



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



Área de Concentração: Ciência de Alimentos

MÉTODO QuEChERS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE
ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Discente: Bruna Carol Oliveira da Silva

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes

Coorientadores: Prof. Dr. Henrique Luis da Silva Santos

Dr. Bruno Delphino Medrado

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL

2023

BRUNA CAROL OLIVEIRA DA SILVA

**MÉTODO QuEChERS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE
ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes

Coorientadores: Prof. Dr. Henrique Luis da Silva Santos

Dr. Bruno Delphino Medrado

ITAPETINGA

BAHIA-BRASIL

2023

637.1277 Silva, Bruna Carol Oliveira da.
S578m Método QuEChERS para extração e purificação de resíduos de antibióticos em amostras de leite: uma revisão sistemática. / Bruna Carol Oliveira da Silva. – Itapetinga-BA: UESB, 2023.

64f.

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Área de Concentração: Ciência de Alimentos. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes e coorientação do Prof. D. Sc. Henrique Luís da Silva Santos e D. Sc. Bruno Delphino Medrado.

1. Leite - Resíduos de antibióticos. 2. Antibióticos no leite. 3. Leite - Antibióticos – Extração e purificação. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Fernandes, Sérgio Augusto de Albuquerque. III. Santos, Henrique Luís da Silva. IV. Medrado, Bruno Delphino. V. Título.

CDD(21): 637.1277

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Leite - Análise residual
2. CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
3. QuEChERS - Resíduos de antibióticos no leite



Governo do
Estado da Bahia

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
Nº 16.825, de 04.07.2016

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "MÉTODO QUECHERS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA".

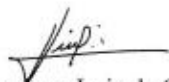
Autor (a): BRUNA CAROL OLIVEIRA DA SILVA


Orientador (a): Prof. Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes

Coorientador (a): Dr. Bruno Delphino Medrado
Dr. Henrique Luis da Silva Santos

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de *MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS*, pela Banca Examinadora.


Prof.ª Dr.ª Silmara Almeida de Carvalho
UESB


Dr. Henrique Luis da Silva Santos
Pós-Doutorando – PPGEAL/UESB


Prof. Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes
Orientador - UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 28 de fevereiro de 2023.

À Deus

Aos meus amados pais

Ao meu irmão

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus por me dar vida e saúde, e através Dele eu consegui essa vitória, me dando ânimo e força todos os dias!!

Agradeço a meus pais Ady e Vilma, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, foram o meu suporte até aqui, com todo o amor e carinho, sem eles eu não conseguiria nem a metade do que eu conquistei. Agradeço a meu irmão Pedro, que sempre esteve comigo, sendo também meu apoio emocional.

A meus amigos que fiz durante essa jornada, em especial Yara, e Isabelle que me ajudaram nos momentos que eu mais precisei. Além de Ana, Jéssica, Silvania, Carolina e Núbina.

Ao meu orientador, professor Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, pela orientação, e toda confiança em mim depositada, agradeço muito por todo aprendizado, companheirismo, sendo essencial para todo meu crescimento durante esse tempo; com toda certeza vou levar pra sempre a sua amizade.

Ao Prof. Dr. Henrique Luis da Silva Santos que me ajudou muito na execução do trabalho, obrigada pelo carinho e apoio.

Agradeço a todos os funcionários da UESB, aos professores que contribuíram com o meu aprendizado desde o início do curso.

A FAPESB por concessão da bolsa, sendo fundamental pelo desenvolvimento do trabalho e possibilidade de fazer o mestrado.

Obrigada!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	9
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1.INTRODUÇÃO	15
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Revisão de Literatura	17
2.1.1 Os tipos de revisão de literatura	17
2.1.2 A revisão sistemática de literatura	18
2.1.3 Processo de Execução de Revisões Sistemáticas	19
2.1.3.1 Elaborando a pergunta científica	20
2.1.3.2 A estratégia de busca	21
2.1.3.3 Seleção de estudos	24
2.1.3.4 Análise e Síntese	24
2.2 O uso das revisões sistemáticas na área de alimentos	25
2.3 A composição do leite	27
2.4 Fonte de resíduos de antibióticos e incidência no leite	28
2.5 A água e suas interações	30
2.6 Técnicas de extração e purificação de matrizes alimentares	31
2.7 Metodologia QuEChERS	33
2.8 Validação do método analítico e parâmetros de qualidade	39
3. OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo Geral	41
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Estratégias de busca completas	41
4.1.1 Localização dos Estudos	41
4.2 Critérios de Inclusão	42
4.3 Critérios de Exclusão	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43

5.1 Seleção dos estudos	43
5.2 Estudos excluídos	43
5.3 Características dos estudos	45
5.3.1 Publicações incluídas na revisão	45
5.3.2 Classes de antibióticos relatados nos estudos encontrados	45
5.4 Variação da metodologia QuEChERS	48
6. CONCLUSÃO	53
7. REFERÊNCIAS	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C18	Octadecil
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DMFS	Dispersão de matriz em fase sólida
D-SPE	Fase sólida dispersiva
EFS	Extração em fase sólida
EFS DISPERSIVO	Extração em fase sólida dispersiva
ELL	Extração líquido-líquido
ELL-PBT	Extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura
ELL-RPBT	Extração líquido-líquido com rápida partição à baixa temperatura
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GCB	Grafitized Carbon Black
GCB	Grafitized Carbon Black
GC-MS	Espectrometria de massa por cromatografia gasosa
H ₂ O	Água
IDA	Ingestão diária aceitável
LC- MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas
LD	Limite de detecção
LMR	Limite máximo residual
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MeCN	Acetonitrila
MgSO ₄	Sulfato de Magnésio
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMVet	Programa de Análises de Resíduos de Medicamentos Veterinários Em Alimentos de Origem Animal

PNCR	Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal
PRISMA	Relatório Preferenciais para a Revisão Sistemática e Meta-Análises
PSA	Amina Secundária Primária
UE	União Europeia

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização do tipo de revisão da literatura.....	18
Tabela 2: Estratégia PICO como estratégia em pesquisas não clínicas.....	21
Tabela 3: Elementos do protocolo de pesquisa para seleção de artigos em revisões sistemática...22	
Tabela 4: Revisões sistemáticas com estudos de resíduos de antibióticos em leite, e suas respectivas estratégias de busca.....	26
Tabela 5: Produção de leite bovino no mundo no ano de 2020.....	27
Tabela 6: Composição geral média do leite	28
Tabela 7: Principais antibióticos utilizados no tratamento de mastite bovina.....	29
Tabela 8: Técnicas de extração e purificação de analitos em matrizes alimentares.....	32
Tabela 9: Preparos de amostras leite para posterior quantificação de antibióticos.....	34
Tabela 10: Métodos multiclasse até a introdução do método QuEChERS.....	36
Tabela 11: Versões e etapas dos métodos QuEChERS.....	38
Tabela 12: Estratégias de busca.....	42
Tabela 13: Países e classes de antibióticos relatados nos estudos avaliados	46
Tabela 14: Variações QuEChERS.....	48
Tabela 15: Autores incluídos na revisão com seus respectivos parâmetros de validação.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura base para a revisão sistemática.....	20
Figura 2: Fluxograma para novas revisões sistemáticas que incluam buscas em bases de dados, protocolos e outras fontes.....	23
Figura 3: Ligações de Hidrogênio na molécula de água.....	31
Figura 4: Passos para a seleção dos estudos.....	44
Figura 5: Publicações incluídas na revisão, encontradas em suas respectivas bases de dados.....	45

RESUMO

SILVA, B.C MÉTODO QuEChERS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM AMOSTRAS DE LEITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. Itapetinga-BA: UESB, 2023 (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).

A capilaridade da pecuária leiteira é evidente, visto que a produção de leite é difundida em todas as regiões do mundo. Tal fenômeno é explicado por sua qualidade nutricional, fornecendo nutrientes de alto valor biológico. No entanto, na atualidade, seu consumo está associado à fonte de microrganismos resistentes aos antibióticos, medicamentos de uso cotidiano na produção leiteira. A resistência aos antibióticos é uma das ameaças à saúde pública mundial. Assim, a avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite é uma necessidade mundial. Esta avaliação é feita com o uso da cromatografia líquida de alta eficiência, técnica que necessita do preparo de amostras, com uso de reagentes químicos para a extração dos analitos necessários, sendo este um gargalo de sustentabilidade. Isso tem levado à necessidade de aumento de eficiência ambiental sem perder a analítica. Nesta efervescência, surge o método de extração QuEChERS, inicialmente usado para determinação de pesticidas em matrizes alimentícias, com duas modificações posteriores no método original. Este método tem sido usado para determinação de resíduos de antibióticos em leite. Em função disso, é necessária a observação do solvente usado para a obtenção de maior eficiência analítica. Para tal, foi realizada uma revisão sistemática, buscando identificar qual a variação do método QuEChERS com maior eficácia na extração e purificação de amostras com resíduos de antibióticos em leite. Para reunir evidências atuais, o presente estudo seguiu os procedimentos de revisão sistemática estabelecidos pelos itens de Relatório Preferenciais para a Revisão Sistemática e Meta-Análises (PRISMA). O estudo visou responder a seguinte pergunta: Qual o solvente e variação do método QuEChERS mais utilizado para extração de antibióticos em leite. A partir da pergunta foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão. As bases de dados utilizadas foram: Springer Link, PubMed, Science Direct e periódicos Capes. Um total de 1201 estudos foram encontrados, desse total apenas 19 estudos foram incluídos na revisão sistemática. Concluímos que os pesquisadores que mais usam metodologia QuEChERS para detecção de resíduos de antibióticos em leite são os chineses, espanhóis e brasileiros; o solvente mais utilizado na fase de extração é a acetonitrila, e que a versão QuEChERS original é a mais utilizada para extração e purificação de amostras com resíduos de antibióticos em leite.

Palavras-Chave: Química verde, HPLC, Prisma

ABSTRACT

SILVA, B.C QuEChERS METHOD FOR EXTRACTION AND PURIFICATION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN MILK SAMPLES: A SYSTEMATIC REVIEW. Itapetinga-BA: UESB, 2023 (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).

The capillarity of dairy farming is evident, since milk production is widespread in all regions of the world. This phenomenon is explained by its nutritional quality, providing nutrients of high biological value. However, currently, its consumption is associated with the source of microorganisms resistant to antibiotics, drugs used daily in dairy production. Antibiotic resistance is one of the threats to public health worldwide. Thus, the evaluation of the presence of antibiotic residues in milk is a worldwide need. This evaluation is carried out using high-performance liquid chromatography, a technique that requires sample preparation, using chemical reagents to extract the necessary analytes, which is a sustainability bottleneck. In this effervescence, the QuEChERS extraction method emerged, initially used for the determination of pesticides in food matrices, with two subsequent modifications to the original method. This method has been used for the determination of antibiotic residues in milk. As a result, it is necessary to observe the solvent used to obtain greater analytical efficiency. To this end, a systematic review was carried out, seeking to identify which variation of the QuEChERS method was most effective in extracting and purifying samples with antibiotic residues in milk. To gather current evidence, the present study followed the systematic review procedures established by the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses (PRISMA). The study aimed to answer the following question: What is the most used solvent and variation of the QuEChERS method for extracting antibiotics in milk. Based on the question, inclusion and exclusion criteria were established. The databases used were: Springer Link, PubMed, Science Direct and Capes journals. A total of 1201 studies were found, of which only 19 studies were included in the systematic review. We conclude that the researchers who most use the QuEChERS methodology to detect antibiotic residues in milk are Chinese, Spanish and Brazilian; the most used solvent in the extraction phase is acetonitrile, and that the original QuEChERS version is the most used for extraction and purification of samples with antibiotic residues in milk.

Key words: Green Chemistry, HPLC, Prism

1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado alimento de alto valor nutricional em função de suas características físico-químicas. Além do consumo in natura, o leite é base para a produção de diversos derivados, de importância econômica, social e cultural. Por estas qualidades sua produção é disseminada em todos os continentes. Esta composição físico-química pode ser alterada por fatores como a espécie animal, estágio de lactação, condições ambientais, estado nutricional e sanidade, sendo a sanidade considerada um dos fatores de maior interferência na qualidade do leite e derivados, especificamente na relação com a segurança do alimento.

Na produção animal, o manejo sanitário é fator-chave, pois a sua execução correta é sinônimo de segurança alimentar. O manejo sanitário está incorporado aos conceitos de bem-estar animal, com objetivo principal de ofertar alimentos de origem animal seguros, livres de patógenos que possam gerar danos à saúde pública. Em animais leiteiros, a doença mais prevalente é a mastite, inflamação da glândula mamária causada por microrganismos patogênicos. O controle das mastites se dá por meio de práticas profiláticas associadas à higiene de ordenha, avaliação diária de casos clínicos e constante avaliação de casos subclínicos, e com terapia antibiótica. Esta terapia tem sido indicada como uma das causas da presença de resíduos de antibióticos em leite em função da ausência de prescrição médico-veterinária, uso incorreto de medicamentos e a não observação do tempo de carência prescrito pelos fabricantes dos medicamentos. A presença de resíduos de antibióticos no leite gera riscos ao consumidor, por causarem alergias, e problemas tecnológicos na indústria láctea. Além disso, atualmente o problema em maior evidência internacionalmente é o consumo de leite com teores de resíduos de antibióticos, uma das fontes geradoras de resistência dos microrganismos aos antibióticos.

O rastreamento de leite contaminado, associado a fatores educacionais, é fator fundamental no combate à presença de resíduos de medicamentos de uso veterinário no leite. Este rastreamento é fundamental para a elaboração de políticas públicas, servindo como base para as análises de riscos. O monitoramento dos resíduos de antibióticos no leite pode ser realizado por métodos de triagem e confirmação. O método de triagem indica a possível presença dos antibióticos, mas com a necessidade de testes confirmatórios, por outro lado a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), método de separação de compostos, indica a presença e quantifica determinado antibiótico na amostra de leite avaliada.

O uso da CLAE é necessário a preparação da amostra, etapa considerada gargalo em procedimentos analíticos. Assim, existem algumas técnicas de preparo de amostras com a

purificação das matrizes, como a extração em fase sólida de polímeros molecularmente impressas, extração assistida por microondas extração de fluido supercrítico, extração assistida por ultrassom, microextração em fase sólida, dispersão em fase sólida de matriz, microextração líquido-líquido dispersiva e extração acelerada por solvente. Dentre essas técnicas, há a metodologia QuEChERS, um tipo de extração em fase sólida dispersiva (dSPE) usada para preparo de amostras. QuEChERS significa rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro (do inglês, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) que ganhou popularidade desde a sua introdução em 2003, com o intuito de purificação em matrizes como frutas e verduras para posterior quantificação de agrotóxicos e pesticidas, mas com o passar do tempo vem sendo adotada em diversas matrizes alimentares. Na área de contaminantes do leite, seu uso vem sendo sugerido, inclusive com a indicação da necessidade de ajustes, como quais solventes melhores se adaptam, fases de extração, partição ou limpeza, que volume de amostra, dentre outras possibilidades nos procedimentos para a obtenção das melhores condições analíticas para detecção de resíduos de antibióticos.

Revisão de literatura são ferramentas aplicadas cotidianamente em pesquisas científicas para o entendimento dos problemas e geração do conhecimento científico. Existem diversas possibilidades de revisões de literatura que são usadas com diferentes objetivos como: observação de falhas em estudos já realizados, ou desenvolvimento de novos trabalhos que cubram brechas na literatura.

Dentre os tipos de revisão de literatura, a revisão sistemática com ou sem metanálise é uma modalidade de pesquisa que segue protocolos metodológicos específicos, como a identificação da pergunta científica, uso correto das bases de dados, palavras-chave, dos critérios de inclusão e exclusão dos artigos avaliados; estes critérios têm o objetivo da reprodutibilidade, fator essencial no fazer ciência. Assim para compreensão desta problemática e avaliar o que tem sido feito em termos de uso da metodologia QuEChERS como preparo de amostras, foi realizada uma revisão sistemática de literatura buscando identificar qual a variação do método com maior eficácia na extração de antibióticos em leite.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Revisão de Literatura

2.1.1 Os tipos de revisão de literatura

O conhecimento classicamente tem sido desenvolvido por meios de experimentos empíricos, sendo este o caminho do desenvolvimento científico ao longo dos tempos. Assim, foi dessa forma que a ciência evoluiu, sempre baseada em evidências, obtidas experimentalmente. A partir de dado momento foi percebida a possibilidade de geração de novos conhecimentos baseados em análise dos experimentos empíricos, sintetizando novas informações. Esta nova forma de avaliação científica foi denominada de revisão sistemática de literatura (Beecher, 1955).

