

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MORANGOS E SUA  
REDUÇÃO POR LAVAGEM COM ÁGUA E  
ESTOCAGEM EM GELADEIRA (5°C)

Parceira  
Este exemplar corresponde a redação final  
da tese defendida por Jorge José do Vale Oli-  
veira e aprovada pela Comissão Julgadora  
em 28/10/93.

CAMPINAS - 1993

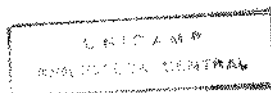
M. Aurora de F. Toledo

JORGE JOSÉ DO VALE OLIVEIRA *JK*  
Químico

ORIENTADORA:

Prof<sup>a</sup>. Dra. MARIA CECÍLIA DE FIGUEIREDO *TOLEDO*

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos  
da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do  
título de Mestre em Ciência de Alimentos.



BANCA EXAMINADORA

*M. Maria C. F. Toledo*

---

Prof<sup>a</sup>. Dra Maria Cecília de Figueiredo Toledo  
(orientadora)

*Waldemar F. de Almeida*

---

Prof. Dr. Waldemar F. de Almeida  
(membro)

*Lúcia Maria V. Soares*

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Lúcia Maria V. Soares  
(membro)

*Suplente*

---

Prof. Dr. Felix Guilherme R. Reyes  
(membro)

Campinas, 28 de Outubro de 1993

A mãe Elvira - um exemplo  
inesquecível de amor  
e dignidade. Minha eterna  
gratidão.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A professora Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo pela orientação, perseverança, paciência e zelo durante a orientação deste trabalho.

Aos professores Dr. Waldemar F. de Almeida, Dra. Lúcia Soares Valente e Dr. Felix Guilherme R. Reyes pelas sugestões valiosas.

Ao Dr. Issao Shirose, pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos pela contribuição na análise estatística.

A Dra. Maria Priscilla Vanzetti pela atenção, fineza e apoio no cultivo dos morangos na Estação Experimental.

A Du Pont por ter cedido uma área da Estação Experimental de Paulínia e cultivado os morangos.

Ao Dr. Carlos Alberto Recco pelas sugestões valiosas no delineamento experimental do cultivo do morango na Estação Experimental.

A Edvaldo Luiz Panini pela paciência e cuidado na pulverização criteriosa dos agrotóxicos no morangueiro.

Ao Dr. Mário Antonio de Moraes Biral pelas facilidades na obtenção das amostras na CEASA.

Ao Dr. Antonio Carlos Damasceno pela acolhida e apoio no cultivo dos morangos.

A EMBRAPA, pela bolsa de estudo concedida.

À ABIA, Associação das Indústrias de Alimentos, pelas cópias deste trabalho.

A todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização desta pesquisa.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Regulamentação internacional sobre resíduos de agrotóxicos.....	3
2.2. Aspectos toxicológicos de agrotóxicos aplicados no morangueiro.....	5
2.2.1. Captan.....	5
2.2.2. Clorotalonil.....	7
2.2.3. Dicofol.....	8
2.2.4. Mancozeb.....	9
2.2.5. Endossulfan.....	13
2.3. Resíduos de Agrotóxicos em Frutas "in natura".....	15
2.3.1. Remoção de resíduos de Agrotóxicos por lavagem com água.....	15
A - Organoclorados.....	16
DDT.....	16
Aldrin (Dieldrin).....	17
BHC.....	18

B - Organofosforados.....	18
Paration.....	18
Malation.....	19
Diazinon.....	20
Morestan.....	20
C - Herbicidas.....	20
CIPC, IPC.....	20
D - Fungicidas.....	20
Captan.....	20
Benomil.....	21
E - Ditiocarbamatos.....	21
Mancozeb.....	21
Zineb, Maneb.....	21
2.3.2. Efeitos da estocagem à baixa temperatura sobre os resíduos de agrotóxicos.....	28
A - Fungicidas.....	29
Captan.....	29
Maneb e Zineb.....	30
B - Herbicidas.....	30
Clortiamide e diclorbenil.....	30
Dalapon.....	30
IPC, CIPC.....	31
C - Organoclorados.....	31
DDT.....	31
D - Organofosforados.....	32
Bidrin.....	32
Clorfenvinfós.....	32
Diclorvos.....	32
Malation.....	33
Mevinfós.....	34
Paration.....	34
Tetraclorvinfós.....	35

E - Outros Agrotóxicos.....	35
Carbaril.....	35
Metomil.....	35
2.4. Métodos de análises.....	44
2.4.1. Determinação de captan, clorotalonil dicofol e endossulfan.....	44
2.4.1.1. Extração.....	44
2.4.1.2. Purificação.....	56
2.4.1.3. Cromatografia gás-líquido (CGL).....	47
2.4.2. Determinação de mancozeb.....	47
2.5. Legislação brasileira de agrotóxicos.....	52
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
3.1. Reagentes.....	56
3.2. Vidrarias.....	57
3.2.1. Tratamento das vidrarias.....	58
3.3. Equipamentos.....	58
3.4. Amostras.....	59
3.4.1. Morangos provenientes da Estação Experimental.....	59
3.4.1.1. Demarcação no campo.....	59
3.4.1.2. Concentrações dos agrotóxicos aplicados no morangueiro.....	59
3.4.1.3. Colheita dos morangos.....	61
3.4.1.4. Amostragem dos morangos na Estação Experimental.....	62
3.4.2. Morangos provenientes da CEASA.....	62
3.4.2.1. Amostragem (coleta).....	62
3.5. Metodologias.....	63
3.5.1. Método de LUKE.....	63
3.5.1.1. Extração e purificação por partição líquido-líquido.....	63
3.5.1.2. "Clean up" do extrato em coluna cromatográfica.....	66



3.5.1.3.	Confirmação dos agrotóxicos nos morangos da CEASA.....	67
3.5.1.4.	Recuperação de captan, dicofol, clorotalonil e endossulfan.....	67
3.5.1.5.	Cálculos para determinação de captan, dicofol, clorotalonil, endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan.....	69
3.5.2.	Método de KEPPEL (1969).....	70
3.5.2.1.	Solução padrão de CS <sub>2</sub> .....	70
3.5.2.2.	Reagente cromogênico.....	70
3.5.2.3.	Curva padrão de CS <sub>2</sub> .....	70
3.5.2.4.	Padrão de mancozeb.....	71
3.5.2.5.	Recuperação de mancozeb.....	71
3.5.2.6.	Procedimento do ensaio.....	71
3.5.2.7.	Cálculos para determinação de mancozeb.....	73
3.6.	Análise estatística.....	74
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4.1.	Método de Multirresíduos de LUKE (1975).....	75
4.2.	Método de KEPPEL (1969).....	78
4.3.	Resíduos de Agrotóxicos nos morangos da Estação Experimental.....	81
4.3.1.	Captan (dose simples e dupla).....	82
4.3.1.1.	Degradação de captan e carência.....	82
4.3.1.2.	Níveis de captan e legislação brasileira.....	84
4.3.1.3.	Efeitos da lavagem.....	84
4.3.1.4.	Efeitos da estocagem.....	86
4.3.2.	Dicofol (dose simples e dupla).....	88
4.3.2.1.	Carência e degradação de dicofol.....	88
4.3.2.2.	Lavagem com água e remoção de dicofol.....	90



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1:	Excreção de etilenotiuréia (ETU) 48 horas após administração de mancozeb C <sup>14</sup> em ratos.....	12
Tabela 2.	Toxicidade oral aguda (DL <sub>50</sub> ) do endossulfan I endossulfan II e sulfato de endossulfan em ratos.....	13
Tabela 3.	Remoção de diferentes agrotóxicos em frutas após lavagem com água.....	22
Tabela 4.	Remoção de agrotóxicos em cereais por lavagem com água.....	25
Tabela 5.	Remoção de agrotóxicos em condimentos por lavagem com água.....	26
Tabela 6.	Remoção de agrotóxicos em verduras por lavagem com água.....	26
Tabela 7.	Remoção de agrotóxicos em folhas por lavagem com água.....	27
Tabela 8.	Estabilidade de vários agrotóxicos em frutas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	36
Tabela 9.	Estabilidade de vários agrotóxicos em cereais estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	39

Tabela 10. Estabilidade de vários agrotóxicos em folhas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	40
Tabela 11. Estabilidade de vários agrotóxicos em raízes estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	41
Tabela 12. Estabilidade de vários agrotóxicos em temperos estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	42
Tabela 13. Estabilidade de vários agrotóxicos em feijões estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	42
Tabela 14. Estabilidade de vários agrotóxicos em bebidas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	43
Tabela 15. Estabilidade de agrotóxicos em aspargo, azeitona e cana-de-açúcar estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos.....	43
Tabela 16. Concentrações dos agrotóxicos aplicados no morangueiro da Estação Experimental.....	61
Tabela 17. Condições cromatográficas, colunas e detectores utilizados para quantificação e confirmação dos resíduos de agrotóxicos nos morangos.....	68
Tabela 18. Recuperação de agrotóxicos em morangos pelo método de LUKE (1975).....	79

Tabela 19. Recuperações do mancozeb em morangos testemunhas.....	80
Tabela 20. Resíduos do agrotóxico captan (mg/kg), dose simples, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	83
Tabela 21. Resíduos do agrotóxico captan (mg/kg), dose dupla, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	83
Tabela 22. Resíduos do agrotóxico dicofol(mg/kg), dose simples, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	89
Tabela 23. Resíduos do agrotóxico dicofol(mg/kg), dose dupla, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	89
Tabela 24. Resíduos do agrotóxico mancozeb (mg/kg), dose simples, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	93

Tabela 25. Resíduos do agrotóxico mancozeb (mg/kg), dose dupla, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).....	93
Tabela 26. Resíduos do agrotóxico captan (mg/kg) nos morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.....	99
Tabela 27. Resíduos do agrotóxico clorotalonil (mg/kg) nos morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.....	102
Tabela 28. Resíduos do agrotóxico endossulfan I endossulfan II e sulfato de endossulfan (mg/kg) em morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.....	104
Tabela 29. Valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA), recomendada pelo JMPR, e de Ingestão Diária Potencial (IDP) estimada para resíduos de agrotóxicos em morango.....	106

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do captan.....	6
Figura 2. Estrutura molecular do clorotalonil.....	7
Figura 3. Estrutura molecular do dicofol.....	8
Figura 4. Estrutura molecular do mancozeb.....	10
Figura 5. Estrutura molecular do endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan.....	14
Figura 6. Aparelho de CLARK et al. (1951).....	48
Figura 7. Aparelho modificado para determinação de EBDCs (LOWEN, 1951).....	49
Figura 8. Aparelhagem com conexões de vidro (PEASE, 1957).....	50
Figura 9. Aparelho para determinação de ditiocarbamato (CULLEN, 1964).....	51
Figura 10. Sistema para determinação de EBDCs (CARVALHO & YOKOMIZO, 1984).....	52
Figura 11. Esquema de plantio dos morangos da Estação Experimental.....	60
Figura 12. Amostragem dos morangos e tratamentos de lavagem e estocagem.....	64

Figura 13. Esquema de extração e "clean up" em cromatografia de coluna de florisil.....	65
Figura 14. Sistema para determinação de mancozeb.....	72
Figura 15. Cromatogramas em colunas: Megabore DB-5 100% polisiloxano (a, a <sub>1</sub> , a <sub>2</sub> ) e 1,5% OV-17/1,95% QF-1 100/120 em supelcoport (b, b <sub>1</sub> , b <sub>2</sub> ), atenuação 16x10.....	77
Figura 16. Eficiência da lavagem com água na remoção de resíduos de captan em morangos.....	85
Figura 17. Efeito da estocagem em geladeira (5° C) sobre os níveis de captan doses simples (A) e dupla (B) em morangos da Estação Experimental com 0, 1, 4 e 7 dias de carências.....	87
Figura 18. Eficiência da lavagem com água na remoção de resíduos de dicofol em morangos.....	91
Figura 19. Efeitos da estocagem em geladeira (5°C) sobre os níveis de mancozeb doses simples (d.s.) e dupla (d.d.) em morangos da Estação Experimental colhidos com diferentes carências.....	95
Figura 20. Número de amostras de morangos com resíduos de agrotóxicos em cada coleta e percentagem no total das coletas.....	100



Figura 21. Efeito da estocagem em geladeira (5°C) sobre os níveis de captan em morangos da CEASA na primeira (1), segunda (2) e terceira (3) coletas.....101

## RESUMO

Em morangos cultivados em estação experimental, foram aplicados, segundo a boa prática agrícola (BPA), os agrotóxicos captan, dicofol e mancozeb em doses simples e dupla. Depois da colheita nos períodos de 0, 1, 4, 7, 14 e 21 dias, determinou-se a concentração residual destes agrotóxicos após lavagem dos morangos por 1 minuto com água corrente de torneira e após sua estocagem durante 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Foram também coletados morangos nas Centrais de Abastecimento de Campinas S/A (CEASA), os quais foram submetidos ao mesmo procedimento de estocagem e lavagem dado aos morangos cultivados em Estação Experimental. Neste caso, foram determinados os resíduos de clorotalonil, endossulfan I, endossulfan II e de sulfato de endossulfan, além de captan, dicofol e mancozeb.

Os métodos utilizados para a análise dos agrotóxicos incluíram espectrofotometria no visível e cromatografia gasosa em colunas megabore e empacotada, utilizando-se detector de captura de elétrons  $Ni^{63}$ .

Nos morangos da estação experimental, a lavagem com água reduziu significativamente os resíduos de captan (20% a 94%), dicofol (10% a 55%) e mancozeb (>90%). A eficiência da remoção dos resíduos de captan e dicofol foi proporcional ao aumento do nível de resíduos presente. Os resíduos dos agrotóxicos analisados, por sua vez, diminuíram com o aumento do período de carência, sendo que o dicofol apresentou maior persistência, permanecendo nos morangos além de 28 dias. Para os morangos coletados na CEASA, a lavagem com água foi efetiva para a remoção de clorotalonil (28% a 83%) e captan (12% a 94%), sendo ineficiente para a remoção de endossulfan.

A estocagem em geladeira resultou na redução dos níveis residuais de captan e mancozeb, sendo que endossulfan, dicofol e clorotalonil mostraram-se estáveis nesta condição.

Dos morangos coletados na CEASA, 26,6% apresentaram resíduos de endossulfan e clorotalonil, proibidos pela legislação; 23,3% apresentaram níveis residuais de captan, porém abaixo da tolerância estabelecida, não sendo detectados resíduos de dicofol e mancozeb dentro do limite de quantificação de 0,01 mg/kg e 0,5 mg/kg, respectivamente. A semelhança entre os níveis de captan nos morangos cultivados na Estação Experimental e naqueles cultivados na CEASA sugere que os agricultores aplicaram este fungicida segundo a boa prática agrícola.

Os resultados indicam que a redução dos resíduos de agrotóxicos em morangos através de sua lavagem com água ou de sua estocagem em geladeira (5°C) depende principalmente do agrotóxico e da sua concentração residual.

## SUMMARY

According to good agricultural practice (GAP), the pesticides captan, dicofol and mancozeb were applied in strawberries cultivated in experimental fields in simple and double doses. At 0, 1, 4, 7, 14 and 21 day post-harvest intervals the residues of these pesticides were determined after the fruits were washed in running tap water for 1 minute and after storage under refrigeration (5°C) for 3 and 7 days.

In another experiment, strawberries were sampled at the Campinas Supply Center (CEASA), and stored and washed similarly to the ones cultivated in experimental fields. In this case, the residues of chlorothalonil, endosulfan I, endosulfan II and endosulfan sulfate were determined, as well as captan, dicofol and mancozeb.

The methodology used for the pesticide analysis included visible spectrophotometry and gas liquid chromatography with an electron capture detector Ni<sup>63</sup> and megabore and packed columns.

For the cultivated strawberries, the water washings significantly reduced the residues of captan (20 to 94%), dicofol (10 to 55%) and mancozeb (>90%). The removal of captan and dicofol residues increased proportionally to the residual concentration of the pesticides. The residues decreased with the increase of the post-harvest interval. Dicofol presented the longest persistence, remaining in the fruits for more than 28 days. The washing of the strawberries from CEASA removed 28 to 83% of chlorothalonil residues and 12 to 94% of captan residues. This treatment did not reduce effectively endosulfan residues.

The storage in refrigerator resulted in decrease of captan and mancozeb residues; endosulfan and chlorothalonil

remained stable under this condition.

Twenty six percent of the strawberries sampled at CEASA contained residues of endosulfan and chlorothalonil, which are not permitted for use in this fruit, and 23,3% contained residues of captan, although at levels, below its tolerance. Dicofol and mancozeb were not detected within the limit of quantification of 0,01 and 0,5 mg/kg, respectively. The similarity between the levels of captan found in the fruits cultivated in the experimental field and those collected at CEASA suggest that the producers applied this pesticide according to GAP.

The results indicate that the decrease of the contamination of strawberries by pesticides through water washing or storage under refrigeration depends mainly on the type of pesticide used and the magnitude of its residues.

## 1. INTRODUÇÃO

Evitando perdas agrícolas da ordem de 30%, os agrotóxicos revelam-se eficazes em grandes e pequenas plantações, assegurando não só culturas isentas de doenças e livres do ataque dos insetos, como tranqüilidade ao produtor na relação positiva de benefício/custo. Assim, enquanto a ciência não apresentar uma outra forma eficiente de combater as pragas nocivas às culturas agrícolas, o emprego de agrotóxicos na agricultura dificilmente poderá ser evitado.

Entretanto, apesar destes benefícios, existe um risco potencial associado à presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos, agravado em função do agricultor nem sempre seguir as recomendações dos receituários agrônômicos, que contêm informações a respeito do emprego de agrotóxicos autorizados por lei e de sua aplicação adequada.

O nível de resíduos de agrotóxicos encontrado numa determinada cultura serve, portanto, de parâmetro de aferição do cultivo segundo a boa prática agrícola. Naturalmente, níveis acima do estabelecido pela legislação significam aplicação de agrotóxico em desacordo com a boa prática agrícola.

Conhecido por sua fragilidade, o morangueiro caracteriza-se como uma cultura susceptível ao ataque de fungos e à deterioração por podridão. Uma maneira de superar estas adversidades e viabilizar economicamente a cultura consiste na aplicação de agrotóxicos. Com esta providência, este problema é atenuado; entretanto, acrescenta-se o risco de haver contaminação do morangueiro, agravado em função da prática comum de se comercializar o morango imediatamente após o uso do agrotóxico.

Com base nesta realidade, existe entre os consumidores a crença de que os morangos disponíveis no comércio estão bastante contaminados com resíduos de agrotóxicos, havendo inclusive pessoas que deixam de consumi-los com receio de uma intoxicação.

Em função destes aspectos e considerando-se o risco potencial que os agrotóxicos representam à saúde humana, os objetivos deste trabalho foram:

- a. verificar os níveis de resíduos de alguns agrotóxicos em morangos comercializados na região de Campinas;
- b. comparar os níveis de resíduos encontrados com aqueles obtidos após aplicação dos agrotóxicos segundo a boa prática agrícola;
- c. avaliar os efeitos da lavagem com água e estocagem em geladeira sobre a remoção e diminuição, respectivamente, dos resíduos de agrotóxicos em morangos.

Entre os agrotóxicos permitidos pela legislação brasileira para serem aplicados no morangueiro, o captan e mancozeb são os mais recomendados. Porém, clorotalonil, dicofol e endossulfan, proibidos pela legislação para este uso, também são ocasionalmente aplicados no morangueiro. Assim, estes cinco agrotóxicos foram escolhidos para sua determinação em morangos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Regulamentação internacional sobre resíduos de agrotóxicos

A FAO (Organização para Alimentos e Agricultura) e a OMS (Organização Mundial de Saúde), ambos organismos internacionais subordinados às Nações Unidas, trabalhando em cooperação mútua, são responsáveis por:

1. avaliação dos dados toxicológicos dos agrotóxicos;
2. recomendação da Ingestão Diária Aceitável (IDA);
3. cálculos do limite de tolerância para alimentos comercializados internacionalmente (VETTORAZZI & RADAELLI-BENVENUTI, 1982).

A OMS possui um grupo de peritos constituído de toxicólogos escolhidos pela própria organização. Este grupo é responsável pela avaliação dos dados toxicológicos de cada pesticida e pelos cálculos da IDA para o homem.

A IDA, expressa em mg/kg de peso corpóreo, é a quantidade de uma substância química que pode ser ingerida diariamente pelo homem por toda a vida, sem risco apreciável a sua saúde, à luz dos conhecimentos toxicológicos disponíveis na época da avaliação (WHO, 1987).

Para se estabelecer um valor de IDA, é necessário uma longa avaliação toxicológica, envolvendo principalmente a tarefa de se determinar um nível sem efeito adverso observável (NOAEL) em animais experimentais. O NOAEL é a quantidade máxima de substância química que pode ser consumida diariamente pelos animais experimentais, sem o desenvolvimento de qualquer efeito adverso, principalmente em estudos por longo prazo.

A FAO também dispõe de um grupo de peritos, integrados por engenheiros agrônomos e químicos. Entretanto, sua tarefa,



diferente daquela da OMS, consiste nos estudos fitossanitários, no levantamento de culturas em que o uso de pesticida é necessário, reunindo os dados disponíveis sobre a quantidade de resíduos remanescente nos alimentos e finalmente, recomendando métodos de análises de resíduos de pesticidas (NUNES, 1989).

Estes dois grupos que formam a Comissão Conjunta sobre Resíduos de Agrotóxicos FAO/OMS (JMPR - Joint Meeting on Pesticide Residue), reúnem-se alternadamente em Roma e Genebra uma vez por ano. Os dados gerados destas reuniões são imediatamente publicados na forma de um relatório (Pesticide residues in food - Report). Estes relatórios são complementados por outra publicação (Pesticides Residues in Foods - Evaluation) contendo um resumo dos estudos toxicológicos, assim como dos estudos sobre resíduos para cada um dos agrotóxicos considerados na reunião. Estes dados são úteis como base para o estabelecimento da legislação internacional, servindo também de subsídio para a legislação de muitos países (REYES & TOLEDO, 1988).

Cada país possui sua legislação própria, não só com tolerâncias ou limites máximos de resíduos diferentes, como também culturas distintas nas quais os pesticidas são aplicados.

Um terceiro organismo internacional, o Codex Alimentarius Mundial, tendo como referência informações da FAO/OMS, estabelece as tolerâncias internacionais através de seu Comitê de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (CCPR) (VETTORAZZI & RADAELLI-BENVENUTI, 1982). Os governos fazem solicitação ao Comitê do Codex e este, por sua vez, estabelece prioritariamente quais agrotóxicos devem ser avaliados pela JMPR.

Devido às condições climáticas envolvendo temperatura, regime de chuva e diferenças nas quatro estações do ano, os resíduos de pesticidas podem variar de uma região para outra,

apesar de serem aplicados segundo a boa prática agrícola.

É de grande importância o estabelecimento de tolerâncias internacionais para orientar o comércio internacional, através da uniformização de conceitos, eliminando dificuldades devido às legislações peculiares de cada país, tornando viável a importação e exportação de gêneros alimentícios.

## 2.2. Aspectos toxicológicos de agrotóxicos aplicados no morangueiro

Entre os agrotóxicos permitidos pela legislação brasileira para uso em morangueiro, o captan e o mancozeb são os mais aplicados. Dos agrotóxicos proibidos para este uso, o clorotalonil, o dicofol e o endossulfan são eventualmente pulverizados no morangueiro.

### 2.2.1. Captan

Introduzido pela Du Pont em 1949, o captan, N-(triclorometiltio)-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximide, é conhecido popularmente como um fungicida foliar não sistêmico, sem nenhuma atividade inseticida ou acaricida. É utilizado em grande escala em frutas, hortaliças, gramados e grãos. Sua solubilidade em água é muito baixa e os resíduos depositados na superfície são, em parte, removidos por lavagem com água. Pertencente ao grupo dos dicarboximide, o captan possui fórmula molecular  $C_9H_8Cl_3NO_2S$  e peso molecular 300,6 (Figura 1) (VETTORAZZI, 1977; WORTHING, 1979).

O captan atua de forma não específica, já que a natureza da reação entre o fungicida e os componentes da célula fúngica não está definitivamente estabelecida. Em geral, acredita-se que os grupos -SH e -SR sejam os sítios ativos (WARE, 1989).

Muitas investigações confirmam que o captan é bem absorvido no trato gastrointestinal e rapidamente metabolizado e excretado do corpo. Não foram verificados efeitos embriotóxicos em macacos rhesus após a administração diária de captan na dose de 75 mg/kg de peso corpóreo, entre o vigésimo primeiro e trigésimo quarto dia de gestação. Estudos de teratogênese em hamsters demonstraram a ocorrência de malformação para doses que causavam mortalidade (VETTORAZZI, 1977).

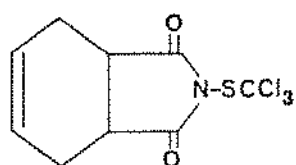


Figura 1. Estrutura molecular do captan.

Estudos prolongados em ratos e camundongos não demonstraram potencial carcinogênico. Apesar de resultados positivos de mutagenicidade terem sido observados em testes rápidos com hospedeiros intermediários, foram obtidos resultados negativos para testes de mutagenicidade em moscas drosophila, expostas a altas doses de captan (VETTORAZZI, 1977).

Nenhum efeito tóxico, até as doses indicadas, foi produzido em: camundongo (1,070 mg/kg de peso corpóreo/dia); ratos (100 mg/kg de peso corpóreo/dia); cachorros (100 mg/kg de peso corpóreo/dia) e macacos (12,5 mg/kg de peso corpóreo/dia) (VETTORAZZI, 1977). A IDA para o homem foi estabelecida pelo JMPR, 1990, em 0,1 mg/kg de peso corpóreo (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1991).

### 2.2.2. Clorotalonil

Clorotalonil, tetracloroisoftalonitrila (IUPAC), também é comumente denominado 2,4,5,6-tetracloro-1,3-benzenodicarbonitrila. Com fórmula molecular  $C_6Cl_4N_2$  e peso molecular 265,9, o fungicida clorotalonil foi introduzido comercialmente como daconil 2787, em 1963, pela Diamond Alkali Co (Figura 2.) (WORTHING, 1979).

