goat's milk in Thessaly, Greece; potential risk factors under organic and conventional production schemes. *Food Control* 34(1):241–248
- Mullen KAE, Sparks LG, Lyman RL, Washburn SP, Anderson KL (2013) Comparisons of milk quality on North Carolina organic and conventional dairies. *J Dairy Sci* 96(10):6753–6762
- O'Brien M, O'Kiely P, Forristal P, Fuller HT (2005) Fungi isolated from contaminated baled grass silage on farms in the Irish Midlands. *Microbiology Letters* 247:131–135
- Oliveira CA, Rosmaninho J, Rosim R (2006) Aflatoxin M1 and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in São Paulo Brazil. *Food Addit Contam* 23(2):196–201
- Oliveira CP, Soares NFF, Oliveira TV, Baffa Junior JC, Silva WA (2013) Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. *Food Control* 30(1):90–92
- Pattono D, Gallo PF, Civera T (2011) Detection and quantification of Ochratoxin A in milk produced in organic farms. *Food Chem* 127:374–377
- Picinin LCA, Cerqueira MMOP, Vargas EA, Lana AMQ, Toaldo IM, Bordignon-Luiz MT (2013) Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State Brazil. *Food Control* 31(2):419–424
- Santos AL, Bando E, Machinski-Junior M (2014) Ocorrência de aflatoxina M1 em leite bovino comercializado no estado do Paraná Brasil. *Semin-Cienc Agrar* 35(1):371–374
- Schwendel BH, Wester TJ, Morel PCH, Tavendale MH, Deadman C, Shadbolt NM, Otter DE (2015) Organic and conventionally produced milk—an evaluation of factors influencing milk composition. *J Dairy Sci* 98(2):721–746
- Shundo L, Navas SA, Lamardo LCA, Ruvleri V, Sabino M (2009) Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control* 20(7):655–657
- Sifuentes dos Santos J, França VR, Katto S, Santana EHW (2015) Aflatoxin M1 in pasteurized, UHT milk and milk powder commercialized in Londrina, Brazil and estimation of exposure. *Arch Latinoam Nutr* 65(3):181–185
- Soares JG, Salman AKD (2012) Organic milk production in Brazil: technologies for sustainable production. *ICROFS News* 1(1):6–9
- Tomašević I, Petrović J, Jovetić M, Raičević S, Milojević M, Miočinović J (2015) Two year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and milk products in Serbia. *Food Control* 56:64–70
- Tosun H, Ayyıldız T (2013) Occurrence of aflatoxin M1 in organic dairy products. *QAS* 5(3):215–219
- US Government Publishing Office (2000) National Organic Program 65 FR 80548. <https://federalregister.gov/a/00-32257>. Accessed 13 July 2016
- USDA (2013) USDA National Organic Program. Organic livestock requirements. <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=STELPRDC5102526>. Accessed 13 July 2016
- Van-Egmond HP, Paulsh WE, Veringa HA, Schuller PE (1977) The effect of processing on the aflatoxin M1 content of milk and milk products. *Arch Inst Pasteur Tunis* 54:381–390
- Zwald AG, Ruegg PL, Kaneene JB, Warnick LD, Wells SJ, Fossler C, Halbert LW (2004) Management practices and reported antimicrobial usage on conventional and organic dairy farms. *JDS* 87(1):191–201

3.2 MANUSCRITO DO ARTIGO 2

Ingestão diária estimada de bifenilos policlorados (PCBs) a partir do consumo de leite bovino produzido em sistemas convencional e orgânico do Brasil

Manuscrito em fase de revisão e tradução para língua inglesa, a ser submetido para periódico da área de ciência e tecnologia de alimentos.

Ingestão diária estimada de Bifenilos Policlorados (PCBs) a partir do consumo de leite bovino produzido em sistemas convencional e orgânico no Brasil

G.M. Pigatto ^{a*}; I.H. Costabeber ^b

^a Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brasil. gipigatto@yahoo.com.br

^b Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, RS, Brasil. ijonicostabeber@gmail.com

* Corresponding author:

Giane Magrini Pigatto

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Centro de Ciências Rurais

Universidade Federal de Santa Maria

Campus Universitário – Camobi

Santa Maria – RS

97105-900 - Brasil

e-mail: gipigatto@yahoo.com.br

Phone / FAX: +55 55 3220 8306

DESTAQUES

PCBs 153 e 180 foram detectados em leites convencionais e orgânicos.

Este foi o primeiro estudo sobre a ocorrência de PCBs em leites orgânicos do Brasil.

Leite pode ser considerado um bioindicador da contaminação por NDL-PCBs em 3 regiões do Brasil.

RESUMO

Bifenilos policlorados (PCBs) são poluentes orgânicos persistentes (POPs) com impacto negativo na cadeia alimentar, uma vez que sofrem processos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da mesma e apresentam expressiva toxicidade. A presença de resíduos de PCBs em leites constitui-se em ameaça à qualidade e segurança alimentar no consumo desses alimentos. Os níveis de onze congêneres de bifenilos policlorados (PCBs) foram avaliados em amostras de leites convencionais e orgânicos coletados em três regiões do Brasil, para avaliar a possível contaminação nos sistemas de produção convencional de leites crus e pasteurizados, e nos sistemas orgânicos, também de leites crus e pasteurizados. Os congêneres de quatro DL-PCBs investigados não foram detectados em nenhuma amostra de leite analisada. Os resultados obtidos confirmaram a ocorrência de contaminação pelos PCBs 153 e 180 nos dois sistemas de produção, havendo diferença significativa na concentração média detectada para o PCB 153 nos leites convencionais. Não houve diferença significativa entre a ocorrência do PCB 153 e do PCB 180 em leites crus e pasteurizados. O PCB 153 foi detectado em 50% das amostras de leite convencionais e em 13,33% das amostras orgânicas analisadas. Já o PCB 180 foi detectado em 10% das amostras convencionais e em 6,66% das amostras de leite orgânico analisadas. Os níveis detectados estavam de acordo com o permitido pela legislação europeia (40 ng g^{-1} para somatório de PCBs indicadores). A ingestão diária estimada dos PCBs detectados via consumo de leites convencionais e orgânicos expôs maior susceptibilidade do grupo dos adolescentes e idosos. Sugere-se a consideração dos dados obtidos como indicativos da contaminação ambiental por PCBs em leites oriundos de produção convencional e orgânica ainda como um fator de impacto na qualidade dos mesmos. Ainda, sugere-se o monitoramento sistemático dessa contaminação como subsídio à avaliação do risco benefício envolvido no consumo de leite frente a contaminação por POPs de expressiva toxicidade, como os PCBs.

Palavras-chave: Leite orgânico; Poluente orgânico persistente; PCB 153; PCB 180; Leite cru, Leite pasteurizado.

INTRODUÇÃO

O consumo de produtos lácteos aumentou rapidamente nas últimas décadas em várias partes do mundo em desenvolvimento, impulsionado pelo crescimento econômico e pelo aumento dos níveis de renda. Isso foi acompanhado por grandes aumentos de produção em vários países em desenvolvimento, com taxas de crescimento superando significativamente as de países desenvolvidos (FAO 2013).

O Brasil, país de dimensões continentais e base econômica fortemente ligada ao setor agropecuário, classifica-se como o quinto produtor mundial de leite (IBGE, 2016). Nesse contexto, é importante ressaltar que a produção orgânica de leite também emergiu no país, embora representando um percentual incipiente, estimado em 0,02% (6,8 milhões de litros em 2010) da produção total de leite produzida no Brasil (SOARES et al.,2011).

No geral, o setor de produção de alimentos orgânicos vem ganhando espaço no Brasil, especialmente a partir da consolidação de uma legislação nacional específica para esse segmento, a partir da promulgação da Lei 10381, de 23/12/2003 (BRASIL, 2003). A produção orgânica brasileira de leite pauta-se, portanto, em regulamentações próprias, as quais regem as etapas da produção animal no sentido da criação dos rebanhos em vida livre, com alimentação preferencialmente à pasto, proibição de medicações sintéticas e utilização de hormônios (BRASIL, 2011; BRASIL 2014).

Como a totalidade da produção orgânica, a produção de leite orgânico deve ser estabelecida como parte um sistema de produção que sustenta a saúde dos solos, dos ecossistemas e das pessoas; depende dos processos ecológicos, da biodiversidade e dos ciclos adaptados às condições locais, como alternativa ao uso de insumos, os quais possuem efeitos adversos; e preconiza a combinação entre tradição, inovação e ciência para beneficiar o ambiente compartilhado e promover relacionamentos justos e uma boa qualidade de vida para todos os envolvidos (IFOAM, 2008).