Após o desenvolvimento da metodologia científica, o conhecimento científico tem sido obtido por meio de estudos publicados nos periódicos científicos. Esta leitura permite ao pesquisador identificar e organizar conceitos em determinado campo de pesquisa (Synder, 2009). Assim, a revisão de literatura é considerada fundamental no desenvolvimento de trabalhos científicos, ganhando destaque e relevância, pois possibilita o desenvolvimento de estudos que preencham lacunas científicas, trazendo contribuição para determinado campo científico, propondo novos temas, problemas, hipóteses e metodologias atualizadas de pesquisa.

As revisões de literatura se classificam em (Tabela 1): revisão crítica; revisão integrativa; revisão da literatura; revisão de mapeamento; meta-análise (técnica estatística desenvolvida para integração dos resultados de estudos independentes do mesmo tema de pesquisa, com combinação de resultados); revisão de estudos mistos/ revisão de métodos mistos; visão geral; revisão sistemática qualitativa; revisão rápida; revisão de escopo; revisão do estado da arte; revisão sistemática; revisão sistematizada; revisão guarda-chuva (Booth, 2016).

Na revisão crítica de literatura, há análise extensiva da literatura sobre o tema, com avaliação criteriosa e crítica em relação a sua qualidade (Grant, 2009); na revisão integrativa há a avaliação da qualidade metodológica com algumas fases como: i) identificação do tema e questão da pesquisa; ii) critérios de inclusão e exclusão; iii) definição de informações a serem extraídas; iv) avaliação dos estudos incluídos; v) interpretação dos resultados; vi) síntese de resultados (Galvão, 2004); a revisão de mapeamento organiza e categoriza a literatura existente, identificando lacunas na pesquisa; já a meta análise é uma técnica que combina de

maneira estatística os resultados, gerando mais precisão (Grant *et al.*, 2009; Moher *et al.*, 2015).

A revisão de métodos mistos é qualquer combinação de métodos no qual pelo menos um dos componentes é uma revisão bibliográfica; a revisão rápida permite uma avaliação do que já se sabe sobre uma questão, usando métodos de revisão sistemática para avaliação crítica do que existe na literatura (Featherstone *et al.*, 2015); enquanto a Revisão de Escopo fornece uma avaliação preliminar do tamanho do possível trabalho e extensão da literatura, destinado a identificação da natureza da evidência (Colquhoun *et al.*, 2014); a revisão de estado da arte é centrado em assuntos atuais, oferecendo novas perspectivas sobre um assunto, ou destacando uma área que precisa de mais investigações (Booth, 2016); a revisão sistemática é um tipo de revisão que avalia, sintetiza evidências de estudos, e a revisão guarda-chuva, também chamada de revisão de cobertura, utiliza apenas unidades de análise que foram extraídas das revisões sistemáticas e metanálise (Grant *et al.*, 2009).

Tabela 1- Caracterização do tipo de revisão da literatura.

Tipos de Revisão	Descrição
Revisão Crítica	Investigação extensiva e avaliação crítica de qualidade, resultando em novas teorias e hipóteses
Revisão Integrativa	Uso de métodos amplos, com inclusão de investigações experimentais e não experimentais
Revisão de Literatura	Análise da literatura mais recente
Revisão de Mapeamento	Mapeia e categoriza a literatura existente através de revisões ou pesquisas primárias, identificando as necessidades de pesquisa
Meta análise	Combina estatisticamente os resultados de estudos quantitativos para fornecer resultados mais precisos
Revisão de estudos mistos	Combina estudos quantitativos com qualitativos
Visão geral	Pesquisa de literatura e descrição de suas características
Revisão Sistemática Qualitativa	Integra ou compara os resultados dos estudos qualitativos. Considerada um método mais seletivo
Revisão Rápida	Uso de métodos de revisão para pesquisa e avaliação de pesquisas existentes
Revisão Scoping	Identificação da natureza e extensão das evidências dos estudos
Revisão do Estado da Arte	Aborda assuntos atuais, oferecendo nova perspectiva sobre o tema, possibilitando indicação de investigações futuras
Revisão Sistemática	Pesquisa em mais de uma base de dados, com a análise dos resultados de modo sistemático
Revisão Guarda Chuva	Evidências de várias revisões, com foco em uma condição ou problema, com inclusão de revisões com maior índice de evidência

Fonte: Booth, 2016

2.1.2 A revisão sistemática de literatura

Dentre este conjunto de ferramentas analíticas, a revisão sistemática se destaca por sua forma rigorosa de resumir as evidências científicas disponíveis, permitindo que os resultados

das análises sejam comparados, para integração de informações dos estudos avaliados, abrindo, dessa forma, a possibilidade de identificação de temas com provável investigação futura (Mancini, 2007; Roever, 2020). Assim, este foi o tipo de revisão escolhida para este estudo.

O termo revisão sistemática se originou em oposição a expressão revisão narrativa ou de literatura/revisão bibliográfica. As revisões narrativas são conhecidas por apresentar uma história, discutindo assuntos teóricos sem técnicas quantitativas, não aplicando critérios explícitos e sistemáticos para a busca e análise crítica das evidências (Dubugras, 2009); por sua vez revisões sistemáticas são uma modalidade de pesquisa que segue protocolos específicos, com foco na reprodutibilidade, apresentando as bases de dados consultadas, estratégias de busca empregadas em cada base, processo de seleção dos estudos, critérios de inclusão, exclusão e processo de análise de cada artigo.

As revisões sistemáticas podem ainda ser classificadas em: i) revisões sistemáticas com meta-análise, ii) revisões narrativas e iii) revisões sistemáticas com meta síntese (Siddaway, Wood e Hedges; 2019). A revisão tem por base um método explícito, claro e padronizado para poder ser reproduzido, descrevendo rigorosamente como foi feito o seu planejamento (Booth, 2016; Mariano Carvalho, 2020).

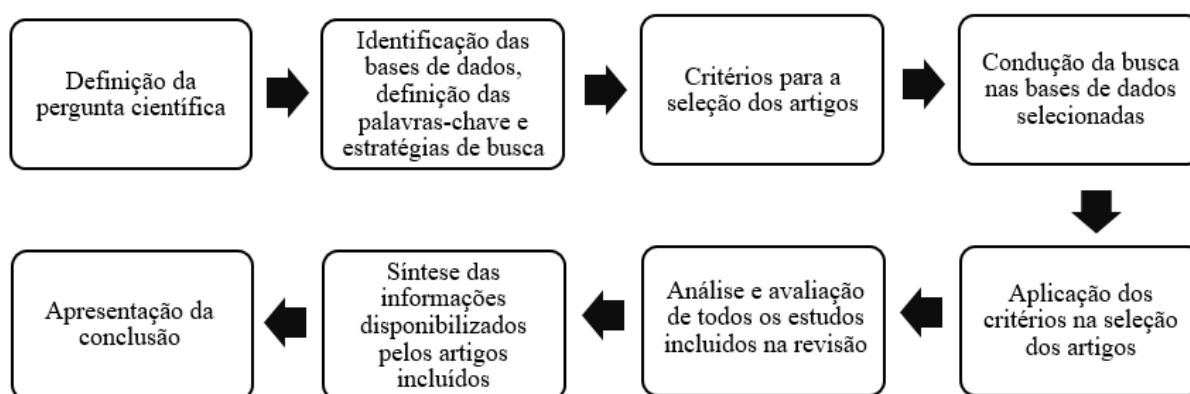
Os diferentes tipos de revisão sistemática demonstram que a qualidade das revisões publicadas é variável, podendo causar confusão entre os pesquisadores e estudantes. Assim, ferramentas foram desenvolvidas para o auxílio na verificação de critérios mínimos de qualidade das revisões. Uma delas é o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, conhecida como PRISMA, que lista itens que devem estar presentes em revisões sistemáticas (*PRISMA checklist*), apresentando o fluxo de critérios de inclusão e exclusão de artigos de revisão sistemática (*PRISMA flow diagram*) (PRISMA, 2020). O processo de seleção de artigos possui etapas para que seja considerada uma revisão com credibilidade. Assim os leitores podem avaliar a qualidade de uma revisão e outros estudiosos da área podem utilizar deste método em suas pesquisas (Okoli; Duarte; Mattar, 2019).

2.1.3 Processo de Execução de Revisões Sistemáticas

A revisão sistemática possui estrutura e ordem que devem ser seguidas para melhor condução (Figura 1). A revisão sistemática possui etapas para a sua condução. A parte inicial da revisão é considerada a de maior importância, se iniciando com a pergunta que deve ser respondida ao longo do trabalho, sendo assim, a justificativa e objetivo do estudo. Após a

definição da pergunta científica, é imprescindível a definição das palavras-chave, bases de dados e critérios de inclusão e exclusão. Após as buscas nas bases de dados que foram selecionadas tem a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão dos trabalhos, ou seja, avaliação dos trabalhos que respondem à pergunta. Com essa análise há a síntese das informações encontradas nos trabalhos selecionados, com a apresentação da conclusão, ou seja, a resposta da pergunta científica (Greenhalgh, 1997).

Figura 1- Estrutura base para a revisão sistemática.



2.1.3.1 Elaborando a pergunta científica

A elaboração da pergunta científica é o primeiro passo da pesquisa, portanto é essencial que o pesquisador não escolha temas ambiciosos e complexos, devido à dificuldade de sua condução. É essencial que o tema tenha surgido em atendimento a alguma necessidade ou devido lacuna de conhecimento que possa ser preenchida (Ciribelli, 2000).

Assim, a justificativa do trabalho pelo pesquisador não está ligada apenas ao conhecimento do tema a ser desenvolvido, mas a relevância e viabilidade. Dessa forma, para definir o tema da pesquisa, o pesquisador na fase exploratória, deve aprofundar as leituras específicas sobre o assunto que se deseja trabalhar. Três fatores são importantes para a elaboração da pergunta de pesquisa: originalidade, importância e viabilidade. A originalidade não deve ser confundida com novidade, ou seja, original é o que vai até as origens, a essência das coisas, estudando a fundo o tema, e o porquê dessa problemática. A importância como o nome já diz, é a ligação da pesquisa com uma determinada resposta para uma questão, que demonstra a relevância do tema (social ou científica); a viabilidade, se refere ao tempo, custos, preparo (Brasil, 2012).

O pesquisador deve se atentar à pergunta que deseja responder, se a finalização do seu trabalho está nos prazos e se o projeto final terá bons resultados sem nenhum tipo de ausência, seja de resultado ou sem a resposta de sua pergunta.

Para a construção da pergunta científica, algumas metodologias são utilizadas. A revisão sistemática pode ser realizada em pesquisa clínica ou não clínica. Assim as metodologias e elaboração da pergunta são diferentes para cada tipo de trabalho, sendo elas a metodologia “PICO” ou “PICo”. A estratégia PICO é voltada para a pesquisa clínica, em que cada letra representa um componente da questão, enquanto a estratégia PICo tem sido utilizada em pesquisa não clínica (Tabela 2). Assim **P**, se refere a População: fenômenos de interesse, contexto, o que será estudado; **I**- ao Interesse: qual o interesse da pesquisa; e o **Co**- se refere ao Contexto: Onde se passa o estudo, tempo e espaço (Brasil, 2012).

Tabela 2- Estratégia PICo como estratégia em pesquisas não clínicas.

Modelo(PICo)	Exemplo 1	Exemplo 2
P - População	Público mundial	Público mundial
I - Interesse	Alimentos contaminados e seu risco a saúde	Antibióticos e resistência na produção animal
Co - Contexto	Mercado de alimentos	Nova Zelândia

No primeiro exemplo a pergunta é: riscos à saúde pública relacionados a questão de segurança alimentar no mercado de alimentos: uma revisão de literatura; a população (**P**) é o público mundial, o interesse da pesquisa (**I**) são os alimentos contaminados, e seu contexto (**Co**) é o mercado de alimentos. Já no exemplo 2 a pergunta é: uso de antibióticos e resistência na produção animal: uma revisão de literatura; a população inicial (**P**) é a população da Nova Zelândia, porém como sendo exportadora de laticínios a população é todo o mundo. O interesse de pesquisa (**I**) são os antibióticos e resistência na produção animal, sendo o contexto (**Co**) o território da nova Zelândia.

2.1.3.2 A estratégia de busca

Traçada a questão que será revisada, ou seja, a pergunta de pesquisa, a próxima etapa é a formulação do protocolo de pesquisa a ser seguido, com a metodologia utilizada para a busca descrita na revisão. Com a definição do método utilizado, há a possibilidade da reprodutibilidade da pesquisa por outros pesquisadores. E para a redução do risco de vieses é recomendando que a pesquisa seja feita por pelo menos dois revisores independentes. Em caso de maiores discordâncias um terceiro revisor deve ser convocado. Assim, a estratégia de busca, envolve o conjunto de procedimentos e mecanismos utilizados.

As bases de dados como Web of Science, PubMed, embase, são fontes de dados publicados, que incluem as citações bibliográficas acompanhadas ou não do resumo do trabalho publicado. O registro das bases de dados apresenta para cada documento elementos como título do documento, autor, assunto, periódico no qual foi publicado, data de publicação, país, idioma, tipo de publicação (livro, anais de eventos, artigos de periódicos, teses, dissertações), e disponibilidade (acesso livre ou não) (Galvão; Ricarte, 2019).

Para uma estratégia de busca ser considerada avançada, deve-se realizar a busca por meio de sinônimos em língua inglesa, pois as bases de dados bibliográficas priorizam essa língua como idioma de busca. É primordial o uso dos operadores booleanos: AND (e), OR (ou) e AND NOT (e não), sendo usados juntos às palavras-chave.

Após estes passos, é necessária a indicação das bases de dados utilizadas, em quais foram encontrados os estudos e os critérios de inclusão e exclusão usadas na revisão. Para isso, deve-se usar o protocolo de pesquisa, que se baseia em três elementos: i) as palavras-chave e protocolo de busca, tendo a definição do idioma, operadores booleanos e sinônimos como descritores; ii) a fonte de dados, e por fim iii) critérios de inclusão e exclusão, relacionados à elegibilidade dos artigos selecionados (Tabela 3).

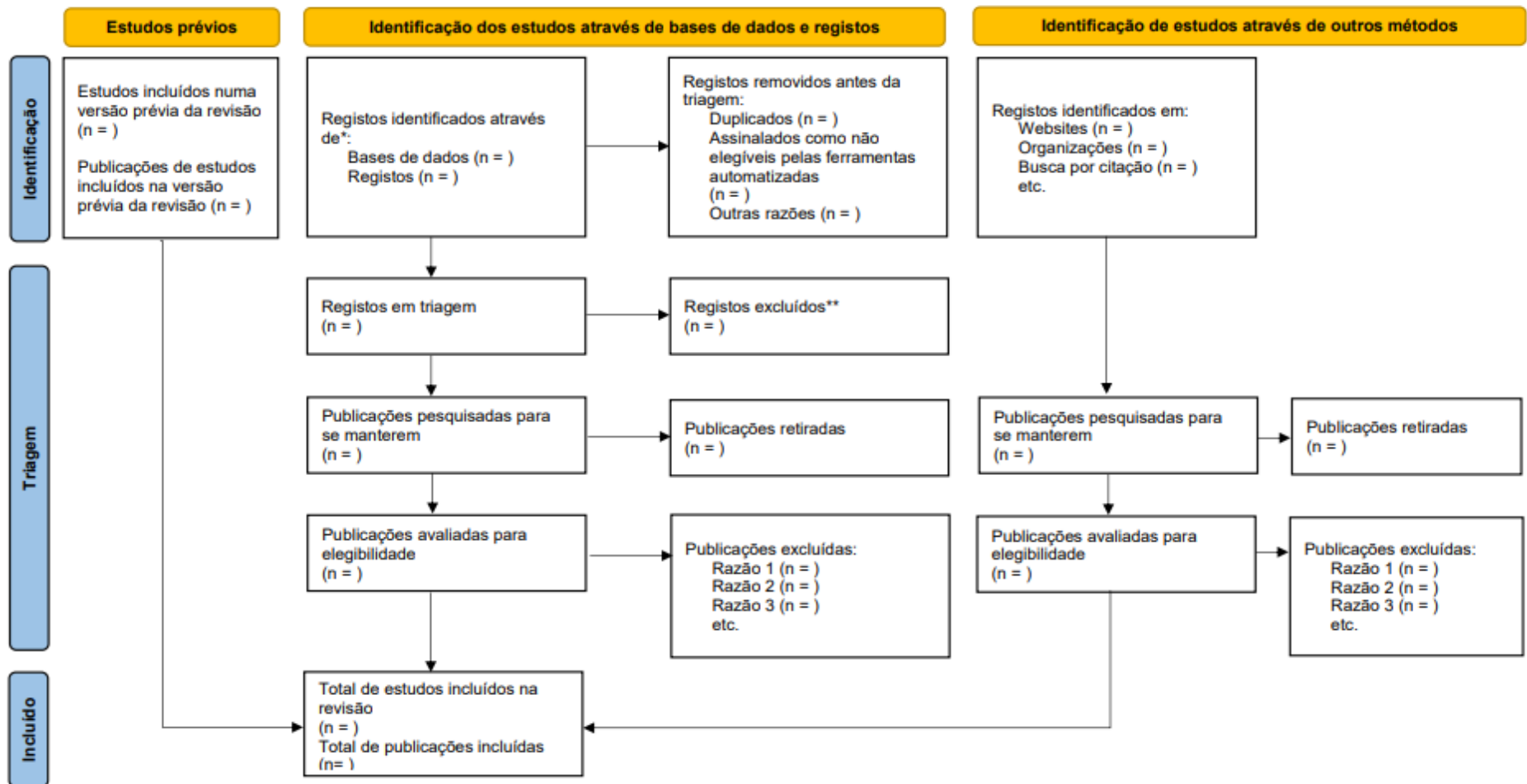
Tabela 3- Elementos do protocolo de pesquisa para seleção de artigos em revisões sistemáticas.