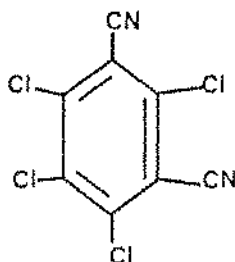


Figura 2. Estrutura molecular do clorotalonil

O principal metabólito do clorotalonil em solo e plantas é o 4-hidroxi-2,5,6-tricloro-1,3-dicarbonitrilo benzeno, embora encontrado em pequenas quantidades na maior parte das culturas investigadas. Trata-se de um fungicida persistente e o nível residual depende de fatores como a quantidade de fungicida aplicado, intervalo de tempo entre a última aplicação e a colheita, peso, área e estrutura superficial da cultura (VETTORAZZI, 1977).

Não foram observados efeitos adversos do clorotalonil sobre a reprodução de cachorros. Testes mutagênicos e teratogênicos foram negativos. Pesquisas de curta e longa duração em ratos e cachorros, com dietas contendo altas concentrações de clorotalonil, demonstraram efeitos tóxicos nos rins, caracterizados microscopicamente como hipertrofia, dilatação e hiperplasia das células epiteliais. Nenhum efeito clínico foi notado, embora algumas patologias renais tenham sido sugeridas

devido ao baixo volume de urina (VETTORAZZI, 1977).

Com relação aos ensaios para determinação da dose sem efeito tóxico observável (NOAEL), o valor determinado para rato e cachorro foi de 3,0 mg/Kg, sendo que a extrapolação dos dados para o homem resultou, segundo o JMPR, numa IDA de 0,03 mg/kg peso corpóreo (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1991).

### 2.2.3. Dicofol

Dicofol, cujo nome segundo IUPAC é 2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil)etanol, apresenta peso molecular 370,5, fórmula molecular  $C_{14}H_9Cl_5O$  (Figura 3) e baixa atividade inseticida. Suas propriedades acaricidas, como agrotóxico não sistêmico, foram descritas pela primeira vez por BARKER & MAUGHAN (1956). Sintetizado pela ROHM & HAAS Co, foi introduzido no comércio em 1955 sob o código FW-293 e nome comercial de kelthane.

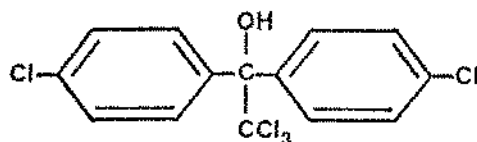


Figura 3. Estrutura molecular do dicofol.

Testes sobre ingestão de dicofol acusaram acúmulo deste composto nos tecidos adiposos dos mamíferos. Foram também encontrados resíduos deste acaricida na glândula tireóide e no

fígado e as ratas tendem a reter mais dicofol do que os machos. Nos ratos o dicofol foi excretado nas fezes e em menor quantidade na urina. Considera-se o diclorobenzofenona como provável metabólito não identificado em pesquisas com animais (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1991; FAO, 1992).

Em estudos de carcinogenicidade durante 78 semanas em camundongo usando concentrações médias de 260 ou 530 ppm na dieta para machos e 120 ou 240 ppm para fêmeas, dicofol produziu nos machos aumento de adenomas e combinação de adenomas/carcinomas no fígado de camundongos. Dicofol não foi carcinogênico em camundongos fêmeas. Também não foi verificada carcinogenicidade em ratos após estudos durante 78 semanas usando concentrações de 470 ou 940 ppm para machos e 380 ou 760 ppm para fêmeas (FAO, 1992).

Em estudos de teratogenese em ratos usando doses de 0, 0, 25, 2,5 ou 25 mg/kg p.c./dia, o NOAEL para toxicidade materna foi 0,25 mg/kg p.c./dia baseado em sinais clínicos de toxicidade a 2,5 mg/kg p.c./dia. O NOAEL para toxicidade embriofetal foi de 25 mg/kg p.c./dia. Efeitos teratogênicos não foram observados nestes estudos (FAO, 1992).

Em estudos a longo prazo com ratos utilizando concentrações de 0, 5, 50 ou 250 ppm na dieta, o NOAEL foi de 5 ppm, equivalente a 0,22 mg/kg p.c./dia. Com base neste dado, a IDA para o homem foi estimada em 0 a 0,002 mg/kg de peso corpóreo (FAO, 1992)

#### 2.2.4. Mancozeb

Mancozeb é um complexo constituído por um sal de zinco e maneb, com a seguinte composição: 20% de manganês m/m e 2,5% de zinco m/m. Pertencente ao grupo dos fungicidas ditiocarbamatos (etilenobis-ditiocarbamatos, EBDC), conhecido como maneb misturado

com zineb e formalmente chamado de (etilenobis(ditiocarbamato))-zinco, o mancozeb foi introduzido em 1961 pela ROHM & HAAS Co, sob o nome comercial de Dithane M-45. A estrutura molecular do mancozeb (Figura 4) é resultado da coordenação do íon zinco e do manganês etilenobis-ditiocarbamato (maneb) (WORTHING, 1979).

Apesar do mancozeb não estar bem definido molecularmente, o seu peso molecular, aceito internacionalmente, é de 271,0 (STEVENSON, 1972).

Os ditiocarbamatos são conhecidos como substâncias que inativam os grupos -SH dos aminoácidos, proteínas e enzimas da célula fúngica. Também desempenham o papel de quelantes, devido à atividade dos metais pesados zinco e manganês que atuam nas células fúngicas alterando diretamente a síntese das proteínas e o metabolismo de modo geral. Desta forma, os ditiocarbamatos assumem grande importância na vida e na morte das células de fungos (WARE, 1989).

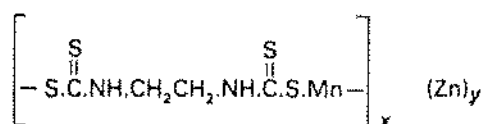


Figura 4. Estrutura molecular do mancozeb.

GOLDMAN (1986) não encontrou sinal de toxicidade e nenhuma morte em ratos Sprague Dawley, após dieta com mancozeb. Os mesmos resultados foram obtidos por O'HARA (1985), utilizando camundongos.

Durante dois anos de estudos, cachorros Beagle foram submetidos a dietas com mancozeb nas concentrações de 0, 25, 100 ou 1000 mg/kg (BORZELLECA, 1965). Nestes testes de toxicidade subaguda, não foi encontrado nenhum sinal de toxicidade nem mortes.

Estudando o metabolismo do mancozeb em grupos de 3 ratos machos e fêmeas, NELSON (1986) administrou dose oral simples de  $C^{14}$  mancozeb nas concentrações de 1,5 e 100 mg/kg. Os resultados desta pesquisa, após 48 horas, encontram-se na Tabela 1.

COX (1986) estudando durante três anos o efeito de dietas contendo 0, 10, 100, 1000 ou 5000 mg/kg de mancozeb em cachorros Beagle também não constatou nenhuma morte. Entretanto, os seguintes sinais de toxicidade foram observados: na dieta de 100 mg/kg houve aumento de bilirrubina e colesterol e na dieta de 5000 mg/kg ocorreu desidratação, emagrecimento, mucosa pálida e redução das células sanguíneas vermelhas.



Tabela 1. Excreção de etilenotiuréia (ETU) 48 horas após administração de mancozeb C<sup>14</sup> em ratos

Mancozeb (mg/kg)	Sexo	ETU(%)		
		urina	fezes	bile
1,5	M	13,8	1,7	0,2
	F	17,5	1,0	0,3
100	M	17,8	7,3	0,1
	F	22,5	9,5	0,5

M - macho.

F - fêmea.

O etilenotiuréia (ETU), principal produto de degradação dos etilenobisditiocarbamatos, constitui a principal preocupação de estudiosos em virtude de pesquisas em ratos terem revelado propriedades teratogênicas (FISHBEIN, 1977), além de efeitos mutagênicos e carcinogênicos (SAX, 1984 e MCGREGOR et al., 1988).

Estudos realizados por ANON (1970) acusaram 28% de ETU em urina e 6% em fezes de ratos, após seis dias de administração oral de 20 mg/kg de C<sup>14</sup> mancozeb.

Com base em vários estudos toxicológicos, em 1980 a IDA para o homem foi estabelecida pelo JMPR em 0,05 mg/kg de peso corpóreo (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1991)

### 2.2.5. Endossulfan

Endossulfan, sulfito de 1,4,5,6,7,7-hexacloro-8,9,10-trinorborn-5-eno-2,3-ilenedimetil, possui fórmula molecular  $C_9H_6Cl_6O_3S$  e peso molecular 406,9.

A substância ativa técnica consiste de dois isômeros: endossulfan I e endossulfan II, ambos com as mesmas propriedades inseticidas e acaricidas, não sistêmicos (Figura 5).

O endossulfan foi sintetizado na Alemanha pela Hoechst Aktiengesellschaft, segundo GOEBEL et al. (1982). Registrado sob nome comercial de Thiodan, foi introduzido no mercado em 1957 (GUPTA & GUPTA, 1979; STUMPF & ABHAVER, 1986).

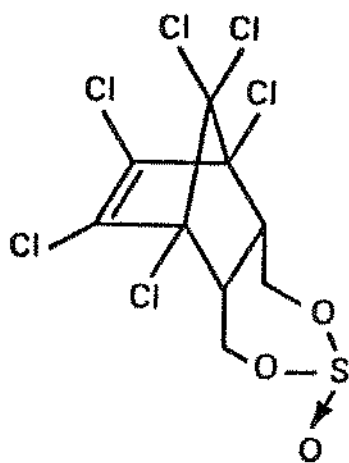
A toxicidade oral aguda do endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan encontra-se na Tabela 2.

TABELA 2. Toxicidade oral aguda ( $DL_{50}$ ) do endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan em ratos.

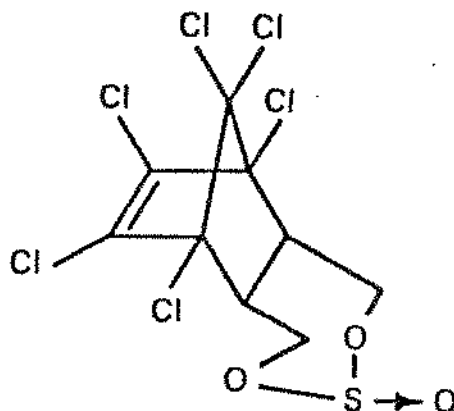
Agrotóxico	$DL_{50}$ (mg/kg p.c.)
Endossulfan I	76
Endossulfan II	240
Endossulfan $SO_4$	76

Fonte: GOEBEL et al.(1982)

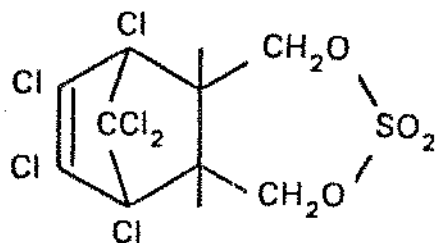
Segundo DEEMA et al. (1966), DOROUGH et al. (1978), STUMPF & ABHAVER (1986), os principais produtos do metabolismo do endossulfan em mamíferos são sulfato de endossulfan, endossulfan



Endossulfan I



Endossulfan II



Sulfato de Endossulfan

Figura 5. Estruturas moleculares do endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan.

diol, endossulfan éter, endossulfan hidroxí éter e endossulfan lactona. Entretanto, destes metabólitos, apenas o sulfato de endossulfan apresenta interesse toxicológico, em virtude da sua DL<sub>50</sub> em mamíferos ser semelhante à encontrada para o endossulfan I (DOROUGH et al., 1978; GOEBEL et al., 1982).

Resultados negativos foram obtidos para testes de carcinogenicidade com endossulfan técnico, administrado em ratos machos e fêmeas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 1978).

DIKSHITH & DATTA (1978) não observaram efeitos mutagênicos após exposição de ratos à dieta oral diária com 0, 11, 22, 36, 60 e 55 mg de endossulfan/kg durante 5 dias. Segundo estes pesquisadores, a dose mais alta provocou sinais clínicos de envenenamento por endossulfan, seguido de morte.

A IDA de endossulfan para o homem (endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan) foi estabelecida em 1989 pelo JMPR, em 0,006 mg/kg de peso corpóreo (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1991).

### 2.3. Resíduos de Agrotóxicos em Frutas "in natura"

#### 2.3.1. Remoção de resíduos de agrotóxicos por lavagem com Água

Muitos agrotóxicos são aplicados durante o estágio de amadurecimento do fruto para protegê-lo contra a deterioração provocada pelo ataque dos insetos e fungos. Os resíduos destes agrotóxicos, depositados sobre a superfície do fruto, podem ser removidos em diferentes quantidades, dependendo da natureza do fruto, do agrotóxico e também do tratamento efetuado para remoção (FARROW et al., 1969).

A lavagem com água é um dos tratamentos utilizados para

remover os resíduos de agrotóxicos presentes na superfície dos alimentos (GELFAND et al., 1982; MELKEBEKE et al., 1983; RITCEY et al., 1987). Existem vários procedimentos de lavagem com água e cada um deles removerá diferentes quantidades de resíduos distribuídos superficialmente nas amostras (WOLF et al., 1959; LAMB et al., 1968a; BROWN, 1974). Naturalmente, o tempo de execução da lavagem é um dos fatores importantes que determinam a percentagem de remoção. Entretanto, não se pode esquecer que a polaridade dos agrotóxicos e a solubilidade em água estão também relacionados com a eficiência da remoção (STREET, 1969).

Para melhor correlacionar os fatores que influenciam na remoção dos resíduos, alguns trabalhos revisados foram enquadrados de acordo com a natureza dos agrotóxicos, conforme descrito a seguir. O levantamento completo dos autores que utilizaram lavagem com água para remoção de resíduos de agrotóxicos está resumido nas Tabelas 3 a 7, estabelecendo-se o tipo de amostra como referência.

## A - Organoclorados

### DDT

O primeiro trabalho realizado com a finalidade de verificar a influência da lavagem sobre a diminuição do teor de resíduos de pesticidas em frutas foi publicado em 1946, por MANALO et al. Segundo estes pesquisadores, a lavagem de maçãs com água removeu 36% de resíduos de DDT.

Resultados relativamente inferiores foram obtidos em 1968 por BALDWIN et al., após lavagem de maçãs com água. As remoções foram: p,p'-DDT, 8%; p,p'-DDD, 5%; o,p'-DDT, 14%; e p,p'-DDE, 14%; porém, para o,p'-DDD, a redução foi de 87%.

WOLF et al. (1959) não constataram diferenças

significativas nos níveis de DDT após lavagem de maçãs com água, em um aparelho equipado ou não com escovas. O mesmo resultado foi obtido por HEMPHILL et al. (1967), para os derivados e isômeros do DDT, utilizando apenas lavagem com água em amostras de feijão.

Alguns pesquisadores utilizaram em diferentes épocas os procedimentos comercial e caseiro para lavagem de tomates com água. FARROW et al. (1968), por exemplo, utilizando o procedimento comercial, obtiveram redução de 92% de p,p'-DDT e 82% de o,p'-DDT quando a lavagem foi mínima. Na lavagem máxima, as reduções foram de 94% e 83% para p,p'-DDT e o,p'-DDT, respectivamente. Entretanto, LAMB et al. (1968a) removeram apenas 20% do total de resíduos de DDT após lavagem comercial de batatas, enquanto ELKINS et al. (1968) conseguiram uma redução do nível residual de DDT de 0,9mg/kg a traços, após lavagem de feijão verde com água, por procedimento caseiro.

Comparando os procedimentos caseiro e comercial de lavagem com água, STREET (1969) não encontrou diferença significativa na remoção de DDT em espinafre. Porém, com relação ao tomate, a remoção de DDT foi de 89% no procedimento comercial e de 78% no caseiro. Espinafre também foi submetido à lavagem mínima e máxima apresentando remoção de 17% e 48% de DDT, respectivamente (LAMB et al., 1968a).

JAGLAN & CHOPRA (1970) obtiveram remoção de DDT na faixa de 10% a 96%, após lavagem de berinjela com água. Estes pesquisadores constataram um decréscimo gradual da remoção à medida que os níveis de DDT em berinjela diminuía.

Aldrin (Dieldrin)

BISTON et al. (1970) constataram maior remoção de aldrin e dieldrin em arroz quando a concentração inicial destes

agrotóxicos também era maior. Para batatas, 28% e 16% de aldrin e dieldrin residuais foram removidos, respectivamente, após lavagem com água. Neste caso, quando a concentração residual triplicou, a remoção de ambos aumentou para 50%.

Num procedimento inverso, ou seja, mantendo o mesmo teor inicial de aldrin e reforçando a lavagem, LARA & BARRETO (1977) verificaram que a lavagem simples de arroz com água removia 17% de aldrin, enquanto uma segunda lavagem removia mais 18% do referido agrotóxico.

#### BHC

Pesquisas realizadas por TIMOFEEVA & SHVARTSMAN (1973), utilizando baixa e alta intensidades de lavagem com água, resultaram na remoção de 30% e 40% de BHC em uvas, respectivamente.

Estudos efetuados em grande quantidade de berinjelas colhidas 2 horas e 1, 2, 7 e 14, dias após tratamento, demonstraram remoções na faixa de 1,3% a 93% de BHC após lavagem com água de torneira (JAGLAN & CHOPRA, 1970). De acordo com os resultados apresentados por estes pesquisadores, quanto menor o teor de resíduo de BHC, menor a remoção, isto é, a remoção máxima (93%) foi observada em berinjela lavada 2 horas após colheita.

#### B - Organofosforados

##### Paration

THOMPSON & MIDDELEM (1955) submeteram tomate, feijão verde e mostarda à lavagem com água, sob pressão de 20 libras por polegada quadrada. Após este procedimento, as percentagens de remoção de paration foram: 16%, 36% e 65%, respectivamente.

Lavagens com água empregando pulverizador, nas intensidades máxima e mínima, foram pouco eficazes na remoção de paration em espinafre. Na intensidade mínima não ocorreu remoção, ficando a pulverização máxima responsável apenas pela diminuição de 9% de paration (LAMB et al., 1968b). Também não se obteve nenhuma remoção de paration em brócolis após lavagem com água pelos procedimentos comercial e caseiro (FARROW et al., 1969).

#### Malation

Uma remoção de 91% de malation em feijão foi obtida por SMITH et al. (1955) após lavagem com água, durante 30 segundos. Também concordante com este resultado foi a remoção de malation em feijão (95%), obtida por ELKINS et al. (1968) após lavagem com água por procedimento caseiro. Já para amostras de arroz, MUKHERJEE et al. (1973) removeram 30% de malation após lavagem com água.

Dois trabalhos focalizando a remoção de malation em frutas relatam resultados parcialmente similares. SOLOV'EVA et al. (1974) verificaram a não remoção de malation em frutas após lavagem com água. A mesma observação foi feita por KOIVISTOINEN et al. (1964a) após submeterem maçãs (tratadas com malation em emulsão e suspensão) à lavagem com água corrente de torneira, durante 1 minuto. No entanto, estes mesmos pesquisadores conseguiram remoção de 15% e 64%, empregando o mesmo procedimento de lavagem, em ameixas tratadas com malation em emulsão e suspensão, respectivamente.

Vegetais lavados com água corrente de torneira sofreram reduções de malation na faixa de 75% a 87% (TANTAWY et al., 1975). Com amostras de quiabo, foi obtida remoção de malation na faixa de 79,5% a 89,5% (NATH et al., 1975).



## Diazinon

Feijão, tomate (RALLS et al., 1967) e batata (BISTON et al., 1970) lavados com água apresentaram remoções de 97%, 67% e 60%, respectivamente, do agrotóxico diazinon.

## Morestan

BENVENUE et al. (1968) obteve remoção de 15% de resíduo de morestan, após procedimento comercial de lavagem de mamão com água, enquanto que a lavagem em laboratório removeu 22%.

## C - Herbicidas

CIPC (isopropil N-clorofenilcarbamato)

IPC (isopropil N-fenilcarbamato)

Remoções dos herbicidas IPC e CIPC após lavagem com água foram praticamente iguais tanto para tomates ( 22% e 25%) como para ameixas ( 6% e 4%) (KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ, 1965).

## D - Fungicidas

### Captan

KOIVISTOINEN et al. (1965) estudaram os efeitos da lavagem de frutas com água corrente de torneira a 20°C. Devido a este tratamento, as reduções de captan foram de 17% a 85%.

Estudos semelhantes foram conduzidos por RITCEY et al. (1987) quando submeteram morangos à lavagem com água nas temperaturas de 10°C e 20°C. Na temperatura mais alta, a remoção de captan foi de 63%, dentro da faixa obtida por KOIVISTOINEN et al. (1965). Porém, a 10°C, a remoção foi de

apenas 14%.

FRANK et al. (1983) obtiveram remoção de captan de 30% em maçãs após lavagem com água. No entanto, a lavagem de tomates com água, realizada por EL-ZEMAITY (1988), surpreendeu pelos altos índices de remoção de captan (97,7% e 98,9%).

#### Benomil

Estudos sobre remoção de benomil após lavagem com água foram realizados por BROWN (1974), em citrus, e por DEJONCKHEERE et al. (1976), em alface. Amostras de citrus sob ação de chuva artificial, imediatamente e após duas semanas de pulverização, apresentaram remoções de 78% e 20%, respectivamente. Nas alfaces, a redução foi de 37%.

#### E - Ditiocarbamatos

##### Mancozeb

Na pesquisa bibliográfica encontrou-se apenas um trabalho que relata a influência da lavagem com água sobre a remoção de mancozeb (MESTRES et al., 1978). Segundo estes pesquisadores, não foram encontrados resíduos de mancozeb em alfaces após lavagem.

##### Zineb, Maneb

Outros ditiocarbamatos estudados (zineb e maneb) apresentaram comportamentos diferentes do mancozeb. WILL (1970) constatou remoção de 85% de zineb em alface, enquanto para maneb, nos estudos de MARSHALL (1982), a remoção foi de 45% em feijão e de 22% a 35% em tomates.

Tabela 3. Remoção de diferentes agrotóxicos em frutas após lavagem com água.

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Maçã	DDT	2,9	90°F	2,6	10	WALKER (1948)
	DDT	12,3	90°F	13,9	np	WALKER (1948)
	DDT	5,9	sem escova	2,7	54	WOLF et al. (1959)
	DDT	5,9	com escova	3,8	35	WOLF et al. (1959)
	DDT	2,4	sem escova	1,2	50	WOLF et al. (1959)
	DDT	2,4	com escova	1,3	45	WOLF et al. (1959)
	DDT	10,06	sem escova	2,8	73	WOLF et al. (1959)
	DDT	10,06	com escova	4,0	62	WOLF et al. (1959)
	Malation	32,7	torneira 1 min	93,8	np	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	12,4	torneira 1 min	12,7	np	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Captan	41,1	torneira 20°C	34,0	17	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	32,7	torneira 4°C	23,8	27	KOIVISTOINEN et al. (1965)
Ameixa	DDT	3,58	torneira	3,05	14	BALDWIN et al. (1968)
	Captan	9,9	25°C	5,6	43	FRANK et al. (1983)
	Malation	29,3 a 4,1	torneira 1 min	10,4-3,5	64 a 15	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Captan	23,7	torneira 20°C	7,6	68	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	18,3	torneira 4°C	8,2	55	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	IPC	31,6	torneira 1 min	29,8	6	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	44,1	torneira 1 min	42,3	4	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	BHC	0,86 a 4,76	20°C	0,60-2,85	30 a 40	TIMOFEEVA & SHVARTSMAN (1973)
	Captan	40,1	torneira a 20°C	11,3	72	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	38,3	torneira a 4°C	14,7	62	KOIVISTOINEN et al. (1965)

np - nenhuma perda.

IPC - isopropil N-fenilcarbamato. CIPC - isopropil N-clorofenilcarbamato

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Laranja	Guthion	1,00	comercial	0,70	30	ANDERSON et al. (1963)
	Benilate	0,64	chuva artificial	0,51	20	BROWN (1974)
	Benilate	0,64	chuva artificial	0,14	78	BROWN (1974)
Pêra	DDT	22	60°C	20,1	10	WALKER (1948)
Morango	Carbofuran	0,954	pulverização	0,239	75	ARCHER & STOKES (1978)
	Captan	2,38 e 4,05	10°C	2,04 e 3,48	14	RITCEY et al. (1987)
	Captan	2,38 e 4,05	10°C, 20°C	0,88 e 1,09	63	RITCEY et al. (1987)
Uva	CHC	0,085-0,693	60°C	0,034-0,207	60 a 70	TIMOFEVA & SHVARTSMAN (1973)
	Monocrotofos	0,50-2,89	torneira 10 min	0,40-2,20	20-23	RAO et al. (1987)
	Fosalone	0,24-6,67	torneira 10 min	0,16-3,78	33-43	RAO et al. (1987)
Mamão	Morestan	2,0	comercial	1,7	15	BENVENUE et al. (1968)
	Morestan	0,27	laboratório	0,21	22,1	BENVENUE et al. (1968)

1

23

1

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Tomates	Peration	0,30	água borrifada	0,25	16	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
	Toxafeno	3,39	água borrifada	3,31	2	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
	Melation	12,8 a 1,4	torneira 1 min	2,7 a 0,9	79 a 3,6	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Captan	16,7	torneira 20°C	2,5	85	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	9,5	torneira 4°C	2,3	76	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	IPC	56,8	torneira 1 min	53,4	6	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	45,8	torneira 1 min	44,9	2	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	57,1	torneira 1 min	44,1	22	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	58,4	torneira 1 min	43,8	25	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	54,6	torneira 1 min	54,9	0	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	54,7	torneira 1 min	55,0	0	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	Diazinon	0,062	pulverização fria	0,002	67	RALLS et al. (1967)
	DDT	7,7	comercial mínima	0,82	89	FARROW et al. (1968)
	DDT	7,7	comercial máxima	0,82	91	FARROW et al. (1968)
	Melation	15,9	comercial	1,43	91	STREET (1969)
	DDT	7,7	comercial	0,85	89	STREET (1969)
	DDT	4,4	caseiro	0,97	78	STREET (1969)
	Carbaril	5,2	comercial	0,89	83	STREET (1969)
	Carbaril	8,4	caseiro	1,94	77	STREET (1969)
Maneb	0,65	10 minutos	0,42	35	MARSHALL (1982)	
Maneb	0,45	10 minutos	0,30	33	MARSHALL (1982)	
Maneb	0,36	10 minutos	0,28	22	MARSHALL (1982)	

Tabela 4. Remoção de agrotóxicos em cereais por lavagem com água.