A partir dessa consideração acerca dos preceitos da produção orgânica, salienta-se o papel do consumidor nessa cadeia. Nesse sentido, destaca-se que o crescimento na produção dos alimentos orgânicos aumentou de modo considerável e rapidamente nas últimas décadas, o que pode ser atribuído à resposta do consumidor à conscientização e à confiança nos alimentos orgânicos, bem como a preocupação

com os possíveis riscos para a saúde e o impacto ambiental das produções convencionais em alimentos (LEE & YUN, 2015; ZANELLA et al. 2018). Os preços dos alimentos orgânicos frente aos convencionais apresentam-se como um fator condicionante ao consumo, mas frente ao crescimento do mercado, a relação entre qualidade e preço indica oportunidades razoáveis para futuros mercados orgânicos à luz das tendências das atitudes dos consumidores, como aumentar a conscientização para temas ambientais e sociais (RÖDIGER & HAMM, 2015).

Por outro lado, os poluentes orgânicos persistentes (POPs) apresentam-se como uma ameaça à qualidade e inocuidade do leite. Esta classe de poluentes foi estabelecida com o objetivo de proteger a saúde humana e o meio ambiente de compostos químicos que permanecem intactos por longos períodos, estão amplamente distribuídos geograficamente, acumulam-se nos tecidos lipídicos dos seres humanos e animais, além de apresentarem efeitos adversos para a saúde humana e meio ambiente (UNEP, 2001). Esses POPs podem estar presentes no leite pela contaminação dos animais através de várias rotas como ar, água, solo e alimentação e, por várias razões, a sua ocorrência ainda é difícil de ser evitada e controlada (FISCHER et al, 2016).

Dentre os POPs, os bifenilos policlorados (PCBs) caracterizam-se como produtos químicos antropogênicos de fonte industrial. São hidrocarbonetos clorados capazes de formar 209 diferentes congêneres de PCBs. Com base em características estruturais e toxicologia associada, os congêneres de PCBs podem ser classificados em "tipo dioxina" (DL) e "não-dioxina" (NDL). As propriedades físico-químicas dos PCBs se assemelham às dioxinas, na medida em que esse grupo de compostos é química e termicamente muito estável e altamente lipofílico. Eles também são caracterizados por baixa condutividade elétrica, pontos de ebulição elevados e resistência ao fogo, que levaram ao seu uso generalizado em várias indústrias (FISCHER et al., 2011, JOOSTE et al., 2014; WHO 2016).

Os PCBs são extremamente resistentes à degradação biológica e, por isso, persistem no ambiente, acumulando-se nos alimentos e na cadeia alimentar (JOOSTE et al., 2014). Considerados compostos carcinogênicos (WHO, 2016), os PCBs são apontados como os principais poluentes orgânicos persistentes que agem como disruptores endócrinos (WU et al., 2017). Devido as suas características de alta toxicidade, tendência a se acumularem na cadeia alimentar, esses compostos tóxicos

representam, portanto, uma ameaça permanente à saúde humana (BARONE et al., 2014).

No Brasil, país que nunca produziu, mas importou as misturas comerciais de PCBs. As restrições à utilização dos PCBs foram implementadas através da Portaria Interministerial nº19, de 2 de janeiro de 1981. Essa portaria estabeleceu a proibição da fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo o país. Entretanto, continuou-se permitindo que os equipamentos já instalados permanecessem em funcionamento até sua substituição integral ou a troca do fluido dielétrico por produto isento de PCBs. Esta portaria também proibiu o descarte de PCBs ou produtos contaminados em cursos d'água, exposição de equipamentos contendo PCBs a intempéries, além de regulamentar o local de instalação dos equipamentos que contenham PCBs e que ainda estivessem em funcionamento (BRASIL, 1981).

Mesmo proibidos, associa-se a ocorrência de contaminação ambiental por PCBs, tanto a partir do descarte de equipamentos elétricos antigos em locais não apropriados para este fim, contaminando o solo e as águas, como quando pela incineração do lixo industrial e municipal que não sejam efetivas em sua destruição (MOHR & COSTABEBER, 2012; JOOSTE et al., 2014).

Muito embora diferentes estudos demonstrem decréscimo nos níveis de resíduos de PCBs em leite ou alimentos, a nível mundial, a ocorrência de PCBs em leite orgânico e outros alimentos orgânicos ainda é pouco demonstrada na literatura, verificando-se dados em leite, queijos e carnes, todos realizados na Europa (LUZARDO et al., 2012; ALMEIDA-GONZÁLEZ et al., 2012; DERVILLY-PINEL et al., 2017). Porém, tal investigação se mostra relevante na medida em que possa suprir a necessidade de dados sobre a contaminação ambiental também nos sistemas de produção orgânicos, haja vista a persistência e dispersão desses poluentes.

Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência de bifenilos policlorados (PCBs) em leites produzidos em sistemas convencionais e orgânicos no Brasil e a ingestão diária estimada pelos consumidores.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Padrões individuais dos PCBs 28 (2,4,4'-triclorobifenil), 52 (2,2',5,5'tetraclorobifenil), 77 (3,3',4,4'-tetraclorobifenil), 81 (3,4,4',5-tetraclorobifenil), 101 (2,2',4,4',5,5'-pentaclorobifenil), 118 (2,3',4,4',5-pentaclorobifenil), 126 (3,3',4,4',5-pentaclorobifenil), 138 (2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenil), 153 (2,2',4,4',5,5'-hexaclorobifenil), 169 (3,3',4,4',5-pentaclorobifenil) e 180 (2,2',3,4,4',5,5'-heptaclorobifenil) foram obtidos de AccuStandard, Inc. (New Haven, USA). Diclorometano grau resíduo para a análise de pesticidas, ácido fórmico e ácido sulfúrico foram obtidos de Vetec Química Fina Ltda (Duque de Caxias, RJ, Brasil). n-Hexano grau resíduo para análise de pesticidas foi obtido de Mallinckrodt Baker, Inc. (NJ, USA). Sulfato de sódio anidro para análise de resíduos de pesticidas foi obtido de Sigma-Aldrich, Co. (St. Louis, USA). Silica gel 60 (70-230 mesh) foi obtida de Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

2.2. Amostras

Um total de 60 amostras de leite brasileiras foram analisadas, 30 oriundas de produção orgânica (10 pasteurizadas, 20 crus) e 30 de produção convencional (10 pasteurizadas, 20 crus). Cinco marcas de leite pasteurizado integral de produção orgânica certificada foram coletadas entre maio de 2011 e março de 2012, com intervalo de dois meses, totalizando 6 coletas. Para cada marca de leite orgânico (LO) foi coletada uma marca de leite convencional (LC) na mesma cidade. Uma das marcas foi coletada no Estado Grande do Sul; três marcas foram coletadas no Estado de São Paulo e uma das marcas foi coletada no Distrito Federal. As amostras de leite cru orgânicas foram coletadas entre julho de 2011 e maio de 2012, de forma bimestral, totalizando seis coletas realizadas diretamente em cada uma das vinte propriedades rurais orgânicas selecionadas, todas no Estado de Santa Catarina, sendo que amostras de leite cru convencionais também foram coletadas próximas a essas propriedades orgânicas. As amostras pasteurizadas foram transportadas em suas embalagens originais, e as mostras de leite cru orgânicas foram coletadas assepticamente dos tanques ou tarros, acondicionadas em vidro âmbar, identificadas,

mantidas sob refrigeração em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Análises de Poluentes Persistentes (LAPP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), onde, após homogeneização, alíquotas dessas amostras foram retiradas, devidamente identificadas, e destinadas para a análise do teor de gordura e para congelamento a -20°C até o momento das análises dos bifenilos policlorados.

2.3. Análises de PCBs

A extração dos PCBs foi realizada seguindo a metodologia descrita por Bayat et al. (2011). Todas as amostras de leite foram homogeneizadas por agitação durante pelo menos 5 min. Uma quantidade de 5 a 6 g de amostra foi pesada e adicionou-se 2 ml de ácido fórmico. A extração dos compostos tóxicos foi realizada com a adição da mistura de 12 ml de n-hexano + diclorometano (5: 1, v / v) e agitação durante 1,5 min. Em seguida, retirou-se a fase orgânica e repetiu-se o procedimento de extração com a mistura de solventes. As camadas orgânicas (1^a e 2^a) foram recolhidas em balão e concentradas em rotaevaporador (40°C) até o volume de 4 a 5 mL. O extrato resultante foi transferido para a etapa de clean up em coluna cromatográfica contendo 8 g de sílica gel ativada, acidificada com ácido sulfúrico concentrado (44% w/w) e condicionada com 20 mL de n-hexano grau resíduo. Após a coluna foi eluída com 15mL de n-hexano seguido por 10 mL de diclorometano. A solução final foi concentrada em rotaevaporador e sob nitrogênio quase até secar. O extrato final foi dissolvido em 1 mL de n-hexano e transferido para o vial de injeção. Após evaporação e concentração, o extrato foi reconstituído com n-hexano e utilizado para determinação dos PCBs em um cromatógrafo gasoso Agilent Technologies modelo 6890N dotado de um microdetector de captura de elétrons ^{63}Ni (μDCE). Uma coluna HP-5 de sílica fundida (cross linked 5% fenil metil siloxane gum, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 mm de espessura) foi empregada. As condições de operação foram: injetor 280°C , detector 320°C , temperatura do forno foi mantida a 60°C por 5 min, aumentada até 190°C a $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e mantida por 5 min, após aumentando até 220°C a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ por 5min, finalmente aquecendo até 300°C a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ permanecendo por 1,67 min. O gás utilizado foi o hélio, a um fluxo na coluna de 1,5 mL/min. Todas as amostras foram analisadas em duplicada e os resultados representam a média aritmética. Uma mistura de congêneres específicos de PCBs foi

utilizada para a calibração e recuperação. As médias das recuperações ficaram entre 90 e 108%. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram, respectivamente, de $0,1 \text{ ng g}^{-1}$ e de $0,5 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura de leite para todos os PCBs. A confirmação dos resultados obtidos foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado à espectrometria de massas (GC/MS), marca Agilent Technologies, modelo 6890N. Para obtenção dos teores de lipídios totais das amostras de leite analisadas, empregou-se a metodologia de Gerber (MAPA, 2014).