Elementos	Descrição
Palavras-chave e protocolo de busca	Definição de palavras-chave ; idioma; Operadores booleanos AND (e), OR (ou) e AND NOT (e não); listar sinônimos
Fontes de dados	Indicação das bases de dados eletrônicas em que foram buscadas
Critérios de inclusão e exclusão	Determinar questionamentos de pesquisa a serem aplicados a títulos e resumos de publicações a fim de elegê-las como analisáveis; idioma do texto, data de publicação, tipo de trabalho, disponibilidade de acesso

Fonte: Cogo, 2020

O processo de seleção dos artigos possui três principais fases (Figura 2): i) leitura dos títulos dos artigos encontrados; ii) leitura dos resumos; e, iii) análise mais criteriosa do estudo. Este processo de seleção deve ser explicitado na forma de fluxo conforme as diretrizes do PRISMA *flow diagram* (Prisma,2015).

Figura 2- Fluxograma para novas revisões sistemáticas que incluem buscas em bases de dados, protocolos e outras fontes.



Fonte: PRISMA, 2015

2.1.3.3 Seleção dos estudos

Na primeira etapa do estudo, deve-se identificar as bases de dados, por meio das estratégias de busca, usando-se os descritores e operadores booleanos, submetendo, posteriormente aos critérios de inclusão e exclusão. Os títulos dos trabalhos selecionados devem ser precisos, refletindo claramente o tema proposto (Roever, 2020).

A busca em uma base de dados é uma habilidade importante no processo de realização de uma revisão sistemática, visto que as sondagens eficientes maximizam a possibilidade de encontrar artigos relevantes em tempo reduzido.

Os operadores booleanos definem relações entre termos em uma pesquisa, sendo eles: AND, OR e NOT. AND combina os termos da pesquisa para que cada resultado possua todos os termos utilizados na busca; OR combina os termos da pesquisa para que cada resultado contenha no mínimo um dos termos utilizados na busca; e o NOT exclui termos para que cada resultado da pesquisa não contenha nenhum dos termos que o seguem, por exemplo: leite NOT mel, são resultados que contenham leite, mas não mel (Roever, 2020).

2.1.3.4 Análise e Síntese

O primeiro passo para a análise e síntese é a triagem dos artigos científicos obtidos na busca. Primeiramente, o título e o resumo são avaliados, caso não satisfaçam os critérios de inclusão o artigo científico será rejeitado. Em seguida, avalia-se o texto completo dos estudos que foram incluídos, pois a leitura do título e do resumo, apenas, não esclarece se de fato o estudo é ou não relevante para a revisão sistemática. Isto se torna possível com a leitura do texto completo. A análise da qualidade metodológica é realizada após a etapa de extração de dados (Dubugras, 2009).

É importante verificar possíveis duplicações dos artigos incluídos na primeira avaliação, evitando-se assim, sua inclusão novamente. A exclusão do estudo acontece principalmente por dois motivos: estudos que não são relevantes para responder à pergunta da revisão e estudos que abordam o tema mas não satisfazem um ou mais dos critérios estabelecidos (Dubugras, 2009).

A síntese é a sumarização e combinação dos resultados dos estudos incluídos na revisão. Os estudos incluídos podem ser apresentados em quadro descrevendo as características principais como autores, ano de publicação, país, desenho metodológico e principais resultados.

O grande objetivo da revisão sistemática de literatura é a apresentação das informações e evidências, evitando-se assim, opinião. A discussão deve abordar aspectos como limitação metodológicas, qualidade dos artigos incluídos, clareza, efeitos observados e aplicabilidade dos resultados.

Os autores da revisão sistemática devem estruturar a síntese do trabalho, priorizando os dados de forma quantitativa e minimizando sempre os riscos de viés. Essencial que tenha interpretação adequada dos resultados, caso contrário pode ter conclusão errônea em relação a todo o trabalho (Brasil, 2021).

2.2 O uso das revisões sistemáticas na área de alimentos

A necessidade de atualizações constantes e de avaliações críticas e sistematizadas de achados científicos não se limita apenas a uma área. Evidências científicas de qualidade são essenciais também para o processo de tomada de decisões de outros campos, como a área de segurança dos alimentos, identificando e descrevendo métodos, analisando e integrando evidências para formulação de conclusões (Dubugras, 2009; Who, 2014).

A saúde animal e a segurança dos alimentos ainda não têm uma produção de revisões sistemáticas expressivas como na área da saúde humana. Apesar dos primeiros relatos sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite terem ocorrido nos anos 60 do século passado, só a partir de 2000, houve incremento do número de estudos (Sachi *et al.*, 2019), o que ilustra os desafios que devem ser superados.

Buscando superar este desafio, recentemente alguns estudos com revisão sistemática na área de alimentos foram publicados (Tabela 4), indicando assim a necessidade do incremento de estudos com revisão sistemática, com ou sem meta-análise para evoluirmos nos estudos com resíduos de antibióticos em leite e suas consequências.

Tabela 4- Revisões sistemáticas com estudos de resíduos de antibióticos em leite, e suas respectivas estratégias de busca.

Autor	Datas de inclusão	Palavras-chave	Crítérios	Estudos encontrados/ Estudos incluídos
Gizaw, 2019	Até 2019	Desenvolvimento de componentes da estrutura usando o método PICO. População -mundial; Fenômeno de interesse - riscos para a saúde pública associada a segurança alimentar; Contexto-mercado de alimentos	Inclusão: Estudos quantitativos, qualitativos, métodos mistos, publicados e não publicados realizados sobre riscos a saúde, relatórios governamentais; idioma inglês.	2641/ 81
Slob; Catal; Kassahun, 2021	Após 2010	Milk; laticínios; Indústria de laticínios; Vaca leiteira; gado leiteiro; Aprendizado de máquina; Inteligência artificial; Inteligência computacional; Mineração de dados	Inclusão: Estudos primários; língua inglesa; leitura completa	427/ 38
Hassan <i>et al.</i> , 2021	2013-2019	Não citado	Inclusão: Estudo primário; prevalência, investigação, caracterização e identificação de resíduos antimicrobianos	704/ 10
Di <i>et al.</i> , 2021	2013- 2020	Não citado	Inclusão: Idioma inglês; uso de antibióticos na produção animal; Estudos primários	951/ 15
Malijan <i>et al.</i> , 2022	2010 2021	Uso de antibióticos; criação de animais	Inclusão: Texto completo disponível em inglês, pesquisa primária sobre o uso de antibióticos	184/ 17
LU <i>et al.</i> , 2021	2020-2021	Resíduo de antibiótico, leite e China	Inclusão: Avaliação dos níveis de antibióticos no leite chinês Exclusão: Substâncias não-antibióticas (por exemplo, bactérias) no leite; alimentos além do leite; estudos comparando ou validando técnicas de detecção com base nas diferentes amostras; estudos em que as amostras não vieram da China continental; comentários ou cartas.	3131/46

2.3 A composição do leite

A alimentação é considerada uma atividade essencial para a vida, principalmente para a saúde (Mahan *et al.*, 2012). O leite e seus derivados fornecem um pacote de nutrientes que são difíceis de serem encontrados em outros alimentos como os de origem vegetal (Fulgoni *et al.*, 2011), com evidências de que alimentos lácteos reduzem chances de nanismo (Headey; Hirvonen; Hoddinott, 2018), melhora na função cognitiva em crianças, densidade óssea e saúde muscular (Balehegn *et al.*, 2019).

Atualmente a Ásia é a maior produtora de leite no mundo, com sua produção de 374,08 milhões de toneladas de leite em 2020, seguida da Europa; em terceiro lugar estão as Américas, seguidos da África e Oceania (FAO, 2020). Observa-se que a produção de leite está presente em todo o globo terrestre, de forma capilarizada, indicando a importância socioeconômica do setor.

Tabela 5- Produção de leite bovino no mundo no ano de 2020.

Continente	Produção de leite em milhões de toneladas
Ásia	374,08
Europa	234,37
América	196,65
África	51,08
Oceania	30,69
Total	886,87

Fonte: FAO, 2020

O leite é composto por mistura complexa de lipídeos, proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, com componentes secundários derivados do mecanismo de síntese celular. Observa-se que a composição do leite é variável, dependendo de fatores como condições ambientais, estágio de lactação, estado nutricional, raça, idade, saúde da glândula mamária, época do ano e tipo de ordenha (Dobranic *et al.*, 2008).

O teor de gordura do leite varia entre 2,9 e 6%, a proteína bruta entre 3 e 4,5%, a lactose entre 4,1 e 5,6%; enquanto o pH varia entre 5,92 e 6,8. Por fim, o teor de água varia entre 88,2 a 89%, considerada o maior constituinte do leite, na qual estão dissolvidos ou emulsionados os demais componentes, sendo encontrada em forma livre (Tabela 6).

Tabela 6- Composição geral média do leite.

Lipídeos (g/100g)	Proteína bruta (g/100g)	Lactose (g/100g)	Ph	Sólidos totais (%)	Água (%)	Referencia
6,0	4,4	4,6	6,7	12 - 14	86 - 88	Jensen <i>et al.</i> , 2012
3 - 3,6	2,9 - 3,2	4,1 - 4,4	6,8	12,2	87,8	Santos <i>et al.</i> , 2009
3,8	3,8	4,1	6,9	12,11	88	Rodrigues <i>et al.</i> , 2014
4,3	3,4	4,7	6,7	12 - 14	86 - 88	Priyashantha <i>et al.</i> , 2021
4,4	3,3	4,6	6,9	14,1	85,9	Aguiar, 2014
3,3 - 5,4	3,0 - 3,9	4,4 - 5,6	6,4 - 6,8	12 - 13	87 - 88	Roy <i>et al.</i> , 2020

2.4 Fonte de resíduos de antibióticos e incidência no leite

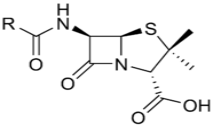
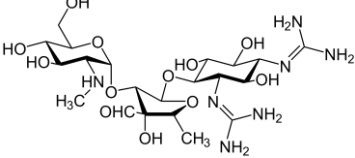
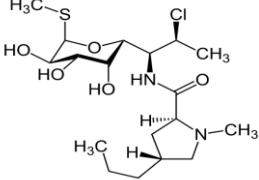
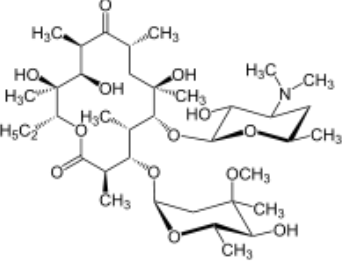
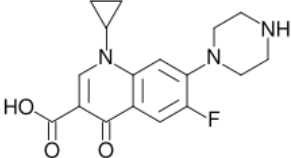
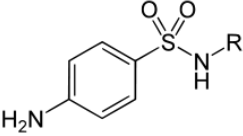
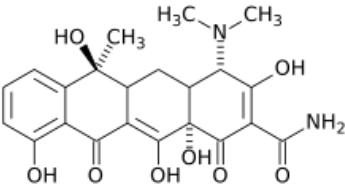
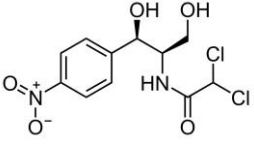
A mastite é uma infecção da glândula mamária, de natureza infecciosa causada por microrganismos ou de natureza não infecciosa (Gelasakis *et al.*, 2016; Hogeveen; Huijps; Lam, 2011). É uma doença que altera a composição do leite como: elevação de contagens de células somáticas, redução na concentração de lactose, alteração no teor de gordura, aumento das concentrações de sódio, cloreto e redução do potássio (Adkins; Middleton, 2018).

Na produção animal, os antibióticos são usados para ação terapêutica, profilática e principalmente atuando como promotores de crescimento, administrado por meio de ração, visando o intestino do animal, para alteração da microbiota, elevando a eficiência das dietas (Ashenafi; Hoogmartens; Adams, 2011; You; Silbergeld, 2014). Dentre estes usos, destaca-se o uso terapêutico, com a administração de antibióticos no tratamento e prevenção de mastites em vacas leiteiras, lactantes ou não (Spinosa; Górnaiak; Bernardi, 2011).

O tratamento da mastite consiste na utilização de antimicrobianos locais ou sistêmicos, dependendo do comprometimento do estado geral do animal, sendo esta a principal fonte de resíduos de antibióticos em leite (Singer *et al.*, 2019; Spinosa; Górnaiak; Bernardi, 2011).

Os antimicrobianos são substâncias capazes de matar ou inibir o crescimento de diversos microrganismos, tais como as bactérias, arqueas, vírus, protozoários, microalgas e fungos. Por sua vez, os antibióticos são um tipo de antimicrobianos, que agem especificamente sobre as bactérias em hospedeiro humano e animal podendo ser moléculas naturais ou sintéticas (Spinosa; Górnaiak; Bernardi, 2011).

Tabela 7- Principais antibióticos utilizados no tratamento de mastite bovina.

Grupo	Mecanismo de Ação	Estrutura Química Geral	Antibiótico representativo
Beta-Lactâmicos	Impedimento da formação de parede celular bacteriana		Penicilina
Aminoglicosídeos	Ligação à porção 30S do ribossomo, interferindo na síntese proteica bacteriana, formando proteínas defeituosas		Estreptomicina
Lincosamidas	Ligação à subunidade 50S dos ribossomos, inibindo a síntese proteica		Clindamicina
Macrolídeos	Translocação do RNAt na subunidade 50S do ribossomo impedindo a síntese proteica bacteriana		Eritromicina
Quinolonas	Inibe a DNA girase bacteriana, impedindo o enrolamento da hélice de DNA		Fluoroquinolona
Sulfonamidas	Impede a utilização do PABA na síntese do ácido fólico pelas bactérias		Estrutura geral
Tetraciclina	Ligação à subunidade 30S dos ribossomos, não permitindo que o RNA transportador se ligue a ele, inibindo assim a síntese proteica		Estrutura geral
Anfenicóis	Ligação à subunidade 50S do ribossomo, inibindo a síntese proteica da bactéria, tendo, assim, ação bacteriostática		Cloranfenicol

Fonte: Adaptado de: Spinosa; Górnjak; Bernardi, 2011; Carvalho; Santos, 2016; Homem; Santos, 2011; Reeves 2011; Wang *et al.*, 2016

Os antibióticos naturais são produzidos por bactérias e fungos, para inibição de outros microrganismos concorrentes, enquanto os sintéticos são os antibióticos alterados quimicamente, pela inserção de um aditivo na sua formulação, melhorando sua eficácia, estabilidade e menos chances de biodegradação (Bacanh; Basaran, 2019; Gillings, 2013; Grenni; Ancona; Caracciolo, 2018; Martínez, 2012).