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da Lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Feijão	Parathion	2,31	água borrifada	1,47	36	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
	Toxafeno	31,07	água borrifada	4,91	20	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
	Malation	6,98	30 segundos	0,60	91	SMITH et al. (1955)
	Captan	89,3	torneira 20°C	48,2	46	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	DDT	0,67	torneira	0,64	4,4	HEMPHILL et al. (1967)
	Diazinon	3,86	pulverização fria	0,11	97	RALLS et al. (1967)
	DDT	0,90	caseiro	traços	>99	ELKINS et al. (1968)
	Malation	1,12	caseiro	0,05	95	ELKINS et al. (1968)
	Carbaril	11,02	caseiro	5,3	51	ELKINS et al. (1968)
	Malation	1,12	comercial	0,04	96	STREET (1969)
	Carbaril	11,0	comercial	5,28	52	STREET (1969)
	Carbaril	8,0	caseiro	4,72	41	STREET (1969)
	DDT	0,67	caseiro	0,60	9	STREET (1969)
	Maneb	1,49	10 min	0,82	45	MARSHALL (1982)
Arroz	Aldrin	3,4	lavagem dupla	2,8	64	LARA & BARRETO (1977)

Tabela 5. Remoção de agrotóxicos em condimentos por lavagem com água.

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Mostarda	Paration	25,96	água borrifada	8,99	65	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
	Toxafeno	233,54	água borrifada	100,02	57	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
Cebola	Carbaril	45,3	1 a 5 minutos	<10	>78	GUPTA & PAREEK (1978)
	Carbaril	119,7	1 a 5 minutos	<10	>91	GUPTA & PAREEK (1978)

Tabela 6. Remoção de agrotóxicos em verduras por lavagem com água

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Aipo	Toxafeno	60,44	água borrifada	25,81	57	THOMPSON & MIDDELEM (1955)
Berinjela	BHC	6,00 a 16,43	água destilada	2,23 a 1,17	62 a 92	JAGLAN & CHOPRA (1970)
	DDT	9,76 a 18,19	água destilada	3,76 a 0,73	61 a 95	JAGLAN & CHOPRA (1970)

Tabela 7. Remoção de agrotóxicos em folhas por lavagem com água.

Amostra	Agrotóxico	Resíduo(mg/kg) antes da lavagem	Condições de lavagem	Resíduo(mg/kg) após lavagem	Remoção (%)	Referência
Espinafre	DDT	27,3	pulverização mínima	15,2	44,3	LAMB et al. (1968b)
	DDT	27,3	pulverização máxima	8	70,7	LAMB et al. (1968b)
	Paration	1,5	pulverização mínima	0,87	42	LAMB et al. (1968b)
	Paration	1,5	pulverização máxima	0,87	46	LAMB et al. (1968b)
	Carbaril	20,8	pulverização mínima	4,8	76,9	LAMB et al. (1968b)
	Carbaril	20,8	pulverização máxima	2,0	90	LAMB et al. (1968b)
	DDT	27,3	comercial	14,19	48	STREET (1969)
	DDT	20,2	caseiro	10,70	47	STREET (1969)
	Paration	1,5	comercial	0,79	47	STREET (1969)
	Paration	1,7	caseiro	0,73	57	STREET (1969)
Brócoli	Paration	0,39	caseiro	0,41	np	FARROW et al. (1969)
	Paration	0,65	comercial	0,63	3,0	FARROW et al. (1969)
	Carbaril	12,4	comercial	2,7	78	FARROW et al. (1969)
	Carbaril	8,5	caseiro	3,2	38	FARROW et al. (1969)
Alface	Metiram	1,6	limpeza água	0	100	WILL (1970)
	Zineb	3,3	limpeza água	0,5	85	WILL (1970)

np - nenhuma perda



### 2.3.2. Efeitos da estocagem à baixa temperatura sobre os resíduos de agrotóxicos

Alimentos estocados à baixa temperatura apresentam maior período de conservação comparados àqueles mantidos à temperatura ambiente. Isto porque as reações químicas de oxidação e de hidrólise enzimática, as atividades de microrganismos como fungos, bactérias e leveduras, responsáveis pela deterioração dos alimentos, e a degradação de substâncias químicas contidas no mesmo são retardadas em consequência de baixas temperaturas (BLEINROTH, 1970; GAVA, 1978).

Alimentos contaminados por resíduos de pesticidas, estocados a frio durante determinado período, podem apresentar redução destes resíduos, dependendo das condições de estocagem ( tempo e temperatura ), do tipo de alimento e da natureza química do contaminante (KAWAR et al., 1973).

São poucas as pesquisas sobre a estabilidade de agrotóxicos, principalmente organoclorados, em alimentos estocados por curtos ou longos períodos à baixa temperatura. Os dados da literatura indicam que os organofosforados são em geral menos estáveis que os organoclorados e outros agrotóxicos em estocagem por curto período à baixa temperatura. Embora em número reduzido, alguns estudos confirmam a estabilidade de herbicidas quando estocados à baixa temperatura. Poucas informações existem sobre os fungicidas, assim como sobre inseticidas, carbamatos e ditiocarbamatos.

Para melhor elucidação dos efeitos da estocagem à baixa temperatura sobre os resíduos de agrotóxicos, dividiu-se a revisão em duas partes. Relatou-se numa primeira etapa alguns aspectos relevantes da influência da estocagem sobre os agrotóxicos, enquadrando-se estes em suas respectivas classificações. Na

segunda etapa resumiram-se as diferentes condições de estocagem e seus respectivos efeitos sobre os agrotóxicos, tendo-se como referência o tipo de alimento (Tabelas 8 a 15).

## A - Fungicidas

### Captan

Estudos extensivos sobre a estabilidade de captan em morangos, groselha, feijão verde, tomate, ameixa e maçã foram realizados por KOIVISTOINEN et al. (1965). As amostras foram mergulhadas em solução de captan e estocadas a 4°C, 20°C e -18°C. Os resíduos foram determinados após estocagem, a diferentes intervalos de tempo.

Cerca de 5% de captan foram perdidos em dois dias de estocagem de morangos a 4°C, enquanto que para groselha e feijão foi necessária uma semana para se obter perda semelhante, na mesma temperatura de estocagem. Entretanto, estas mesmas culturas apresentaram perdas de 20% a 30% quando estocadas a 20°C. Tomate apresentou 43% de perda de captan após uma semana a 4°C, aumentando para 56% após 5 semanas. A 20°C, as perdas correspondentes foram de 47% e 61%, respectivamente.

Em ameixas, as perdas de captan foram de 30% em 4 semanas a 4°C e 33% em uma semana a 20°C. Maçãs apresentaram perdas de captan de 10% e 27% após 1 e 8 semanas de estocagem a 4°C. Após uma semana de estocagem a 20°C, as perdas foram de 39%.

Em groselha não ocorreu perda de captan após 8 meses de estocagem em freezer. Entretanto, morango estocado por 1 mês a -18°C, perdeu 56% do resíduo de captan, enquanto ameixa e maçã, após o mesmo período, apresentaram perdas de 30% e 22%, respectivamente.

## Maneb e Zineb

Amostras de repolho picado foram fortificadas com os ditiocarbamatos maneb e zineb e estocadas em freezer e refrigerador. As análises dos resíduos, conduzidas diariamente durante três dias, indicaram que zineb foi estável na estocagem em freezer, enquanto perdas de cerca de 5% foram detectadas nas amostras estocadas em refrigerador (HOWARD & YIP, 1971).

## B - Herbicidas

### Clortiamide e Diclorbenil

Estudos conduzidos por BEYNON et al. (1966) em amostras de groselha, batata, arroz, tomate e trigo, estocadas nas temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  por duas semanas e  $-10^{\circ}\text{C}$  por dois meses, confirmaram a estabilidade dos herbicidas clortiamide e clorbenil.

### Dalapon

O herbicida dalapon também apresentou-se estável após estocagem de aspargos por quatro meses a  $25^{\circ}\text{C}$  (ARCHER et al., 1967)

Dalapon também foi investigado por GETZENDANER (1969) em amostras de cevada, café, soja, framboesa e beterraba (raiz e folhas) estocadas em refrigerador, à temperatura ambiente e em freezer, por períodos de 1,5 e 7 anos. As perdas foram pouco significativas nas condições de refrigeração e freezer, porém foram constatadas perdas de 25% em aveia e 24% em soja estocadas à temperatura ambiente por 2 e 7 anos, respectivamente.

IPC (isopropil N-fenilcarbamato)

CIPC (isopropil N-clorofenilcarbamato)

KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965) estudaram os herbicidas IPC e CIPC em amostras de tomate, ameixa e maçã, tratadas pós-colheita e estocadas a 0°C, 10°C e 20°C. As perdas de IPC e CIPC a 0°C foram respectivamente: tomate: 12% e 9%, em 1 mês; ameixa: 27% e 28%, em 6 semanas; maçã: 28% e 33%, em 5 meses. A 10°C, as perdas foram: tomate: 29% e 35%, em 6 semanas; ameixa: 23% e 37%, em 3 semanas; maçã: 52% e 48%, em 4 meses. Apenas o tomate foi estudado na temperatura de 20°C, apresentando perdas de 63% e 56% para IPC e CIPC, após 1 mês, respectivamente.

## C - Organoclorados

DDT

Estudos realizados para verificar o comportamento de DDT em tomate (FARROW et al., 1968), batata (LAMB et al., 1968a), feijão verde (ELKINS et al., 1968) e espinafre (LAMB et al., 1968b), estocados em diferentes condições de tempo e temperatura, comprovaram a estabilidade do referido agrotóxico. Assim, tomates crus e não lavados não apresentaram decréscimo significativo de DDT após 4 e 7 dias de estocagem a 12,7°C. Também não foram verificadas reduções dos níveis de p,p'-DDT, o,p'-DDT e p,p'-DDE nas mesmas condições de estocagem. Os mesmos resultados foram obtidos para batata, após 6 semanas de estocagem a 7°C; para feijão verde, após 16 dias a 7°C; e também para espinafre cru estocado a 7°C durante 15 dias.

## D - Organofosforados

### Bidrin

O organofosforado bidrin revelou-se estável em estudos realizados por ELGAR & MacDONALD (1966) em amostras de maçã, laranja, pêra, café, couve, batata e cana-de-açúcar, estocados a  $-20^{\circ}\text{C}$  por vários períodos de tempo.

### Clorfenvinfós

Clorfenvinfós foi analisado por vários pesquisadores em grande variedade de amostras. BEYNON et al. (1966) não detectaram perda aparente deste agrotóxico após duas semanas de estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$  em amostras de couve-flor, cenoura, batata, nabo e rabanete.

O mesmo foi verificado por BEYNON & WRIGHT (1967) em amostras de couve, cenoura e cebola, após três semanas de estocagem a  $-15^{\circ}\text{C}$ .

Em um terceiro estudo foram analisados clorfenvinfós e seus produtos de degradação, em amostras de cenoura, milho, cebola, batata, rabanete e alho (BEYNON et al., 1968). Nestas condições, estes pesquisadores concluíram que o referido agrotóxico e seus produtos de degradação são estáveis.

### Diclorvos

Amostras de trigo foram tratadas com 24mg/kg de diclorvos e estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Foram perdidos 15mg/kg de diclorvos após dois meses, representando 62,5% da concentração inicial (GEISSBÜHLER & HASELBACH, 1963). Segundo estes pesquisadores, esta é uma perda drástica, indicando que a quebra de diclorvos não é

completamente inibida sob baixas condições de temperatura. No mesmo estudo, o trigo foi acondicionado em frascos fechados e submetido à estocagem em três diferentes temperaturas (5°C, 20°C e 30°C), sendo analisado periodicamente durante 30 dias. Após 7 e 30 dias a 5°C, cerca de 50% e 80% deste agrotóxico foram perdidos, respectivamente. A 20°C e 30°C, as perdas foram mais significativas.

Em estudo semelhante, MINETT & BELCHER (1970) trataram várias amostras de trigo com 50mg/kg de diclorvos e estocaram a -15°C. Após 11 meses de estocagem, as perdas variaram de 2% a 22%, em contraste com os resultados obtidos por GEISSBÜHLER & HASSELBACH (1963).

#### Malation

Vários estudos foram realizados sobre a estabilidade de malation estocado à baixa temperatura. Em 1959, por exemplo, KOIVISTOINEN & ROINE pulverizaram malation em groselha e espinafre e não constataram perda deste agrotóxico após estocagem de 6 meses entre -10°C e -15°C. Entretanto, KOIVISTOINEN et al. (1964a) obtiveram uma perda de 47% de malation após 1 mês de estocagem de ameixas a -18°C e reduções de, em média, 40% deste agrotóxico em maçãs após 8 meses de estocagem nesta mesma temperatura. Estes pesquisadores concluíram que o rápido desaparecimento de malation pode ser atribuído à ação enzimática antes da estocagem.

Outras pesquisas realizadas por KOIVISTOINEN (1961) e KOIVISTOINEN et al. (1964a) confirmaram a rápida degradação de resíduos de malation em frutas e vegetais, estocados a 0°C. No primeiro estudo, constatou-se que a 4°C a degradação era mais lenta do que a 20°C. No segundo trabalho, as perdas de resíduos de malation em morangos variaram de 50% a 80% após um dia de estocagem a 4°C, 10°C e 20°C. Nestas mesmas condições, após três dias de estocagem, as perdas de malation em ameixas foram de 60% a

90%, enquanto que para tomate as perdas variaram entre 40% e 80% após três dias, e de 80% a 100% em três semanas.

Em pesquisas adicionais, KOIVISTOINEN et al. (1964b) investigaram a degradação do malation em frutas e vegetais, tratando-os previamente com paraoxon, paration e malation. Assim, ameixas foram estocadas a 4°C, tomates a 4°C e 20°C e feijão de vara a 20°C. Estes pesquisadores concluíram que paraoxon reduzia a perda de malation em 30% comparativamente à perda de malation, quando aplicado sozinho em frutas. Considerou-se que paraoxon inibe a ação da carboxiesterase, enzima esta responsável pela decomposição de malation em tecidos de plantas.

Outros pesquisadores também comprovaram a instabilidade de malation em frutas e vegetais estocados à baixa temperatura (FARROW et al, 1968; ELKINS et al., 1968). Tomates estocados a 12,7°C apresentaram perdas de 30% de malation após 7 dias e feijão verde estocado a 7°C, após oito dias, apresentou uma redução de 95% de malation.

#### Mevinfós

LAWS (1959) reportou que, em vegetais, o inseticida mevinfós apresentava o mesmo comportamento quando estocado à temperatura ambiente ou de geladeira. Repolho e beterraba foram estocados a baixas temperaturas durante 6 semanas e 6 meses, respectivamente e, nestas condições, o agrotóxico permaneceu estável.

#### Paration

Alguns pesquisadores apresentaram estudos discrepantes sobre a estabilidade de paration em amostras de alimentos estocados à baixa temperatura (KOIVISTOINEN & ROINE,

1959; LAMB et al., 1968b; BECKMAN & THORNBURG, 1965). Paration foi reportado como estável quando presente em cenouras e espinafre estocados entre  $-10^{\circ}\text{C}$  e  $-15^{\circ}\text{C}$  durante 6 meses (KOIVISTOINEN & ROINE, 1959). A mesma conclusão foi obtida por LAMB et al. (1968b) ao estocar espinafre por 13 dias a  $7^{\circ}\text{C}$ . Entretanto, BECKMAN & THORNBURG (1965) descobriram que paration, apesar de ser estável a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante dez dias, se degradou com perdas acima de 50%, após dois meses de estocagem nesta temperatura.

#### Tetraclorvinfós

Resultados de análises de amostras após estocagem a  $-10^{\circ}\text{C}$  por 10 semanas corresponderam, aproximadamente, a 10% dos valores antes da estocagem (BEYNON et al., 1970). De acordo com estes resultados, os autores concluíram que o tetraclorvinfós é estável nas condições analisadas.

#### E - Outros Agrotóxicos

##### Carbaril

Carbaril não apresentou nenhum decréscimo significativo em tomates estocados a  $12,5^{\circ}\text{C}$  durante 1 semana (FARROW et al., 1968). Entretanto, em feijão verde, ELKINS et al. (1968) reportaram perdas de 20% de carbaril após estocagem de 11 dias a  $7^{\circ}\text{C}$ . Destes estudos, concluiu-se que a estabilidade de carbaril é mais dependente da cultura do que da temperatura.

##### Metomil

Forragem de milho e silagem fortificados com metomil e estocados a  $-15^{\circ}\text{C}$  por 40 dias e 4 meses, respectivamente, não apresentaram perdas do referido agrotóxico (WINTERLIN, 1972).



Tabela 8. Estabilidade de vários agrotóxicos em frutas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem		Perda (%)	Referência
		T (°C)	Período Estocagem		
Amêixa	Malation	4	3 dias	60	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	20	3 dias	90	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	-18	1 mês	47	KOIVISTOINEN et al. (1964b)
	Captan	-18	1 mês	30	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	4	1 mês	30	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	1 semana	33	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	IPC	0	6 semanas	27	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	10	3 semanas	23	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	0	6 semanas	38	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	10	3 semanas	37	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
Framboesa	Dalapon	-15	6 anos	8	GETZENDANER (1969)
Groseira	Malation	-10 a -15	6 meses	nd	KOIVISTOINEN & ROINE (1959)
	Paration	-10 a -15	6 meses	nd	KOIVISTOINEN & ROINE (1959)
	Malation	20	1 semana	80	KOIVISTOINEN et al. (1964b)
	Captan	-18	8 meses	nd	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	4	1 semana	4	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	1 semana	30	KOIVISTOINEN et al. (1965)

nd - não detectada.

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Maçã	Malation	-18	8 meses	40	KOIVISTOINEN et al. (1964b)
	Captan	-18	1 mês	22	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	4	2 meses	27	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	1 semana	39	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	IPC	0	5 meses	28	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	10	4 meses	52	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	0	5 meses	33	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	10	4 meses	48	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MacDONALD (1966)
	TCV	-10	10 semanas	nd	BEYNON et al. (1970)
Morango	Malation	4	2 dias	60	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	10	2 dias	80	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	20	2 dias	90	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Captan	-18	1 mês	56	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	4	2 dias	5	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	2 dias	20	KOIVISTOINEN et al. (1965)
Pêra	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MacDONALD (1966)

nd - não detectada.

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Tomate	Malation	4	3 semanas	80	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	Malation	20	3 semanas	100	KOIVISTOINEN et al. (1964a)
	IPC	0	1 mês	12	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	10	6 semanas	29	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	IPC	20	1 mês	63	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	0	1 mês	9	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	10	6 semanas	35	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	CIPC	20	1 mês	56	KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ (1965)
	Captan	4	5 semanas	54	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	1 mês	61	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Carbaril	12,7	1 semana	nd	FARROW et al. (1968)
	DDT	12,7	1 semana	nd	FARROW et al. (1968)
	Malation	12,7	1 semana	30	FARROW et al. (1968)
	Metomil	4,5	1 mês	nd	WINTERLIN (1972)
	Metomil	-17	1 mês	nd	WINTERLIN (1972)
	Metomil	-36	4 meses	nd	WINTERLIN (1972)

nd - não detectada.

Tabela 9. Estabilidade de vários agrotóxicos em cereais estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Aveia	Dalapon	ambiente	>2 anos	25	GETZENDANER (1969)
Milho	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON et al. (1968)
	Clorfenvinfós	0	4 semanas	nd	EDWARDS et al. (1971)
	Cyanazine	0	10 meses	pp	BEYNON (1972)
	Cyanazine	-10	10 meses	nd	BEYNON (1972)
	Metomil	4,5	1 mês	65	WINTERLIN (1972)
	Metomil	-17	1 mês	nd	WINTERLIN (1972)
	Metomil	-36	4 meses	nd	WINTERLIN (1972)
	Metomil	-15	4 meses	nd	GUNTHER & WESTLAKE (1972)
	Metomil	-15	4 meses	nd	GUNTHER & WESTLAKE (1972)
	Trigo	Diclorvos	-15	2 meses	62,5
Diclorvos		5	1 mês	80	GEISSBÜHLER & MASSELBACH (1963)
Diclorvos		-15	11 meses	2-22	MINETT & BELCHER (1970)

nd - não detectada; pp - perda parcial.

Tabela 10. Estabilidade de vários agrotóxicos em folhas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Beterraba (Folha)	Delapon	-15	>3 anos	nd	GETZENDANER (1969)
	Bidrin	20	não declarado	nd	ELGAR & MacDONALD (1966)
	Clorfenvinfós	-20	2 semanas	nd	BEYNON et al. (1966)
Couve	Clorfenvinfós	-15	3 semanas	nd	BEYNON & WRIGHT (1967)
	Malation	-10 a -15	18 meses	nd	KOIVISTOINEN & ROINE (1959)
	Paration	-10 a -15	6 meses	nd	KOIVISTOINEN & ROINE (1959)
Espinafre	Paration	-20	10 dias	nd	BECKMAN & THORNBURG (1965)
	Paration	-20	2 meses	50	BECKMAN & THORNBURG (1965)
	DDT	7	15 dias	nd	LAMB et al. (1968b)
	Paration	7	13 dias	nd	LAMB et al. (1968b)
	Maneb	5	3 dias	15	HOWARD & YIP (1971)
	Maneb	-15	3 dias	nd	HOWARD & YIP (1971)
Repolho	Zineb	5	3 dias	10	HOWARD & YIP (1971)
	Zineb	-15	3 dias	nd	HOWARD & YIP (1971)

nd - não detectada.

Tabela 11. Estabilidade de vários agrotóxicos em raízes estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Cenoura	Clorfenvinfós	-20	2 semanas	nd	BEYNON et al. (1966)
	Clorfenvinfós	-15	3 semanas	nd	BEYNON & WRIGHT (1967)
	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON et al. (1968)
Beterraba	Mevinfós	-20	6 meses	nd	LAWS (1959)
	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MacDONALD (1966)
	Dalapon	-20	>3 anos	nd	GETZENDANER (1969)
Nabo	Clorfenvinfós	-20	2 semanas	nd	BEYNON et al. (1966)
Rabanete	Clorfenvinfós	-20	2 semanas	nd	BEYNON et al. (1966)
	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON et al. (1968)
Batata	Schradan	5	5 meses	nd	CLARK & JACKS (1956)
	Schradan	15-18	2 meses	nd	CLARK & JACKS (1956)
	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MacDONALD (1966)
	Clorfenvinfós	-20	2 semanas	nd	BEYNON et al. (1966)
	DDT	7	6 semanas	nd	LAMB et al. (1968a)
	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON et al. (1968)
	Cyanazine	0	não declarado	pp	BEYNON (1972)
	Cyanazine	-10	não declarado	nd	BEYNON (1972)

nd - não detectada. pp - perda parcial.

Tabela 12. Estabilidade de vários agrotóxicos em temperos estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Cebola	Clorfenvinfós	-15	3 semanas	nd	BEYNON & WRIGHT (1967)
	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON & WRIGHT (1967)
Alho	Clorfenvinfós	-20	4 semanas	nd	BEYNON et al. (1968)

nd - não detectada.

Tabela 13. Estabilidade de vários agrotóxicos em feijões estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxico	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Soja	Dalapon	ambiente	>7 anos	24	GETZENDANER (1969)
Feijão	Captan	4	1 semana	5	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	Captan	20	1 semana	16	KOIVISTOINEN et al. (1965)
	DDT	7	16 dias	nd	ELKINS et al. (1968)
	Carbaril	7	11 dias	20	ELKINS et al. (1968)

nd - não detectada.

Tabela 14. Estabilidade de vários agrotóxicos em bebidas estocadas a baixa temperatura durante diferentes períodos

Amostra	Agrotóxicos	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Café	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MACDONALD (1966)
	Dalapon	4	4 anos	nd	GETZENDANER (1969)
Água	Clorfenvinfós	5	não declarado	nd	BEYNON et al. (1971)

nd - não detectada.

1

1

Tabela 15. Estabilidade de agrotóxico em aspargo, azeitona e cana-de-açúcar estocados a baixa temperatura durante diferentes períodos.

Amostra	Agrotóxicos	Estocagem T(°C)	Período estocagem	Perda(%) agrotóxico	Referência
Aspargo	Dalapon	-25	14 meses	nd	ARCHER et al. (1967)
Azeitona	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MACDONALD (1966)
Cana de Açúcar	Bidrin	-20	não declarado	nd	ELGAR & MACDONALD (1966)

nd - não detectada.



## 2.4. Métodos de Análises

### 2.4.1. Determinação de captan, dicofol, clorotalonil e endossulfan

Para análises de resíduos de captan, dicofol, clorotalonil e endossulfan utiliza-se em geral a cromatografia gás-líquido (JAGLAN & CHOPRA, 1970; WILKES, 1979; ZANINI et al., 1980; FRANK et al., 1987). Porém, antes da determinação cromatográfica, as amostras são submetidas à extração. O extrato por sua vez é submetido à purificação, concentração, quando finalmente está adequado para injeção no cromatógrafo.

Os métodos de multiresíduos são os mais empregados para determinação simultânea de dois ou mais resíduos de agrotóxicos (MILLS et al., 1963; LUKE et al., 1975; GILVYDIS & WALTERS, 1984). Porém, existem muitos trabalhos que apresentam métodos específicos para cada tipo de agrotóxico e amostra, com procedimentos próprios ou modificações de métodos de multiresíduos (NEWSOME & SHIELDS, 1980; LAWRENCE et al., 1981; GREENHALGH & BELANGER, 1981).

#### 2.4.1.1. Extração

A primeira etapa na análise de resíduos de agrotóxicos consiste na escolha do solvente para extração. Esta etapa constitui a parte crítica do método, em função da escolha do solvente depender da natureza do resíduo de agrotóxico e da amostra (LARA, 1972). Existem vários solventes utilizados para extrair os resíduos de agrotóxicos. Acetonitrilo é empregado tanto na determinação do herbicida CIPC (WILSON et al., 1981), quanto na quantificação do carbamato carbaril (WHEELER et al., 1978) e do fungicida captafol (NGORAN et al., 1979). Metanol é utilizado na extração de rotenona (NEWSOME & SHIELDS, 1980) e bromoxinil (LAWRENCE et al., 1980). Outros solventes orgânicos como acetona, diclorometano, clorofórmio e hexano também são empregados na

determinação de vários tipos de amostras e agrotóxicos (LEE & WESTCOTT, 1980; BÜTTLER & HÖRMANN, 1981; ABDEL-MONEM & MUMMA, 1981). Apesar da grande variedade de trabalhos empregando diversos solventes, existem poucas pesquisas na literatura reportando, através de comparações, a eficiência dos vários solventes. Em geral, se um determinado solvente extrai o resíduo de agrotóxico da amostra sem arrastar os interferentes, incorpora-se este solvente à metodologia.