2.4 Ingestão diária estimada de PCBs

As estimativas de consumo são baseadas em dados de consumo de alimentos coletados pelo National Household Food Budget Survey, POF 2008-2009, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística de maio de 2008 a maio de 2009. Os dados da pesquisa mostraram a ingestão média diária de alimentos (g/dia) para 3 grupos de idades diferentes: adolescentes (10 a 19 anos), adultos (20 a 64 anos) e idosos (mais de 65 anos). Os dados referem-se ao consumo de alimentos brutos, sem especificação sobre produtos orgânicos ou convencionais. A pesquisa de amostragem consistiu em 13.569 famílias e 34.003 habitantes. O peso corporal foi calculado como a média aritmética da faixa etária média (IBGE 2011). A exposição aos PCBs na dieta foi estimada pela quantidade do composto encontrado no leite orgânico e convencional (ng g^{-1}), a ingestão diária de produtos lácteos pelos grupos etários (g) e o peso corporal médio dos grupos etários (kg). Amostras com níveis de PCBs menores que LOD foram tomadas como LOD/2 para estimativa de ingestão.

2.4. Análises Estatísticas

A presença dos resíduos dos PCBs detectados não seguem uma distribuição normal e foram avaliadas estatisticamente em leites orgânicos e convencionais, crus e pasteurizados, pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. As diferenças foram consideradas com no mínimo 5% de significância ($p \leq 0,05$). Para realização dos cálculos, $\frac{1}{2}$ LOD foi usado para aqueles congêneres que apresentaram-se em concentrações abaixo do LOD.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os onze PCBs investigados não foram encontrados em todas as amostras analisadas, sendo que somente dois congêneres de NDL-PCBs, o PCB 153 e o PCB 180, foram detectados. O PCB 153 foi detectado em 31,6% das amostras analisadas, enquanto o PCB 180 em 8,33%. Nesse sentido, ressalta-se que os congêneres NDL-PCBs podem ser considerados tão perigosos quanto os DL-PCBs, pois foram os mais utilizados em misturas comerciais e, conseqüentemente, os mais detectados em amostras ambientais, de seres humanos, animais e alimentos (MOHR & COSTABEBER, 2012; WHO 2016).

A excreção de PCBs no leite é a principal via de eliminação desses compostos em vacas de lactação (ROSE, 2014). Assim, destaca-se que o PCB 153 integra o chamado grupo de PCBs indicadores de contaminação ambiental, os quais representam cerca de 50% do total de NDL-PCBs que se acumulam nos animais de produção, especialmente em seus tecidos gordurosos. O PCB 153, bem como o 138, ambos com seis átomos de cloro, mostram-se ainda como os de maior transição para o leite, na ordem de 50-60% (FISCHER et al. 2011).

A ocorrência dos PCBs 153 e 180 nas amostras de leite cru e pasteurizado analisadas encontra-se na Tabela 1. Os níveis dos congêneres 153 e 180 detectados nesses tipos de leite não diferiram significativamente, o que pode estar associado a estabilidade desses compostos. Bayat et al. (2011) relatou a ocorrência do PCB 153 como significativamente mais alta em amostras de leite com teor de gordura de 3% em relação aos leites que apresentaram teor de 1,5% de gordura, mas ressalta que os resultados estavam provavelmente relacionados à diferença de contaminação ambiental entre as amostras.

Os valores referentes às concentrações médias dos compostos analisados são apresentados em ng g^{-1} de gordura de leite. Dentre os congêneres individuais detectados, o PCB 153 foi detectado em leites crus e pasteurizados nas maiores concentrações médias, $0,70 \text{ ng g}^{-1}$ e $0,96 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura, respectivamente. Já o PCB 180 apresentou ocorrência somente em leites pasteurizados em concentração média de $0,36 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura. Os valores dos PCBs neste estudo foram inferiores aos valores médios encontrados por Bayat et al. (2011) em leite pasteurizado, de $2,77 \text{ ng g}^{-1}$ e $9,11 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para os PCBs 153 e 180, respectivamente.

Dados de contaminação pelos PCBs 153 e 180 já foram reportados em análises de leite e derivados do sul do Brasil. Santos et al. (2006) ao analisarem queijos obtidos em 14 cidades obtiveram dados de concentrações médias para os PCBs 153 e 180 que foram, respectivamente, de 3,0 e 4,91 ng g⁻¹ de gordura. Já Heck et al. (2007) identificaram o PCB 180 como o mais frequente, em 62,5% do total de amostras de leites analisadas, e em concentração média de 5,31 ng g⁻¹ de gordura. Este congêner foi apontado como o maior contribuinte para o somatório de dez congêneres de PCBs investigados. Os níveis dos dez PCBs reportados no estudo desses autores se mostraram significativamente mais altos nos leites pasteurizados analisados do que nas amostras de leites crus, fato que foi associado à provável diferença nos níveis de contaminação nas diferentes cidades onde os leites foram coletados. O PCB 180 foi encontrado em concentração média de 2,50 ng g⁻¹ de gordura em leites crus e 11,7 ng g⁻¹ de gordura nas amostras de leite pasteurizados. Assim, em relação a estes resultados, os dados obtidos no presente estudo também se mostraram inferiores, o que pode ser um indicativo de diminuição nos níveis de resíduos de PCBs.

A ocorrência dos PCBs 153 e 180 nas amostras de leite orgânico e convencional analisadas encontra-se na Tabela 2. O PCB 153 foi detectado em 50% das amostras de leite convencionais e em 13,33% das amostras orgânicas analisadas. Já o PCB 180 foi detectado em 10% das amostras convencionais e em 6,66% das amostras de leite orgânico analisadas. Portanto, as amostras convencionais apresentaram maior frequência de contaminação pelos PCBs detectados. Por outro lado, em estudo com amostras de 16 marcas de leites convencionais e 10 de leites orgânicos coletadas comercialmente nas Ilhas Canárias, Espanha, demonstrou que os PCBs 153 e 180 foram detectados em 100% das amostras orgânicas analisadas, enquanto o PCB 180 foi detectado em 69% das amostras convencionais. Os autores associam essa situação à provável diferença nos padrões de contaminação conforme a origem das amostras analisadas, uma vez que as orgânicas foram produzidas em países europeus de alta industrialização como Alemanha, Bélgica e Holanda (LUZARDO et al., 2012).

Estudo com 54 marcas de queijos produzidos com leite de sistema convencional e 7 marcas de queijos orgânicos, obtidos comercialmente também nas Ilhas Canárias, Espanha, demonstrou que 100% das amostras de queijos estavam contaminadas por PCBs, sendo os congêneres 153 e 180 os mais frequentes (ALMEIDA-GONZÁLEZ et al., 2012).

Estudos confrontando a ocorrência de contaminação por POPs, como os PCBs, entre alimentos, e, particularmente, em leite ou derivados oriundos de sistemas de produção orgânica ainda são pouco mencionados na literatura. Porém, dados sobre a ocorrência de PCBs em leites e derivados de diferentes espécies, obtidos por produção convencional, continuam fornecendo informações sobre a contaminação desses alimentos e subsidiando avaliações da exposição humana pelo consumo de leite (LORENZI et al., 2016; PEMBERTHY et al., 2016; PIZARRO-ARÁNGUIZ et al., 2015; DI BELLA et al. 2014).

Em nosso estudo, o nível médio de concentração do PCB 153 detectado diferiu conforme o sistema de produção das amostras analisadas, orgânico ou convencional, se mostrando mais alto nos leites convencionais. O PCB 153 apresentou-se em concentrações médias de 0,46 ng g⁻¹ de gordura nas amostras orgânicas e de 1,12 ng g⁻¹ de gordura nas amostras convencionais analisadas. Já o PCB 180 não apresentou diferença significativa entre os sistemas de produção, sendo detectado em concentrações médias de 0,12 ng g⁻¹ de gordura em amostras orgânicas e de 0,18 ng g⁻¹ de gordura em amostras convencionais.