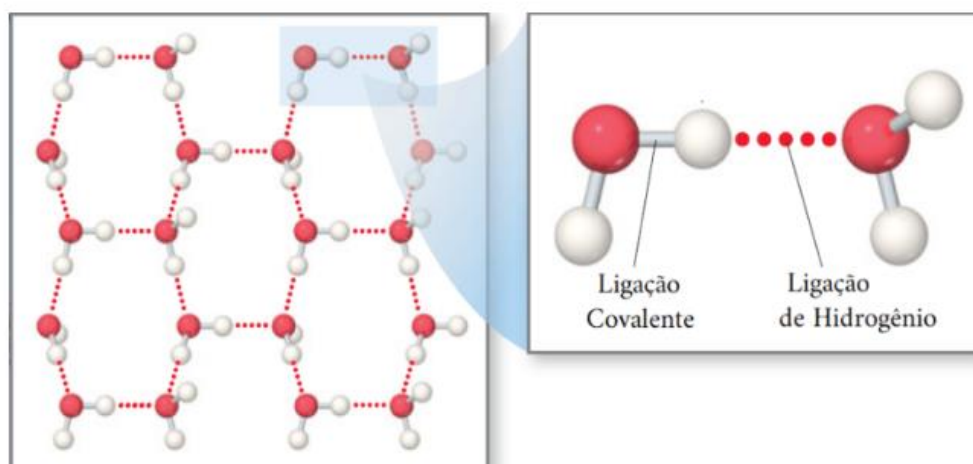
Os antibióticos possuem efeito bacteriostático, no qual causam a morte do microrganismo, e efeito bactericida que inibe apenas o desenvolvimento e multiplicação do microrganismo, não causando a sua morte (Spinosa; Górnaiak; Bernardi, 2011). Podem ser classificados de várias maneiras, considerando seu espectro de ação, tipo de atividade antimicrobiana, grupo químico ao qual pertencem (Tabela 7). Os principais grupos são: Beta-Lactâmicos, Tetraciclínas, Aminoglicosídeos, Lincosamidas, Macrolídeos, Sulfonamidas, Cefalosporinas e Quinolonas (Turnipseed *et al.*, 2011).

O uso inadequado de antibióticos na produção animal pode levar à ingestão involuntária de resíduos de antibióticos (Dugan, Fernandes 2014) que pode ser associado a problemas de saúde pública, como alteração do microbioma, doenças diarreicas, alergias, nefropatia, hepatotoxicidade, chances de distúrbios reprodutivos, choques anafiláticos (impedimento da síntese de proteínas nos linfócitos, chances de suprimir o sistema imunológico, riscos de superinfecção, alteração da flora bacteriana do intestino delgado e grosso, além de efeitos teratogênicos, carcinogênicos e mutagênicos (Beyene, 2016; Klimek *et al.*, 2017, Darwish *et al.*, 2013; Gelasakis *et al.*, 2016; Mignacca *et al.*, 2017). Assim, o controle de resíduos de antibióticos em leite visa diminuir a exposição do homem ao consumo involuntário destes medicamentos, podendo ser um controle de saúde pública (Beyene, 2016).

2.5 A água e suas interações

A molécula de água é conhecida pela sua estrutura H_2O . Cada átomo de hidrogênio compartilha um par de elétrons com o átomo central do oxigênio, sua estrutura é um tetraedro, com um átomo de hidrogênio em cada um dos dois vértices e pares de elétrons não compartilhados nos outros vértices (Nelson; Cox, 2014). A forma molecular da água e a sua natureza polar resulta na distribuição das cargas dentro da molécula. O átomo de oxigênio atrai os elétrons mais fortemente do que o hidrogênio, devido sua eletronegatividade. A carga parcial negativa do oxigênio e a carga positiva do hidrogênio resulta em atração eletrostática, denominada ligação de hidrogênio (Figura 3) (Nelson; Cox, 2014).

Figura 3- Ligações de Hidrogênio na molécula de água.



Fonte: Google, 2023

As forças eletrostáticas contribuem para a energia da ligação de pontes de hidrogênio, devido a eletronegatividade do oxigênio, sendo aceptores de pontes de hidrogênio. Cada molécula de água apresenta um número igual de sítios doadores e aceptores das pontes de hidrogênio, levando a ligações tridimensionais. A capacidade da água de apresentar ligações de hidrogênio propicia características como: alto ponto de fusão, ebulição, tensão superficial, entalpia e mudanças de fases, que vão interferir na energia adicional necessária para a quebra das pontes de hidrogênio (Parkin; Fennema; Cladera,2010).

As ligações de hidrogênio não são exclusivas para as moléculas de água, se formando também entre outros átomos eletronegativos. Alguns íons em solução aquosa tem o efeito de quebra da estrutura reticular, ou seja, quebrar qualquer estrutura da água. A capacidade de determinado íon alterar a estrutura reticular da água está ligada ao seu poder de polarização ou força do campo elétrico; íons pequenos e multivalentes possuem campos elétricos fortes, promovendo a quebra estrutural, com forte interação com as moléculas da primeira camada de água. Já íons grandes e monovalentes rompem a estrutura normal da água sem impor a estrutura nova para compensar a perda estrutural da água (Parkin; Fennema; Cladera,2010). Moléculas polares se dissolvem facilmente em água pois elas podem substituir interações entre as moléculas de água-água por interações mais favoráveis energeticamente entre água-soluto.

2.6 Técnicas de extração e purificação de matrizes alimentares

A determinação simultânea de medicamentos em leite e seus derivados é dificultada devido à complexidade da matriz, indicando a necessidade de etapas de extração e limpeza.

Existem algumas técnicas analíticas de extração e purificação para determinação de resíduos de antibióticos em matrizes alimentares (Tabela 8).

Tabela 8- Técnicas de extração e purificação de analitos em matrizes alimentares.

Técnica	Princípio	Vantagens	Desvantagem	Referências
Extração em fase sólida de polímero de impressão molecular	Material sintético usado como sítio de ligação com tamanho e grupos funcionais das moléculas modelo	Alta seletividade e eficiência; Baixo custo; Estável em pH e temperatura extrema	Seletividade e extração limitada a compostos polares	Li <i>et al.</i> , 2018 Andrade <i>et al.</i> , 2016
Extração assistida por micro-ondas	Aquecimento	Extração simultânea de vários analitos alvo; Menos solventes e tempo de extração	Não aplicável a solventes apolares com necessidade de resfriamento	Ridgway; Lalljie; Smith, 2007 Camel, 1998
Extração de fluido supercrítico	Alto ponto de ebulição, com uso de gás supercrítico como extrator	Baixo consumo de solvente; Tempo de extração curto	Baixa seletividade de extração	Herrero <i>et al.</i> , 2010
Microextração em fase sólida	Fibras ópticas de sílica fundida ou outros materiais como suporte de matriz, polímero como meio de adsorção	Uso de solventes pode ser totalmente eliminado; Baixo custo e fácil manuseio; Altamente eficiente e sensível	Baixo grau de purificação de matrizes complicadas; Recuperações relativamente baixas de analitos	Kataoka, 2000 Tamayo, 2007
Dispersão em fase sólida de matriz	Dispersão da amostra para um carreador sólido, gerando materiais cromatográficos	Tempos de extração curtos; Pequena quantidade de sorvente e solvente necessária; Preparação barata e fácil; Extração e limpeza simultâneas	Inadequado para amostras secas e gordurosas; Difícil sua padronização devido a baixas recuperações	Barker, 2000 Kristenson; Ramos; Brinkman, 2006
Microextração líquido-líquido dispersivo	Uso de dispersante	Facilidade de operação e rapidez; Baixo custo; Redução do consumo de reagentes tóxicos	Baixa eficiência de extração; Dificuldade de automação e longo tempo de tratamento	Rezaee <i>et al.</i> , 2006
Extração acelerada de solvente	Aumento da solubilidade dos materiais, com aumentando a temperatura e a pressão	Tempo de extração curto; Consumo moderado de solventes; Rápido e automático	Altos custos de aquisição e manutenção de equipamentos; Tempo de preparação baixa	Ramos; Kristenson; Brinkman, 2002
Extração assistida por ultrassom	Vibração, fragmentação, mistura, ultrassom	Aumento da eficiência de extração / Forte penetração do solvente na matriz da amostra	Difícil automatização	Ruiz; Priego, 2004

Matrizes complexas como o leite, exigem procedimentos analíticos de limpeza que buscam extrair substâncias presentes que interferem na identificação do analito desejado (Raza; Kim, 2018). Devido à complexidade das amostras de leite e os baixos níveis de concentração nos quais os antibióticos estão presentes nesse tipo de amostra, é necessário o emprego de etapas de preparo de amostra para a remoção de potenciais interferentes e/ou pré concentração dos analitos. Ou seja, o preparo de amostras envolve operações físicas e químicas, para ser convertido em uma forma adequada para introdução no instrumento de medida com minimização de interferências na quantificação dos elementos de interesse (Krug; Rocha, 2019)

O preparo de amostras é considerado a etapa mais trabalhosa dos métodos analíticos multirresíduo, e diferentes estratégias têm sido utilizadas para extrair os resíduos e realizar o clean-up da amostra. As técnicas mais empregadas para matrizes de origem animal são a extração líquido-líquido- ELL (Penney; Coates; Wijewickreme, 2005; Martins *et al.*, 2006), extração em fase sólida - EFS (Li *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2016); Extração assistida por micro-ondas (Ridgway; Lalljie; Smith, 2007); Extração de fluido supercrítico (Herrero *et al.*, 2010); Microextração em fase sólida (Kataoka, 2000; Tamayo, 2007); Dispersão em fase sólida de matriz (Barker, 2000; Kristenson; Ramos; Brinkman, 2006); Extração líquido-líquido dispersive (Rezaee *et al.*, 2006); Extração acelerada de solvente (Ramos; Kristenson; Brinkman,2002) e Extração assistida por ultrassom (Ruiz; Priego, 2004).

Como exemplo destas técnicas, apresentamos alguns relatos científicos de suas aplicações para determinação de antibioticos em amostras de leite (Tabela 9).

2.7 Metodologia QuEChERS

As tendências atuais da química analítica envolvem adoção de protocolos simples, rápidos, econômicos, com alto rendimento e sem o comprometimento da reprodutibilidade, representatividade, exatidão, precisão, seletividade e sensibilidade do método. O consumo de reagentes químicos na preparação de amostras é o ator que tem sido foco de melhoria, com o intuito de diminuição do uso de solvente, mantendo, porém, a eficiência analítica.

Entre diversos procedimentos, o método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) que significa rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro, ganhou popularidade desde a sua introdução em 2003 (Anastassiades *et al.*, 2003).

Tabela 9- Preparos de amostras leite para posterior quantificação de antibióticos.

Medicamento	Preparo de amostra	Referência
Cloranfenicol	ELL com metanol/ clofórmio	Penney; Coates; Wijewickreme, 2005
	ELL com acetato de etila e sulfato de sódio	Martins <i>et al.</i> , 2006
Sulfonamidas, tetraciclina	ELL com ácido tricloroacético e tampão de McIlvaine	Koesukwiwat; Jayanta; Leepipatpiboon, 2007
	Diluição → extração com barra sorptiva (polímero monolítico) → eluição com acetonitrila	Huang; Qiu; Yuan, 2009
Aminoglicósídeos	DMFS utilizando sílica tratada com EDTA	Bogialli <i>et al.</i> , 2005
Multiclasse	ELL com acetonitrila	Ortelli <i>et al.</i> , 2009
	ELL com ácido acético, acetonitrila, Na ₂ EDTA, sulfato de magnésio e acetato de sódio	Luiz <i>et al.</i> , 2008
	ELL com ácido acético, acetonitrila, Na ₂ EDTA, sulfato de magnésio e acetato de sódio	González <i>et al.</i> , 2011
	ELL com Na ₂ EDTA e metanol e acetonitrila (1:5) → ELL do sobrenadante com etanol e acetonitrila	Zhan <i>et al.</i> , 2012
	ELL com acetonitrila → filtração/ ELL com acetonitrila → injeção do extrato reconstituição com acetonitrila 50%	Turnipseed <i>et al.</i> , 2011
Beta -lactâmicos	ELL com acetonitrila e acetilcisteína	Jank <i>et al.</i> , 2012

ELL = Extração líquido-líquido; DMFS = dispersão de matriz em fase sólida, Tampão de McIlvaine é composto de ácido cítrico monohidratado, fosfato de sódio dibásico e Na₂EDTA em água.

O primeiro método multiclasse e multirresíduo foi o método de Mills, desenvolvido na década de 1960 (Mills *et al.*, 1963), que se baseava na extração com acetonitrila, usada para determinação de compostos organoclorados. Nessa época o foco das análises eram os inseticidas organofosforados apolares, mas havia a necessidade de análises voltadas a amostras polares, sendo desenvolvido procedimentos alternativos. Esses novos métodos modificaram o método de Mills, com a adição de etapa de partição e limpeza, e o solvente extrator não era mais a acetonitrila e sim a acetona (Tabela 10).

Em 1970, houve o desenvolvimento do método Storherr, desenvolvido por Becker (Becker, 1971), considerado o primeiro método multiclasse e multirresíduo com adição de cloreto de sódio, a extração ainda era realizada com acetonitrila e sua aplicação era em frutas e vegetais. Em seguida novo método foi desenvolvido por Luke e colaboradores (Luke; Doose, 1983; Specht e Tilker *et al.*, 1980) adicionaram cloreto de sódio para saturação da fase aquosa das amostras, resultando no aumento da polaridade, maiores taxas de recuperação do analito polar.

A adição de um terceiro solvente acetato de etila, apresentou vantagens como imiscibilidade parcial com a água, sem a necessidade de adição de outros solventes apolares para a separação da água com o extrato. Entretanto, alguns pesticidas mais polares não particionavam, e para o aumento da recuperação desses compostos foi adicionando sulfato de sódio ao método, observando que o acetato de etila aumenta a extração de extratos apolares como lipídios e ceras (Anastassiades et al., 2003). Assim, foi observado que para melhores resultados, o método de Luke deveria se aplicar usando a acetona.

Com o decorrer do tempo, foram desenvolvidos novos métodos que não exigiam o uso de grandes quantidades de solventes, sendo estes substituídos por sais. A acetona continuou sendo o solvente mais utilizado, mas com a possibilidade de substituição por acetonitrila e acetato de etila (Schenck *et al.*, 2002).

Com a necessidade em reduzir o uso de solventes e o trabalho manual, houve a introdução de várias abordagens alternativas de extração, entretanto, nenhuma técnica foi considerada simplificada, e que ao mesmo tempo alcançasse extração rápida e fácil. Assim, o método QuEChERS foi desenvolvido nos Estados Unidos, liderada por Michelangelo Anastassiades e Steven Lehotay, visando superar limitações práticas dos métodos disponíveis na época para extração de agrotóxicos em frutas e legumes (Tabela 10). Esse novo procedimento de preparo combinou dois procedimentos conhecidos: a extração sólido-líquido com o processo *salting out*, e a etapa de limpeza em fase sólida dispersiva (dSPE) (Anastassiades et al., 2003).

No processo de desenvolvimento do método aspectos como: compatibilidade com os analitos, habilidade de extração de amplo espectro de agrotóxicos com diferentes polaridades, seletividade, chances mínimas de interferentes, miscibilidade com água e compatibilidade com técnicas cromatográficas foram considerados (MASTOVSKA *et al.*, 2004). Além disso, outras variáveis que podem afetar a eficiência da extração como a quantidade de amostra, composição, pH, tipos de solvente, modo de agitação, temperatura, tempo, adição de sal e sorvente também foram avaliadas (Santana-mayor *et al.*, 2019).

O método de extração QuEChERS é composto por 3 etapas analíticas:

i) **Extração:** A primeira etapa se dá com o uso de solventes para extração, etapa denominada de extração. Aspectos como custo, habilidade de extração para amplo espectro de polaridade são consideradas para a seleção do solvente. Os solventes mais utilizados são a acetonitrila (ACN), acetato de etila e acetona. O uso de solventes possibilita a extração de uma menor quantidade de extratos lipofílicos da amostra, como gordura e pigmento.

Tabela 10- Métodos multiclasse até a introdução do método QuEChERS.