MILLS et al. (1963) utilizaram acetonitrilo para extração de endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan. Muitos pesquisadores utilizam acetonitrilo na extração de resíduos de agrotóxicos em tecidos animais em virtude da polaridade deste solvente favorecer a extração do resíduo de agrotóxico das gorduras (MITCHELL, 1976; RAO & MURTY, 1980) Outros solventes com maior polaridade têm sido utilizados, como a dimetilformamida (RAO et al., 1981) e acetona (DEEMA et al., 1966), embora solventes com menor polaridade como hexano (RAO, 1981) e éter de petróleo (ROBERTS, 1972) também possam ser utilizados na extração de resíduos de agrotóxicos em tecidos gordurosos.

A extração de captan em frutas e vegetais foi realizada por GILVYDIS et al. (1986) utilizando dois métodos de multiresíduos. Segundo estes pesquisadores, a mistura de acetonitrilo:água (200 ml: 80 ml) resultou em 35,6% de recuperação de captan. Porém, substituindo esta mistura por éter de petróleo, a recuperação aumentou para 73,8%. Quando foi utilizada a mistura acetona:água (200ml:80ml), a recuperação foi ainda maior (98,1%).

LUKE et al. (1975) introduziram a mistura acetona:água para extração de multiresíduos em amostras de origem vegetal. A vantagem desta mistura consiste no menor tempo de evaporação da acetona em relação ao acetonitrilo, menor custo e toxicidade, além

de não permitir o surgimento de problemas de ordem técnica encontrados em amostras com alto teor de açúcares e proteínas.

#### 2.4.1.2. Purificação

Na purificação de extratos orgânicos contendo resíduos de agrotóxicos são utilizados vários tipos de reagentes, incluindo florisil, óxido de alumínio e sílica (SCHLUNEGGER, 1968; KADOUM, 1968; DOROUGH & GIBSON, 1972). Estes reagentes são empacotados em colunas cromatográficas e atuam na eluição dos solventes, adsorvendo impurezas oriundas dos extratos.

A purificação de extratos com resíduos de agrotóxicos através de colunas cromatográficas foi utilizada pela primeira vez na década de 50, quando ORDAS et al. (1956) purificaram extratos de alfafa em colunas de florisil. Segundo MOATS (1963), o florisil foi o reagente que apresentou melhores resultados na separação de compostos presentes em matrizes gordurosas. A eficiência do "clean up" está subordinada às propriedades químicas dos resíduos de agrotóxicos, isto é, polaridade, estabilidade, acidez, basicidade. Nas metodologias de multiresíduos (MILLS et al., 1963; LUKE et al., 1975) utiliza-se o florisil em cromatografia de coluna, em virtude da sua eficiência em adsorver corantes e substâncias interferentes, sem oferecer resistência à eluição dos resíduos de agrotóxicos.

Captan extraído de morango e maçã foi submetido a purificação em colunas de florisil por WILKES (1979) e RITCEY et al. (1987), respectivamente, com recuperações de 97% e 84%.

#### 2.4.1.3. Cromatografia gás-líquido (CGL)

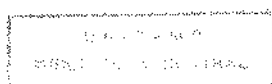
As primeiras análises de resíduos de agrotóxicos por cromatografia gasosa ocorreram na década de 60. Isto porque em 1960 foi desenvolvido o detector microculométrico específico para análises de cloretos, brometos e íons de iodo, possibilitando, então, a determinação de resíduos de agrotóxicos extraídos de produtos agrícolas e material biológico. A partir do desenvolvimento do detector microculométrico, outros detectores seletivos foram acoplados nos cromatógrafos gasosos, viabilizando esta técnica para determinação rotineira de resíduos de agrotóxicos (BURKE, 1965).

A cromatografia gás-líquido (CGL) tem sido, sem dúvida, o método analítico mais utilizado nas últimas décadas nas análises de resíduos de agrotóxicos. A grande vantagem do seu emprego é a versatilidade na seleção de colunas empacotadas em combinação com detectores seletivos. Se eventualmente uma coluna não apresenta a seletividade esperada, utiliza-se outra fase estacionária de composição diferente da primeira, até obter-se a separação do resíduo de agrotóxico em estudo (BOSHOF & PRETORIUS, 1979).

Embora na CGL o detector de captura de elétrons, utilizado na determinação de organoclorados, e o detector termoiônico específico, que determina organofosforados e nitrogenados, sejam os mais empregados em análises de resíduos de agrotóxicos, existem trabalhos que utilizam outros detectores como o de fotometria de chama (para análises de organofosforados e sulfurados), de condutividade eletrolítica e de fotocondutividade (QUISTAD & MENN, 1983).

#### 2.4.2.. Determinação de mancozeb

Os ditiocarbamatos podem ser determinados por várias



técnicas analíticas, como a cromatografia em papel (McKINLEY & MAGARVEY, 1960), cromatografia em camada delgada (FISHBEIN & FAWKES, 1965; HYLIN, 1966), polarografia (NANGNIOT, 1960), cromatografia gás líquido (BIGHI, 1964; BIGHI & SAGLIETTO, 1965; ZIELINSKI & FISHBEIN, 1966), cromatografia líquida de alta resolução (GUSTAFSSON & THOMPSON, 1981; GUSTAFSSON & FAHLGREN, 1983) e espectrofotometria (CULLEN, 1964).

Entretanto, a técnica mais utilizada para determinação de resíduos de ditiocarbamatos é a quantificação do gás dissulfeto de carbono ( $CS_2$ ), liberado da hidrólise ácida dos EBDCs. Este gás é recolhido em reagente cromóforo (dietanolamina) e lido em espectrofotometro a 435 nm.

Esta técnica de liberação de  $CS_2$  foi utilizada pela primeira vez em 1924 por CALLEN & STRATFFORD na determinação de acelerador de vulcanização. Em 1951, CLARK et al. empregaram pela primeira vez esta técnica para determinação de ditiocarbamato utilizando o aparelho da Figura 6. Estes pesquisadores apresentaram três métodos de determinação baseados nas quantidades

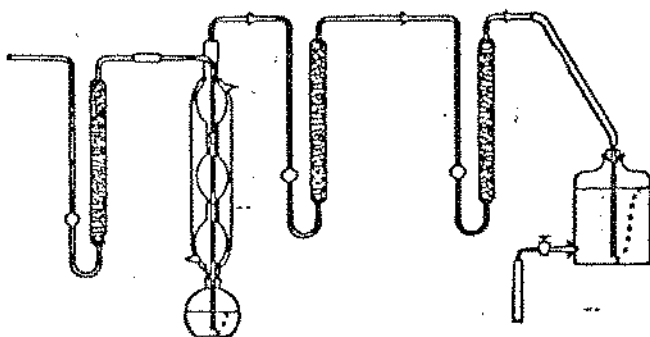


Figura 6. Aparelho de CLARK et al. (1951).

de ditiocarbamatos encontrados nas amostras. Um macrométodo utilizado na análise de produtos comerciais; um semimicrométodo e um micrométodo, ambos para análises de traços. A diferença entre estas metodologias está no princípio de determinação de dissulfeto de carbono ( $CS_2$ ). Enquanto o macrométodo e o semimicrométodo fundamentam-se na titulação de iodo (iodometria), o micrométodo utiliza a determinação colorimétrica de  $CS_2$ .

Em 1951, LOWEN empregou o micrométodo utilizando aparelhagem mais simplificada, com conexões de borracha (Figura 7). Neste trabalho, foram determinados ferban (dimetilditilcarbamato de ferro), ziran (dimetilditilcarbamato de zinco), zineb (etilenobisditiocarbamato de zinco) e naban (etilenobisditiocarbamato dissódico).

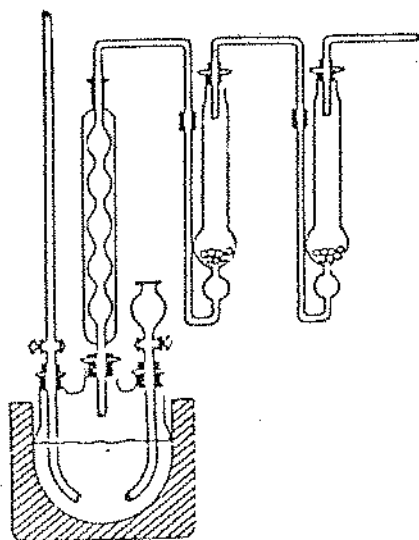


Figura 7. Aparelho modificado para determinação de EBDCs (LOWEN, 1951).

PEASE (1957) introduziu modificações na aparelhagem para determinação de ditiocarbamato, substituindo as conexões de borracha por vidro, diminuindo o volume do balão de reação e o comprimento do condensador (Figura 8).

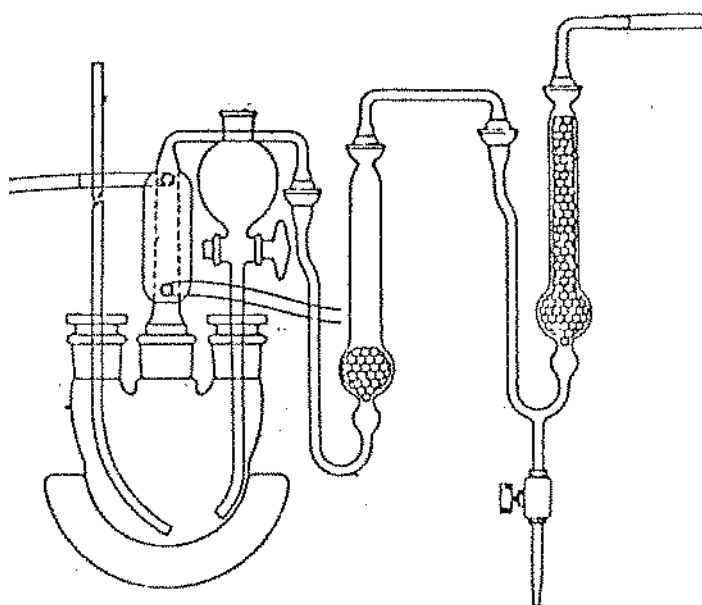


Figura 8. Aparelhagem com conexões de vidro (PEASE, 1957).

Utilizando nova aparelhagem (Figura 9), CULLEN (1964) empregou acetato de zinco no lugar de acetato de chumbo e dietanolamina no lugar de dietilamina. A dietilamina utilizada até então, formava complexo insolúvel em álcool interferindo na leitura fotométrica. Foi também identificada a formação de dois

complexos de cobre que, em equilíbrio, interferiam na curva padrão.

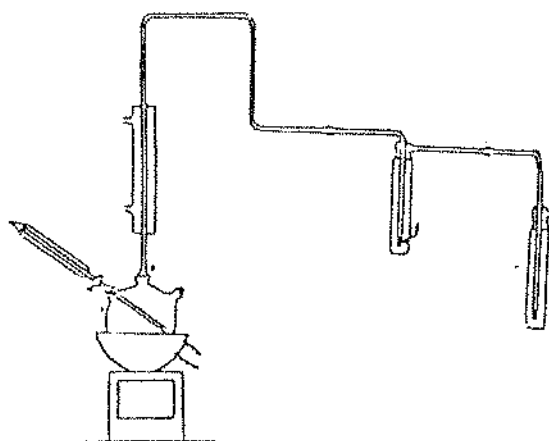


Figura 9. Aparelho para determinação de ditiocarbamatos (CULLEN, 1964).

O método sofreu modificações em 1969 por KEPPEL ao introduzir um agente redutor (cloreto estanoso) e ácido clorídrico diluído em substituição ao ácido sulfúrico empregado nos trabalhos anteriores. Também fez comparações ao utilizar três diferentes soluções na eliminação de interferentes: acetato de chumbo 30%, acetato de zinco 20% e hidróxido de sódio 6,5%. Estas modificações resultaram numa recuperação média de 94,7% para os ditiocarbamatos, porém, os etilenobisditiocarbamatos apresentaram baixas recuperações, com exceção do zineb (92%).

Um novo estudo desenvolvido por KEPPEL em 1971 utilizou ácido à temperatura ambiente seguido de aquecimento até forte ebulição. Com esta modificação a metodologia apresentou melhores resultados, com recuperações na faixa de 88,3% a 104,3%.



Modificando o método de KEPPEL (1971), CARVALHO & YOKOMIZO (1984) apresentaram um aparelho simplificado para determinação de ditiocarbamatos. Nesta aparelhagem, o dissulfeto de carbono, após limpeza na solução de acetato de chumbo, era recolhido em reagente cromogênico (dietanolamina) e lido em espectrofotômetro a 435 nm (Figura 10).

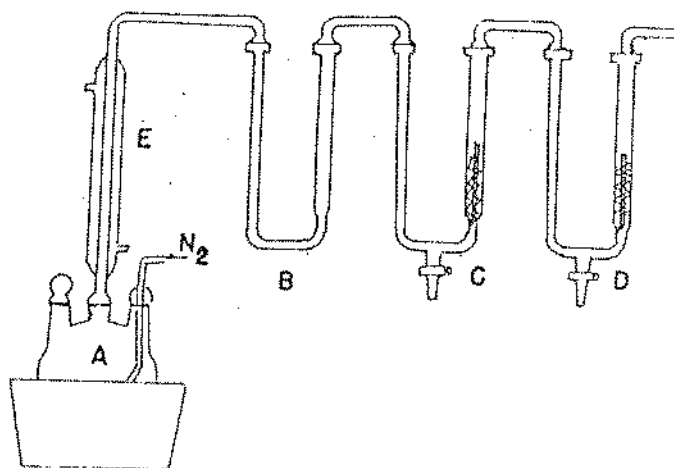


Figura 10. Sistema para determinação de EBDCs (CARVALHO & YOKOMIZO, 1984).

## 2.5. Legislação Brasileira de agrotóxicos

A partir de 11 de janeiro de 1990, através do Decreto nº98.816, a nomenclatura resíduos de "pesticidas", anteriormente citada em todos os Decretos e Portarias, foi substituída por resíduos de "agrotóxicos". Este mesmo Decreto assim define resíduos de agrotóxicos: é uma substância ou mistura de substâncias remanescente ou existente em alimentos ou no meio

ambiente decorrente do uso ou da presença de agrotóxico e afins, inclusive quaisquer derivados específicos, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, consideradas tóxicas e ambientalmente importantes.

No Brasil, o Ministério da Saúde é o órgão responsável pela legislação de alimentos, incluindo a legislação de resíduos de agrotóxicos.

O primeiro documento oficial sobre resíduos de agrotóxicos foi o decreto Federal nº 50.040/61-Normas Reguladoras de Emprego de Aditivos. Neste documento constam duas Tabelas: Tabela I, referente a Aditivos Intencionais em Alimentos e Tabela II, sobre as tolerâncias ou limites máximos de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

Este decreto foi substituído pelo decreto nº 55.871/65, sem alterar as Tabelas I e II e mantendo a forma de legislar através de resoluções emanadas da Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos.

O Ministério da Saúde, em outubro de 1969, promulgou o decreto nº 986/69, denominado Normas Básicas sobre Alimentos. Este documento previa a criação da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), cujo objetivo era legislar sobre todos os aspectos relacionados com alimentos, reunindo toda publicação da antiga Comissão Permanente de Aditivos em Alimentos.

Na resolução nº 30/70, a CNNPA criou diferentes grupos de trabalho e, entre eles, um grupo encarregado de elaborar as normas gerais sobre a remanescência de agrotóxicos em alimentos, denominado GT-2. Este grupo elaborou um documento básico, a resolução nº 12/74, publicada no Diário Oficial da União de 17/4/74 contendo: definições, conceitos e requisitos para o

registro de um agrotóxico de acordo com a orientação dada pelo Grupo Conjunto da FAO/OMS de Peritos sobre Resíduos de Pesticidas (JMPR). O item 3 desta resolução estabelece a união do Ministério da Saúde com o Ministério da Agricultura, sendo este último o primeiro organismo a se manifestar quanto ao emprego de um agrotóxico na agricultura ou na pecuária. No item 5 desta mesma resolução, o GT-2 preparou monografias de agrotóxicos, reavaliando aqueles constantes na Tabela anexa à Resolução 23/66 da antiga CPAA (YOKOMIZO, 1984).

A partir da Resolução 12/74, várias portarias foram baixadas e outras resoluções foram anexadas, como por exemplo: Portaria nº220 de 14.03.79 dos Ministérios da Agricultura e Saúde, destinada a regular a rotulagem dos agrotóxicos; Portaria nº 4/DISAD, de 30.04.80, que regulou e estabeleceu critérios para a classificação toxicológica dos agrotóxicos utilizados na Agricultura; Portaria nº 5/DISAD, de 05.05.80, que estabelece critérios e frases padronizadas para relatórios e rótulos de agrotóxicos; Portaria SNVS. nº 10, de 08.03.85, atribuindo à DINAL (Divisão Nacional de Alimentos) a compilação de relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários; Portaria nº 329 MA, de 02.09.85, proibindo no parágrafo 1º a utilização dos agrotóxicos organoclorados na produção de alimentos (NUNES, 1989).

Um fato de grande destaque é o Decreto nº 91.633 de setembro de 1985. Este decreto criou uma Comissão Especial, composta de 31 membros, representantes dos setores envolvidos na questão do controle de agrotóxicos. A finalidade deste grupo foi apresentar propostas de projetos de lei para atualização e complementação de informações sobre o emprego de agrotóxicos, através de uma lei de agrotóxicos.

As idéias sugeridas por esta comissão, em conjunto com a participação de diversos segmentos da comunidade de pesquisadores, técnicos, entidades de classes e das indústrias, tiveram como objetivo a formação de critérios técnicos que serviriam de base para o Congresso Nacional discutir e aprovar uma lei sobre o uso de agrotóxicos. Assim, em 15.06.1989, o Congresso aprovou a Lei 1924 que, em seguida, foi encaminhada e recebeu aprovação pelo Senado. Posteriormente, encaminhada ao Presidente da República, foi sancionada, sendo publicada no dia 12.07.1989, sob o nº 7.802 de 11 de julho de 1989.

A Lei nº 7.802 dispõe sobre: a pesquisa, a rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagem, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos (NUNES, 1989).

As questões principais da Lei nº 7.802 são relativas à proibição de agrotóxicos para os quais não haja, no Brasil, método de desativação de seus componentes, impedindo danos ao meio ambiente e ao homem. Esta mesma lei estabelece o receituário agrônomo - prescrito apenas por profissional habilitado - e para quem a descumprir define responsabilidades administrativas civil e penal, juntamente com as respectivas sanções (NUNES, 1989).

Apesar de todas estas modificações, a estrutura básica da Resolução 12/74 permaneceu servindo como ponto de partida para as legislações futuras.

Com relação à legislação sobre resíduos de agrotóxicos em morangos, foram fixados limites e carências para diferentes agrotóxicos. Para captan e mancozeb os limites de tolerância são 20 mg/kg e 1,0 mg/kg com carências de 1 e 21 dias,

respectivamente. Devido à Portaria nº 329 (BRASIL, 1985), que proíbe a aplicação de organoclorados na lavoura, não é permitida a aplicação de endossulfan. Clorotalonil e dicofol também não estão autorizados pela legislação de resíduos de agrotóxicos para serem pulverizados nos morangos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Reagentes

Foram utilizados os seguintes padrões analíticos:

- CAPTAN, N-(triclorometiltio)-4-ciclohexeno-1,2 dicarboximide, fornecido pela DuPont com índice de pureza 99%.

- CLOROTALONIL, tetracloroisoftalonitrila, fornecido pela SDS BIOTSCH CORPORATION, com índice de pureza 99,1%.

- DICOFOL, 2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil) etanol, fornecido pela ROHM & HAAS Co., com índice de pureza de 98,1%.

- ENDOSSULFAN, 1,4,5,6,7,7-hexacloro-biciclo (2,2,1) hepteno, 2,5,6 bis (metileno) sulfito, fornecido pela HOECHST, com as seguintes especificações: endossulfan I, endossulfan II, sulfato de endossulfan, todos com índices de pureza 83,7%.

- MANCOZEB, etilenobis(ditiocarbamato)-zinco, fornecido pela ROHM & HAAS Co., com índice de pureza de 87,3%.

Foram utilizados os seguintes reagentes e solventes:

Acetona, diclorometano, hexano, acetonitrilo, marca Merck, grau p.r., destilados.

Acetona p.a. Merck.

Água bidestilada.

Florisil 80-100 mesh p.r. Merck, aquecido em mufla a 600°C durante 8 horas e mantido ativado em estufa a 120°C até o momento da análise.

Sulfato de sódio anidro granulado p.r. Merck, aquecido em mufla a 400°C durante 4 horas e mantido em dessecador com sílica

gel até o momento da análise.

Cloreto de sódio p.r. Merck, aquecido em mufla a 400°C durante 4 horas e mantido em dessecador com sílica gel até o momento da análise.

Hyflow Super Cel marca Merck p.a.

Dissulfeto de carbono (CS<sub>2</sub>) marca Merck, grau p.a.

Dietanolamina marca Merck, grau p.a.

Acetato de cobre monoidratado Merck.

Ácido clorídrico concentrado marca Merck, grau p.a.

Cloreto estanoso marca Merck, grau p.a..

Papel de filtro Whatman nº5 tratado com acetona p.r. Merck durante 8 horas em Soxhlet.

Nitrogênio comum e Nitrogênio superseco para cromatografia gasosa, ambos da White Martins.

### 3.2. Vidrarias

Vidrarias comuns: béckeres, provetas, erlenmeyers, kitassatos, baguetas, funis de separação de 250 e 500mL, balões volumétricos de 100, 100 e 25mL, tubos concentradores graduados de 5, 10 e 25mL, balões de fundo chato de 500, 250 e 125mL, balões de três bocas de fundo redondo de 500mL, pipetas graduadas e volumétricas de 15, 10, 5, 4, 1, 0,5, 0,3, 0,2mL, pipetas de Pasteur, Soxhlet, condensadores.

Colunas cromatográficas de 1cm de diâmetro e 30cm de comprimento.

Microseringa de injeção de 10 microlitros para cromatografia gasosa.

Balões de digestão ácida com fundo redondo de três bocas.

Armadilhas coletoras de sulfeto de hidrogênio, dissulfeto de carbono e armadilha coletora de segurança. Condensadores.

Sistemas para destilação de solventes (balões de 2,5 litros, condensadores, colunas de vigroux).

### 3.2.1. Tratamento das vidrarias

Antes do uso, as vidrarias foram submetidas à seguinte seqüência de limpeza:

- 1-lavagem com extran alcalino e cinco enxagues com água de torneira;
- 2-lavagem com sulfocrômica seguida da limpeza com bastante água de torneira;
- 3-lavagem com água bidestilada;
- 4-secagem das vidrarias e lavagem com acetona p.a;
- 5-após eliminação da acetona, as vidrarias foram tampadas com papel alumínio e guardadas até o seu emprego.

### 3.3. Equipamentos

Cromatógrafo gasoso Varian Mod. 2.700 equipado com dois detectores de captura de elétrons de tritium ( $^3\text{H}$ ) e duas colunas empacotadas de 2 metros, sendo uma coluna com a fase estacionária 10% DC-200 em 100-120 Supelcoport e a outra com 4% SE-30/ 6% OV-210 em 80-100 Chromosorb W HP.

Cromatógrafo gasoso Varian Mod. 3.400 equipado com um detector de captura de elétrons ( $^{63}\text{Ni}$ ) com coluna megabore DB-5 (30 metros de comprimento e 0,54mm de dimetro interno 100% polissiloxano).

Cromatógrafo gasoso Varian Mod. 3.700 com detector de captura de elétrons ( $^{63}\text{Ni}$ ) com coluna empacotada 1,5% OV-17/ 1,95% QF-1 em 100/120 Supelcoport.

Registrador Varian.

Espectrofotômetro UV/V Varian Mod. séries 635 de duplo feixe, com cubetas de vidro de 1cm.

Mantas de aquecimento.

Balança analítica (METTLER) com cinco casas decimais.

Balança semi-analítica (METTLER) com duas casas decimais.  
Rotavapor (Tecnal).  
Placas de aquecimento.  
Homogeneizador Waring Blender.  
Mantas aquecedoras.

### 3.4. Amostras

#### 3.4.1. Morangos provenientes da Estação Experimental

Foram cultivados, segundo a boa prática agrícola, morangos da variedade Sequóia, na estação experimental da DuPont em Paulínia, São Paulo. Os morangos foram plantados na primeira semana de maio e colhidos no mês de agosto.

##### 3.4.1.1. Demarcação no campo

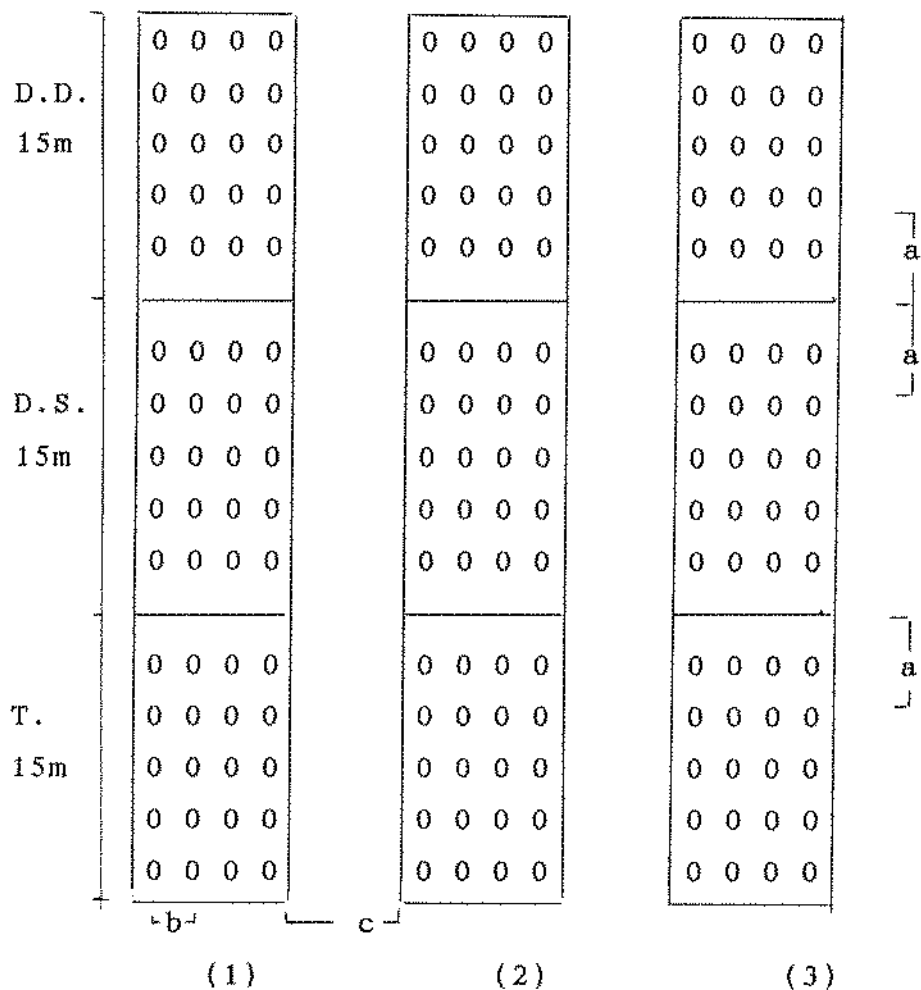
Para cultivos dos morangos foram empregados três canteiros, caracterizando plantio em triplicata, sendo cada um com 49,5 m<sup>2</sup> de área nas seguintes dimensões: 1,1 m de largura e 45 m de extensão. Em toda a extensão de cada canteiro foram plantadas 4 fileiras de morango espaçadas entre si de 30 centímetros. Entre os canteiros, guardou-se a distância de 1,1 m.