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) regulamenta os limites máximos de resíduos em alimentos através do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC/Animal (BRASIL, 2017). Porém, essa legislação indica limite máximo de resíduos somente para DL-PCBs em leites. A legislação vigente na União Européia aponta a ocorrência de PCBs indicadores em alimentos como marcadores da exposição humana aos mesmos, e estabelece como limite máximo de resíduos em leite cru e produtos lácteos o valor de 40 ng g⁻¹ para o somatório dos PCBs 28, 52, 101, 138, 153 e 180 (European Commission, 2011). Nesse sentido, os somatórios de PCBs indicadores encontrados nas amostras brasileiras de leites orgânicos, 0,58 ng g⁻¹, e convencionais, 1,3 ng g⁻¹, apresentam-se de acordo com a legislação européia.

Além da ampla disseminação ambiental do PCBs, fato que corrobora sua detecção em leites produzidos em sistema orgânicos, a alimentação dos animais pode ser apontada como fator contribuinte nessa contaminação. Isso porque até 15% de alimentação não orgânica pode ser disponibilizada diariamente ao rebanho, conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2011; BRASIL 2014).

Variações nos níveis de PCBs reportados na literatura, assim como nas estimativas de ingestão humana, ocorrem devido as diferenças analíticas

relacionadas com o número de congêneres analisados e hábitos alimentares. A avaliação da exposição aos PCBs detectados neste estudo, a partir do consumo de leite orgânico e convencional, por diferentes grupos etários no Brasil apresenta-se na tabela 3.

Valores de ingestão diária estimada (IDE) do PCB 153 e do PCB 180 detectados em leites produzidos em sistema orgânico e convencional foram calculados considerando-se a concentração média detectada destes compostos em leites orgânicos e convencionais. Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011), foi considerado o consumo diário médio para adolescentes, adultos e idosos de 38,6 g/dia; 31,5 g/dia e 45,6 g/dia, respectivamente, e calculados os respectivos pesos corporais médios atribuídos a cada uma dessas categorias.

Considerando a ingestão diária estimada (IDE) para o PCB153, via consumo de leite orgânico, a média foi 0,351 ng/kg por dia para adolescentes > 0,323 para idosos > 0,235 para adultos. Em relação a IDE para o PCB 180, a IDE apresentou as médias de 0,091 ng kg⁻¹ por dia para adolescentes, seguido de 0,084 e 0,061 ng kg⁻¹ por dia de IDE para idosos e adultos, respectivamente.

Por sua vez, a ingestão diária estimada (IDE) para o PCB153, via consumo de leite convencional, apresentou a média de 0,856 ng/kg por dia para adolescentes > 0,786 para idosos > 0,573 para adultos. Em relação a IDE para o PCB 180, a IDE apresentou as médias de 0,137 ng kg⁻¹ por dia para adolescentes, seguido de 0,092 e 0,084 ng kg⁻¹ por dia de IDE para adultos e idosos, respectivamente.

A avaliação da contribuição do somatório da ingestão diária estimada de NDL-PCBs detectados no presente estudo, via consumo de leite orgânico, apresentou valores de 0,442; 0,407 e 0,296 ng kg⁻¹ por dia para adolescentes, idosos e adultos, respectivamente. Com relação ao somatório da ingestão de NDL-PCBs via consumo de leite convencional, os valores obtidos foram de 0,993; 0,870 e 0,665 ng kg⁻¹ por dia para adolescentes, idosos e adultos, respectivamente. De encontro aos nossos resultados obtidos, dados da Itália referem ingestão de NDL-PCBs via consumo de leite bovino com valores entre 0,52 ng kg⁻¹ por dia e 2,86 ng kg⁻¹ por dia e maior exposição pelo grupo dos adolescentes e crianças (LORENZI et al., 2016).

CONCLUSÃO

Confirmou-se a contaminação pelos PCBs 153 e 180 dentre os 11 congêneres de PCBs investigados em amostras de leites produzidos em sistemas convencionais e orgânicos do Brasil. O PCB 153 diferiu significativamente apresentando-se em maiores concentrações médias dentre os leites convencionais. A ocorrência destes dois PCBs indicadores, com somatórios de 0,58 ng g⁻¹ de gordura para leites orgânicos e 1,3 ng g⁻¹ de gordura para leites convencionais apresentaram-se abaixo dos limites máximos da legislação europeia, porém confirmaram a contaminação ambiental por estes POPs nos sistemas de produção de leite em nosso país. A ingestão diária estimada dos PCBs detectados via consumo de leites convencionais e orgânicos inspira atenção e necessidade de monitoramento, uma vez que expôs maior susceptibilidade do grupo dos adolescentes e idosos. Ainda, sugere-se a consideração dos dados obtidos como um fator de impacto na qualidade do leite e de modo a contribuir na avaliação do risco benefício envolvido no consumo de leite frente a contaminação por POPs de expressiva toxicidade, como os PCBs. Deve-se ressaltar a necessidade de adequação da legislação brasileira sobre o tema e que o presente trabalho constitui-se no primeiro a reportar dados sobre contaminação por PCBs em leites orgânicos do Brasil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-GONZÁLEZ, M., LUZARDO, O., ZUMBADO, M., RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, A., RUIZ-SUÁREZ, N., SANGIL, M., CAMACHO, M., HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L.A., BOADA, L. Levels of organochlorine contaminants in organic and conventional cheeses and their impact on the health of consumers: An independent study in the Canary Islands (Spain) **Food and Chemical Toxicology** 50 4325–4332. 2012.

BAYAT, S., SARI, A.E., BAHRAMIFAR, N., YOUNESI, H., BEHROOZ, R.D. Survey of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in commercial pasteurized milk in Iran. **Environ Monit Assess** (2011) 175:469–474.

BARONE, G, GIACOMINELLI-STUFFLER, R., GAROFALO, R., CASTIGLIA, D., STORELLI, M.M. PCBs and PCDD/PCDFs in fishery products: Occurrence, congener profile and compliance with European Union legislation. **Food and Chemical Toxicology** 74 (2014) 200–205.

BRASIL. **Portaria Interministerial N° 19**, de 29 de janeiro de 1981. Disponível em: <<http://www.ipef.br/legislacao/bdlegislacao/detalhes.asp?Id=235>> Acesso em: 5 jan 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei 10.831**, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46**, de 6 de outubro de 2011. Estabelece Regulamento Técnico para os Sistemas de Produção Animal e Vegetal, bem como as listas de substâncias permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 17**, de 18 de junho de 2014. Altera os arts. 1º, 2º, 3º, 8º, 13, 14, 15, 20, 21, 29, 34, 35, 38, 39, 42, 59, 60, 63, 80, 81, 82, 85, 89, 100, 101, 103, 106, 108, todos da Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011.

BRASIL. **Instrução normativa nº 09**, de 21 de fevereiro de 2017. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal – PNCRC. 2017.

COMMISSION REGULATION (EU) N° 1259/2011 de 2 de dezembro de 2011. Official Journal of the European Union. Altera o Regulamento (CE) n. ° 1881/2006 no que se refere aos teores máximos para as dioxinas, PCB sob a forma de dioxina e PCB não semelhantes a dioxinas nos gêneros alimentícios. Disponível em: <<http://eurlex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32011R1259>> Acesso em 15 jan 2018.

DERVILLY-PINEL, G., GUÉRIN, T., MINVIELLE, B., TRAVEL, A., NORMAND, J., BOURIN, M., ROYER, E., DUBREIL, E., MOMPÉLAT, S., HOMMET, F., NICOLAS, M., HORT, V., CHANTHADARY, I., SAINT-HILAIRE, M., CHAFEY, C., PARINET, J., RONAN, C., MARCHAND, P., LE BIZEC, B., ERDON, E., ENGEL, E. . Micropollutants and chemical residues in organic and conventional meat. **Food Chemistry** 232 (2017) 218–228.

DI BELLA, G., POTORTÌ, A.G., VINCENZO LO TURCO, V., LICATA, P., RASTRELLI, L., DUGO, G. Donkey's milk safety: POCs and PCBs levels and infant daily intake. **Food Control** 46 (2014) 210 e 216.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Milk and dairy products in the human nutrition**. Roma, 2013.

FISCHER, W.J.; SCHILTER, B.; TRITSCHER, AM.; STADLER, R.H. Contamination Resulting from Farm and Dairy Practices. **Elsevier** Ltda. All rights reserved. 2011.

FISCHER, W.J.; SCHILTER, B.; TRITSCHER, AM.; STADLER, R.H. Contaminants of Milk and Dairy Products: Contamination Resulting from Farm and Dairy Practices. Reference Module in Food Sciences <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00698-3>>. **Elsevier** Inc. All rights reserved. 2016.

HECK, M.C. et al. Estimation of children exposure to organochlorine compounds through milk in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Chemistry**, v.102, n.1, p.288-294, 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009**. Publicação 2011. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/default.shtm> Accessed 13 fev 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-51, 2016.

IFOAM. International Federation of Organic Agriculture Movements. **Definition of the organic agriculture**. 2008. Disponível em: <<https://www.ifoam.bio/en/our-library>>. Acesso em: 25 jan 2018.