Método	Princípio do método	Referência
Método de Mills	Baseia-se em uma extração com acetonitrila sendo utilizado basicamente na determinação de compostos organoclorados em amostras não-gordurosas.	Mills <i>et al.</i> , 1963
Método de Storherr	Com algumas modificações em relação ao método de Mills. Extração é realizada com acetonitrila. Aplicação para organoclorados e organofosforados em frutas e vegetais	Becker, 1971
Método para organoclorados, organofosforados e nitrogenados	Utiliza acetona na etapa de extração. Seguido de uma partição líquido-líquido utilizando diclorometano ou mistura de diclorometano e éter de petróleo, a fim de remover a água. A etapa de limpeza é realizada com carvão ativado; Primeiro método em que uma solução de cloreto de sódio foi adicionada ao extrato para promover o efeito salting out.	Becker, 1979
Método de Luke	A extração dos pesticidas é realizada com acetona; Adiciona-se cloreto de sódio para saturar a fase aquosa, resultando maiores valores de recuperação dos compostos polares	Luke; Doose, 1983
	Desenvolvimento de métodos que não exigiam a utilização de grandes quantidades de solventes clorados substituídos. Solventes apolares foram substituídos por sais durante o processo de partição; A SPE começou ser amplamente utilizada.	Specht <i>et al.</i> , 1995 Casanova, 1996 Schenck <i>et al.</i> , 2002 Lee <i>et al.</i> , 1991
	A acetona continua sendo o solvente mais utilizado na extração, com a possibilidade de substituição por acetonitrila e acetato de etila.	Holstege <i>et al.</i> , 1994 Camel, 1998 Correia <i>et al.</i> , 2001
	Diversos procedimentos de limpeza e técnicas alternativas de extração foram desenvolvidos Rapidez na execução das análises, miniaturização, automatização	Barker, 2000 Ling; Teng, 1997
Metodologia QuEChERS	Método de análise de resíduo de pesticidas em frutas e vegetais	Anastassiades <i>et al.</i> 2003

Cada solvente apresenta pontos positivos e negativos, o acetato de etila apresenta boa capacidade de extração de agrotóxicos de diferentes classes, mas seu percentual de recuperação em caráter básico é baixo, devido a problemas de degradação, sendo necessário a adição de hidróxido de sódio para aumento de sua eficiência (Prestes *et al.*, 2009).

A acetona e acetonitrila são miscíveis em água, promovendo extração em fase única quando em contato com a matriz, mas quando a extração é feita com acetona há a necessidade de adição de solventes polares para a separação entre fases orgânica e aquosa. A acetonitrila não necessita do uso de solventes, promovendo extração em fase única, sendo o solvente mais utilizado na metodologia QuEChERS. Esse solvente pode ter seu pH ajustado com a adição de ácidos como o ácido cítrico, fórmico ou acético, a presença desses ácidos melhora a eficiência da extração e a facilidade de ionização dos compostos.

ii) **Partição:** Posterior a etapa de extração, tem a etapa denominada de partição. Com adição dos sais: sulfato de magnésio e cloreto de sódio (MgSO₄, NaCl) a mistura da amostra e ao solvente. O objetivo da adição de sais é a mudança nas propriedades físico-químicas do

sistema, obtendo duas fases e reduzindo a solubilidade dos analitos da amostra. O MgSO_4 é adicionado como fator de limpeza, removendo água residual, sendo esse sal escolhido frente ao sulfato de sódio, devido a sua capacidade de desidratação quatro vezes maior, ou seja, alta capacidade de ligação com água, reduzindo fase aquosa promovendo a partição. O efeito *salting out* promovido pela adição de sais reduz a solubilidade dos compostos polares na fase aquosa, além disso, tem a vantagem de não aumentar o volume dos extratos, reduzindo ou evitando necessidade de etapa de evaporação do solvente após a etapa de extração (Prestes *et al.*, 2009).

iii) **Limpeza:** A última etapa da metodologia QuEChERS é chamada de limpeza, no qual após a agitação e centrifugação, uma alíquota do sobrenadante é submetida a purificação adicional usando-se o SPE dispersivo, sendo um material adsorvente (Bandeira *et al.*, 2014). O foco dessa etapa é a remoção dos compostos da matriz que não foram extraídos em etapas anteriores, como gordura, pigmentos e açúcares, ficando apenas os analitos de interesse no solvente (Anastassiades *et al.*, 2003).

A seleção dos sorventes de dSPE é fundamental, sendo o PSA (Amina secundária primária), Grafitized Carbon Black (GCB) e octadecilsilano (C_{18}) os mais utilizados (Wilkowska *et al.*, 2011). O PSA é eficaz na retenção de ácidos graxos e ácidos orgânicos presentes na matriz. Sua estrutura tem elevado efeito quelante, devido a presença dos grupos amino primário e secundário, sua combinação com o GCB melhora os resultados, mesmo que a forte afinidade do GCB seja por moléculas planares como pigmentos, cloforila, carotenóides e esteróis. O octadecilsilano tem seu melhor efeito em alimentos com alto teor de lipídeos (abacate, nozes, amêndoas, azeitonas, cereais, azeitonas, ovos, leite, ração animal (González-curbelo *et al.*, 2015), como resultado tem-se a retenção forte dos ácidos graxos livres e compostos polares, além de açúcares e pigmentos (Bandeira *et al.*, 2014). Para cada tipo de matriz, há um sorvente adequado para a etapa de limpeza, podendo ser utilizado mais de um sorvente para a melhor eficácia e remoção de compostos.

Anastassiades e colaboradores (Anastassiades *et al.*, 2003), apresentaram o método QuEChERS como método de análise de resíduo de pesticidas, analisando 25 pesticidas com o uso da cromatografia gasosa/espectrofotometria de massa (GC/MS) como método de separação. Em um estudo de acompanhamento, Lehotay demonstrou a eficácia do método para mais de 200 pesticidas em alface, laranja e outras matrizes, (GC/MS), e a cromatografia líquida /espectrofotometria de massa tandem (LC/MS/MS), mas com taxas de recuperação mais baixas para inseticidas básicos.

Foi percebido que o pH era um parâmetro importante na estabilidade de vários pesticidas sensíveis a base, mas também era uma etapa crítica para pesticidas sensíveis a ácidos, ou seja, alguns compostos tinham problemas de estabilidade ou recuperação de acordo o pH da matriz sendo o tamponamento dos extratos uma abordagem razoável (Prestes, 2009).

A primeira modificação foi a alteração da etapa de partição, com a adição de tamponante, com o sal acetato. A escolha desse sal foi devido a este estar disponível naturalmente em frutas, com improvável efeito de interferência analítica. Sendo assim, a ideia foi o de atuar sobre o efeito tamponante, mas sem modificar o método original. Esse método foi adotado em 2007 como método oficial da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) para a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos (Prestes, 2009).

Com o uso do método de extração QuEChERS, foram verificadas necessidades de alteração nos procedimentos. Assim, duas modificações do método original foram relatadas: QuEChERS acetato e QuEChERS citrato (Tabela 11). Essas alterações buscavam melhorar o pH, visto ocorrer correção do mesmo, causando efeitos negativos sobre alguns agrotóxicos dependentes do pH (Anastassiades *et al.*, 2007). Lehotay no seu trabalho desenvolveu o método QuEChERS acetato, promovido pela adição de acetato de sódio (Lehotay *et al.*, 2005).

Tabela 11- Versões e etapas dos métodos QuEChERS.

	QuEChERS Original ¹	QuEChERS acetato ²	QuEChERS citrato ³
Extração	10g amostra 10 ml acetonitrila	15 g amostra 15 mL acetonitrila	10g amostra 10 ml acetonitrila
Partição	4 g Sulfato deMagnésio 1 g Cloreto de Sódio	6 g Sulfato deMagnésio 1,5 g Acetato de Sódio	4 g Sulfato de Magnésio 1 g Cloreto de Sódio 1 g Citrato de Sódio Diidratado 0,5 g Hidrogenocitrato sesqui-hidratado
Limpeza	1 mL sobrenadante 150 mg Sulfato de Magnésio 25 mg PSA	1 mL sobrenadante 150 mg Sulfato deMagnésio 50 mg PSA	1 mL sobrenadante 150 mg Sulfato deMagnésio 25 mg PSA

Fonte: Anastassiades *et al.*, 2003¹; Lehotay *et al.*, 2005²; Anastassiades *et al.*, 2007³

Posteriormente, Anastassiades e colaboradores (Anastassiades *et al.*, 2007) propuseram o método QuEChERS citrato, promovida pela mistura de citrato de sódio diidratado e o hidrogenocitrato sesqui-hidratado como responsáveis pelo efeito tamponante. A aplicação do tampão acetato proporciona maior estabilidade para pesticidas sensíveis à base, ambos os procedimentos mantêm o pH constante de 5 a 5,5 durante a extração, sem afetar os analitos. O

tampão citrato tem a capacidade de tamponamento menor, mas não produz efeitos negativos na etapa de limpeza (Prestes, 2009).

Mesmo com o método QuEChERS originalmente voltado para amostras com alto teor de água (80- 95%) como frutas e hortaliças, os resultados positivos para uma ampla gama de pesticidas levaram à sua aplicação em outras matrizes, como alimentos com alto teor de gordura, pigmentos, bem como uma grande variedade de compostos de natureza e diversas propriedades. Isso exigiu modificações para a melhora do desempenho do método, dentre eles a adição de água no início do experimento, em amostras com baixo teor de água (<80%), como cereais, frutas secas, frutas com baixo teor de água, mel, especiarias, solo, visando o enfraquecimento das interações analito e matriz, com separação adequada de fases (Santos *et al.*, 2018).

Assim, o método QuEChERS foi validado com sucesso em vários laboratórios, sendo um método oficial pela AOAC International e pelo European Committee for Standardization (Lehotay *et al.*, 2011), considerado um método flexível pois pode ser utilizado em diversos tipos de matrizes, como frutas, vegetais, leguminosas, alimentos de origem animal e substâncias biológicas como o sangue. A metodologia será modificada de acordo as propriedades do analito.

2.8 Validação do método analítico e parâmetros de qualidade

Em um sistema de análise de substâncias químicas a validação dos parâmetros de qualidade do método é realizada para assegurar que este seja exato, reprodutível, flexível e funcione adequadamente dentro das condições nas quais uma substância será analisada. No processo de validação, parâmetros devem ser incluídos e avaliados, como taxa de recuperação, limite de detecção, limite de quantificação e precisão.

Devido a importância de um procedimento de validação, um grande número de guias de validação é elaborado, podendo ser de natureza universal ou específica. No Brasil, existem vários guias de validação dentre os quais destacam os fornecidos pela ANVISA, o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Internacionalmente, a Comunidade Europeia estabeleceu parâmetros de validação, critérios de desempenho e interpretação dos resultados de métodos analíticos através do guia SANTE/12682/2019.

No processo de validação, parâmetros devem ser incluídos e avaliados. Os parâmetros contemplados são:

Recuperação

A taxa recuperação é a relação percentual entre a concentração real e a concentração de determinado analito na solução, após a aplicação do procedimento analítico. A recuperação pode ser definida como a fração da quantidade total do analito presente na amostra, a qual é obtida após a finalização do processo de extração. A recuperação ideal utilizada em cromatografia líquida de alta eficiência varia entre 70 - 120% (SANTE/12682/2019, 2019).

Precisão

A precisão avalia a concordância entre os ensaios independentes repetidos de uma mesma amostra sob condições definidas, estimada por meio do desvio padrão relativo (RSD) como seu valor ideal de $RSD \leq 20\%$, e pode ser expressa de três maneiras: **i) Repetibilidade:** Grau de concordância entre medições sucessivas, efetuadas sob as mesmas condições em um período curto. **ii) Precisão intermediária:** Grau de concordância entre várias medições efetuadas sob as mesmas condições, porém em dias diferentes, com equipamentos diferentes ou por outros analistas. **iii) Reprodutibilidade:** Grau de concordância entre os resultados obtidos para uma determinada análise realizada por laboratórios diferentes, mas seguindo a mesma metodologia (ANVISA, 2017).

Limite de detecção (LD)

O limite de detecção (LD) é a concentração mais baixa para qual um determinado analito pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado. A determinação deste parâmetro pode ser obtida através de método visual, da razão sinal-ruído, seguindo os parâmetros da curva de calibração ou determinação do branco, obedecendo as particularidades do processo analítico em estudo (SANTE/12682/2019, 2019).

Limite de quantificação (LQ)

Já o limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser quantificada no experimento, determinada com precisão e exatidão que obedeçam às condições experimentais estabelecidas (SANTE/12682/2019, 2019). Assim, quanto menor o LQ, melhor o resultado do experimento.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma revisão de literatura sistemática sobre a metodologia QuEChERS, analisando qual o melhor solvente extrator e qual a variação do método mais utilizada na quantificação de antibióticos em leite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A revisão seguiu os procedimentos de revisão sistemática estabelecidos pelos itens de Relatório Preferenciais para a Revisão Sistemática e Meta-Análises (PRISMA), no qual todo o processo de seleção foi feito a partir do PRISMA 2020, utilizando o Fluxograma para novas revisões sistemáticas.

A revisão sistemática foi conduzida por três revisores, para se tenha a minimização do risco de viés, ou seja, minimização de erro sistemático que pode ser introduzido em qualquer etapa do estudo, levando a distorções no resultado. A pergunta a ser respondida pelo estudo foi: Qual a variação do método QuEChERS mais utilizada, e qual o solvente mais utilizado para a extração de antibióticos em leite. A partir da pergunta foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão.

4.1 Estratégia de Busca completa

4.1.1 Localização dos Estudos

As buscas foram realizadas nas bases de dados Science Direct, PubMed, Capes periódicos e Springer Link. Para a estratégia de busca foi utilizado descritores relacionados a metodologia, antibiótico e a matriz leite. O grupo de descritores foram adaptados para cada base de dados, combinados por meio do operador booleano “AND”, entre cada termo.

Para aumentar a possibilidade de resultados foram feitas diversas buscas utilizando palavras variadas, mas que tenham o mesmo objetivo, ou seja, sinônimos. Em cada base de dados foi utilizado diferentes estratégias para aumentar a possibilidade de trabalhos encontrados, e a redução de aparecer trabalhos repetidos. Assim em cada base de dados se utilizou estratégias (Tabela 12).

Tabela 12- Estratégias de busca.

Base de Dados	Estratégia
Science Direct	QuEChERS AND milk AND antibiotic QuEChERS AND bovine milk AND antibiotic QuEChERS AND dairy AND antibiotic Miniaturized QuEChERS AND food AND antibiotic
Revista TrAC Trends in Analytical Chemistry (Science Direct)	QuEChERS
PubMed	QuEChERS AND milk QuEChERS in food AND antibiotic AND milk Method QuEChERS AND antibiotic AND milk Food AND antibiotic residues AND QuEChERS Miniaturized QuEChERS
Springer Link	QuEChERS AND milk AND antibiotic Miniaturized QuEChERS AND milk AND antibiotics
Periódico CAPES	QuEChERS AND milk AND antibiotic Miniaturized QuEChERS

Observa-se que a revista *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, foi a única incluída na pesquisa, isso acontece pois dentre as revistas incluídas na base de dados Science Direct, é a que apresentou maiores resultados relacionados ao interesse da pesquisa.

4.2 Critérios de Inclusão

Foram incluídos os estudos publicados entre os anos 2003 (ano da inserção da técnica) e 2021, que apresentaram a metodologia para a detecção e quantificação de quaisquer classes de antibióticos, e nos quais fosse verificado a metodologia QuEChERS como o método de preparo de amostra, indicando o emprego do método, verificado no resumo, material e métodos. Foram incluídos artigos de pesquisa na língua inglesa. Os estudos incluídos poderiam aplicar a metodologia QuEChERS em medicamentos veterinários, no entanto, imprescindível que os dentre as classes dos medicamentos tivesse antibióticos.

4.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos anais de conferências, resumos de congresso, relatos de casos, capítulos de livro, enciclopédia, pois o objetivo principal é a busca de trabalhos primários e experimentais. Além destes, não foram incluídos estudos usando aplicação da metodologia QuEChERS em outras matrizes como mel, tecidos de animais, peixes, ração, solo, suínos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção dos Estudos

Um total de 1201 estudos foram encontrados nas bases de dados por meio do uso das estratégias de busca. Desse total de 1201, 794 estudos foram encontrados no Science Direct; 177 estudos encontrados no PubMed; 120 estudos nos periódicos Capes e 110 estudos no Springer Link. Inicialmente, foram removidos 22 estudos duplicados e 9 estudos sem acesso, além destes, 1103 estudos foram removidos por não se encaixarem nos critérios de inclusão, totalizando 1134 estudos removidos; totalizando 67 estudos incluídos nos registros em triagem, sendo a primeira leitura completa do trabalho.