Cada canteiro foi dividido em três partes iguais, sendo uma parte testemunha e as duas outras partes reservadas para aplicações das doses simples e duplas dos agrotóxicos (Figura 11).

##### 3.4.1.2. Concentrações dos agrotóxicos aplicados no morangueiro

Os agrotóxicos Manzate Br., Captan 500 PM e Kelthane 480 foram pulverizados pelo sistema costal com largura de faixa





D.D. Aplicação das doses duplas.

D.S. Aplicação das doses simples.

T. Testemunha. Não foram aplicados agrotóxicos

a. Espaço de 1 m sujeito à contaminação do canteiro adjacente. Nestas demarcações não foram realizadas as colheitas.

b. Espaçamento de 30 cm entre as fileiras de morangos.

c. Espaçamento de 1,1 m entre canteiros.

Figura 11. Esquema de plantio dos morangos na estação experimental.

pulverizada de 1m, composto de quatro bicos, sob pressão de CO<sub>2</sub> de 60 PSI. Em todas as caldas foram adicionados 0,52 mL do espalhante adesivo Agrol. As concentrações aplicadas estão na Tabela 16.

### 3.4.1.3. Colheita dos morangos

Os morangos provenientes dos canteiros foram colhidos nas carências de zero, 1, 4, 7, 14 e 21 dias.

Tabela 16. Concentrações dos agrotóxicos aplicados no morangueiro na estação experimental.

Agrotóxico	Dosagem	
	D.S.	D.D.
Manzate Br. (DuPont)	3,0 kg/ha	6,0 kg/ha
Captan 500 PM (ICI Brasil)	240 g/L	480 g/L
Kelthane 480 (Rohm & Haas)	0,77 L/ha	1,54 L/ha

D.S. - dose simples.

D.D. - dose dupla.

#### 3.4.1.4. Amostragem dos Morangos na Estação Experimental

As amostras, tanto a testemunha como as pulverizadas nas doses simples e dupla, foram colhidas em triplicata nas carências especificadas em 3.4.1.3.. Acondicionadas em caixas de papelão, foram transportadas em isopor com gelo até o laboratório.

A colheita de cada canteiro foi dividida em dois grupos, sendo um grupo (G1) reservado para lavagem com água e o outro grupo (G2) reservado para não lavagem.

Cada um dos grupos foi dividido em três frações. A primeira fração do grupo G1 foi lavada com água corrente de torneira na vazão de 6 L/min e a primeira fração do grupo G2 não foi submetida à lavagem. Em seguida, ambas as frações foram homogeneizadas em Waring Blender e acondicionadas em frascos de vidro de 500 mL, fechados com tampas envolvidas com papel alumínio e estocados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , representando zero dia de estocagem em geladeira.

A segunda e terceira frações de ambos os grupos foram estocadas em geladeira a  $5^{\circ}\text{C}$  durante 3 e 7 dias, respectivamente. Estas duas últimas frações, logo após a estocagem em geladeira, foram submetidas aos mesmos procedimentos realizados com a primeira fração.

#### 3.4.2. Morangos provenientes da CEASA

##### 3.4.2.1. Amostragem (coleta)

Morangos de variedade Sequóia, Campinas e Lassen foram coletados de dez produtores, em três épocas diferentes na CEASA de Campinas. De cada produtor foram coletadas 6 caixas de papelão cheias de morangos, totalizando aproximadamente 1,5 kg. Estas

amostras foram separadas em três partes, cada uma com duas caixas de papelão, caracterizando amostragem em triplicata.

Os morangos de cada parte foram misturados e separados em dois grupos iguais (G1 e G2), sendo um grupo reservado para lavagem com água (G1) e o outro grupo (G2) reservado para não lavagem.

Ambos os grupos foram divididos em três frações e submetidos aos mesmos tratamentos dos morangos da estação experimental (Figura 12).

### 3.5. Metodologias

#### 3.5.1. Método de LUKE

Utilizou-se o método modificado de LUKE et al. (1975) para extração dos pesticidas captan, clorotalonil, endossulfan I, endossulfan II, sulfato de endossulfan e dicofol, seguido de purificação por partição líquido-líquido. Numa segunda etapa, executou-se o "clean up", conforme o procedimento 29.048 do método descrito pela AOAC (1984).

##### 3.5.1.1. Extração e purificação por partição líquido-líquido

Foram seguidas as etapas descritas abaixo e ilustradas na Figura 13.

1. Homogeneizar vinte gramas das amostras durante 30 segundos e extrair com 150 mL da mistura de acetona p.r.: água bidestilada (100:50). Filtrar o extrato utilizando-se funil Büchner com papel de filtro Whatman nº5 (tratado com acetona p.a. em Soxhlet durante 8 horas), e recolher em kitassato acoplado à bomba de vácuo.

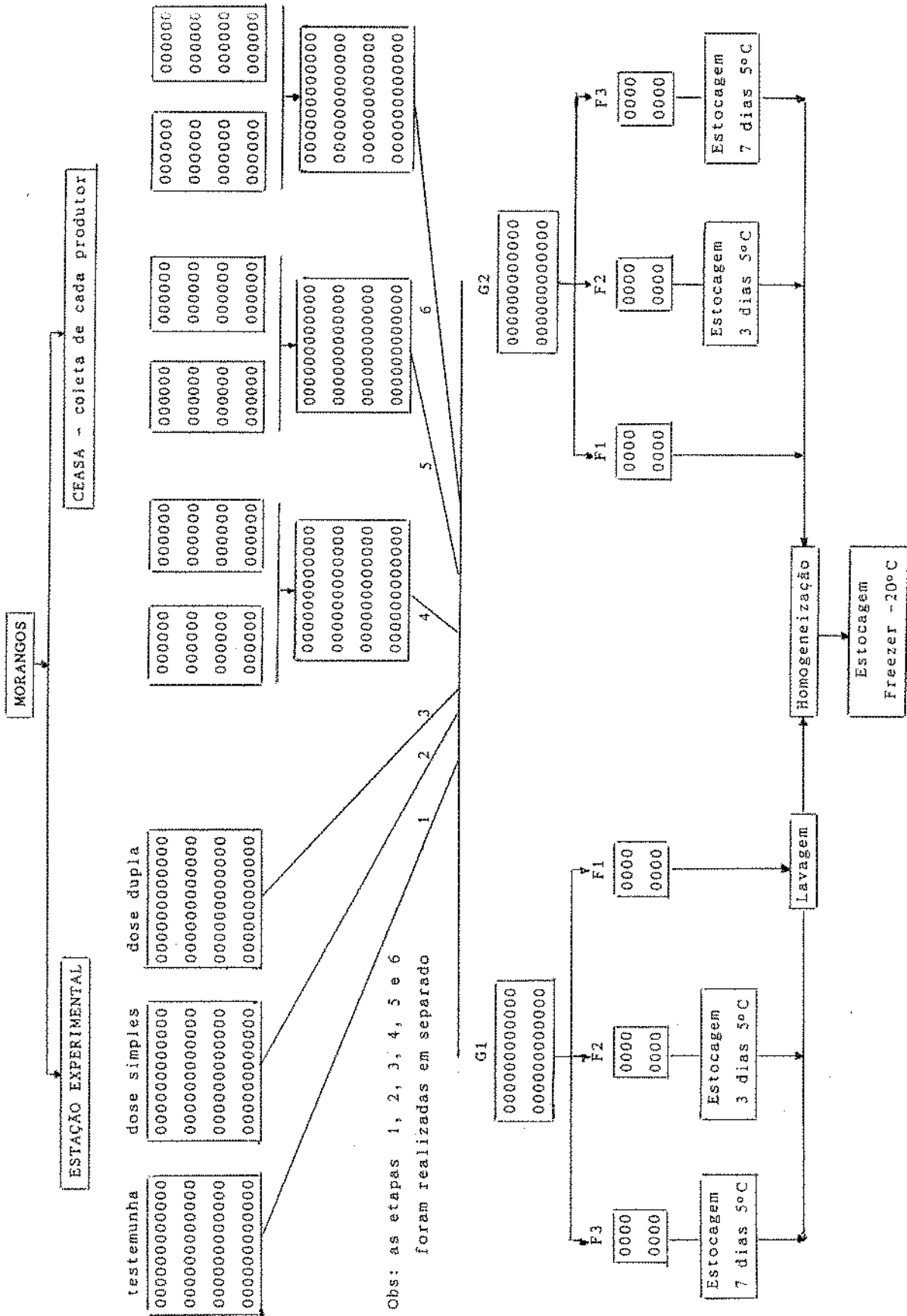


Figura 12. Amostragem dos morangos e tratamentos de lavagem e estocagem

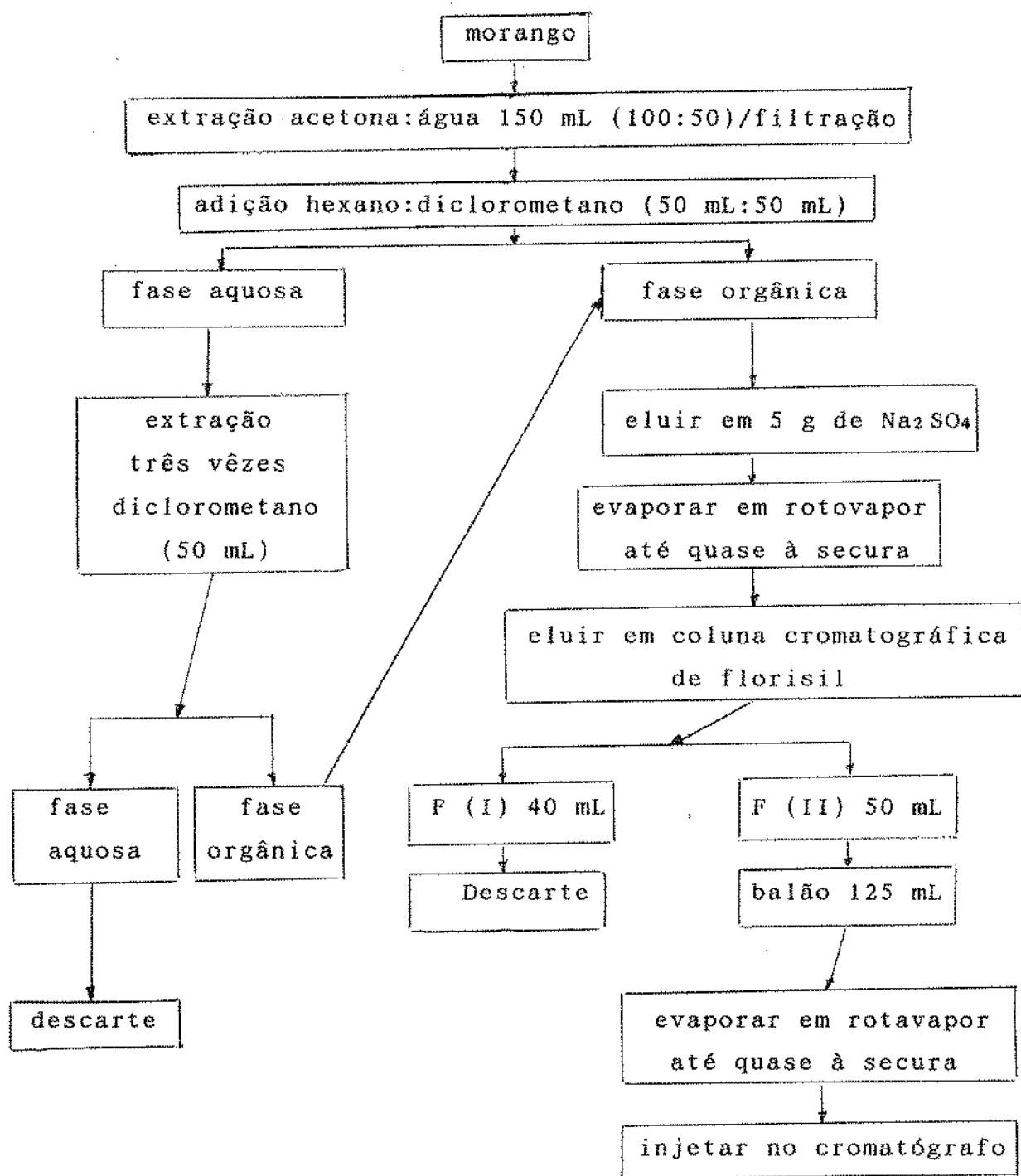


Figura 13. Esquema de extração e "clean up" em cromatografia de coluna de florisil

2. Transferir o filtrado para um funil de separação de 500mL com 100mL de mistura hexano:diclorometano (50:50 v/v), tendo-se o cuidado de lavar o kitassato com esta mistura de solventes. Agitar vigorosamente durante 1,5 minutos e deixar separar as fases orgânica e aquosa.
3. Transferir a camada aquosa para um funil de separação de 250 mL, contendo aproximadamente 5 g de NaCl tratado previamente em mufla. Agitar vigorosamente e adicionar 50 mL de diclorometano, agitando-se em seguida. Repetir três vezes esta adição.
4. Juntar as fases orgânicas das etapas 2 e 3. Filtrar através de papel de filtro com 2 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (tratado previamente em mufla a 400°C durante 4 horas) utilizando-se um funil como suporte. Recolher o filtrado em balão de 500 mL. Concentrar até quase a secura em rotavapor com banho no máximo a 40°C.
5. Dissolver em aproximadamente 5ml de hexano.

#### 3.5.1.2. "Clean up" do extrato em coluna cromatográfica

1. Preparar uma coluna cromatográfica de 1 cm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, empacotando-a com 7 g de Florisil 100-120 mesh e adicionando no topo 1 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Eluir 20 mL de hexano para condicionar a coluna.
2. Sem deixar secar a coluna, transferir com pipeta de Pasteur os 5 mL do extrato hexânico, tendo-se o cuidado de lavar duas vezes o balão de 500 mL com 5 ml de hexano.
3. Eluir com 20 mL de hexano (Eluente I), descartando esta fase. Em seguida, eluir com 50 mL do eluente II (diclorometano:acetonitrilo:hexano 50:1,5:48,5). Recolher o eluato em balão de 125 mL.

4. Concentrar o eluato em rotavapor no máximo a 40°C até quase à secura e transferir, lavando o balão com 10 mL de hexano, para um tubo concentrador graduado, Secar com nitrogênio comum e lavar com três porções de aproximadamente 2 mL de hexano, secando sempre com nitrogênio comum. Finalmente, diluir o extrato para 1,0 mL com hexano e injetar em cromatógrafo gasoso.

#### 3.5.1.3. Confirmação dos agrotóxicos nos morangos da CEASA

Para confirmação dos agrotóxicos encontrados nos morangos da CEASA, foram utilizadas quatro colunas diferentes, acopladas em três diferentes cromatógrafos, todos equipados com detectores de captura de elétrons (Tabela 17).

#### 3.5.1.4. Recuperação de captan, dicofol, clorotalonil e endossulfan.

Para avaliação da metodologia modificada de LUKE et al. (1975), determinou-se, antes do início da quantificação das amostras, a percentagem de recuperação dos agrotóxicos captan, clorotalonil, dicofol, endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan. Assim, em 10 g da amostra testemunha, livre de agrotóxicos, adicionou-se 1 mL das soluções padrões nas concentrações de 10 mg/kg, 1 mg/kg e 0,1 mg/kg dos agrotóxicos captan, clorotalonil e dicofol, caracterizando fortificações a nível de 1,0 mg/kg, 0,1 mg/kg e 0,01 mg/kg, respectivamente.

Utilizando-se também 10g de testemunha, adicionou-se 1 mL dos padrões de 1,0 mg/kg, 0,1 mg/kg e 0,01 mg/kg de endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan, caracterizando fortificações de 0,1mg/kg, 0,01mg/kg e 0,001mg/kg. Em seguida,



Tabela 17. Condições cromatográficas, colunas e detectores utilizados para quantificação e confirmação dos resíduos de agrotóxicos nos morangos.

Cromatógrafos/ Detectores	Condições Cromatográficas	Colunas
2700/ <sup>3</sup> H	C=200°C D=225°C I=225°C N2=60 PSI Att=8 x 10 Vp=20cm/hr 1 mv	10% DC-200 100/120 supelcoport 4% SE-30/ 6% OV-210 100/120 Chromosorb W HP.
3.400/ <sup>63</sup> Ni	C=200°C D=270°C I=220°C N2=40 PSI Att=8 x 10 Vp=20 cm/hr 1 mv	Megabore DB-5 microns 100% Polisiloxano
3.700/ <sup>63</sup> Ni	C=200°C D=270°C I=220°C N2=40 PSI Att=8 x 10 Vp=20cm/hr 1 mv.	1,5% OV-17/ 1,95% QF-1 100/120 Supelcoport

executaram-se todas as etapas do procedimento da Figura 13.

3.5.1.5. Cálculos para determinação de captan, dicofol, clorotalonil, endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan

Utilizou-se o método do padrão externo, na faixa de linearidade de cada agrotóxico. Para quantificação de captan e dicofol nas amostras de morangos, utilizou-se a coluna Megabore DB-5 100% Polissiloxano. Para determinação de endossulfan I, endossulfan II, sulfato de endossulfan e clorotalonil, empregou-se a coluna 1,5% OV-17/ 1,95% QF-1 em 100/120 supelcoport.

Para cálculo da concentração de cada agrotóxico empregou-se a equação a seguir:

$$C(\text{mg/kg}) = \frac{\text{Aa. Va. Vip. Cp}}{\text{Via. Ma. Ap.}}$$

sendo:

Amostra	Aa	- área do pico da amostra (mm <sup>2</sup> )
	Va	- Volume da amostra no tubo concentrador
	Via	- volume injetado da amostra no cromatógrafo
	Ma	- massa da amostra submetida à extração
	C	- concentração na amostra.
Padrão	Vip	- volume injetado do padrão no cromatógrafo
	Cp	- concentração do padrão injetado
	Ap	- área do pico do padrão.

### 3.5.2. Método de KEPPEL (1969)

Para determinação de mancozeb foi utilizado o método modificado de KEPPEL (1969), que tem sido escolhido para este fungicida. A determinação de mancozeb foi efetuada fundamentada no princípio da evolução de CS<sub>2</sub> após forte reação ácida, seguida de recolhimento em reagente cromogênico, formando uma solução amarela, que é submetida à medição colorimétrica.

O sistema utilizado baseou-se no aparelho projetado por CARVALHO & YOKOMIZO (1984 e 1988), com pequenas modificações no procedimento para adequar o experimento (Figura 14).

#### 3.5.2.1. Solução padrão de CS<sub>2</sub>

Em balão volumétrico de 25 mL acrescentou-se aproximadamente 0,1 mL de CS<sub>2</sub> previamente pesado (0,22 g). Completou-se o volume com etanol [ solução padrão (1) 0,22 g CS<sub>2</sub>/ 25 mL]. Desta solução, pipetou-se uma alíquota de 2 mL para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com etanol [ solução padrão (2): 0,0088 g/ 100 mL de CS<sub>2</sub> ].

#### 3.5.2.2. Reagente cromogênico

Em balão volumétrico de 250 mL, contendo 0,012 g de acetato de cobre monoidratado, adicionaram-se 25 g de dietanolamina e completou-se o volume com etanol 95%.

#### 3.5.2.3. Curva padrão de CS<sub>2</sub>.

Acrescentaram-se, com pipetas volumétricas, 15 mL de reagente cromóforo em sete balões volumétricos de 25 mL. Em seguida foram adicionados em cada balão, com pipetas volumétricas, 0,1 mL, 0,3 mL, 0,5 mL, 0,7 mL, 0,8 mL de solução-padrão (2) de

CS<sub>2</sub>, completando-se o volume a 25mL com etanol 95%. Submeteu-se cada padrão à leitura no visível a 435 nm em espectrofotômetro Varian Modelo Séries 634-S, tendo-se como referência um branco constituído de uma mistura de 10 mL de etanol e 15 mL de reagente cromogênico. Após anotação de cada leitura, traçou-se um gráfico relacionando as concentrações com as respectivas absorbâncias.

#### 3.5.2.4. Padrão de mancozeb

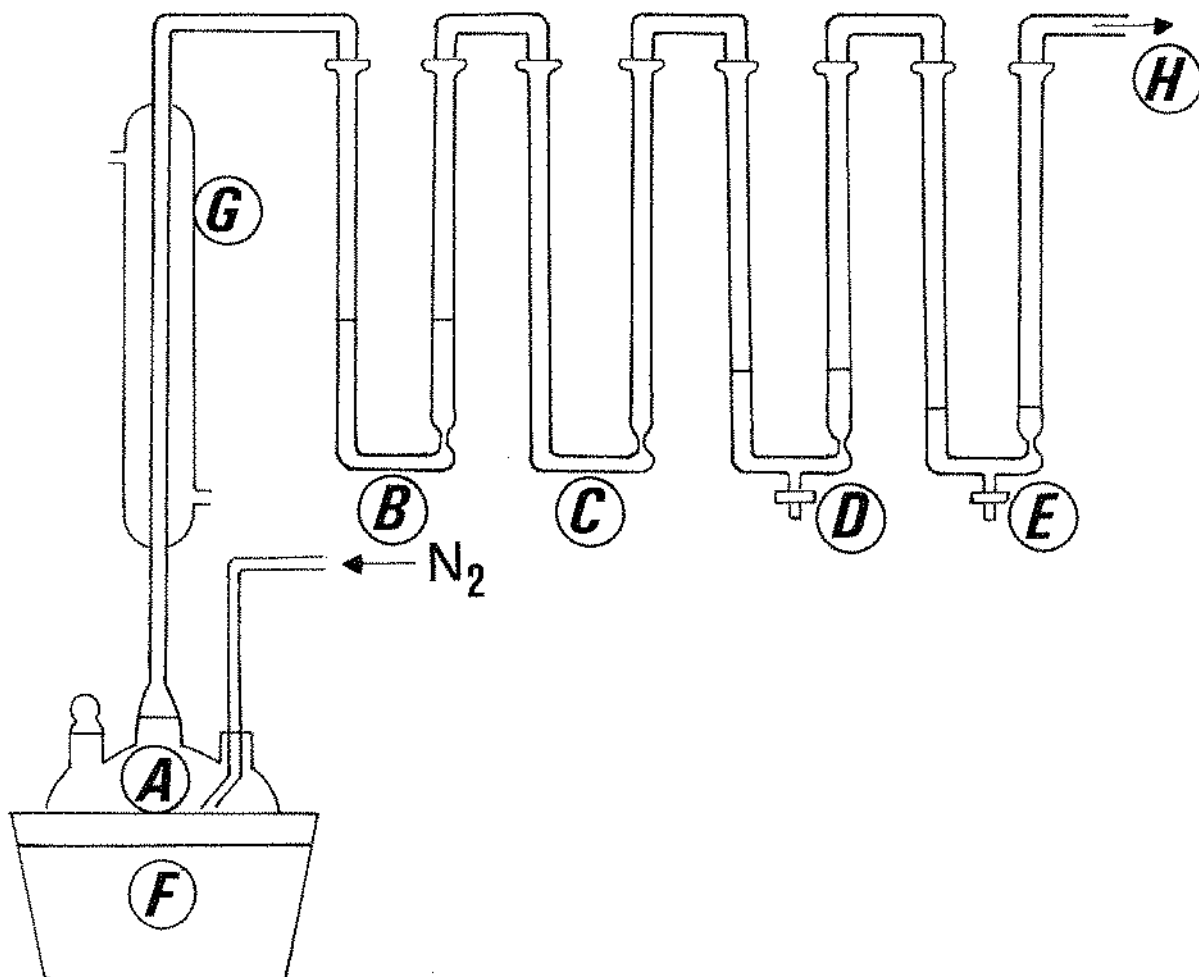
Em virtude da baixa solubilidade do mancozeb em água e solventes orgânicos, utilizou-se Hyflow Super Cel como suporte na preparação dos padrões. Assim, foram preparados dois padrões denominados de padrão de mancozeb 1, constituído de 0,1g de mancozeb 87,5% em 10g de Hyflow Super Cel, e padrão de mancozeb 2, formado por 0,01g de mancozeb 87,5% em 10g de Hyflow Super Cel.

#### 3.5.2.5. Recuperação de mancozeb

Pesaram-se 0,02 g, 0,0136 g e 0,005 g do padrão de mancozeb (1) e 0,005 g do padrão de mancozeb (2), adicionando-os em seguida a 10 g de morango, caracterizando fortificações a níveis de 20 mg/kg, 13,6 mg/kg, 5,0 mg/kg e 0,5 mg/kg, respectivamente.

#### 3.5.2.6. Procedimento do ensaio

Adicionaram-se 20 mL da solução de acetato de chumbo na armadilha B, 10 mL e 5 mL de reagente cromogênico em D e E, respectivamente (Figura 14). Adicionaram-se 20g de morango em balão para digestão ácida com três bocas(A), acrescentando-se em seguida 20 mL de solução aquosa de HCl 20% e 20 mL de solução aquosa de cloreto estânico 40%. Todo o sistema foi fechado borbulhando-se nitrogênio comum no balão de três bocas (A). Imediatamente a manta de aquecimento termostaticada foi ligada,



- A. Balão de digestão ácida com três bocas.
- B. Armadilha de acetato de chumbo.
- C. Armadilha de segurança.
- D. Armadilha de reagente cromogênico.
- E. Armadilha remanescente de reagente cromogênico.
- F. Manta de aquecimento.
- G. Condensador.
- H. Saída de gases.

Figura 14. Sistema para determinação de mancozeb.

deixando-se a solução em ebulição durante 1 hora.