JOOSTE, P.J., ANELICH, L., MOTARJEMI, Y. Safety of food and beverages. Milk and Dairy Products. In: **Encyclopedia of Food Safety, Volume 3** doi:10.1016/B978-0-12-378612-8.00286-9 Elsevier Inc. All rights reserved. 2014.

LEE, H-J., YUN, Z-S., Consumers' perceptions of organic food attributes and cognitive and affective attitudes as determinants of their purchase intentions toward organic food. **Food Quality and Preference** 39 (2015) 259–267.

LORENZI V., GHIDINI, S., ANGELONE, B., FERRETTI E., MENOTTA S., FEDRIZZI. VARISCO, G., FOSCHINI S., DIEGOL G., BERTOCCHI L. Three years of monitoring of PCDD/F, DL-PCB and NDL-PCB residues in bovine milk from Lombardy and Emilia Romagna regions (Italy): Contamination levels and human exposure assessment. **Food Control** 68 (2016) 45 e 54.

LUZARDO, O. P.; ALMEIDA-GONZÁLEZ, M.; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; ZUMBADO, M.; ÁLVAREZ-LEÓN, E. E.; BOADA, L. D. Polychlorobiphenyls and organochlorine pesticides in conventional and organic brands of milk: Occurrence and dietary intake in the population of the Canary Islands (Spain). **Chemosphere**, v. 88, n. 3, p. 307-315, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS. Determinação de lipídios em leite e produtos lácteos pelo método butirométrico. 2014.

MOHR, S.; COSTABEBER, I.H. Aspectos Toxicológicos e ocorrência dos bifenilos policlorados em alimentos. **Ciência Rural**. V.42, n.3. mar, 2012.

PEMBERTHY, D., QUINTERO, A., MARTRAT, M.G. , PARERA, J., ÁBALOS, M. , E. ABAD, E., VILLA, A.L. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like PCBs in commercialized food products from Colombia. **Science of the Total Environment** 568 (2016) 1185–1191.

PIZARRO-ARÁNGUIZ, N., GALBÁN-MALAGÓN, RUIZ-RUDOLPH, P, ARAYA-JORDAN, C., MADDALENO A,SAN MARTIN, B. Occurrence, variability and human exposure to Polychlorinated Dibenzop-dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs) and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls (DL-PCBs) in dairy products from Chile during the 2011–2013. **Chemosphere** 126 (2015) 78–87.

RÖDIGER, M., HAMM, U. How are organic food prices affecting consumer behaviour? A review. **Food Quality and Preference** 43 (2015) 10–20

ROSE, M. Environmental Contaminants. Dioxins, Furans, and Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls. Food and Environment Research Agency, York, UK. 2014 Elsevier Inc.All rights reserved. **Encyclopedia of Human Nutrition**, Volume 2 doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00197-9.

SANTOS, J.S. et al. Assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in cheese from Rio Grande do Sul, Brazil. **Chemosphere**, v.65, n.9, p.1544-1550, 2006.

SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M.; FONSECA, H.; SANAVRIA, A.; FAGUNDES, G.M.; SILVA, J.B. **Produção orgânica de leite: desafios e perspectivas**. In: III SIMLEITE III Simpósio Nacional de Bovinocultura Leiteira I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA 03 a 05 de Novembro de 2011, Viçosa, MG. Brasil. Disponível em: < <http://www.simleite.com/anais/iii-simleite-48> > Acesso em: 15 jan 2018.

UNEP. United Nations Environmental Programme. **Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants**. 2001. Disponível em: <<http://chm.pops.int/>>. Acesso em 15 jan 2018.

WHO. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. **Monographs – 107 Polychlorinated Biphenyls and Polybrominated Biphenyls**. 2016. Disponível em: < <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol108/index.php> >.

WU, H., YU, W., MENG, F., MI, J., PENG, J., LIU, J., ZHANG, X., HAI, C., WANG, X. Polychlorinated biphenyls-153 induces metabolic dysfunction through activation of ROS/NF- κ B signaling via downregulation of HNF1b. **Redox Biology** 12 (2017) 300–310.

ZANELLA A., GEISENB S., PONGEC, J.F., JAGERSD, G., BENBROOKE, C., DILLIA, T., VACCAF, A., KWIATKOWSKA-MALINAG, J., AUBERTH, M., FUSARO S., DE NOBILI, M., LOMOLINO, G., GOMIERO, T. Humusica 2, article 17: techno humus systems and global change – three crucial questions. **Applied Soil Ecology** 122 (2018) 237–253.

Tabela 1 – Níveis de PCBs (ng g^{-1} gordura) em amostras de leite cru e pasteurizado (n=60).

Congêneres	Tipo de leite	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	Amostras positivas
PCB 153	Cru	0,70	1,29	0,05	<LOD – 4,98	13/40
	Pasteurizado	0,96	1,59	0,05	<LOD – 4,73	6/20
PCB 180	Cru	ND	–	ND	ND	0/40
	Pasteurizado	0,36	0,78	0,05	<LOD – 3,29	5/20

DV: desvio padrão; ND: não detectado.

Tabela 2 – Níveis de PCBs (ng g⁻¹ gordura) em amostras de leite orgânico e convencional (n=60).

Congêneres	Sistema de produção	Média	DP	Mediana	Mín-Máx	Amostras positivas
PCB 153	Orgânico	0,46	1,20	0,05	<LOD – 4,73	4/30
	Convencional	1,12*	1,5	0,15	<LOD – 4,98	15/30
PCB 180	Orgânico	0,12	0,29	0,05	<LOD – 1,27	2/30
	Convencional	0,18	0,60	0,05	<LOD – 3,29	3/30

DV: desvio padrão; ND: não detectado.

* significativamente diferente do leite orgânico

Tabela 3 – Ingestão diária estimada (ng/kg/dia peso corporal) de PCBs através do consumo de leite produzido em sistema orgânico e convencional.

Grupo etário	Leite orgânico			Leite convencional		
	PCB 153	PCB 180	Σ	PCB 153	PCB 180	Σ
Adolescentes	0,351	0,091	0,442	0,856	0,137	0,993
Adultos	0,235	0,061	0,296	0,573	0,092	0,665
Idosos	0,323	0,084	0,407	0,786	0,084	0,870

4 DISCUSSÃO

A qualidade do leite pode ser enquadrada como uma demanda relacionada ao direito à saúde, preconizado na Declaração Universal dos Direitos do Homem, divulgada Organização das Nações Unidas em 1948. Isto porque, conforme Germano & Germano (2011), para que haja saúde, é fundamental que os alimentos sejam produzidos em quantidade e com qualidade apropriadas ao equilíbrio orgânico, o que representaria um fator de resistência às doenças.

Nesse sentido, no que tange a qualidade do leite, torna-se necessário destacar as colocações de Caldas (2009) apontado que, nos alimentos que consumimos, está presente uma grande variedade de substâncias químicas, como aquelas essenciais para a manutenção da saúde, como vitaminas, minerais e proteínas, e algumas potencialmente tóxicas, como micotoxinas, resíduos de agrotóxicos, aditivos e metais pesados. Assim, a falta de algum nutriente ou a presença excessiva de substâncias tóxicas no alimento pode significar um risco à saúde humana. Ainda, conforme Jooste et al. (2014), em uma perspectiva mais ampla, a intoxicação humana pelos alimentos contaminados por compostos como os analisados no presente estudo, a AM₁ e os PCBs, implica em efeitos adversos causados por ação direta desse alimento no destinatário sem o envolvimento de mecanismos imunológicos.

O escopo da investigação deste trabalho restringiu-se, portanto, à dois tipos de compostos tóxicos potencialmente contaminantes do leite. A aflatoxina M₁ (AM₁) e os bifenilos policlorados (PCBs). Embora AM₁ seja um contaminante biológico naturalmente presente em alimentos, como no caso do leite, e os PCBs sejam considerados contaminantes químicos de origem industrial não intencionalmente adicionados aos alimentos, ambos tem como característica comum a comprovada toxicidade, uma vez que foram enquadrados pela IARC (*International Agency for Cancer Research*) como integrantes do chamado Grupo 1, que congrega substâncias carcinogênicas para humanos.

Destaca-se, portanto, a periculosidade desses compostos à saúde humana, via consumo de leite. Porém, para além da determinação de resíduos de AM₁ e PCBs em leites produzidos em sistemas convencionais, a possibilidade de investigar a ocorrência destes compostos em leites orgânicos se mostrou como uma necessidade iminente.

Tem sido possível localizar estudos referentes à qualidade orgânica no que tange seus aspectos físicos, químicos, microbiológicos, e, em menor número, com análise de contaminantes, como os pesticidas, inclusive em alimentos orgânicos do Brasil (FANTI et al. 2008; RIBEIRO et al., 2009; ROSSI & LEMOS, 2013; GRANELLA et al., 2013). As abordagens versam sobre a qualidade do orgânico frente ao convencional.