Após essa primeira leitura na íntegra desses 67 estudos, 48 estudos foram removidos, com a leitura detalhada do texto, percebeu-se que esses trabalhos não tratavam da metodologia QuEChERS como desejado, assim, sobrando 19 estudos. Destes 19 estudos, lidos novamente na íntegra nenhum estudo foi removido, tendo 19 estudos inclusos na revisão.

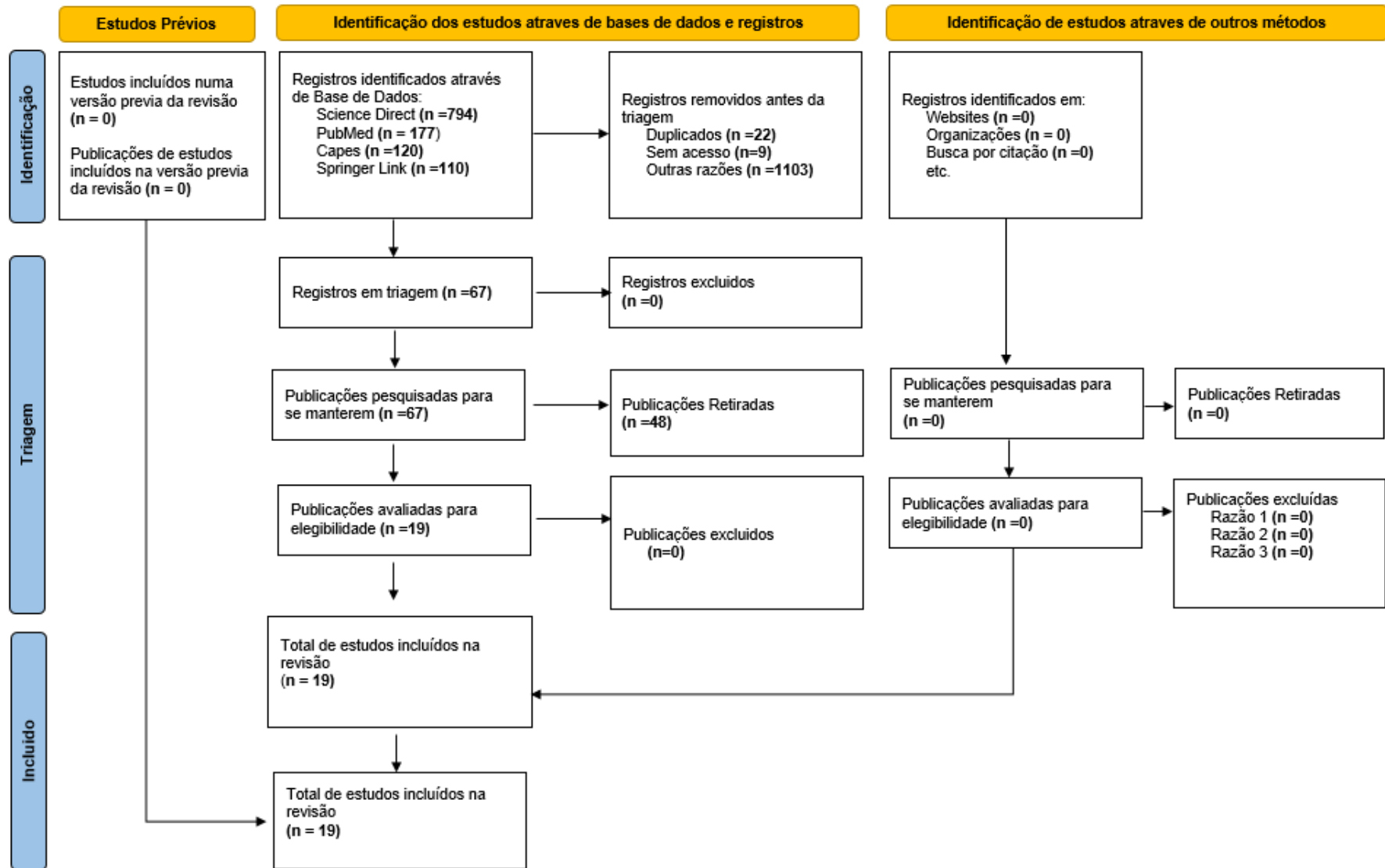
5.2 Estudos excluídos

Foi estabelecido para critérios de elegibilidade, estudos que apresentarem a metodologia QuEChERS para extração e purificação de matrizes quaisquer classes de antibióticos em matriz leite bovina. Essa estratégia foi utilizada na busca dos estudos, através do uso dos descritores específicos, mas mesmo com o uso dos descritores e operador booleano, houve a exibição de estudos que não validavam o critério inicial.

As razões para a exclusão dos estudos durante a seleção foram:

- i) Aplicação da metodologia QuEChERS em outras matrizes, principalmente mel, tecido animal, suínos, ração para animais, leite humano, maricultura, casca de camarão, ou seja, não utilizaram leite de origem animal para testarem o método analítico
- ii) Aplicação da metodologia QuEChERS miniaturizado em outras matrizes como sangue, azeite, nozes, vinho, orégano, tecido muscular, ervas, frutas, hortaliças, crustáceos, água, café e mel
- iii) Quantificação de outras substâncias, os pesticidas /agrotóxicos e outros agentes químicos que não se enquadram ou tivesse a classe de medicamentos antibióticos.

Figura 4- Passos para a seleção dos estudos.

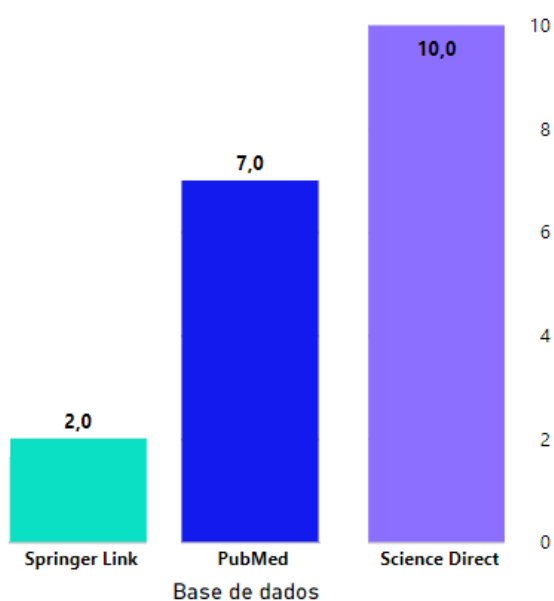


5.3 Características dos estudos

5.3.1 Publicações incluídas na revisão

Foram incluídos na revisão sistemática de literatura 19 estudos à pergunta científica: Qual a variação do método QuEChERS mais utilizada, e qual o solvente mais utilizado para a extração de antibióticos em leite. Observa-se que dentre as bases de dados utilizadas, dois estudos foram selecionados do Springer Link, oito estudos do PubMed, dez estudos do Science Direct e nenhum estudo foi selecionado dos periódicos Capes.

Figura 5- Publicações incluídas na revisão, encontradas em suas respectivas bases de dados.



5.3.2 Classes de antibióticos relatados nos estudos encontrados

Dentre as classes de antibióticos, as que mais foram observadas nos estudos foram os Beta-lactâmicos, Sulfonamidas, Macrolídeos, Tetraciclina e Quinolonas. Em relação aos trabalhos selecionados, os países que mais apresentaram estudos foram a China, Brasil, Espanha, seguidos da Polônia, Taiwan, Egito, Líbano e Itália.

Dentre as classes de antibióticos relatados nos estudos incluídos, na China 70,5% dos estudos se concentraram nos Beta-lactâmicos, Sulfonamidas e Macrolídeos; na Espanha 71,7% são relatos com Beta-lactâmicos, Sulfonamidas e Quinolonas, por fim, no Brasil, 66,6% são com Beta-lactâmicos, Sulfonamidas e Macrolídeos. Na Polônia e Taiwan 100% dos estudos se concentraram no Anfenicol; no Egito 100% dos estudos se concentraram na Cefalosporina; o Líbano, os antibióticos relatados em seus estudos são as Quinolona, Sulfonamida, Tetraciclina, e a Itália com Beta-lactâmico, Quinolona e Anfenicol (Tabela 13).

Tabela 13- Países e classes de antibióticos relatados nos estudos avaliados.

Classes de antibióticos	China (%)	Espanha (%)	Brasil (%)	Polônia (%)	Taiwan (%)	Egito (%)	Líbano (%)	Itália (%)
Beta- Lactâmicos	31	16	25	-	-	-	-	33,3
Sulfonamida	27	38	25	-	-	-	33	-
Macrolídeo	14	10	17	-	-	-	-	-
Quinolona	9	18	-	-	-	-	33	33
Aminoglicosídeo	7	1	-	-	-	-	-	-
Tetraciclina	6	12	8	-	-	-	33	-
Anfenicol	4	3	8	100	100	-	-	33
Cefalosporina	-	-	-	-	-	100	-	-

Os dados indicam que as famílias de maior presença nos estudos foram os Beta-lactâmicos, as Sulfonamidas e os Macrolídeos. Em artigo recente, Virto *et al* (2022) indica, também que estas famílias são bastante estudadas nos estudos ao redor do mundo, principalmente os Beta-lactâmicos e Sulfonamidas, devido sua presença em forma de resíduos em amostras de leite.

A demanda por alimentos é crescente, em especial o leite e derivados. Neste setor o uso de antimicrobianos para garantia da saúde animal, também se elevará, principalmente países como do BRICS (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) (Wall *et al.*, 2016). Relatos científicos indicam que a Ásia é o continente de maior consumo de antibióticos veterinários, principalmente Índia, Tailândia, Coreia do Sul e China (Mulchandani *et al.*, 2023). Até 2030 o consumo de antimicrobianos na Ásia está projetado para representar cerca de 82% do consumo global, sendo a China a maior produtora e comercializadora, com produção de cerca de 210 mil toneladas de antibióticos anualmente em 2030 (Yang *et al.*, 2019).

Em função da importância do consumo de leite e derivados para o desenvolvimento humano, a China mostrou elevação do consumo (Zhang *et al.*, 2020). Nesta dinâmica, a vigilância é essencial no controle e prevenção de perigos alimentares. O sistema de monitoramento para a garantia da qualidade dos produtos lácteos foi bem estabelecido por muitos países (Codex Alimentarius, 2018; Comissão Europeia, 2010; Health Canada, 2017).

Na China os regulamentos sobre a administração de antibióticos humano e animal, têm longo histórico e atualizações constantes (China Agricultura Press, 2020), mesmo assim, ainda são considerados poucos. Esta política visa mitigar o consumo de antibióticos no setor pecuário, que, em função do uso e manejo indevido de antibióticos, impulsionou a disseminação antimicrobiana na China (Lu *et al.*, 2021). Dessa forma, este conjunto de políticas visa maior controle de resistência antimicrobiana (Zeng *et al.*, 2017; Xiao e Li, 2016).

Internacionalmente, o parâmetro sobre a regulamentação de alimentos é o *Codex Alimentarius*, programa conjunto entre a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS), instituído em 1963, com função de proteção da saúde populacional em face da ameaça provocada pelos resíduos e contaminantes presentes nos alimentos (FAO/WHO, 2017). Considerando a União Europeia (UE) como um dos maiores parceiros do Brasil no comércio internacional de alimentos, é importante que os programas nacionais de monitoramento considerem também os valores de Limite Máximo Residual dispostos no Regulamento da Comissão Europeia nº 37 de 2010 (European Commission, 2010) para as substâncias farmacologicamente ativas em diferentes matrizes de origem animal, atendendo assim as exigências do bloco econômico em relação aos resíduos em produtos de origem animal (Mauricio, Lins e Alvarenga, 2009).

No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é o órgão responsável por estabelecer os limites máximos de resíduos em alimentos, seja de medicamentos veterinários, agrotóxicos, contaminantes e aditivos. Para o controle de resíduos de medicamentos de uso veterinário, o Ministério da Saúde, por meio da ANVISA, criou o Programa de Análises de Resíduos de Medicamentos Veterinários (PAMVet) (ANVISA, 2003), iniciado em 2002, e oficialmente instituído pela RDC nº 253, de 16 de setembro de 2003, com propósito de avaliar os riscos do consumo de alimentos provenientes de animais com uso de medicamentos veterinários (Brasil, 2020).

Por sua vez, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), atuando no controle e a vigilância dos resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal, criou o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCR), plano, instituído pela Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999, que regulamenta os procedimentos para o monitoramento e a investigação dos níveis de resíduos e contaminantes nos setores de alimentos de origem animal (Brasil, 2020).

É notório grande contribuição da comunidade científica brasileira, com a busca pela relação do perfil e a evolução da resistência antimicrobiana de diversos animais e alimentos, juntamente ao monitoramento da legislação Brasileira frente ao cumprimento das práticas voltadas a redução da resistência antimicrobiana, há o estabelecimento de regulamentações legais um maior rigor quanto ao uso de antibióticos e aditivos para melhor desempenho animal (Rabello *et al.*, 2020). Além disso, protocolos terapêuticos são bastante usados no tratamento de mastite nos rebanhos, com o uso de terapia combinada para todas as classes antimicrobianas (Swinkels *et al.*, 2013; Tomazi; Santos, 2020).

Na Espanha, assim como na União Europeia, os antibióticos não podem ser usados para promover o crescimento animal, tratado apenas com recomendação veterinária, no entanto, níveis extremamente altos de quinolonas são usados na medicina veterinária (European Medicines Agency, 2016). É comum que os medicamentos sejam administrados na prevenção de doenças de rotina, significando a prescrição e seu uso via ração ou água, mesmo que nenhuma doença seja diagnosticada em nenhum animal (European Medicines Agency, 2016).

No período entre 2010 e 2018 as vendas e padrões de vendas de antibióticos na Espanha variavam. De 2010 a 2014 foi observado aumento, mas a partir de 2015 foi observada uma queda, sendo atribuído à adoção do Plano Nacional Espanhol contra a Resistência aos Antibióticos em junho de 2014 (European, 2013). Plano esse que continha estratégias para a promoção do uso adequado, garantindo sistemas eficazes de vigilância e desenvolvimento de educação em saúde. Considerada a legislação espanhola voltada a fiscalização de medicamentos veterinários recente, a sua comunidade científica sempre ficou à frente em pesquisas relacionadas a essa temática, visto a preocupação com a saúde animal e humana.

5.4 Variação da metodologia QuEChERS

Existem três variações da metodologia QuEChERS. Dentre as três variações do método QuEChERS, a versão original é a de maior uso (15 artigos) em relatos científicos de determinação de resíduos de antibióticos em leite, sendo seguido pelo método QuEChERS acetato (3 artigos), e por fim, o Método QuEChERS citrato com 1 artigo (Tabela 14).

Tabela 14- Variações QuEChERS.

Original	Acetato	Citrato
Arroyo-manzanares (2014)	Aguilera-luiz <i>et al.</i> , (2008)	Lombardo-agüí <i>et al.</i> , (2011)
Freitas <i>et al.</i> , (2014)	Zhou <i>et al.</i> , (2018)	
Sniegocki (2015)	Izzo <i>et al.</i> , (2020)	
Fernandes <i>et al.</i> , (2015)		
Zhang <i>et al.</i> , (2015)		
Dorival-garcía <i>et al.</i> , (2016)		
Liu (2016)		
Tian <i>et al.</i> , (2016)		
Liu <i>et al.</i> , (2017)		
Zhou <i>et al.</i> , (2017)		
Arias <i>et al.</i> , (2018)		
Rageh <i>et al.</i> , (2019)		
Ji <i>et al.</i> , (2021)		
Jia <i>et al.</i> , (2022)		
Joubrane <i>et al.</i> , (2022)		

A versão original da metodologia QuEChERS, ou seja, a variação sem o efeito tamponante, sem acetato e citrato foi a mais utilizada dentre os autores incluídos neste estudo em relação ao solvente. Parâmetros de validação: taxa de recuperação, limite de detecção, limite de quantificação e precisão foram observados nos trabalhos dos autores incluídos na revisão (Tabela 15).

Tabela 15- Autores incluídos na revisão com seus respectivos parâmetros de validação.