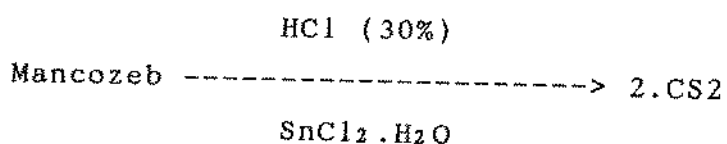
### 3.5.2.7. Cálculos para determinação de mancozeb

A leitura da absorbância das amostras é interpolada na curva-padrão de CS<sub>2</sub>, obtendo-se a concentração correspondente de CS<sub>2</sub> em µg/25 ml. Esta massa corresponde à quantidade evoluída de CS<sub>2</sub> oriunda da massa da amostra, após reação ácida. Para cálculo final da concentração de mancozeb na amostra, é empregada a fórmula a seguir, baseada na estequiometria da reação e no peso molecular do mancozeb (PM = 271), aceito internacionalmente, segundo STEVENSON (1972).

$$\text{mancozeb (ug/g)} = \text{CS}_2 \text{ (ug)} \cdot \frac{\text{mancozeb (P.M.)}}{2 \cdot \text{CS}_2 \text{ (P.M.)} \cdot m \text{ (g)}}$$

sendo: m (massa da amostra em gramas)

P.M. (peso molecular)



### 3.6. Análise estatística

Os dados de resíduos de agrotóxicos nos morangos da estação experimental foram submetidos à análise de variância segundo o delineamento de parcelas, subparcelas (split-split-plots design), incluindo-se nas parcelas o fator tratamentos, nas subparcelas o fator estocagens e a interação tratamentos x estocagens, e nas subparcelas o fator carências e as interações tratamentos x carências, estocagens x carências e tratamentos x estocagens x carências. Quando ocorreu a significância ( $p < 0.05$ ) de uma destas interações, fêz-se o estudo de um fator dentro de outros fatores.

Foram realizados os mesmos tratamentos estatísticos entre os morangos da estação experimental e CEASA. Nas amostras da CEASA foram incluídos nas parcelas os fatores produtor e tratamento e a interação produtores x tratamentos.

A análise da variância foi complementada com o teste de Tukey para o confronto das médias dos tratamentos e pelo estudo da relação funcional entre a variável aleatória resíduo de pesticida e as variáveis fixas tempo de carência e de estocagem, sempre que viável. O nível de erro para os testes estatísticos foi fixado em 5% (CAMPOS, 1984).

Toda análise estatística foi feita na Seção de Estatística do Instituto de Tecnologia de Alimentos, sob responsabilidade do pesquisador ISSAO SHIROSE.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

##### 4.1. Método de Multirresíduos de LUKE (1975).

Antes da escolha da metodologia para determinação dos resíduos de agrotóxicos, as vidrarias foram submetidas a lavagem adequada e os reagentes, papéis de filtro e solventes, a tratamento de purificação. Estas providências são necessárias em virtude da possibilidade dos cromatogramas apresentarem picos de substâncias estranhas oriundas de vidrarias contaminadas ou de reagentes, papéis de filtro e solventes não purificados. Estas substâncias interferentes, em geral no mesmo nível de concentração dos resíduos de agrotóxicos, podem dificultar a interpretação correta dos cromatogramas, induzindo a erros.

Os padrões dos agrotóxicos foram injetados nos cromatógrafos gasosos, equipados com diferentes colunas, obtendo-se cromatogramas com todos os picos dos resíduos em estudo. Variáveis cromatográficas como temperaturas da coluna, do detector, do injetor e o fluxo de nitrogênio foram otimizadas através de tentativas experimentais.

Na utilização do cromatógrafo gasoso para quantificação dos resíduos de agrotóxicos, foi ajustado o fluxo do gás de arraste para obtenção de uma boa corrente de fundo (picos de ruídos que não interferissem nas análises) e determinada a faixa linear de concentração. Segundo McNAIR e BONELLI (1969), a faixa linear de um detector pode ser definida como a razão entre a maior e menor concentração dentro da qual a resposta do detector é linear. Para determinação da faixa de linearidade de cada agrotóxico, foram calculadas as respectivas regressões lineares. Assim, os extratos finais foram concentrados ou diluídos até atingirem as concentrações compreendidas nesta faixa de linearidade.



Os resíduos dos agrotóxicos captan, dicofol, clorotalonil, endossulfan I, endossulfan II e endossulfan sulfato poderiam ter sido determinados por várias metodologias específicas (FRANK et al., 1983; RITCEY et al., 1987). Entretanto a determinação de cada agrotóxico por um método específico aumentaria o tempo e o custo das análises. Optou-se então pelo método de multiresíduo de LUKE (1975), principalmente pela sua facilidade em operacionalizar todas as análises.

No presente estudo, a acetona utilizada originariamente no método de LUKE (1975) foi substituída pela mistura água:acetona (50mL:100mL). Tal modificação visou proporcionar uma melhor separação de materiais hidrossolúveis, tais como proteínas e carboidratos.

Para a etapa de "clean up", a metodologia original sugere a utilização de coluna cromatográfica empacotada com florisil ativado e o emprego dos solventes I (hexano), II(hexano:diclorometano 80:20) e III (hexano:acetonitrila:diclorometano 48,5:1,5:50), para eluição dos agrotóxicos. Entretanto, eliminou-se o solvente II, uma vez que testes realizados com padrões indicaram que os agrotóxicos em estudo eram completamente eluídos na fração III. Este procedimento não aumentou os picos interferentes, além de reduzir o tempo e o custo das análises.

Os resíduos de agrotóxicos recolhidos na fração III apresentaram diferentes tempos de retenção, possibilitando a sua determinação simultânea. Entretanto, como alguns resíduos apresentaram tempos de retenção próximos, optou-se por dividi-los em dois grupos: captan e dicofol, determinados na coluna megabore DB-5, enquanto que clorotalonil e endossulfan foram reservados para determinação na coluna 1,5% OV-17/1,95% QF-1, obtendo-se cromatogramas com melhor resolução (Figura 15).

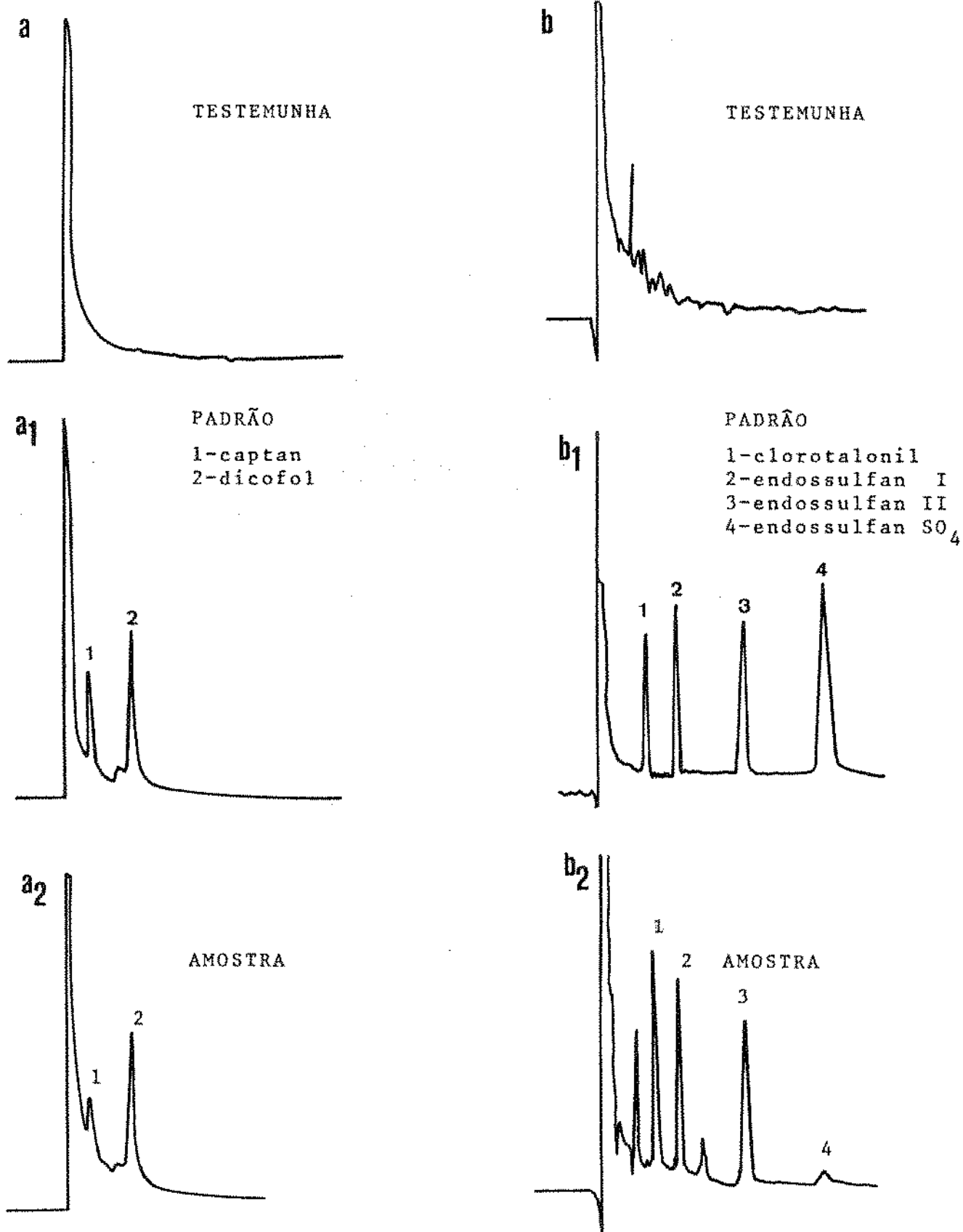


Figura 15. Cromatogramas em colunas: Megabore DB-5 100% polisiloxano (a, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>) e 1,5% OV-17/1,95% QF-1 em 100/120 supelcoport (b, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>), atenuação 16x10.

Para confirmação dos resíduos de agrotóxicos nas amostras da CEASA foram utilizadas as colunas 4% SE-30/6% OV-210 em 80/100 Chromosorb W HP, 10% DC-200 em 100/120 Supelcoport, megabore DB-5 microns em 100% polisiloxano e 1,5% OV-17/1,95% QF-1 em 100/120 supelcoport, acopladas em diferentes cromatógrafos.

De modo geral, utiliza-se a coluna 1,5% OV-17/ 1,95% QF-1 nas análises quantitativas de organoclorados em ampla variedade de amostras (UNGARO et al., 1983; UNGARO et al., 1985; SOARES, 1986; UNGARO et al., 1987). Esta mesma fase estacionária foi utilizada na determinação de captan em maçãs (FRANK et al., 1983), dicofol e endossulfan em morangos (GUINDANI & UNGARO, 1988) e captan em morangos (RITCEY et al., 1987). Também são utilizadas as colunas com as fases estacionárias SE-30 e DC-200 (WILKES, 1979; UNGARO et al., 1987).

Quanto às recuperações, os valores encontrados (83% a 120%) foram similares aos obtidos por outros pesquisadores (GILVYDIS et al., 1986; RITCEY et al., 1987) e dentro da faixa de recuperação aceita internacionalmente (80% a 120%) (Tabela 18).

#### 4.2. Método de KEPPEL (1969)

O método de KEPPEL (1969) tem sido amplamente utilizado na detrminação de ditio carbamatos, embora existam outros métodos alternativos (GUSTAFSSON & FAHLGREN, 1983). Devido à disponibilidade da aparelhagem para determinação de ditio carbamatos e da grande aceitabilidade da técnica, este método foi escolhido para o presente estudo.

Utilizou-se o sistema projetado por CARVALHO e YOKOMIZO (1988) baseado no princípio da evolução de CS<sub>2</sub> e nas modificações do equipamento criado originalmente por KEPPEL (1969). Embora o sistema proposto por estes pesquisadores preveja o emprego de

Tabela 18. Recuperações de agrotóxicos em morangos pelo método de LUKE (1975).

Agrotóxico	Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)	
		a	b
Captan	1	100	83
	0,1	93	120
	0,01	90	nr
Clorotalonil	1	89	98
	0,1	92	120
Dicofol	1	104	nr
	0,1	85	nr
	0,01	120	nr
Endossulfan I	0,1	83	88
	0,01	95	95
	0,001	nr	83
Endossulfan II	0,1	90	90
	0,01	100	100
	0.001	nr	85
Endossulfan SO <sub>4</sub>	0,1	100	94
	0,01	nr	88

a : coluna Megabore DB-5 em 100% Polissiloxano

b : coluna 1,5% OV-17/1,95% QF-1 em 100/120 Supelcoport

nr - não realizado

bomba de vácuo na saída dos gases (ponto H da figura 14), esta sucção por vácuo foi dispensada durante as análises, devido a que

nos procedimentos iniciais, empregando-se a bomba de vácuo, a solução de acetato de chumbo transbordava (ponto B da figura 14), contaminando não só os reagentes cromogênicos como também a própria bomba.

Também acrescentou-se ao equipamento uma armadilha de segurança (parte C da figura 14), com o propósito de evitar contaminação dos reagentes cromogênicos com os condensados provenientes da reação ácida. Com estas modificações, obteve-se as recuperações apresentadas na Tabela 19.

Tabela 19. Recuperações do mancozeb em morangos testemunhas.

Nível de Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)
20	110
20	86
13,6	83
10	107
5	90
0,5	109

Para cálculo de mancozeb, utilizou-se a curva de regressão linear, na faixa de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg. O limite de quantificação do método foi de 0,5 mg de mancozeb/kg de morango.

O tempo de execução de cada análise foi de 90 minutos, período este compreendido entre a montagem, análise e desmontagem do sistema. Como este tempo é considerado longo para análise de rotina, sugere-se a utilização de mais vidrarias para otimização do método. Outra limitação analítica do método é a sua não

especificidade, pelo fato do CS<sub>2</sub> evoluído dos ditiocarbamatos ser determinado espectrofotometricamente, não indicando qual molécula deu origem ao dissulfeto de carbono.

#### 4.3. Resíduos de agrotóxicos nos morangos da Estação Experimental

As aplicações de captan, mancozeb e dicofol em morangos Sequóia da Estação Experimental obedeceram às regras da boa prática agrícola, seguindo recomendações do receituário agrônômico. O objetivo deste estudo de campo foi estabelecer um padrão de referência de resíduos para servir de comparação com os resultados obtidos com morangos disponíveis no comércio.

Os agrotóxicos captan e mancozeb foram escolhidos por serem permitidos pela legislação e os mais indicados por agrônômos para uso em morangueiro. Estudou-se também o dicofol, um acaricida que, embora proibido pela legislação, tem sido detectado em morangos nos últimos anos (GUINDANI & UNGARO, 1988).

Embora a legislação especifique as carências de 1 dia para captan e de 21 dias para mancozeb, foram determinados os níveis destes agrotóxicos em 0, 1, 4, 7, 14 e 21 dias de carência, com a finalidade de se estudar o decréscimo destes fungicidas neste período.

Apesar das aplicações na Estação Experimental e coleta na CEASA terem sido realizados em triplicata, as determinações foram feitas em duplicata, escolhendo-se aleatoriamente as amostras reservadas para análises, com o cuidado de se analisar aquelas submetidas ao mesmo tratamento de estocagem, diferenciando-se apenas quanto ao procedimento de lavagem ou não. Os resultados das análises em duplicata foram bastante próximos e, por isto, dispensou-se a terceira determinação, o que permitiu a redução dos custos das análises em até 30%.

#### 4.3.1. Captan (dose simples e dupla)

Os níveis de resíduos do agrotóxico captan, aplicados em doses simples e dupla, em morangos Sequóia da Estação Experimental, encontram-se nas tabelas 20 e 21. Nestas tabelas foram acrescentadas as percentagens de remoção dos resíduos de captan por lavagem com água. A diminuição dos níveis dos resíduos do agrotóxico nos morangos em decorrência da lavagem com água e da sua estocagem em geladeira está ilustrada nas figuras 16 e 17, respectivamente..

##### 4.3.1.1. Degradação de captan e carência

Conforme os resultados das tabelas 20 e 21, houve um decréscimo do teor de captan à medida que aumentou a carência. Este comportamento se deve às condições ambientais de luz e calor, favoráveis à degradação do referido agrotóxico. Resultados similares também foram obtidas por RITCEY et al. (1987) em morangos pulverizados com captan e colhidos nas carências de 0, 1, 2, 4, 5, 10 e 15 dias. No presente estudo, uma concentração residual de captan de 3,10 mg/kg foi determinada na carência de zero dia, com decréscimo de 99,7% após 14 dias. Neste mesmo período de carência, as pesquisas de RITCEY et al. (1987) apresentaram reduções de captan de 86% e 93%, em morangos cultivados nos anos de 1982 a 1983, respectivamente.

Os níveis de captan em morangos submetidos a aplicação dose dupla foram próximos ao da aplicação dose simples, na carência de 0 dia, o que pode ser atribuído a um erro de colheita ou amostragem. Portanto, estes valores não foram considerados para discussão dos resultados, sendo levados em consideração apenas os dados a partir da carência 1 dia.

Tabela 20. Resíduos do agrotóxico captan (mg/kg), dose simples, em morangos da Estação Experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)													
	0	1		4		7								
	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)								
0	3,10 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	94	2,13 <sup>a</sup>	0,16 <sup>b</sup>	92	0,37 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	81	0,20 <sup>a</sup>	0,05 <sup>b</sup>	75	0,01	nd
3	1,66 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>	91	1,18 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	91	0,22 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	77	0,05 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	20	nd	nd
7	1,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	92	0,69 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	88	0,08 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	75	0,02	nd	nd	nd	nd

nd - não detectável (abaixo do limite de quantificação de 0,01 mg/kg). s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção. DMS(%) - diferença mínima significativa igual a 0,22 do teste de Tukey ao nível de erro de 5%. As médias (duas determinações) acompanhadas da mesma letra na linha para um mesmo período de carência não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

Tabela 21. Resíduos do agrotóxico captan (mg/kg), dose dupla, em morangos da estação experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)													
	0	1		4		7								
	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)								
0	3,18 <sup>a</sup>	0,15 <sup>b</sup>	95	3,00 <sup>a</sup>	0,32 <sup>b</sup>	89	1,07 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>	80	0,48 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	73	0,02	nd
3	1,56 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	93	1,21 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>	93	0,34 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	79	0,16 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	68	nd	nd
7	1,20 <sup>a</sup>	0,04 <sup>b</sup>	96	0,54 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	83	0,13 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	76	0,10 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	70	nd	nd

nd - não detectável (abaixo do limite de quantificação de 0,01 mg/kg). s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção. DMS(%) - diferença mínima significativa igual a 0,28 do teste de Tukey ao nível de erro de 5%. As médias (duas determinações) acompanhadas da mesma letra na linha para um mesmo período de carência não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.



#### 4.3.1.2. Níveis de captan e legislação brasileira

Os níveis de captan encontrados nos morangos submetidos à pulverização com doses simples e dupla foram inferiores (cerca de seis vezes menos) ao limite estabelecido pela legislação brasileira de resíduos de agrotóxicos (20 mg/kg). Pesquisas realizadas por Ritcey et al. (1987) confirmam que a concentração de captan nas folhas é aproximadamente dez vezes maior do que no fruto. Devido à natureza botânica do morangueiro, as folhas exercem proteção aos frutos (CAMARGO et al., 1969) servindo, desta forma, de obstáculo à pulverização de agrotóxicos. A grande diferença entre o limite estabelecido pela legislação e aquele obtido através da boa prática agrícola indica que dificilmente os níveis residuais de captan em morangos ultrapassarão o limite máximo permitido pela legislação, mesmo havendo excesso por parte do agricultor.

#### 4.3.1.3. Efeitos da lavagem

Conforme apresentado nas tabelas 20 e 21, os níveis residuais de captan após lavagem foram 20% a 95% inferiores, tanto nos morangos submetidos à aplicação dose simples como dose dupla, indicando que a lavagem foi eficiente na remoção de resíduos deste agrotóxico

Verifica-se um aumento crescente da remoção de resíduos de captan em morangos à medida que aumenta a concentração deste agrotóxico (Figura 16), semelhante aos resultados obtidos por JAGLAN & CHOPRA (1970) com BHC e DDT em berinjela e por MARSHALL (1982) com resíduos de maneb em tomates.

Após o décimo quarto dia de carência, tanto para os morangos submetidos à aplicação dose simples como dose dupla, a concentração residual de captan atingiu níveis abaixo do limite de

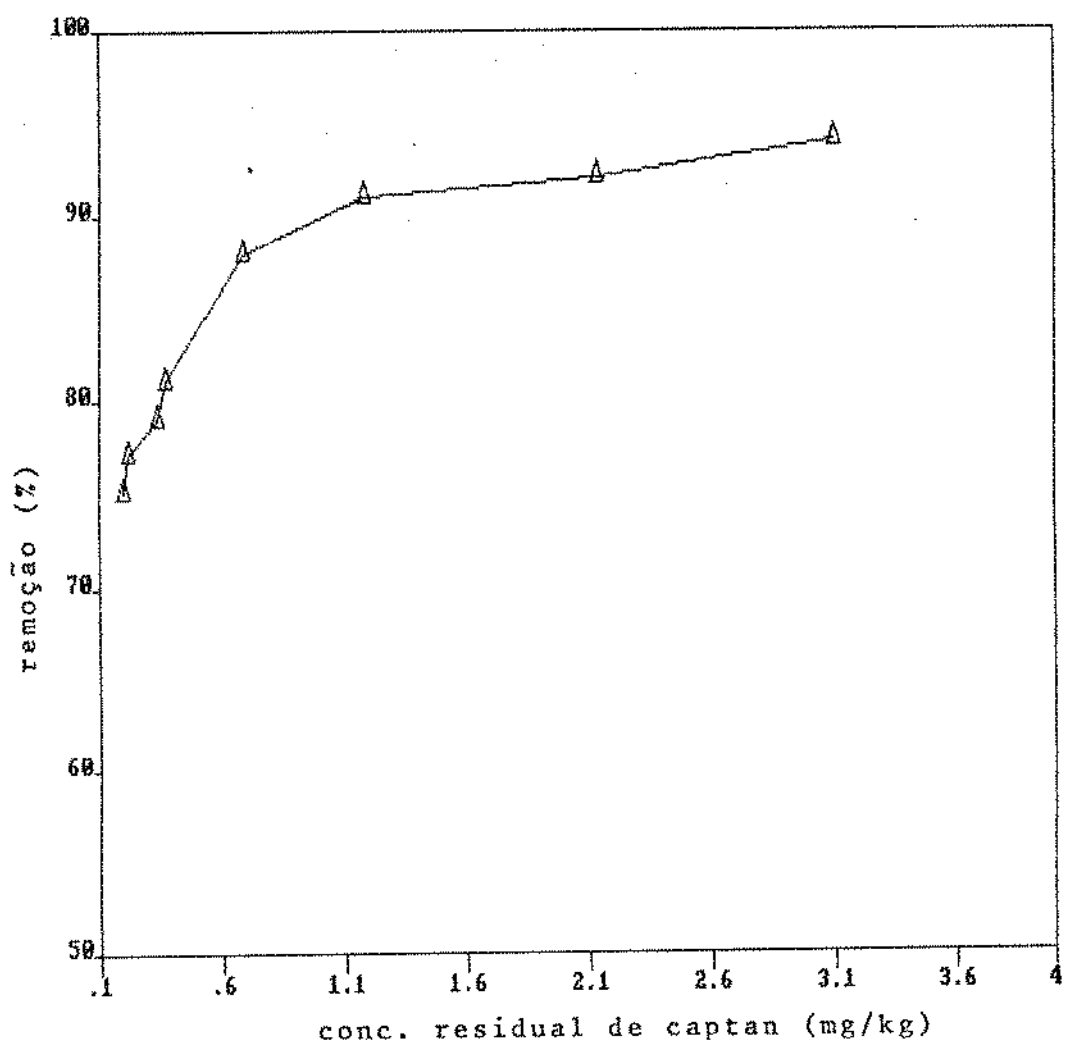


Figura 16. Eficiência da lavagem com água na remoção de resíduos de captan em morangos.

quantificação (0,01 mg/kg).

#### 4.3.1.4. Efeitos da estocagem

A figura 17 ilustra os efeitos da estocagem em geladeira (5°C) sobre a redução dos níveis residuais de captan. As curvas correspondentes às carências de 0, 1, 4 e 7 dias nos morangos submetidos à aplicação dose simples e dupla, evidenciam maior degradação de captan quando a concentração inicial deste agrotóxico também é maior.

Apesar dos níveis residuais de captan, correspondentes à carência zero dia na dose dupla, não terem sido considerados na discussão relacionada com a degradação do captan em função do período de carência, os mesmos estão apresentados no gráfico da figura 17 para ilustrar a degradação deste fungicida devido à estocagem, confirmando os resultados obtidos com a carência zero dia de captan dose simples.

KOIVISTOINEN et al. (1965) reportaram que maçãs estocadas durante 1 semana apresentavam redução de captan de 21% a 5°C e de 39% a 20°C. Neste trabalho, as maçãs foram previamente mergulhadas em suspensão de captan antes da estocagem. O mesmo tratamento de mergulhar a fruta em suspensão de captan foi feito para morangos que, após estocagem a 4°C durante dois dias, apresentaram perdas insignificantes de captan (4% a 5%), enquanto que, após 7 dias, a perda do referido fungicida foi de 20%.