Embora o foco deste estudo não tenha se direcionado a fazer inferências aprofundadas sobre as regiões de coletas das amostras orgânicas, destaca-se a obtenção de amostras de leites orgânicos e convencionais provenientes de 3 Estados brasileiros (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo) e do Distrito Federal, o que enriquece a geração de dados, tão necessários em nosso país, sobre os contaminantes investigados.

Os resultados obtidos no presente trabalho, embora tenham confirmado a contaminação das amostras em 80,5% de leites convencionais e em 69,8% dos leites orgânicos, por AM₁, não excederam os LMR da legislação brasileira vigente (BRASIL, 2017).

Dados de ocorrência de AM₁ vem sendo pesquisados no país, porém somente em leites convencionais, com resultados excedendo os níveis de contaminação aceitáveis pela legislação brasileira, como aconteceu com leites do Estado de Minas Gerais, e dados de ausência de contaminação em amostras do Paraná, por exemplo, conforme foi reportado no artigo 1. Essa amplitude na faixa dos resultados reflete a importância das boas práticas agrícolas no âmbito das propriedades dedicadas a atividade leiteira, no sentido de que dados se tornem mais congruentes em direção aos menores índices possíveis de contaminação por AM₁ no leite. De acordo com Santos et.al (2014), a verificação dos níveis de AM₁ no leite torna-se essencial para garantir a segurança da população, uma vez que leite é um produto essencial na nutrição humana, especialmente para crianças.

Em relação aos dados obtidos neste estudo para análise de 11 congêneres de PCBs em leites orgânicos e convencionais do Brasil, somente dois NDL-PCBs foram detectados. O PCB 153 foi detectado em 50% das amostras de leite convencionais e em 13,33% das amostras orgânicas analisadas. Já o PCB 180 foi detectado em 10% das amostras convencionais e em 6,66% das amostras de leite orgânico analisadas.

Outros dados sobre a ocorrência de PCBs em nosso país vem reportando a detecção de resíduos. Nesse sentido, vem contribuindo para a confirmação da

contaminação ambiental por PCBs os estudos realizados em diferentes regiões do Brasil, como nordeste (MIRANDA & YOGUI, 2016) e norte (NEVES et al., 2018). Porém, a maioria dos estudos versa sobre a investigação de PCBs em sedimentos e peixes, estes importantes bioindicadores dessa contaminação, como é o caso dos estudos provenientes da região sudeste, área de alta industrialização e que marcadamente apresenta os impactos da mesma no que se refere a contaminação por PCBs (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2013; COMBI et al. 2013; TANIGUCHI et al., 2016; RIZZI et al., 2017).

Já os dados investigados no sul do país, se concentram mais nas amostras de alimentos, tendo sido constatadas a ocorrência de PCBs em leite, salsichas, queijos, grãos, mel e peixes marinhos (SANTOS et al., 2006; HECK et al., 2007; SCHWANZ et al., 2011; PIGATTO, 2013; MOHR, 2013; COCCO et al. 2015), o que confirma a contaminação ambiental na região e favorece a avaliação da exposição humana os PCBs, uma vez que a alimentação é a principal via de contaminação.

No mesmo sentido em que o mel de abelhas foi apontado como bioindicador ambiental da contaminação por PCBs (MORH, 2013), o leite tem respaldo para exercer essa função e contribuir no monitoramento da ocorrência desse e outros POPs (PERUGINI et al., 2012).

Embora não se possa efetuar uma comparação direta entre aos níveis de contaminação por PCBs nos leites convencionais brasileiros reportados por HECK et al. (2007) e os dados obtidos no presente estudo, o qual apresentaram contaminação em níveis bem mais baixos para os PCBs 153 e 180, essa queda vai de encontro à tendência de diminuição do nível de resíduos de PCBs no decorrer dos anos, uma vez que não existe mais produção e comercialização desse tipo de composto.

Cabe aqui mencionar que o Brasil, com apoio do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD), vem atuando no que diz respeito aos PCBs para atingir uma gestão sustentável de PCBs e fortalecer os arranjos reguladores e institucionais para o controle e a eliminação progressiva de PCBs de acordo com os requerimentos da Convenção de Estocolmo e outros protocolos e convenções relacionados ratificados pelo Brasil. As metas incluem desenvolver completamente a capacidade do Brasil de gerenciar e disponibilizar óleos PCB, equipamentos contendo PCB e outros resíduos de PCB de maneira sustentável, a fim de estar conforme, dentro do prazo estabelecido, com as exigências da Convenção de Estocolmo para a gestão de PCB, e minimizar o risco de exposição à PCB da população e do meio

ambiente. Como delineado na Convenção de Estocolmo, a prioridade está em materiais com maior concentração de PCB e locais vulneráveis. Assim, as prioridades estratégicas desse chamado projeto PNUD BRA/08/G32 englobam como componentes o fortalecimento da estrutura de procedimentos legais, administrativos e normatizados para gerenciar e dispor PCB; a gestão de óleos PCB e resíduos contaminados por PCB de modo a minimizar a exposição humana e ambiental à PCB e a disposição ambientalmente saudável de PCBs identificadas por meio de projetos. Nesse sentido, o comprometimento do Brasil, como signatário da Convenção de Estocolmo, é de obter a completa eliminação e destruição de PCBs até 2025 ou antes (BRASIL, 2009).

Considerando-se os dados obtidos na análises de AM₁ e PCBs em leites orgânicos e convencionais do Brasil, os dados reportados no Artigo 1 e no manuscrito do Artigo 2 foram os primeiros estudos com esses compostos tóxicos realizados em amostras brasileiras de leite orgânico.

A ocorrência da contaminação nos leites orgânicos analisados pode decorrer de manejo insatisfatório, no caso da AM₁, e da dispersão dos PCBs ambientalmente, em caráter ubíquo. Porém, além disso, ambas as situações de contaminação, tanto por AM₁ e PCBs, expõe a vulnerabilidade do sistema de produção orgânico no que tange a alimentação animal, a qual pode ser uma porta de entrada da contaminação aos animais e, posteriormente, ao leite. Isso decorre da impossibilidade de manterem-se os rebanhos leiteiros à pasto durante o ano todo e encontra respaldo no percentual de alimentos de fonte não convencional permitido na alimentação dos animais de produção do sistema orgânico. Nesse contexto, relacionam-se as colocações de Germano & Germano (2011), de que as criações animais também demandam de qualidade nutricional, uma vez que o valor nutritivo do leite, por exemplo, o qual caracteriza-se como uma fonte indispensável de proteína para as crianças, convalescentes e idosos, depende do estado de nutrição e do tipo de dieta a que são submetidas as vacas leiteiras.

Para além da constatação de que a alimentação animal pode constituir-se em fonte de contaminação do leite, no caso dos PCBs se evidencia a impotência dos sistemas de produção de perante a dispersão destes poluentes. Monitorar os alimentos se mostra então significativamente relevante a fim de avaliar a exposição humana, bem como na identificação de áreas ou regiões de maior exposição.

A avaliação da ingestão diária estimada pode ser considerada uma forma importante de relacionar as concentrações de resíduos tóxicos detectadas nos alimentos, como os investigados no presente estudo, com dados de consumo pela população e aproximam os resultados obtidos da realidade do consumidor final. Cabe destacar que, especialmente no caso dos PCBs, o leite e seus derivados são a segunda principal rota contribuinte para a exposição humana, via alimentação, ficando somente atrás dos pescados. Nesse sentido, a ingestão de PCBs por via alimentar se mostra preocupante na medida em que não é somente o leite que contribui para a ingestão diária desses contaminantes.

Dados obtidos neste trabalho, referentes à ocorrência de resíduos de AM₁ e NDL-PCBs estão predominantemente de acordo com a legislação considerada como referência nos artigos. Porém, espera-se que os mesmos possam fomentar novas pesquisas. Além disso, a exposição humana a esses contaminantes não pode ser considerada como uma opção factível e de incumbência do consumidor final, na medida em que opte pelo consumo de leite orgânico ou pelo convencional. Portanto, cabe aos produtores atuarem de modo mais consciente e cuidadoso, na medida do possível, e aos governos instituírem ou aprimorarem políticas públicas já existentes relacionadas aos limites máximos de resíduos em alimentos, independentemente do sistema de produção.

As análises referidas neste trabalho, cujos resultados apresentam-se no Artigo 1 e no manuscrito do Artigo 2, proporcionaram a obtenção de dados pertinentes à segurança alimentar dos brasileiros no consumo de leite, frente ao risco associado aos resíduos tóxicos já mencionados, capazes de atingir o leite e seus derivados.