QuEChERS Original	Recuperação (%)	LD	LQ	Precisão (%)
Arroyo-manzanares, 2014	83,6-105	< 2,73 μg^{-1}	3,2-9 μg^{-1}	< 10
Freitas <i>et al.</i> , 2014	85-95	0,0075-1,92 μg^{-1}	0,025-6,4 μg^{-1}	< 11
Sniegocki, 2015	98-103	0,08-0,15 mg/ kg ⁻¹	-	< 20
Fernandes <i>et al.</i> , 2015	60,5-70,5	25 $\mu\text{g/L}$	84 $\mu\text{g/L}$	< 5
Zhang <i>et al.</i> , 2015	73-122	0,03-3,31 $\mu\text{g/kg}$	0,10-17 $\mu\text{g/kg}$.	< 9,61
Dorival-garcía <i>et al.</i> , 2016	96-105	0,0001-0,0006 $\mu\text{g/g}^{-1}$	0,003-0,02 $\mu\text{g/g}^{-1}$	< 7,1
Liu, 2016	96-100	0,2-2 μg	-	< 10
Tian <i>et al.</i> , 2016	61,5-118	0,003-1,57 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	0,01-5,2 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	< 11,5
Liu <i>et al.</i> , 2017	70,5-98	0,02-0,045 $\mu\text{g/g}^1$	-	< 20
Zhou <i>et al.</i> , 2017	62,2-115	0.30-0.85 $\mu\text{g/kg}$	1.1-4 $\mu\text{g/kg}$	< 15
Arias <i>et al.</i> , 2018	62-125	0,3-17 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	1-50 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	< 17,7
Rageh <i>et al.</i> , 2019	83-116	0,005-0,023 μg	0,00045-0,0005 μg	< 20
Ji <i>et al.</i> , 2021	60,7-120	0,1-3.8 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	0.2-6 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	<7,4
Jia <i>et al.</i> , 2022	51,2-130	0,01-1 $\mu\text{g/kg}$	0,05-5 $\mu\text{g/kg}$	< 19,86
Joubrane <i>et al.</i> , 2022	62-98	-	5 $\mu\text{g/kg}^{-1}$	<14,72
QuEChERS acetato				
Aguilera-luiz <i>et al.</i> , 2008	70-110	1-4 $\mu\text{g/kg}$	3-10 $\mu\text{g/kg}$	< 13,36
Zhou <i>et al.</i> , 2018	70-105	-	0,01 g/kg-31 g/ kg	< 14
Izzo <i>et al.</i> , 2020	72-93	0,001-0,01 ng/mL	0,005-0,03 ng/mL	<20
QuEChERS Citrato				
Lombardo-agüí <i>et al.</i> , 2011	94,6	0,4-6 $\mu\text{g/kg}$	1,4-20 $\mu\text{g/kg}$	< 9, 27

Em relação aos trabalhos utilizando a metodologia QuEChERS original, dentre os 15 autores, 1 autor não apresentou taxas de recuperação dentro da faixa determinada como ideal (entre 70 e 120%), com sua taxa de recuperação abaixo desse valor. 5 autores apresentando taxa de recuperação menor que 70%, mas com a recuperação máxima dentro do limite máximo de 120% (Tian *et al.*,2016; Zhou *et al.*, 2017; Arias *et al.*,2018; Ji *et al.*, 2012; Joubrane *et al.*,2022). Já os autores que utilizaram a metodologia QuEChERS acetato e citrato, obtiveram a taxa de recuperação dentro da faixa ideal.

Menores limites de quantificação (LQ), melhor é o resultado do método. Os menores valores encontrados foram em autores que fizeram o uso da metodologia QuEChERS original, significando que a menor concentração do composto pode ser determinada com nível aceitável de exatidão e precisão. Assim como o limite de detecção, os autores que apresentaram menor limite de detecção foram os autores da metodologia QuEChERS original, ou seja, técnica que se mostrou com boa detecção de analitos em quantidades mínimas.

A precisão de um método analítico expressa a proximidade do acordo entre diversas medidas obtidas de múltiplas amostragens da mesma amostra, ou seja, melhor a sua reprodutibilidade. Dentre os resultados obtidos na tabela e seu valor ideal menor que 20%, todas as variações QuEChERS apresentaram valores dentro a faixa ideal. A água é o constituinte quantitativo mais importante e mais abundante na matriz leite, formada por ligações covalente entre oxigênio e hidrogênio, quanto maior sua polarização, maior a quantidade de moléculas de água em interação (Park *et al.*, 2007).

A molécula de água é destaque em relação a ligações de hidrogênio/ponte de hidrogênio, sendo uma ligação entre a própria molécula de água ou em outra molécula presente (Keutsch *et al.*, 2001; Bond 2021).

Para que uma ligação de hidrogênio ocorra, é necessário a presença de um doador e acceptor, sendo o doador geralmente eletronegativo e com baixo raio atômico, como o como o nitrogênio (N), oxigênio (O) e flúor (F), e o acceptor positivo. Na água, devido a eletronegatividade do oxigênio, e o hidrogênio apresentando carga positiva, há uma proximidade entre esses átomos, com formação de novas pontes de hidrogênio (Atkins e Jones, 2015).

O acetato de sódio é utilizado como tamponante na versão QuEChERS-acetato, apresentando ligações de hidrogênio entre seus íons e a água. Sendo um sal altamente solúvel em água e com sua polaridade, há a formação de interações eletrostáticas entre a extremidade positiva do sódio, com a extremidade negativa da água (Qin *et al.*, 2017).

Nos autores selecionados no estudo, a acetonitrila foi o reagente escolhido dentre todos os autores para sua aplicação na fase de extração, independente da variação do método. A acetonitrila é uma molécula orgânica volátil, sendo um nitrilo com ligação tripla entre carbono e nitrogênio. Seu caráter anfifílico torna a acetonitrila um bom solvente, com boas interações dipolo- dipolo, com forte ligação entre moléculas polares (Cohen *et al.*, 2022).

A solubilidade de qualquer substância é devido a interação entre o solvente e soluto, assim, as forças atrativas do soluto com o solvente deve ser intensa o suficiente para compensar e quebrar as forças da molécula do soluto (Martins; Lopes; De andrade, 2013).

A acetonitrila vem sendo considerada o solvente mais adequado para a extração de uma alta variedade de compostos com ampla faixa de polaridade, devido sua alta miscibilidade e penetração em água. O átomo de nitrogênio é a principal contribuinte para a sua polaridade e eletronegatividade, portanto considerado ótimo extrator quando a matriz possui a água em sua constituição (Qin *et al.*, 2017).

Observa-se que a versão QuEChERS acetato e citrato, são usadas como tamponantes, ambas utilizam a acetonitrila, mas com adição sais para melhor estabilidade de pH. A versão QuEChERS original desempenha melhor extração, taxas de recuperação, limite de quantificação e precisão, mesmo sem a presença de agentes tamponante em sua metodologia.

Em relação à metodologia QuEChERS, é importante citar que a solubilidade entre o solvente, matriz e substâncias de interesse é fundamental, visto que para análise cromatográfica, a alíquota final é a substância orgânica, com a presença mínima de interferentes como ceras, gorduras, pigmentos, e com a presença dos antibióticos, para análise quantitativa. Assim é de fundamental importância um grau de afinidade entre o solvente e classe antibiótica.

Os Beta-lactâmicos são um grupo de antibióticos que apresentam um anel beta-lactâmico ligado ao átomo de carbono e oxigênio por ligação dupla. Os antibioticos são geralmente compostos polares, podendo ter ligações de hidrogênio em suas moléculas, a penicilina é um representando dessa classe, apresentando em sua estrutura a molécula de oxigênio (Katzung; Masters; Trevor, 2017).

A acetonitrila como dito, é um solvente de características anfifílicas, permitindo a interação com os antibióticos pela ligação de hidrogênio. Quando esse solvente é adicionando ao leite, os antibióticos presentes na matriz são extraídos e dissolvidos na acetonitrila, formando uma solução. Nesse processo as ligações de hidrogênio entre os

antibióticos e solvente podem aumentar a interação molecular, melhorando a eficiência da extração (Qin *et al.*, 2017).

Outro grupo de antibióticos encontrado nos trabalhos selecionados foram as sulfonamidas. Grupo este que possui átomo de enxofre ligado a dois átomos de oxigênio e ligação com nitrogênio. Com a presença de oxigênio em sua estrutura percebe-se a possibilidade de interação com a molécula de água da matriz leite, e maior facilidade de extração do antibiótico pelo solvente extrator (Cohen *et al.*, 2022).

Os macrolídeos, classe de antibióticos, são constituídos por anel macrocíclico de lactona, que se ligam em um ou mais açúcares por ligação glicosídica. São um éster cíclico, de caráter polar, entretanto quando menor sua massa moléculas, maior sua polaridade apolar (Katzung; Masters; Trevor, 2017). Sua estrutura apresenta ligações de oxigênio e carbono, possibilitando a ligação de hidrogênio, interação com a água na matriz leite, consequentemente um processo de extração eficaz pelo solvente (Atkins e Jones, 2015).

As quinolonas são classes antibióticas conhecidas pelos seus anéis hexagonais, átomo de nitrogênio e oxigênio; classificadas de acordo a sua geração, no qual na segunda geração há as fluoroquinolonas, compostas por um átomo de flúor não observado nas outras quinolonas (Katzung; Masters; Trevor, 2017).

A presença de nitrogênio, oxigênio levam a uma possibilidade de interação molecular com os átomos de água. Devido à eletronegatividade presente nas quinolonas, há uma atração para com a molécula da água. Além disso, nas fluoroquinolonas com presença do flúor, considerada a mais eletronegativa, existe interação muito forte, com dipolos acentuados, com necessidade de energia muito alta para o rompimento da ligação com a água, podendo ser extraída pelo solvente extrator (Atkins e Jones, 2015).

6. CONCLUSÃO

Concluimos que os pesquisadores que mais usam metodologia QuEChERS para detecção de resíduos de antibióticos em leite são os chineses, espanhóis e brasileiros; o solvente mais utilizado na fase de extração é a acetonitrila, e que a versão QuEChERS original é a mais utilizada para extração e purificação de amostras com resíduos de antibióticos em leite.

7. REFERÊNCIAS

ADKINS, P. R. F.; MIDDLETON, J. R. Methods for Diagnosing Mastitis. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 479–491, 2018

AGUILERA-LUIZ, M. M. *et al.* Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1205, n. 1–2, p. 10–16, 2008

ANASTASSIADES M, LEHOTAY SJ, STAJNBAHER D, SCHENCK FJ. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2003

ANASTASSIADES M, SCHERBAUM E, TASDELEN B, STAJNBAHER D. Crop protection, public health, environmental safety. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2007

ANNA, B. *et al.* DIRETRIZES METODOLÓGICAS Elaboração de revisão sistemática e metanálise se ensaios clínicos randomizados. Brasília-DF. 2012

ANDRADE-EIROA, A. *et al.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641–654, 2016

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Estabelece critérios para a validação de métodos analíticos. Brasília, 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo- PAMVet-2003.

ARIAS, Jean Lucas de Oliveira *et al.* Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. **Food Chemistry**, v. 240, n. June 2017, p. 1243–1253, 2018

ARROYO-MANZANARES, Natalia; GÁMIZ-GRACIA, Laura; GARCÍA-CAMPAÑA, Ana M. Alternative sample treatments for the determination of sulfonamides in milk by HPLC with fluorescence detection. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 143, p. 459–464, 2014

ASHENAFI, D.; HOOGMARTENS, J.; ADAMS, E. An improved liquid chromatographic method for the analysis of tylosin and its impurities. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 19, p. 2631–2638, 2011.

ATKINS, P. W.; e JONES L. L., 2015. **Princípios de Química- Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**, Artmed Ed.Ltda, Porto Alegre (RS), 2015

BACANH, M.; BASARAN, N. Importance of antibiotic residues in animal food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 125, p. 462–466, 2019

- BALEHEGN, M. et al. Animal-sourced foods for improved cognitive development. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 4, p. 50–57, 2019.
- BANDEIRA, D. D. et al. DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN BOVINE MILK USING A MODIFIED QuEChERS METHOD AND GC-MS/MS. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 900–907, 2014
- BARKER, S. A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, n. 1–2, p. 63–68, 2000
- BECKER G. Multi method for simultaneous detection of 75 plant treatment preparations on plant material. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 1979
- BECKER G. Simultaneous gas chromatographic determination of chlorinated hydrocarbons and phosphates in plant material. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 1971
- BEECHER HK. " **The Powerful Placebo**". *JAMA*. 1955 Dec
- BEYENE, T. Veterinary Drug Residues in Food-animal Products: Its Risk Factors and Potential Effects on Public Health. **Journal of Veterinary Science & Technology**, v. 07, n. 01, 2016
- BOGIALLI, S.; CURINI, R.; DI CORCIA, A.; LAGANÀ, A.; MELE, M.; NAZZARI, M.; J. *Chromatogr. A* 2005
- BOND, H. Chapter 1: Hydrogen Bond - Definitions, Criteria of Existence and Various Types. v. 2021-January
- BOOTH A. The literature review: its role within research. In Booth A, Sutton A, Papaioannou D. **Systematic approaches to a successful literature review**. Los Angeles: Sage; 2016
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados/ Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 92– (Série A: Normas e Manuais Técnicos)
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2021
- CAMEL V. Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Journal of Chromatography A* 1998
- CASANOVA JA. Use of solid-phase extraction disks for analysis of moderately polar and non polar pesticides in high-moisture foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1996

CARVALHO, I. T., & SANTOS, L. (2016). Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. **Environment International**

CÁSSIA, A. N. A.; AGUIAR, R. D. E. Universidade Estadual de Montes Claros: Composição e processamento do leite de vacas f1 (holandês / zebu) alimentadas com diferentes fontes. v. 1, 2014.

CIRIBELLI, Marilda Corrêa. PROJETO DE PESQUISA UM INSTRUMENTAL DA PESQUISA CIENTÍFICA. 2000

COGO, F. D. **revisão sistemática e meta-análise Introdução à revisão sistemática e meta-análise.**2020

COHEN, S. R. et al. Structure and dynamics of acetonitrile: Molecular simulation and neutron scattering. **Journal of Molecular Liquids**, v. 348, p. 118423, 2022

Colquhoun HL, Levac D, O'Brien KK, Straus S, Tricco AC, Perrier L, Kastner M, Moher D. **Scoping reviews: time for clarity in definition, methods, and reporting.** J Clin Epidemiol. 2014

Correia M, Delerue-Matos C, Alves A. Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry 2001

DARWISH, W. S. et al. Antibiotic residues in food: The African scenario. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. SUPPL., 2013

DI, K. N. et al. Antibiotic usage and resistance in animal production in Vietnam: a review of existing literature. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 3, p. 1–11, 2021

DOBRANIC, V.; NJARI, B.; SAMARDZIJA, M.; MIOKOVIC, B.; RESANOVIC, R. The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. J. the Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, n. 3, v. 78, p. 235-242, 2008

DORIVAL-GARCÍA, Noemí *et al.* Simultaneous determination of quinolone and β -lactam residues in raw cow milk samples using ultrasound-assisted extraction and dispersive-SPE prior to UHPLC-MS/MS analysis. **Food Control**, [s. l.], v. 60, p. 382–393, 2016

DOS SANTOS, D. M. et al. Multiresidue determination and predicted risk assessment of contaminants of emerging concern in marine sediments from the vicinities of submarine sewage outfalls. Marine Pollution Bulletin, v. 129, n. 1, p. 299–307, 2018

DUBUGRAS, M. **Revisão sistemática como ferramenta da avaliação de riscos microbiológicos.** Anvisa, 2009

DUGAN, C. E.; FERNANDEZ, M. L. Effects of dairy on metabolic syndrome parameters: A review. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 87, n. 2, p. 135–147, 2014

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation EU/37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union, L15, p. 1-72, Jan. 2010.

European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2016. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 29 European countries in 2014'. (EMA/61769/2016).

FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission. Codex Alimentarius International Food Standards 2017

FEATHERSTONE RM, DRYDEN DM, FOISY M, GUISE JM, MITCHELL MD, PAYNTER RA, ROBINSON KA, UMSCHIED CA, HARTLING L. Advancing knowledge of rapid reviews: an analysis of results, conclusions and recommendations from published review articles examining rapid reviews. *Syst Rev*. 2015

FERNANDES, Flávio Cesar Bedatty *et al*. Screening and determination of sulphonamide residues in bovine milk samples using a flow injection system. **Food Chemistry**, v. 166, p. 309–315, 2015

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATIONS OF THE UNITED NATIONS – FAO DATABASE.