Conforme os resultados das Tabelas 20 e 21, a estocagem em geladeira (5°C) durante 3 e 7 dias resultou em maiores perdas de captan do que as obtidas por KOIVISTOINEN et al. (1965). No entanto, deve-se considerar que as condições experimentais dos trabalhos foram distintas: na presente pesquisa, os morangos foram pulverizados pré-colheita com captan dissolvido em solução com

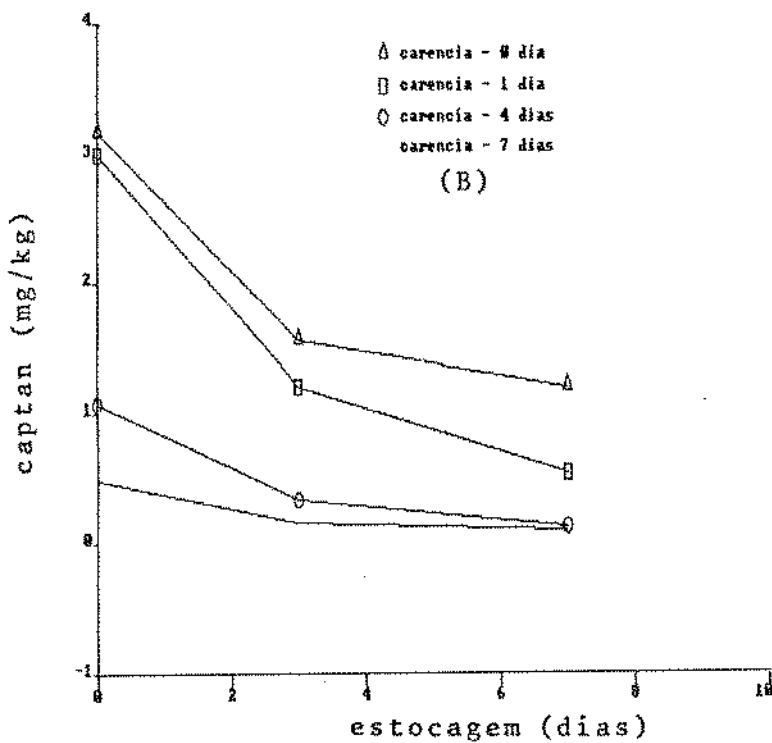
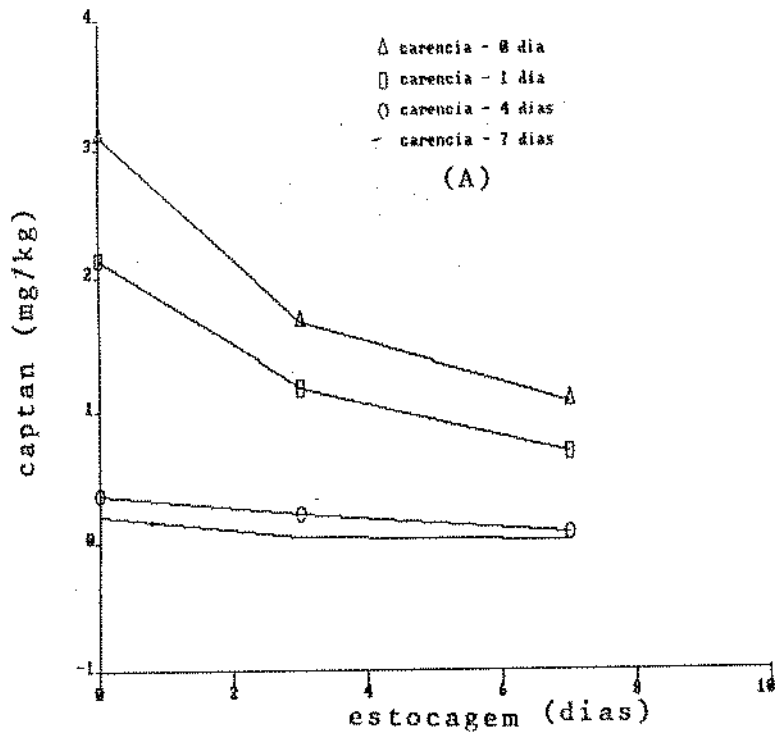


Figura 17. Efeito da estocagem em geladeira (5°C) sobre os níveis de captan doses simples (A) e dupla (B) em morangos da Estação Experimental com 0, 1, 4 e 7 dias de carências.

espalhante adesivo enquanto que KOIVISTOINEN et al. (1965) mergulharam os morangos, após colheita, em solução de captan.

Resíduos de captan em morangos submetidos à aplicação dose simples sofreram 55% de degradação após 3 dias de estocagem, enquanto que para 7 dias de estocagem a perda foi de 88%. Nos morangos pulverizados com dose dupla de captan, as perdas deste agrotóxico foram de 60% e 70% em 3 e 7 dias, respectivamente.

Em função do grande número de amostras para serem analisadas, não foi possível a execução de todos os ensaios logo após a colheita. Assim, foi necessário se estocar o morango a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente 30 dias até a análise propriamente dita. A influência deste período de estocagem em freezer sobre os níveis residuais de captan não foi estudada por não ser objetivo do presente estudo.

#### 4.3.2. Dicofol (dose simples e dupla)

Os resultados das análises de dicofol (doses simples e dupla) nos morangos encontram-se nas tabelas 22 e 23. Nestas tabelas estão incluídas as percentagens de remoção de dicofol por lavagem com água e os níveis deste acaricida em cada carência.

##### 4.3.2.1. Carência e degradação de dicofol

Dicofol é um dos produtos de degradação do DDT e pertence à família dos organoclorados. Nas tabelas 22 e 23 pode-se observar a lenta degradação deste acaricida em morangos, tendo sido detectados resíduos até 28 dias após aplicação no campo. Apesar das condições ambientais favoráveis à degradação, confirma-se a grande estabilidade do dicofol, que permaneceu no morango até o nível de 0,02 mg/kg, ultrapassando o período compreendido entre a floração e maturação da fruta (15 a 25 dias).

Tabela 22. Resíduos do agrotóxico dicofol (mg/kg), dose simples, em morangos da estação experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)															
	0	1	4	7	14	21										
	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)				
0	0,29 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	41	0,20 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>	36	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	10	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>			
3	0,29 <sup>a</sup>	0,14 <sup>b</sup>	51	0,18 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	44	0,19 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>	36	0,09 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	33	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>
7	0,30 <sup>a</sup>	0,15 <sup>b</sup>	50	0,19 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>	36	0,18 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	43	0,11 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	10	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>

nd - não detectável (abaixo do limite de determinação de 0,01 mg/kg). s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção.

DMS(%) - Diferença mínima significativa de 0,02 do teste de Tukey ao nível de erro de 5%.  
As médias (duas determinações) acompanhadas da mesma letra na linha para um mesmo período de carência não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

Tabela 23. Resíduos do agrotóxico dicofol (mg/kg), dose dupla, em morangos da estação experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)																
	0	1	4	7	14	21											
	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)					
0	0,40 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	57	0,38 <sup>a</sup>	0,19 <sup>b</sup>	50	0,36 <sup>a</sup>	0,19 <sup>b</sup>	47	0,14 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	50	0,07 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	42	0,03 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>
3	0,38 <sup>a</sup>	0,16 <sup>b</sup>	57	0,39 <sup>a</sup>	0,23 <sup>b</sup>	41	0,36 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	47	0,14 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	57	0,07 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	33	0,03 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>
7	0,43 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	60	0,39 <sup>a</sup>	0,22 <sup>b</sup>	43	0,36 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	43	0,13 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	53	0,06 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	33	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>

nd - não detectável (abaixo do limite de determinação de 0,01 mg/kg). s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção.

DMS(%) - Diferença mínima significativa de 0,04 do teste de Tukey ao nível de erro de 5%.  
As médias (duas determinações) acompanhadas da mesma letra na linha para um mesmo período de carência não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

#### 4.3.2.2. Lavagem com água e remoção de dicofol

A remoção de resíduos de dicofol provocada pela lavagem com água ficou na faixa de 10% a 60%, aumentando à medida que aumentou a concentração residual do agrotóxico. Para níveis de dicofol iguais ou inferiores a 0,04 mg/kg, não foi observada remoção do resíduo por lavagem com água, sugerindo que a lavagem com água não é efetiva para concentrações muito baixas (Figura 18).

#### 4.3.2.3. Estocagem e degradação de dicofol

Pelos resultados obtidos (Tabelas 23 e 24), verifica-se que não houve degradação de dicofol como consequência da estocagem em geladeira (5°C) durante 3 e 7 dias, confirmando a grande estabilidade dos organoclorados. Não foram encontrados na literatura trabalhos sobre a degradação de dicofol submetido à estocagem por curtos períodos de tempo à baixa temperatura. Entretanto pesquisas realizadas com DDT, cuja estrutura molecular é semelhante à do dicofol, não evidenciaram decréscimo significativo após 3 e 4 dias de estocagem de tomates a 12,7°C (FARROW et al., 1968). Este mesmo resultado foi obtido para DDT após estocagem de batata durante 6 semanas a 7°C (LAMB et al., 1968a), assim como para feijão após 16 dias de estocagem a 7°C (ELKINS et al., 1968) e para espinafre após quinze dias de estocagem na mesma temperatura anterior (LAMB et al., 1968b).

#### 4.3.3. Mancozeb (dose simples e dupla)

Os resultados das análises de mancozeb aplicados em morangos em doses simples e dupla, encontram-se nas tabelas 24 e 25, respectivamente. Nestas tabelas constam as carências e os níveis após lavagem com água. A figura 19 ilustra a degradação de mancozeb após 3 e 7 dias de estocagem em geladeira

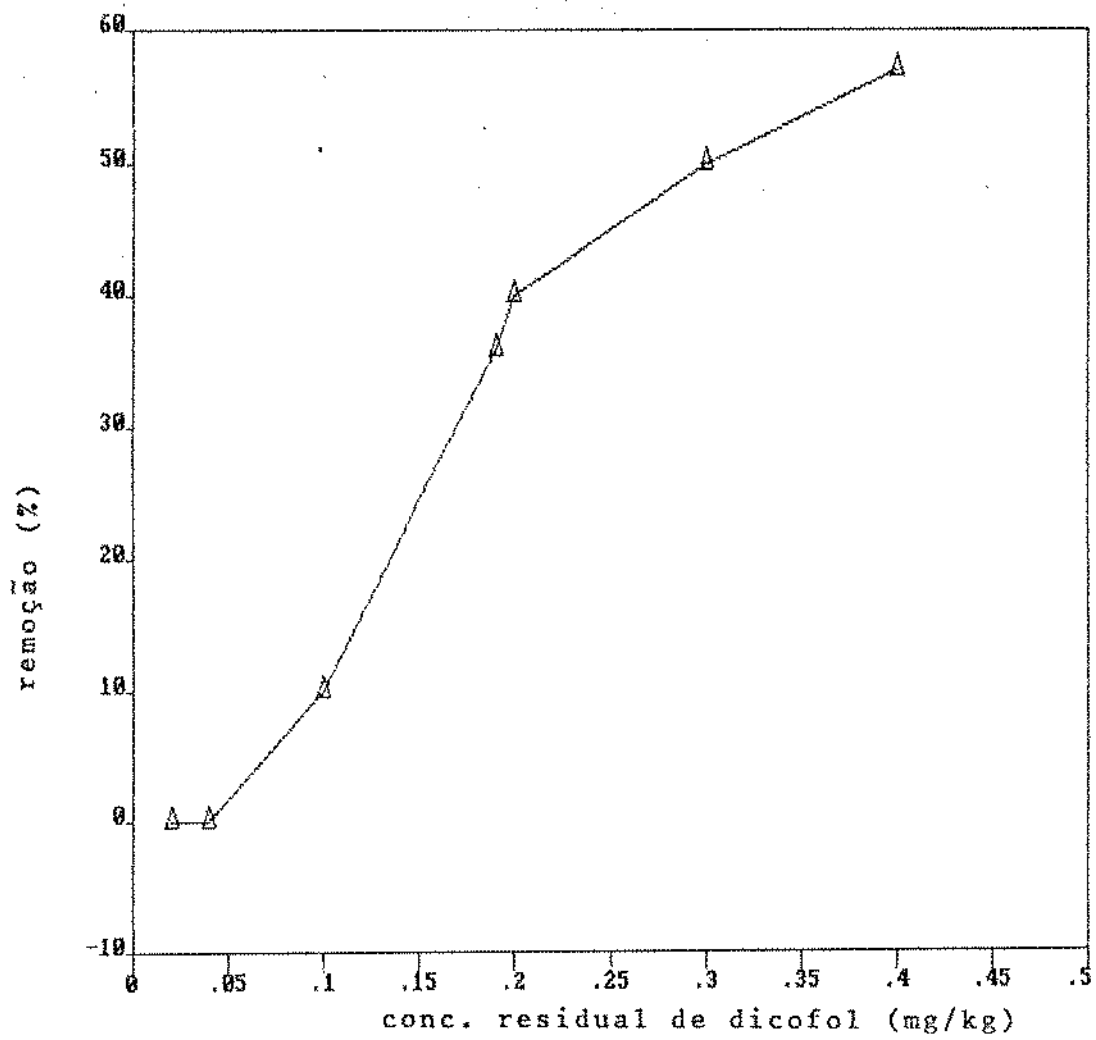


Figura 18. Eficiência da lavagem com água na remoção de resíduos de dicofol em morangos.



#### 4.3.3.1. Carência e degradação de mancozeb

A legislação brasileira de agrotóxicos estabelece 21 dias de carência e 1,0 mg/kg o limite máximo de resíduos de mancozeb em morangos. Os resultados obtidos (Tabelas 24 e 25) sugerem que, para dose simples, a partir do sétimo dia, a concentração de mancozeb é menor do que 0,5 mg/kg, enquanto que para dose dupla a concentração é menor do que este valor a partir do décimo quarto dia. Embora o limite de quantificação do método seja de 0,5 mg/kg, e por isto não foi possível determinar os níveis residuais do agrotóxico a partir do sétimo e décimo quarto dias para doses simples e dupla, respectivamente, estima-se que, pelo decréscimo de mancozeb ocorrido ao longo das carências, os níveis de mancozeb seriam bem baixos no final do vigésimo primeiro dia.

Se compararmos os níveis de resíduos de mancozeb detectados no presente estudo com a tolerância estabelecida de 1,0 mg/kg, podemos afirmar que caso seja aplicada dose simples, o morango poderia ser colhido a partir do quarto dia, enquanto que, para dose dupla, a colheita poderia ser feita a partir do sétimo dia. Nestas circunstâncias, portanto, o morango estaria próprio para consumo, com níveis de resíduos dentro do limite estabelecido pela legislação.

Além disso, a carência de 21 dias estabelecida para morangos corresponde a um período superior ao tempo necessário para a sua maturação. Na época da colheita, o produtor necessita colher os morangos em intervalos próximos de 24 horas, de modo a evitar perdas econômicas. Desta forma, esta carência não se enquadra numa realidade que possa ser obedecida pelo agricultor, podendo ser considerada inadequada.

Tabela 24. Resíduos do agrotóxico mancozeb (mg/kg), dose simples, em morangos da estação experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)		s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	
	0	1							
0	2,00	nd	>75	1,50	nd	>70	0,80	nd	>50
3	1,15	nd	>56	1,08	nd	>50	0,56	nd	>89
7	0,80	nd	>37	0,70	nd	>28	nd	nd	nd

nd - não detectável (abaixo do limite de determinação de 0,5 mg/kg).  
s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção. Os resultados são média de duas determinações.

Tabela 25. Resíduos do agrotóxico mancozeb (mg/kg), dose dupla, em morangos da estação experimental submetidos ou não a tratamento de lavagem com água de torneira e estocagem por 0, 3 e 7 dias em geladeira (5°C).

Estocagem (dias)	Carência (dias)		s.l.	l.	r(%)	s.l.	l.	r(%)	
	0	1							
0	4,14	nd	>90	3,85	nd	>87	1,78	nd	>71
3	1,98	nd	>74	1,91	nd	>73	1,00	nd	>58
7	1,14	nd	>44	0,98	nd	>50	0,54	nd	>10

nd - não detectável (abaixo do limite de determinação de 0,5 mg/kg).  
s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. r(%) - remoção. Os resultados são média de duas determinações.

#### 4.3.3.2. Lavagem com água e remoção de mancozeb

Através das tabelas 24 e 25 verifica-se que, em função do limite de quantificação do método ser de 0.5 mg/kg, não foi possível avaliar com exatidão a percentagem de remoção de mancozeb em morangos nas doses simples e dupla. Entretanto, nos dois casos, podemos afirmar que a remoção esteve acima de 89% para a maior concentração da dose simples e acima de 90% para a maior concentração da dose dupla.

Não foram encontrados na literatura trabalhos focalizando a influência da lavagem sobre o teor residual de mancozeb em morangos ou em qualquer outro tipo de amostra. Entretanto, MARSHALL (1982), trabalhando com EBDC (maneb), cuja estrutura molecular é semelhante à do mancozeb, obteve remoção de 73% deste fungicida em feijão após lavagem com água, enquanto que para tomate a remoção foi moderada, entre 30% e 55%. Neste caso, as amostras foram agitadas em banho de água durante dois minutos.

#### 4.3.3.3. Estocagem e degradação de mancozeb

A figura 19 ilustra a degradação de mancozeb sob estocagem a 5°C. De acordo com os resultados obtidos, a degradação é proporcional ao tempo de estocagem e à concentração residual do mancozeb como também observado para o captan.

Não se dispõe de muitos dados sobre a estabilidade dos EBDCs após estocagem à baixa temperatura. Porém, em 1971, HOWARD & YIP avaliaram a estabilidade de dois ditio-carbamatos (maneb e zineb) em repolho. As amostras foram fortificadas com zineb, maneb ou Dithane M-22 (80% de maneb na formulação) e em seguida estocadas em freezer e geladeira. Durante três dias as análises foram conduzidas diariamente. Embora estável em freezer, o zineb apresentou perdas de 10% em geladeira. Com relação a maneb, os

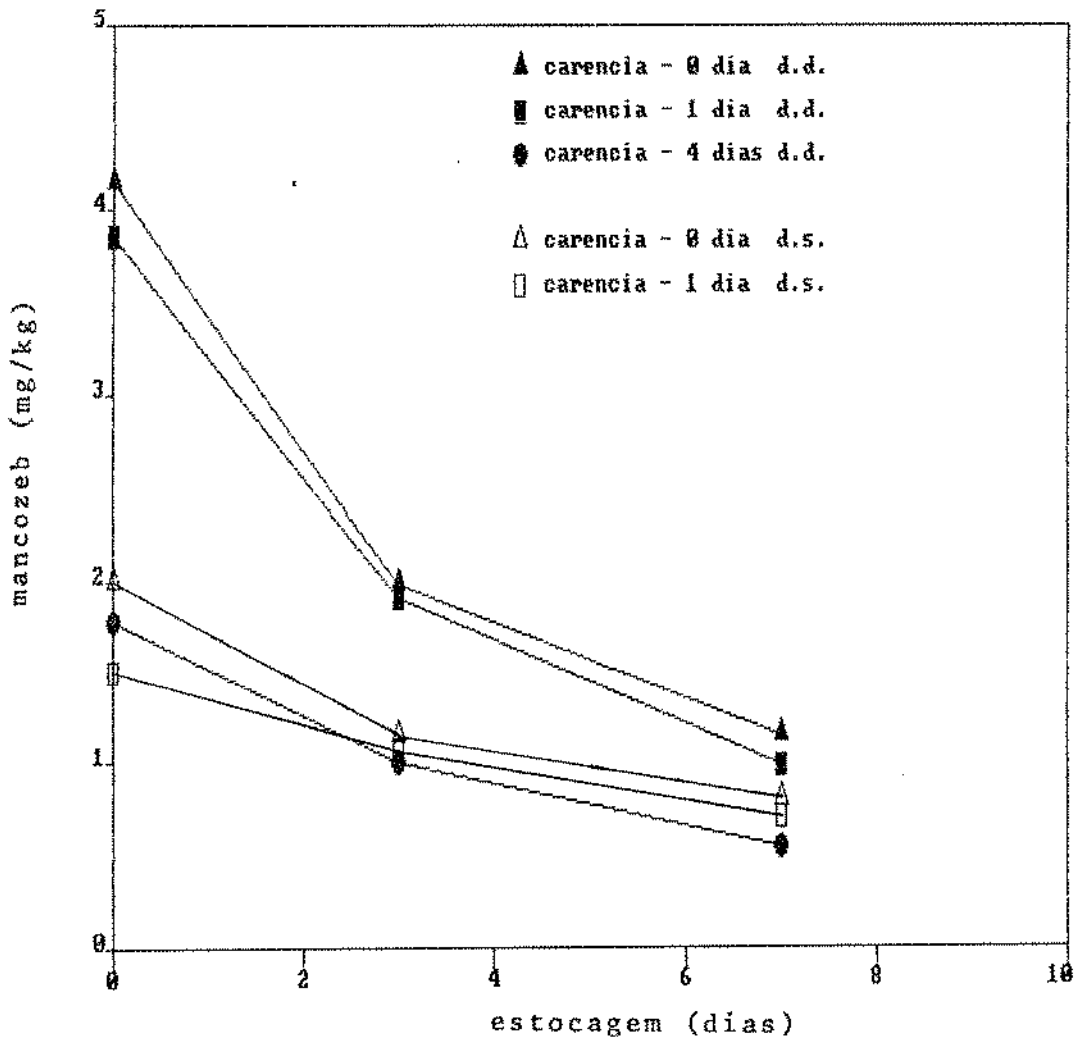


Figura 19. Efeito da estocagem em geladeira (5°C) sobre os níveis de mancozeb doses simples (d.s.) e dupla (d.d.) em morangos da Estação Experimental colhidos com diferentes carências.

resultados foram curiosos: enquanto maneb apresentou perda de 5% após três dias em geladeira, Dithane M-22, nas mesmas condições sofreu perdas de 20%.

Sobre este comportamento não usual, pode-se admitir que a estabilidade dos agrotóxicos depende não somente da temperatura e da duração da estocagem, como também do substrato e da formulação do agrotóxico (KAWAR et al., 1973)

No nosso estudo, a estocagem de morangos em geladeira resultou em reduções dos resíduos de mancozeb de 28% após 3 dias e de 44%, após 7 dias. Para HOWARD & YIP (1971), a estocagem de repolho em geladeira durante três dias resultou em perdas de 20% de maneb.

Os dados disponíveis sobre os resíduos de mancozeb foram insuficientes para serem submetidos à análise estatística.

#### 4.4. Resíduos de agrotóxicos nas amostras coletadas na CEASA

As amostras de morangos coletadas na CEASA, em três épocas diferentes, estão representadas pela letra P, seguida de um número que identifica o produtor, conforme consta nas tabelas 26, 27 e 28. Nestas tabelas, encontram-se os resultados referentes à análise de amostras submetidas ou não à lavagem com água e a percentagem de remoção do agrotóxico devido a este tratamento. A figura 21 ilustra a redução dos níveis de captan em morangos estocados em geladeira. Nestas amostras, além da quantificação dos agrotóxicos captan, dicofol e mancozeb, que foram aqueles pulverizados nos morangos da Estação Experimental, também foram determinados os agrotóxicos clorotalonil e endossulfan.

#### 4.4.1. Mancozeb

Não foram detectados resíduos de mancozeb nas amostras da CEASA (limite de quantificação de 0,5 mg/kg). Não consta na literatura brasileira e internacional, referência a autores que tenham determinado este ditiocarbamato em morangos, não podendo se estabelecer, portanto, comparações sobre níveis e metodologia. A inexistência de metodologia específica visando a determinação de mancozeb constitui um dos motivos da escassez de trabalhos sobre este fungicida em qualquer tipo de amostra.

#### 4.4.2. Dicofol

Não foram detectados resíduos de dicofol nas amostras da CEASA, dentro do limite de quantificação de 0,01 mg/kg. No entanto, quantificando dicofol em amostras de morango, UNGARO et al. (1983) encontraram níveis deste agrotóxico na faixa de traços (0,001 a 0,01 mg/kg) até 3,6 mg/kg. UNGARO et al. (1987), monitorando resíduos de agrotóxicos em frutas coletadas na CEAGESP de São Paulo nos anos de 1985 e 1986, encontraram níveis de dicofol na faixa de 0,1 a 2,61 mg/kg em amostras de morangos. No período de 1983 a 1988, 92 amostras de morangos também foram submetidas à quantificação de dicofol, sendo que 29,35% destas amostras apresentaram resíduos deste agrotóxico, segundo GUINDANI & UNGARO (1988).

Estes trabalhos com dicofol em morangos foram executados na década de oitenta. Convém ressaltar que até setembro de 1985 a legislação permitia o emprego de dicofol e estabelecia a concentração de 2,0 mg/kg como o limite de tolerância para morango.

O fato de não se ter encontrado dicofol nas amostras analisadas no presente estudo sugere que esteja havendo por parte

dos agricultores, obediência à legislação quanto à proibição.

#### 4.4.3. Captan

Foram encontrados resíduos de captan em morangos nas três coletas da CEASA (Tabela 26).

Na primeira coleta de morangos, encontrou-se resíduos de captan na faixa de 0,01 a 3,0 mg/kg em 30% das amostras; na segunda coleta, de 0,01 a 0,88 mg/kg em 20% das amostras e na terceira coleta os resíduos variaram entre 0,02 e 0,09 mg/kg em 20% das amostras. Do total de morangos amostrados nas três coletas, 23,3% apresentaram resíduos de captan (Figura 20), todos dentro do limite estabelecido pela legislação (20 mg/kg) e na faixa de concentração encontrada nos morangos da Estação Experimental, correspondente à aplicação segundo a boa prática agrícola.

A lavagem com água provocou remoção de captan na faixa de 12% a 94%, aumentando à medida que aumentava a concentração deste fungicida em morangos, semelhante ao comportamento verificado na Estação Experimental.

A estocagem de morangos em geladeira provocou a diminuição dos níveis de captan, conforme apresentado na figura 21. A diminuição dos níveis de captan foi similar à diminuição deste fungicida nos morangos da Estação Experimental, confirmando o comportamento deste agrotóxico face às condições de estocagem.

#### 4.4.4. Clorotalonil

Foram encontrados resíduos de clorotalonil nas três coletas de morangos da CEASA e os resultados estão na tabela 27.

Tabela 26. Resíduos do agrotóxico captan(mg/kg) nos morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.