5 CONCLUSÃO

- ✓ As amostras de leite bovino convencional e orgânico investigadas nesse estudo confirmaram contaminação por AM₁ e dois congêneres de NDL-PCBs (PCBs 153 e 180) em ambos os sistemas de produção leiteira, o que expôs a vulnerabilidade da qualidade do leite a esses contaminantes no Brasil.
- ✓ Dentre as 84 amostras de leites analisadas em relação à contaminação por AM₁, 63 (75%) foram confirmadas em níveis acima do limite de detecção.
- ✓ Não houve diferença significativa nos níveis de AM₁ detectados, considerando-se os tipos de leite analisados, pasteurizado e cru, tampouco entre os sistemas de produção, convencional e orgânico.
- ✓ A consideração das estações do ano em que as amostras foram coletadas não mostrou influência nos níveis de AM₁ obtidos.
- ✓ Dentre as 60 amostras de leites analisadas em relação à contaminação por 11 PCBs, 24 (40%) foram confirmadas em níveis acima do limite de detecção.
- ✓ Os PCBs 153 e 180 foram os congêneres de ocorrência nas amostras de leites convencionais e orgânicos analisadas, porém em níveis baixos.
- ✓ Considerando-se o sistema de produção dos leites, convencional ou orgânico, o PCB 153 diferiu significativamente, com maior ocorrência em leites convencionais, enquanto o PCB 180 não apresentou diferença significativa para sua ocorrência nesses dois sistemas.
- ✓ Nenhum congêneres de DL-PCB foi identificado nas amostras analisadas de leites crus e pasteurizados obtidos de sistemas de produção convencional e orgânico.
- ✓ Nenhuma das amostras contaminadas por AM₁ excedeu o LMR previsto na legislação brasileira. Por sua vez, os níveis médios de PCBs 153 e 180 obtidos nas análises estão de acordo com a legislação europeia, já que os LMR para PCBs em leites no Brasil se referem somente aos DL-PCBs.
- ✓ A avaliação da exposição humana aos contaminantes detectados, AM₁ e PCBs 153 e 180, apresentou um indicativo da maior suscetibilidade dentre o grupo dos adolescentes, seguidos pelos idosos e adultos. Nesse sentido, frente a contaminação por esses compostos tóxicos, os quais são carcinogênicos aos

humanos, sugere-se o monitoramento sistemático dessa contaminação como subsídio à avaliação do risco benefício envolvido no consumo de leite.

- ✓ Conforme a literatura consultada, este foi o primeiro estudo realizado reportando níveis de AM₁ e PCBs em leites orgânicos do Brasil.

REFERÊNCIAS

ALCOCK, R.E.; BEHNISCH, P.A.; JONES, K.C.; HAGENMAIER, H. Dioxin-like PCBs in the environment-human exposure and the significance of sources. **Chemosphere** v.37, p.1457-1472, 1998.

ALMEIDA-GONZÁLEZ, M., LUZARDO, O., ZUMBADO, M., RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, A., RUIZ-SUÁREZ, N., SANGIL, M., CAMACHO, M., HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L.A., BOADA, L. Levels of organochlorine contaminants in organic and conventional cheeses and their impact on the health of consumers: An independent study in the Canary Islands (Spain) **Food and Chemical Toxicology** v.50, p.4325–4332, 2012.

ALVES GARCIA, M.E.T.A., COUTO, E.P., FERREIRA, M.A. Leite orgânico produzido no distrito federal: avaliação da qualidade físico-química e microbiológica. **Atas de Saúde Ambiental**. Asa, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 16-24, Set/Dez. 2014.

BAPTISTA, J.; PATO. P.; PEREIRA, E.; DUARTE, A.C.; PARDAL, M. A. PCBs in the fish assemblage of a southern European estuary. **Journal of Sea Research** v.76, 22–30. 2013.

BERRUGA, M.I, MOLINA, A., ALTHAUSB, R.L., MOLINA, M.P. Control and prevention of antibiotic residues and contaminants insheep and goat's milk. **Small Ruminant Research** v. 142, 38–43, 2016.

BINELLI, A.; PROVINI, A. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk. **Marine Pollution Bulletin**, v.46, n.7, p.879-886, 2003.

BRASIL. **Portaria Interministerial N° 19**, de 29 de janeiro de 1981. Disponível em: < <http://www.ipef.br/legislacao/bdlegislacao/detalhes.asp?Id=235> > Acesso em: 5 jan 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 51**. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. 2002

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei 10.831**, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Projeto BRA/08/G32: BRASIL** – Estabelecimento da gestão de resíduos de Pcb e sistema de disposição. 2009.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46**, de 6 de outubro de 2011. Estabelece Regulamento Técnico para os Sistemas de Produção Animal e Vegetal, bem como as

listas de substâncias permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 62**, de 29 de dezembro de 2011.

BRASIL. **Instrução normativa nº 09**, de 21 de fevereiro de 2017. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal – PNCRC. 2017.

BRASIL. **Decreto nº 9.013**, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

CALDAS, E.D., JARDIM, A. N.O. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas nas dieta e os riscos para a saúde. **Química Nova**, Vol. 32, No. 7, 1898-1909, 2009.

COCCO et al..Bifenilos Policlorados em arroz e feijão do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, 2015.

COMBI, T. TANIGUCHI, T. FIGUEIRA, R.C.L, DE MAHIQUES, M.M., MARTINS, C.C. Spatial distribution and historical input of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in sediments from a subtropical estuary (Guaratuba Bay, SW Atlantic). **Marine Pollution Bulletin** v.70, 247–252, 2013.

CONSEA. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **Construção do Sistema e da Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional: a experiência brasileira**. Brasília, novembro de 2009.

COSTABEBER, I.H. Tratamiento de muestras humanas para el análisis de residuos organoclorados. In: X ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 1999, Resumos, p.TA16. Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 1999

COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, p.73-80, 2003.

DEKONING, E. P.; KARMAUS, W. PCB Exposure in utero and via breast milk. A review. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology** v.10, 285-293. 2000.

EYMAR, E., GARCIA-DELGADO, C., ESTEBAN, RM. Food Poisoning: Classification. **Encyclopedia of Food and Health** <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00317-2> Elsevier Ltd. All rights reserved. 2016.

EFSA. European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the

presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food. **European Food Safety Authority Journal**, n.284, p.1-137, 2005.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistemas de Produção de Leite para diferentes regiões do país**. 2011. Disponível em: <http://www.cnpq.embrapa.br/sistemaproducao/> Acesso: 10 jan 2018.

FANTI, Keila Emílio de ALMEIDA, Alexandre Mariani RODRIGUES, Roberta Claro da SILVA, Ana Carolina Rodrigues FLORENCE, Luiz Antônio GIOIELLI, Maricê Nogueira de OLIVEIRA. Contribuição ao estudo das características físico-químicas e da fração lipídica do leite orgânico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28 (Supl.): 259-265, dez. 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Milk and dairy products in the human nutrition**. Roma, 2013.

FERRANTE, M.C., CLAUSI, M.T., MELI, R., FUSCO, G., NACCARI, C., LUCISANO, A. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in European eel (*Anguilla Anguilla*) from the Garigliano River (Campania region, Italy). **Chemosphere**, v.78, n.6, p.709-716, 2010.

FERRANTE, M.C., FUSCO, G., MONNOLO, G, F. SAGGIOMO A, J. GUCCIONE, R. MERCOGLIANO, M.T. Clausi aFood contamination by PCBs and waste disposal crisis: Evidence from goat milk in Campania (Italy). **Chemosphere** v.186 396-404. 2017.

FIGUEIREDO, E.A.P., SOARES, J.P.G. Sistemas orgânicos de produção animal: dimensões técnicas e econômicas. In: **Anais da 49ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. A produção animal no mundo em transformação Brasília – DF, 23 a 26 de Julho de 2012.

GALDINO, M.C., DOMINGUES, P.F., LAPENNA, B.S. A produção de leite orgânico e aspectos de segurança alimentar. ISSN Impresso 0102 -5716 ISSN Eletrônico 2178-3764. **Veterinária e Zootecnia**. V.19 , 490-501, 2012.

GERMANO, P.M.L., GERMANO, M.I.S. Qualidade das matérias-primas. In: **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4 ed. Barueri, SP: Manole, 2011.

GRANELLA V., VENTORINI C.G, PIGATTO G.M, NÖRNBERG J.L, COSTABEBER I.H. Resíduos de agrotóxicos em leites pasteurizados orgânicos e convencionais. **Semin Cienc Agrar** v. 34(4):1731–1739. 2013.

GONCALVES DA SILVA, S.F.G., BRUNING, I.M.R.A., MONTONE, R.C., TANIGUCHI, CASCAES, M.J., DIAS, P.S., LAVANDIER, R.C., HAUSER-DAVIS, R.A, MOREIRA, I. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDES) and Polychlorinated Biphenyls (PCBS) in Mussels and Two Fish Species from the Estuary of the Guanabara Bay, Southeastern Brazil. **Bull Environ Contam Toxicol** v. 91: :261–266, 2013.

HECK, M.C. et al. Estimation of children exposure to organochlorine compounds through milk in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Chemistry**, v.102, n.1, p.288-294, 2007.

HO et al. Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders. **Reproductive Toxicology** v. 68: 85–104, 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-51, 2016.

JOOSTE, P.J., ANELICH, L., MOTARJEMI, Y. Safety of food and beverages. Milk and Dairy Products. In: **Encyclopedia of Food Safety**, Volume 3 Doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00286-9 Elsevier Inc. All rights reserved. 2014.