FREITAS, S. K. B.; PAIM, A. P. S.; DE SOUZA E SILVA, P. T. Development of a LC-IT-TOF MS Procedure to Quantify Veterinary Drug Residues in Milk Employing a QuEChERS Approach. *Food Analytical Methods*, v. 7, n. 1, p. 39–46, 2014.

FULGONI, V. et al. Nutrients from dairy foods are difficult to replace in diets of Americans: food pattern modeling and analyses of the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2006. **Nutrition Research**, v. 31, p. 759–765, 2011

GALVÃO CM, SAWADA NO, TREVISAN MA. Revisão sistemática: recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da Enfermagem. *Rev Latino-am Enferm*. 2004

GALVÃO, M. C. B.; RICARTE, I. L. M. Systematic literature review: concept, production and publication. *Logeion: Filosofia da Informação*, v. 6, n. 1, p. 57–73, 2019

GELASAKIS, A. I. et al. Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low-input dairy goat herds. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3698–3708, 2016

GILLINGS, M. R. Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome, and microbial pangenome. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. JAN, p. 1–10, 2013

GIZAW, Z. Public health risks related to food safety issues in the food market: A systematic literature review. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 24, n. 1, p. 1–21, 2019

GONZÁLEZ-CURBELO, M. et al. Evolution and applications of the QuEChERS method. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 169–185, 2015

GONZÁLEZ, R. R.; LUIZ, M. M. A.; BOLANOS, P. P.; FRENICH, A. G.; VIDAL J. L. M.; J. Chromatogr. A 2011, 1218, 9353.

GRANT MJ, BOOTH A. A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies. Health Info Libr J. 2009 Jun 1;26(2):91-108.

GRENNI, P.; ANCONA, V.; CARACCIOLO, A. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. **Microchemical Journal**, v. 136, p. 25–39, 2018.

HASSAN, M. M. et al. Residual antimicrobial agents in food originating from animals. **Trends in Food Science and Technology**, v. 111, n. August 2020, p. 141–150, 2021.

HEADEY, D.; HIRVONEN, K.; HODDINOTT, J. Animal sourced foods and child stunting. **American Journal of Agricultural Economics**, v. 100, n. 5, p. 1302–1319, 2018.

HERRERO, M. et al. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2495–2511, 2010.

HOGVEEN, H.; HUIJPS, K.; LAM, T. J. G. M. Economic aspects of mastitis: New developments. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 59, n. 1, p. 16–23, 2011.

Holstege DM, Scharberg DL, Tor ER, Hart LC, Galey FD. A rapid multiresidue screen for organophosphorus, organochlorine, and N-methyl carbamate insecticides in plant and animal tissues. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1994

HOMEM, V., & SANTOS, L.. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - A review. **Journal of Environmental Management** 92(10), 2304–2347. 2011

HUANG, X.; QIU, N.; YUAN D.; J. Chromatogr. A 2009, 1216, 8240

IZZO, L *et al.* Target analysis and retrospective screening of mycotoxins and pharmacologically active substances in milk using an ultra-high-performance liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry approach. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1250–1260, 2020.

JANK, L.; HOFF, R. B.; TAROUCO, P. C.; BARRETO F.; PIZZOLATO, T. M.; Food Addit. Contam., Part A 2012, 29, 497.

JENSEN, H. B. et al. Distinct composition of bovine milk from Jersey and Holstein-Friesian cows with good, poor, or noncoagulation properties as reflected in protein genetic variants and isoforms. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 6905–6917, 2012.

Ji, BAOCHENG *et al.* Development of a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method based on melamine sponge for multi-residue analysis of veterinary drugs in milks by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1651, 2021.

JIA, Q. et al. Multiclass Comparative Analysis of Veterinary Drugs, Mycotoxins, and Pesticides in Bovine Milk by Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography-Hybrid Quadrupole-Linear Ion Trap Mass Spectrometry. 2022.

- JOUBRANE, KARINE *et al.* Microbiological contamination, antimicrobial residues, and antimicrobial resistance in raw bovine milk in Lebanon. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 134, p. 105455, 2022.
- KATAOKA, H. ET AL. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A of Chromatography**, v. 2, p. 35–62, 2000.
- KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica 13ª edição**. 2017
- KEUTSCH, F. N. AND SAYKALLY, R. J., Proc. Natl. Acad. Sci. 2001, 98, 10533- 10540
- KLIMEK, L. et al. **Allergic reactions to antibiotics** – two sides of the same coin: Clearly diagnose or reliably rule out. **Allergo Journal International**, v. 26, n. 6, p. 212–218, 2017.
- KRISTENSON, E. M.; RAMOS, L.; BRINKMAN, U. A. T. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 96–111, 2006.
- KRUG, F.; ROCHA, F. **Métodos de Preparo de Amostras para análise elementar**. 2019
- Lee SM, Papatthakis ML, Hsiao-Ming CF, Carr JE. Multipesticide residue method for fruits and vegetables: California Department of Food and Agriculture. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry 1991
- LEHOTAY SJ, MASTOVSKA K, LIGHTFIELD AR. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists** 2005.
- LI, Z. et al. Molecularly imprinted solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for determination of N-Nitrosodiphenylamine in water samples. **Chemosphere**, v. 212, p. 872–880, 2018.
- LIU, H. et al. QuEChERS with Magnetic Hydrophilic–Lipophilic Balanced Adsorbent and Its Application in Multi-Class Veterinary Residues in Milk by Ultra High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Chromatographia**, v. 81, n. 2, p. 265–275, 2017.
- LIU, H. Y.; LIN, S. L.; FUH, M. R. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in milk and honey using modified QuEChERS extraction coupled with polymeric monolith-based capillary liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 150, p. 233–239, 2016.
- Ling YC, Teng HC. Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in mussels. **Journal of Chromatography A** 1997
- LOMBARDO-AGÜÍ, Manuel *et al.* Comparison of different sample treatments for the analysis of quinolones in milk by capillary-liquid chromatography with laser induced fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 30, p. 4966–4971, 2011.

LU, G.; CHEN, Q.; LI, Y. Status of antibiotic residues and detection techniques used in Chinese milk: A systematic review based on cross-sectional surveillance data. **Food Research International**, v. 147, 2021.

LUIZ, M. M. A.; VIDAL, J. L. M.; GONZÁLEZ, R. R.; FRENICH, A. G.; J. Chromatogr. A 2008, 1205, 10.

Luke MA, Doose GM. A modification of the Luke multiresidue procedure for low moisture, non fatty products. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 1983

MALIJAN, G. M. et al. A scoping review of antibiotic use practices and drivers of inappropriate antibiotic use in animal farms in WHO Southeast Asia region. **One Health**, v. 15, n. May, 2022.

MANCINI, S. ESTUDOS DE REVISÃO SISTEMÁTICA: UM GUIA PARA SÍNTESE CRITERIOSA DA EVIDÊNCIA CIENTÍFICA. Revista Brasileira de Fisioterapia, p. 1–188, 2007.

MARIANO CARVALHO, Y. Do velho ao novo: a revisão de literatura como método de fazer ciência. **Revista Thema**, v. 16, n. 4, p. 913–928, 2020.

MARTÍNEZ, J. L. Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: The two ages in the evolution of resistance to antimicrobials. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 2010–2012, 2012.

MARTINS JR., H. A.; BUSTILLOS, O. V.; PIRES, M. A.F.; LEBRE, D. T.; WANG, A. Y.; Quim. Nova 2006, 29, 586

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248–1255, 2013.

MAURICIO, A. Q.; LINS, E. S.; ALVARENGA, M. B. A National Residue Control Plan from the analytical perspective - The Brazilian case. *Analytica Chimica Acta*, v. 637, n. 1-2, p. 333-336, abr. 2009

MIGNACCA, S. A. et al. Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* in ewes to treat staphylococcal mastitis. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, n. 12, p. 1798–1810, 2017.

Mills PA, Onley JH, Guither RA. Rapid method for chlorinated pesticide residues in non fatty foods. Journal of the Association of Official Analytical Chemists 1963

Ministério da Agricultura. (2020). Norma nacional de segurança alimentar- Limites máximo de resíduos para medicamentos veterinários em alimentos. China Agricultura Press

Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. 2015 Dec;4(1):1.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principios de Bioquímica de Lehninger**.2014

OKOLI, C.; DUARTE, T. POR:DAVID W. A.; MATTAR, R. TÉCNICA E INTRODUÇÃO:JOÃO. Guia Para Realizar uma Revisão Sistemática de Literatura. v. 9, n. 1, p. 1–40, 2019.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (FAO) Monitorando o Progresso Global no Combate à Resistência Antimicrobiana: Relatório de Análise da Segunda Rodada de Resultados da Pesquisa de Autoavaliação do País AMR 2018. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO); Roma, Itália: Organização Mundial de Saúde Animal (OIE); Paris, França: Organização Mundial da Saúde (OMS); Genebra, Suíça: 2018.

ORTELLI, D.; COGNARD, E.; JAN, P.; EDDER, P.; J. Chromatogr. B 2009, 877, 2363.

PARK, Y. W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1–2, p. 88–113, 2007.

PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R.; CLADERA-OLIVERA, F. **Alimentos de Fennema**. 2010

PENNEY, L.; SMITH, A.; COATES, B.; Wijewickreme, A.; J. AOAC Int. 2005, 88, 645

PRESTES, O. D. et al. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620–1634, 2009.

PRISMA Group. **Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses**. University of Ottawa/Oxford University, 2015.

PRIYASHANTHA, H. et al. Composition and properties of bovine milk: A study from dairy farms in northern Sweden; Part II. Effect of monthly variation. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 8595–8609, 2021.

QIN, Yuhong *et al.* Analysis of sulfonamides, tilmicosin and avermectins residues in typical animal matrices with multi-plug filtration cleanup by liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1053, n. March, p. 27–33, 2017.

RABELLO, R. F. et al. Antimicrobial resistance in farm animals in Brazil: An update overview. **Animals**, v. 10, n. 4, p. 1–43, 2020.

RAGEH, Azza H. *et al.* Hydrophilic-interaction planar chromatography in ultra-sensitive determination of α -aminocephalosporin antibiotics. Application to analysis of cefalexin in goat milk samples using modified QuEChERS extraction technique. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 166, p. 421–434, 2019.

RAZA, N.; KIM, K. H. Quantification techniques for important environmental contaminants in milk and dairy products. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, 2018.

REEVES, P. T. (2011). Antibiotics: Groups and Properties. **Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food**

- REZAEI, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1–2, p. 1–9, 2006.
- RIDGWAY, K.; LALLJIE, S. P. D.; SMITH, R. M. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, n. 1–2, p. 36–53, 2007.
- ROEVER, L. Guia Prático de Revisão Sistemática e Metanálise. **Thieme Revinter**, 2020.
- RODRIGUES, A. L. et al. composição , contagem de células somáticas do leite e hormônios de vacas criadas em sistema biodinâmico *. v. 36, n. 2, p. 174–182, 2014.
- ROY, D. et al. Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk From Different Species—A Review. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, n. October, p. 1–17, 2020.
- RUIZ, J.; PRIEGO, F. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after dynamic ultrasound-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1045, n. 1–2, p. 203–210, 2004.
- SACHI, S. et al. Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 3, p. 315–332, 2019.
- SANTANA-MAYOR, Á. et al. Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 214–235, 2019.
- SANTE/12682/2019. Guidance document on analytical quality control and method validation for pesticide residues analysis in food and feed. **Safety of the Food Chain Pesticides and Biocides. European Commission**, p. 1–48, 2019.
- SANTOS, L. G. C. et al. Chemical composition of bovine milk from minas gerais state, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 282, n. 2, p. 493–496, 2009.
- SARGEANT JM, AMEZCUA MDR, RAJIC A, WADDELL L. A Guide to conducting systematic reviews in agri-food public health. **Food Safety Research and Response Network**, 2005.
- Schenck FJ, Callery PS, Gannett PM, Daft JR, Lehotay SJ. Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticide extracts of foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2002
- Specht W, Pelz S, Gilsbach W. Gas-chromatographic determination of pesticide residues after clean-up by gel-permeation chromatography and mini-silica gel chromatography. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1995
- SIDDAWAY, A. P.; WOOD, A. M.; HEDGES, L. V. How to do a systematic review: a best practice guide for conducting and reporting narrative reviews, meta-analyses, and metasyntheses. **Annual Review of Psychology**, v. 70, n. 1, p. 747–770, 2019.

- SINGER, R. S. et al. Raising Animals Without Antibiotics: U.S. Producer and Veterinarian Experiences and Opinions. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. December, p. 1–13, 2019.
- SLOB, N.; CATAL, C.; KASSAHUN, A. Application of machine learning to improve dairy farm management: A systematic literature review. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 187, n. November 2020, p. 105237, 2021.
- SNIEGOCKI, Tomasz; GBYLIK-SIKORSKA, Malgorzata; POSYNIAK, Andrzej. Transfer of chloramphenicol from milk to commercial dairy products - Experimental proof. **Food Control**, [s. l.], v. 57, p. 411–418, 2015.
- SPINOSA, H. DE S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 2011
- SYNDER, L.R., KIRKLAND, J., “Introduction to Modern Liquid Chromatography “, 3rd Ed., Wiley, 2009.
- Swinkels, J.M., Cox, P., Schukken, Y.H., Lam, T.J., 2013. Efficacy of extended cefquinome treatment of clinical Staphylococcus aureus mastitis. *J. Dairy Sci.* 96, 4983–4992
- TAMAYO, F. G. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: Recent developments and future trends. **Journal of Chromatography A**, v. 1152, n. 1–2, p. 32–40, 2007.
- TANAKA, S. et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 80–87, 2009.
- TIAN, He *et al.* Quantitative multiresidue analysis of antibiotics in milk and milk powder by ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1033–1034, p. 172–179, 2016.
- TOMAZI, T.; DOS SANTOS, M. V. Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, n. April 2019, p. 104937, 2020.
- TURNIPSEED, S. B.; STOREY, J. M.; CLARK, S. B.; MILLER, K. E.; *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 7569
- VAN BOECKEL, Thomas . P. *et al.* Reducing antimicrobial use in food animals. **Science**, v. 357, n. 6358, p. 1350–1352, 2017.
- Virto, M.; Santamarina-García, G.; Amores, G.; Hernández, I. Antibiotics in Dairy Production: Where Is the Problem? *Dairy* 2022, 3, 541–564.
- Wall BA, Mateus A., Marshall L., Pfeiffer D., Lubroth J., Ormel HJ, Otto P., Patriarchi A., Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) Drivers, Dynamics and Epidemiology of *Antimicrobial Resistência na Produção Animal*. Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO); Roma, Itália: 2016

Wang, X., Du, Y., & Ma, J. (2016). Novel synthesis of carbon spheres supported nanoscale zero-valent iron for removal of metronidazole. **Applied Surface Science**,

WHO guidelines for indoor air quality: household fuel combustion. Geneva: **World Health Organization**; 2014

YOU, Y.; SILBERGELD, E. K. Learning from agriculture: Understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. JUN, p. 1–10, 2014.

Xiao, Y., & Li, L. (2016). China's national plan to combat antimicrobial resistance. *Lancet Infectious Diseases*, 16(11), 1216–1218. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)30388-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30388-7)

Yang, H., Paruch, L., Chen, X., van Eerde, A., Skomedal, H., Wang, Y., ... Liu Clarke, J. (2019). Antibiotic Application and Resistance in Swine Production in China: Current Situation and Future Perspectives. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 136. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00136>

Zeng, Z., Yang, F., & Wang, L. (2017). Veterinary Drug Residues in China: Science, Technology, Management and Regulation. In *Food chemistry* (pp. 219–235). John Wiley & Sons Ltd

ZHANG, Yaqian *et al.* Multi-class, multi-residue analysis of trace veterinary drugs in milk by rapid screening and quantification using ultra-performance liquid chromatography-Quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 8433–8444, 2015.

Zhang, W., Yu, Z., Ho, H., Wang, J., Wang, Y., Fan, R., & Han, R. (2020). Analysis of Veterinary Drug Residues in Pasteurized Milk Samples in Chinese Milk Bars. *Journal of Food Protection*, 83(2), 204–210

ZHOU, Jian *et al.* Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk. **Journal of Chromatography A**, v. 1532, p. 20–29, 2018

ZHOU, Weie *et al.* Simultaneous determination of 16 macrolide antibiotics and 4 metabolites in milk by using Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe extraction (QuEChERS) and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1061–1062, n. July, p. 411–420, 2017