KALYANKAR, S.D., KHEDKAR, C.D., PATIL, A.M. DEOSARKAR, S.S. Milk: Sources and Composition. **Encyclopedia of Food and Health** <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00463-3> Elsevier Ltd. All rights reserved. 2016.

KLETER, I.G., MARVINI, H.J.P. Indicators of emerging hazards and risks to food safety. **Food and Chemical Toxicology** v.47: 1022–1039, 2009.

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. 2013.

MALISCH, R., KOTZ, A. Dioxins and PCBs in feed and food-Review from European perspective. **Science of the Total Environment** 491-492, 2014.

MEZZETTA, S.; CIRLINI, M.; CERON, P.; TECLEANU, A.; CALIGIANI, A.; PALLA, G.; SANSEBASTIANO, G.E. Concentration on DL-PCBs in fish from market of Parma city (north Italy): Estimated human intake. **Chemosphere** v.82, p. 1293-1300. 2011.

MIRANDA, J.E.C., FREITAS, A.F. **Circular Técnica**. Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite. Juiz de Fora, MG. Agosto, 2009.

MOHR, S.; COSTABEBER, I.H. Aspectos Toxicológicos e ocorrência dos bifenilos policlorados em alimentos. **Ciência Rural** v.42, n.3. mar, 2012.

MOHR, S. Resíduos de poluentes orgânicos persistentes em mel de abelhas: Repercussões da contaminação ambiental. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2013.

NEVES, P.A., COLABUONO, I.F., PAULO, A., FERREIRA, KAWAKAMI, S.K., SATIE TANIGUCHI, S., FIGUEIRA, R.C.;L, MAHIQUES, M.M., MONTONE, R. BÍCEGO, M. Depositional history of polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in na Amazon estuary during the last century. **Science of the Total Environment** 615: 1262–1270, 2018.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.; BATISTUZZO, J.A. **Fundamentos de Toxicologia**. 4ª edição. São Paulo: Atheneu Editora, 2014.

OLIVEIRA, C.A.F., GERMANO, P.M.L. Aflatoxina M1 em leite e derivados. In: **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 4 ed. Barueri, SP: Manole, 2011.

OLIVEIRA CP, SOARES NFF, OLIVEIRA TV, BAFFA JUNIOR JC, SILVA WA Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. **Food Control** 30(1):90–92. 2013.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de Alimentos. Alimentos de Origen Animal. Vol. 2**. Porto Alegre, Artmed. 2005. 279 p.

PENTEADO, J.C.P., MOREIRA VAZ, J. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova** 24, 390-398, 2001.

PERUGINI, M., NUÑEZ, E.G.H., BALDI, L. ESPOSITO, M., SERPE, F.P., AMORENA, M. Predicting dioxin-like PCBs soil contamination levels using milk of grazing animal as indicator. **Chemosphere** 89 (2012) 964–969.

PIGATTO, G.M. Bifenilos policlorados (PCBs) em pescados in natura do litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. 2013. 62f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

RIBEIRO, M.G, GERALDO, J.S., LANGONI, H., LARA, G.H.B, SIQUEIRA, A.K., SALERNO, T., FERNANDES, M.C. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1):52-58, janeiro 2009.

RIZZI, J., TANIGUCHI, S., MARTINS, C.C. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in sediments from an urban- and industrial-impacted subtropical estuary (Babitonga Bay, Brazil). **Marine Pollution Bulletin** v.119: 390–395. 2017.

ROSE, M. Environmental Contaminants. Dioxins, Furans, and Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls. Food and Environment Research Agency, York, UK. 2014 Elsevier Inc. All rights reserved. **Encyclopedia of Human Nutrition**, Volume 2 doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00197-9.

ROSSI, G.A.M.; LEMOS, P.P.L.; Comparação da produção animal entre os sistemas orgânico e o convencional. **Revista de educação continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 11, n. 1 p. 6 – 13, 2013.

SAFE, S., BANDIERA, S., SAWYER, T., ROBERTSON, L., SAFE, L., PARKINSON, A., THOMAS, P.E., RYAN, D.E., REIK, L.M., LEVIN, W., DENOMME, M.A., FUJITA,

T. PCBs: Structure-function relationships and mechanism of action. **Environmental Health Perspectives**, v.60, p.47-56, 1985.

SABINO, M. Micotoxinas em alimentos. In: **Fundamentos de Toxicologia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2014.

SANTOS. J.S., XAVIER, A.A.O., RIES, E.F., COSTABEBER, I., EMANUELLI, T. Assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in cheese from Rio Grande do Sul, Brazil. **Chemosphere**, v.65, 1544-1550, 2006.

SANTOS, A.L, BANDO E., MACHINSKI-JUNIOR M. Ocorrência de aflatoxina M1 em leite bovino comercializado no estado do Parana, Brasil. *Semin-Cienc Agrar* 35(1):371–374. 2014.

SARCINELLI, M.F., VENTURINI, K.S., DA SILVA, L.C. **Boletim Técnico** - Produção de Bovinos – Tipo Leite. PIE-UFES:00407 - Editado: 25.05.2007.

SCHWANZ, T.G., MOHR, S., PORTE, L.M.F., ZANATTA, N., BONACORSO, H.G., MARTINS, M.A.P., COSTABEBER, I.H. Determinação de bifenilos policlorados em milho através de extração em fase sólida seguida de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 35, No. 3,: 553-558, 2012.

SIGNOR, A.A., ZIBETTI, A.P., FEIDEN, A. **Produção Orgânica Animal**. Toledo – PR GFM Gráfica & Editora. 2011.

SILVA, C.E.A.; AZEREDO, A.; LAILSON-BRITO, J.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. Polychlorinated biphenyls and DDT in swordfish (*Xiphias gladius*) and blue shark (*Prionace glauca*) from Brazilian Coast. **Chemosphere** V. 67. 548-553. 2007.

SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M.; FONSECA, H.; SANAVRIA, A.; FAGUNDES, G.M.; SILVA, J.B. Produção orgânica de leite: desafios e perspectivas. In: **Anais III SIMLEITE III Simpósio Nacional de Bovinocultura Leiteira I Simpósio Internacional de Bovinocultura Leiteira 03 a 05 de Novembro de 2011, Viçosa, MG. Brasil.** Disponível em: < <http://www.simleite.com/anais/iii-simleite-48> > Acesso em: 15 jan 2018.

SWAISGOOD, H. E. Características do leite. In: DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

TANABE, S. PCB problems in the future: foresight from current knowledge. **Environmental Pollution**, v.50, p.5-28, 1988.

TANIGUCHI et al. Spatial variability in persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons found in beach-stranded pellets along the coast of the state of São Paulo, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin** v.106 87–94. 2016.

UNEP. United Nations Environmental Programme. **Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants**. 2001.

UNEP. United Nations Environmental Program. **Human exposure to POPs across the globe: POPs levels and human health implications, Results of the WHO/UNEP Human milk survey**. Presented at the Conference of the Parties to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, 6th Meeting, Geneva, 2013 (UNEP-POPS-COP.6-INF-33.English.pdf). 2013.

VAN DEN BERG, M. et al. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. **Toxicological Sciences**, v. 93, p. 223-241, 2006.

WHO/IPCs (World Health Organization), **Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls**. second ed. WHO, Geneva, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Polychlorinated Biphenyls: Human Health Aspects**. (Concise International Chemical Assessment Document 55). Geneva: World Health Organization, 2003.

WHO. International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Monographs – 100 F. Aflatoxinas. 2012 .

WHO. International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Monographs – 107 Polychlorinated Biphenyls and Polybrominated Biphenyls. 2016.

Disponível em: < <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol108/index.php> >

APÊNDICE

Parâmetros utilizados por GC/MS para confirmação dos resultados obtidos na análise dos PCBs.

Volume injetado	1 μ L, modo <i>splitless</i>
Temperatura do injetor	Constante a 250 °C
Gás de arraste	Hélio, pressão inicial 13.38 psi
Fluxo	Constante a 1.5 mL min ⁻¹
Programação da rampa	60 °C (1 min), 10 °C/min até 200 °C, 5 °C/min até 225 °C, 10 °C/min até 280 °C (9.5 min)
Temperatura de transferência	Constante a 290 °C
Temperatura da fonte	Constante a 230 °C
Temperatura do quadrupolo	Constante a 150 °C
Íons selecionados	<i>m/z</i> 256 186 258 e 260 (PCB 28) <i>m/z</i> 291 220, 222, 290 (PCB 52) <i>m/z</i> 326 254, 324 e 328 (PCBs 101 e 118) <i>m/z</i> 360 290 358 e 361. (PCBs 138 e 153) <i>m/z</i> 394 324 396 e 398 (PCB 180) <i>m/z</i> 292, 290, 294, 220 (PCB 77) <i>m/z</i> 292, 290, 294, 220 (PCB 81) <i>m/z</i> 326, 328, 324, 254 (PCB 126) <i>m/z</i> 360, 362, 358, 290 (PCB 169)