Estocagem. (dias)	Tratamento	Coletas/Produtores								
		1ª coleta			2ª coleta			3ª coleta		
		P4	P6	P10	P2	P3	P3	P6	P6	
0	s.l.	0.11 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	2.71 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	0.86 <sup>a</sup>	0.09	0.07	0.07	
	l.	0.05 <sup>a</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.06	0.05	0.05	
	r(%)	56	93	94	71	87	33	33	28	
3	s.l.	0.08 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	0.40 <sup>a</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	0.03	0.07	0.07	
	l.	0.07 <sup>a</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.02	0.06	0.06	
	r(%)	12	42	80	50	44	33	14	14	
7	s.l.	0.03 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.43 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.02	0.06	0.06	
	l.	0.03 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.01	0.06	0.06	
	r(%)	0	0	80	0	58	25	0	0	

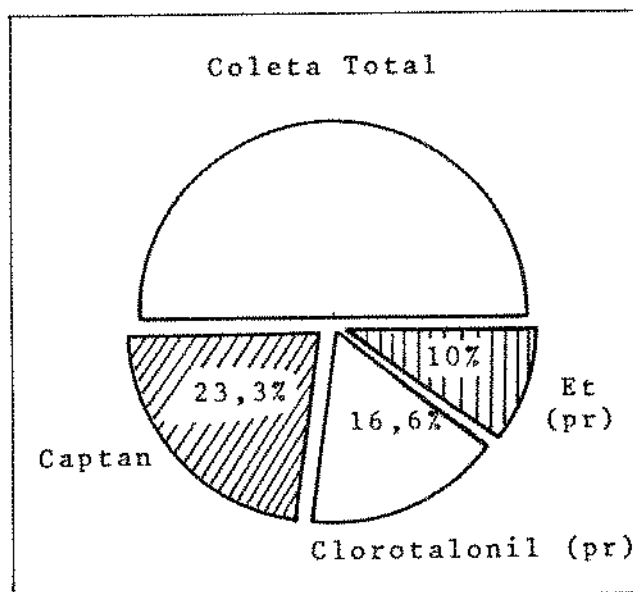
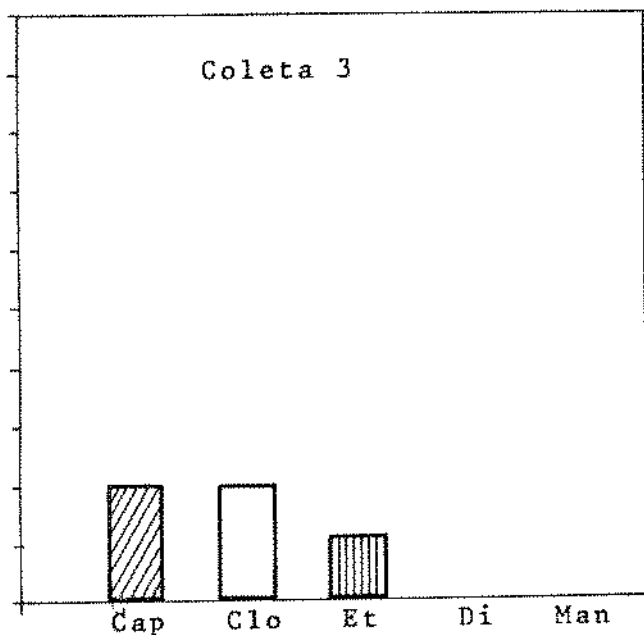
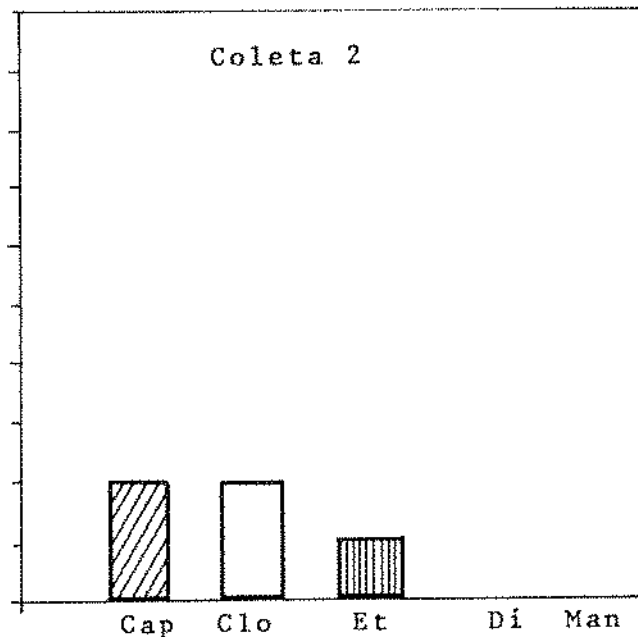
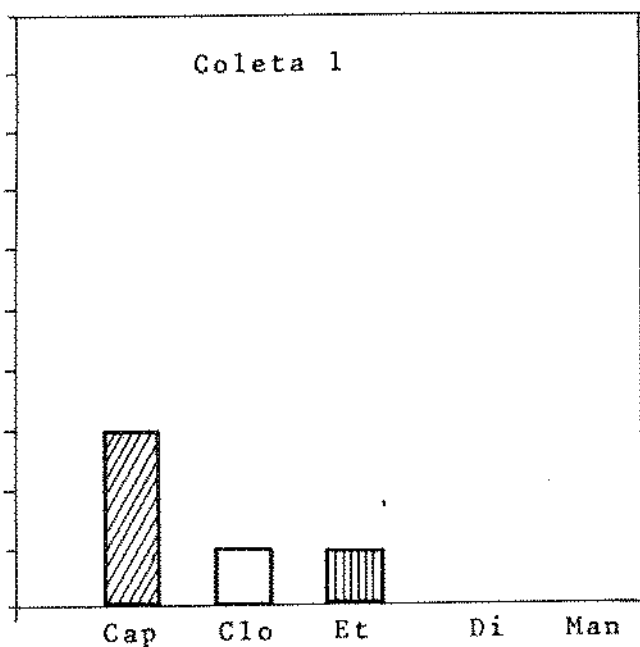
s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. P - produtores. r(%) - percentagem de remoção

DMS(%) - Diferença mínima significativa (0.50 e 0.62, primeira e segunda coletas, respectivamente) do teste de Tukey ao nível de erro de 5%.

As médias (duas determinações) acompanhadas da mesma letra na coluna no mesmo dia de estocagem não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

Não foram realizados os cálculos estatísticos na terceira coleta.





Cap - Captan  
 Clo - Clorotalonil  
 Et - Endossulfan (total)

Di - Dicofol  
 Man - Mancozeb  
 pr - proibido

Figura 20. Número de amostras de morangos com resíduos de agrotóxicos em cada coleta e percentagem no total das coletas.

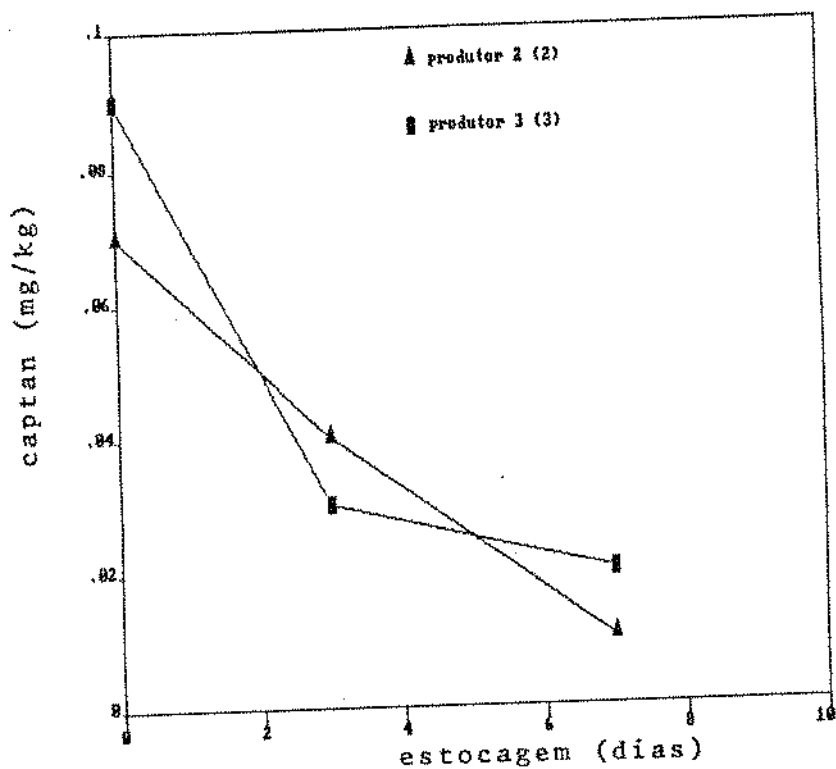
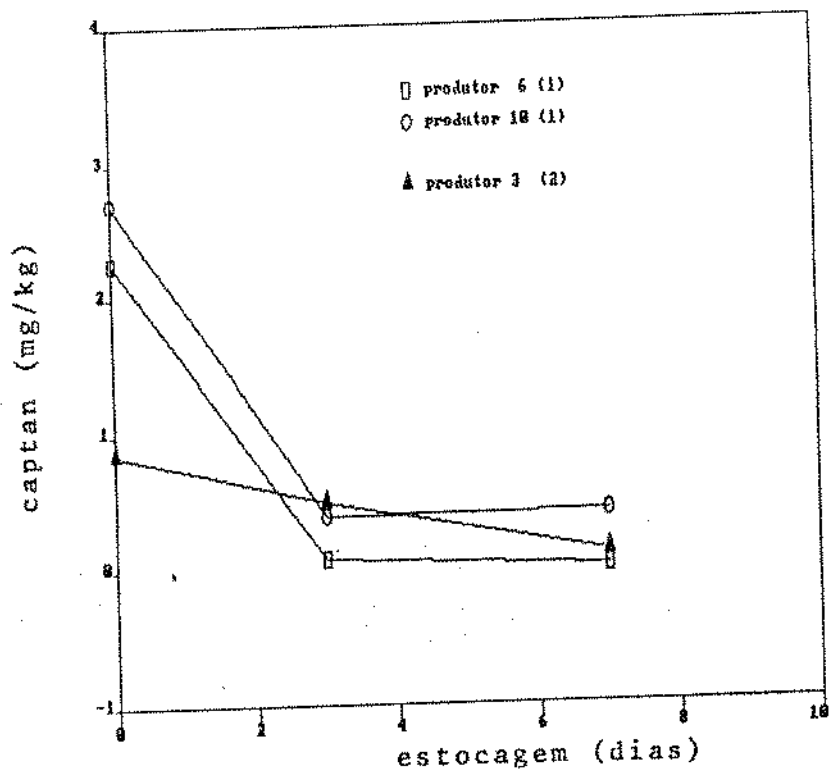


Figura 21. Efeito da estocagem em geladeira (5°C) sobre os níveis de captan em morangos da CEASA na primeira (1), segunda (2) e terceira (3) coletas.

Tabela 27. Resíduos do agrotóxico clorotalonil(mg/kg) nos morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.

Estocagem. Tratamento (dias)	Coletas/Produtores											
	1ª coleta				2ª coleta				3ª coleta			
	P1	P4	P1	P6	P1	P4	P1	P6	P1	P4	P1	P6
0	s.l.	0.49	0.49	1.71	3.10	1.71	0.67	0.25				
	l.	0.35	0.29	0.29	1.62	0.29	0.22	0.25				
	r(%)	28	28	83	45	83	67	0				
3	s.l.	0.49	1.71	1.71	3.15	1.71	0.67	0.24				
	l.	0.35	0.29	0.29	1.62	0.29	0.23	0.24				
	r(%)	28	28	83	48	83	65	04				
7	s.l.	0.49	1.72	1.72	3.22	1.72	0.65	0.24				
	l.	0.35	0.29	0.29	1.63	0.29	0.25	0.24				
	r(%)	28	28	83	50	83	61	0				

s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. P - produtores

r(%) - percentagem de remoção

Os resultados são média de duas determinações.

O clorotalonil não é permitido pela legislação para aplicação em morangos; no entanto, foram detectados resíduos deste agrotóxico nas três coletas. Na primeira coleta, apenas uma das amostras apresentou clorotalonil (0,49 mg/kg); duas das amostras da segunda coleta apresentaram clorotalonil nas concentrações de 1,71 mg/kg e 3,01 mg/kg, enquanto que na terceira coleta as concentrações foram de 0,67 mg/kg e 0,25 mg/kg em 20% das amostras (Figura 20). Do total das amostras, 16,6% apresentaram contaminação por clorotalonil.

A lavagem de morango com água provocou remoção de clorotalonil na faixa de 25% a 83%. Na concentração de 0,25 mg/kg, a lavagem com água não produziu efeito de remoção superficial de clorotalonil no morango. Provavelmente, em concentrações mais baixas haveria necessidade de um processo mais intenso de lavagem com água para produzir alguma eficácia.

A estocagem em geladeira durante três e sete dias não provocou degradação de clorotalonil. Este comportamento pode ser atribuído à natureza estável deste agrotóxico.

#### 4.4.5. Endossulfan

Os resultados das análises de endossulfan I, endossulfan II e endossulfan sulfato estão na Tabela 28, juntamente com o teor de endossulfan total. Foram encontrados resíduos deste agrotóxico, proibido pela legislação, nas três coletas de morangos da CEASA.

SOARES (1986), em trabalho de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em frutas colhidas na CEASA de Belo Horizonte, encontrou em morangos resíduos de endossulfan, na faixa de concentração de 0,04 a 0,22 mg/kg, dentro do limite máximo estabelecido pela legislação vigente na época da análise. No presente estudo, foram determinados em morangos resíduos de

Tabela 28. Resíduos do agrotóxico endossulfan I, endossulfan II e sulfato de endossulfan (mg/kg) nos morangos da primeira, segunda e terceira coletas da CEASA/Campinas, após estocagem em geladeira (5°C) e tratamento de lavagem com água.

Estocagem. (dias)	Tratamento	Coletas/Produtores											
		1ª coleta(P6)			2ª coleta(P2)			3ª coleta(P2)					
		EI	EII	ES04	Et	EI	EII	ES04	Et	EI	EII	ES04	Et
9	s.l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	r(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	s.l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	r(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	s.l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	l.	0.01	0.03	0.02	0.06	0.001	0.001	0.02	0.022	0.001	0.003	0.01	0.014
	r(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

s.l. - sem lavagem. l. - lavagem. P - produtores

r(%) - percentagem de remoção

Os resultados são média de duas determinações.

endossulfan em níveis bastante inferiores aos encontrados por SOARES (1986), sugerindo que alguns agricultores ainda estão utilizando este agrotóxico em morangos, embora o seu uso seja restrito a culturas de café, cacau, algodão e soja.

Na primeira, segunda e terceira coletas, 10% das amostras apresentaram endossulfan total nos níveis de 0,06 mg/kg, 0,004 mg/kg e 0,014 mg/kg, respectivamente, caracterizando contaminação em 10% do total das amostras (Figura 20).

Também pesquisando endossulfan em morangos, GUINDANI & UNGARO (1988) encontraram este pesticida em 29,35% das amostras analisadas nos períodos de 1983 a 1988. Porém, em trabalhos realizados em trinta e quatro amostras de morangos, 11,7% apresentam endossulfan dentro do limite estabelecido pela legislação da época (2,0 mg/kg; outubro de 1979 a dezembro de 1980) segundo UNGARO et al. (1983).

A lavagem com água e a estocagem em geladeira não provocaram nenhum efeito de remoção ou redução nos níveis de endossulfan em morangos.

#### 4.5. Cálculo da Ingestão Diária Potencial

Para verificar a contribuição de morangos como fonte de exposição aos agrotóxicos captan, clorotalonil e endossulfan na dieta, estimou-se a Ingestão Diária Potencial (IDP) desses agrotóxicos em função das maiores concentrações residuais determinadas nos morangos da CEASA. Para tanto, considerou-se 100g como a quantidade média de morango consumida diariamente por crianças e adultos, com peso corpóreo aproximado de 25 e 60 kg, respectivamente.

Os valores de IDA estabelecidos para estes agrotóxicos e

a Ingestão Diária Potencial calculada com base nos resultados obtidos no presente trabalho encontram-se na Tabela 29.

Tabela 29. Valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA), recomendada pelo JMPR, e de Ingestão Diária Potencial (IDP) estimada para resíduos de agrotóxicos em morangos.

Agrotóxico	IDA (mg/kg p.c.)	IDP (mg/kg p.c.)	
		criança*	adulto*
Captan	0,1	0,010 (10,8%)	0,004 (4%)
Clorotalonil	0,03	0,013 (43,3%)	0,005 (16,7%)
Endossulfan Total	0,006	0,0002 (3,3%)	0,0001 (1,7%)

Os valores em parênteses referem-se à relação IDP/IDA, expressa em %

\* - Para o cálculo foram considerados os pesos corpóreos de 25 e 60 Kg para crianças e adultos, respectivamente.

Verifica-se pela tabela 29 que os valores estimados de Ingestão Diária Potencial encontram-se abaixo dos valores estabelecido pelo JMPR, mesmo para os resíduos de agrotóxicos proibidos pela legislação, como clorotalonil e endossulfan. Deve-se ressaltar, entretanto, que no cálculo não foram considerados resíduos veiculados através de outros alimentos consumidos numa refeição diária, o que poderia aumentar o valor da IDP calculada.

Pode-se, portanto, considerar que a lavagem de morangos antes do consumo, assim como sua estocagem em geladeira, são hábitos que devem ser estimulados junto aos consumidores, de modo

a reduzir a sua exposição a agrotóxicos.

## 5. CONCLUSÕES

Em relação ao presente trabalho podemos concluir:

1. Os níveis residuais de captan em morangos cultivados em estação experimental e em morangos disponíveis no comércio na cidade de Campinas são bastante inferiores à tolerância estabelecida pela legislação brasileira de agrotóxicos. Tal observação indica a necessidade de se realizarem estudos mais completos, envolvendo diferentes regiões climáticas, a fim de se verificar a necessidade de revisão do limite atualmente vigente.
2. A estocagem em geladeira (5°C) é um fator importante na redução dos níveis de captan e mancozeb, caso não haja lavagem dos morangos. Se o morango estiver contaminado com estes fungicidas e for submetido à lavagem, a estocagem é dispensável.
3. A estocagem em geladeira não provoca redução dos níveis residuais de endossulfan, clorotalonil e dicofol.
4. A lavagem é um fator importante na eliminação de resíduos de captan, dicofol, mancozeb e clorotalonil.
5. A eficiência da lavagem com água para remoção de resíduos de agrotóxicos depende principalmente do agrotóxico e da sua concentração residual.
6. Comparando-se os níveis de captan em morangos da CEASA com os da estação experimental, conclui-se que os agricultores aplicaram este fungicida segundo a boa prática agrícola.



7. Do total das amostras colhidas na CEASA, 26,6% apresentaram resíduos de agrotóxicos proibidos pela legislação (endossulfan e clorotalonil). Isto evidencia a desobediência à legislação pelo agricultor, justificando o monitoramento permanente de resíduos de agrotóxicos em morangos.
  
8. A prática de se estocar morangos em geladeira e lavá-los antes do consumo deve ser estimulada junto aos consumidores, de modo a assegurar a ingestão de níveis mais baixos de agrotóxicos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. ABDEL-MONEM, A.H. & MUMMA, R.O. Development of an analytical procedure for an insect growth regulator(EL-494) employing high-pressure liquid chromatography and its application on residues in alfalfa. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29: 75, 1981.
2. ANDERSON, C.A.; MacDOUGALL, D.; KESTERSON, J.W.; HENDRICKSON, R.; BROOKS, R.F. The effect of processing on guthion residues in oranges and orange products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 11(5): 422-24, sept-oct. 1963.
3. ANON. Transformation products of dithane M-45 in urine and faeces of rats fed <sup>14</sup>C labelled dithane M-45. Bristol Research Laboratories, june 19, 1970.
4. AOAC - Association of the Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14 ed., Arlington, AOAC. Inc., 1984 proced 29.048.
5. ARCHER, T. E. ; CROSBY, D. G.; CARLTON, .B. 2,2-Dichloropropionic acid residues in white asparagus. Journal of Food Science, 32: 599, 1967.
6. ARCHER, T.E. & STOKES, J.D. Removal of carbofuran residues from strawberries by various washes and jam production. Journal of Food Science, 43 (2): 444-45, 1978.
7. BALDWIN, R.E.; SIDES, K.G.; HEMPHILL, D.D. DDT and its derivatives in apples as affected by preparation procedures: a pilot study. Food Technology, 22: 1460-62, nov., 1968.

8. BARKER, J.S.; MAUGHAN, F.B. Acaricidal properties of Rohm & Haas FW-293. Journal of Economic Entomology, 49(4): 458-60, 1956.
9. BECKMAN, H.; THORNBURG, W. Effect of frozen storage on parathion residues. Journal of Food Science, 30: 656, 1965.
10. BENVENUE, A.; OGATA, J.N.; HARAMOTO, F.H.; BREKKE, J.E. Effects of processing on levels of morestan residues occurring in papaya purees. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16 (5): 863-66, sept/oct. 1968.
11. BEYNON, K. I. The analysis of crops and soils for the triazine herbicide cyanazine and some of its degradation products. Part I - Development of method. Pesticide Science, submitted for publication, 1972.
12. BEYNON, K. I.; DAVIES, L.; ELGAR, K.; STOYDIN, G. Analysis of crops and soils for residues of diethyl 1-(2,4-dichlorophenyl)-2-chlorovinyl phosphate. II. Results. Journal Science Food Agriculture, 17: 167, 1966.
13. BEYNON, K. I.; DAVIES, L.; THOMPSON, A. R.; EDWARDS, C. A. Persistence of chlorfenvinphos in natural water. Pesticide Science, 2: 5, 1971.
14. BEYNON, K. I.; EDWARDS, M. J.; ELGAR, K.; WRIGTH, A. N. Analysis of crops and soils for residues of chlorfenvinphos insecticide and its breakdown products. Journal Science Food Agriculture, 19: 302, 1968.

15. BEYNON, K. I.; EDWARDS, M. J.; WRIGHT, A. N. Residues of tetrachlorvinphos and its breakdown products on treated crops. I Method development. Pesticide Science, 1: 250, 1970.
16. BEYNON, K. I.; WRIGHT, A. N. The breakdown of 14C-chlorfenvinphos in soils and in crops grown in the soils. Journal Science Food Agricultural, 18: 143, 1967.
17. BIGHI, C. Microdetermination of dithiocarbamates by gas chromatography. Journal of Chromatography., 14: 348-354, 1964.
18. BIGHI, C. & SAGLIETTO, G. Gas-chromatographic study of the decomposition of thiocarbamic compounds as a function of temperature. Journal of Chromatography., 17: 1-12, 1965.
19. BISTON, R.; ZENON-ROLAND, L.; MARTENS, P.H. Action of preservation treatments on the degradation of insecticides and fungicides in vegetables. Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux, 5 (3/4): 382-91. 1970.
20. BLEINROTH, E. W. Seminário sobre refrigeração. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, São Paulo, 1970. 112 p.
21. BORZELLECA, J. F.; AMBROSE, A. M.; LARSON, P. S. Toxicology study on the effect of adding Dithane M-45 to the diet of rats for a period of 90 weeks. Virginia, Medical College of Virginia, 1965.
22. BOSHOFF, P.R. & PRETORIUS, V. Determination of phorate and its metabolites by mixed-phase gas chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 27: 626, 1979.

23. BRASIL. Ministério da Agricultura - Portaria nº329 de 2/9/1985. D.O.U., Seção I p. 12941 de 3/9/1985.
24. BROWN, G. E. Postharvest citrus decay as affected by benlate applications in the grove. Florida State Horticultural Society, 237-40, 1974.
25. BURKE, J.A. Gas chromatography for pesticide residue analysis; some practical aspects. Journal of the Association of Official Analytical Chemists., 48: 1037-58, 1965.
26. BÜTTLER, B. & HÖRMANN, W.D. High-pressure liquid chromatography determination captan, captafol, and folpet residues in plant material. Jornal of Agricultural and Food Chemistry, 29: 257, 1981.
27. CALLEN, T. & STRAFFORD, N.J. The analysis of organic rubber vulcanizing accelerators. Journal of Society Chemistry Industrial. 43: 87, 1924.
28. CAMARGO, L.S.; ALVES, S.; IGUE, T. Comportamento de variedades de morangueiro na região de Monte Alegre do Sul. Bragantia, 28(16): 205-218. 1969.
29. CAMPOS, H. Estatística Aplicada à Experimentação com Cana de Açúcar. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 292 p. 1984.
30. CARVALHO, P.R.N.; YOKOMIZO, Y. Ditiocarbamatos I. A determinação colorimétrica do dissulfeto de carbono. Resíduos de Pesticida em Alimentos, Campinas, ITAL, 1984. p. 126-138.

31. CARVALHO, P.R.N.; YOKOMIZO, Y. Estudo da recuperação dos resíduos de propilenobisditiocarbamatos em produtos agrícolas pelo método colorimétrico. Coletânea do ITAL, 18(2): 171-76, jul./dez. 1988.
32. CLARK, D.G.; BAUM, H.; STANLEY, E.L.; HESTER, W.F, Determination of dithiocarbamate. Analytical Chemistry. 23(1): 221-4, 1951.
33. CLARK, P. J.; JACKS, H. The schradan content of fruit and vegetables. New Zealand Journal of the Science and Technology, 38(B): 58, 1956.
34. COX, R.H. Three month dietary toxicity study in dogs. Hazelton Laboratories America Inc. Project no.417-416. February 26, 1986.
35. CULLEN, T.E. Spectrophotometric determination of dithiocarbamate residues on food crops. Analytical Chemistry. 36(1): 221-4, 1964.
36. DEEMA, P.; THOMPSON, E.; WARE, G. W. Metabolism, storage and excretion of <sup>14</sup>C-Endosulfan in mouse. Journal of the Economic Entomology, 59: 546-550, 1966.
37. DIKSHITH, T.S.S., DATTA, K.K. Endosulfan: lack of cytogenetic effects in male rats. Bulletin environment Contamination Toxicology, 20:826, 1978.
38. DJONCKHEERE, W.; STEURBAUT, W.; KIPS, R.M. Influence of artificial rainfall and washing on the benomyl and thiophanate-methyl residue content in lettuce. Pesticide Science, 7(2): 161-70, 1976.

39. DOROUGH, H.W. & GIBSON, J.R. Chlorinated insecticide residues in cigarettes purchased 1970-72. Environmental Entomology, 1: 739, 1972.
40. DOROUGH, H.W.; HUHTANEN, K; MARSHALL, T.C.; BRYANT, H.E. Fate of endosulfan in rats and toxicological considerations of apolar metabolites. Pest. Biochem. Physiol., 8: 241-52, 1978.
41. EDWARDS, M. J.; BEYNON, K. I.; EDWARDS, C. A.; THOMPSON, A. R. Movement of chlorfenvinphos in soil. Pesticide Science, 2: 1, 1971.
42. ELGAR, K. E. & MacDONALD, I. A. Analysis of crops for residues of bidrin and its metabolites. Journal Science Food Agriculture, 17: 500, 1966.
43. ELKINS, E.R.; LAMB, F.C., FARROW, R.P.; COOK, R.W.; KAWAI, M.; KIMBALL, J.R. Removal of DDT, malathion, and carbaryl from green beans by commercial and home preparative procedures. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16(6): 962-66, nov/dec. 1968.
44. EL-ZEMAITY, M.S. Residues of captan and folpet on greenhouse tomatoes with emphasis on the effect of storing, washing and cooking on their removal. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 40(1): 74-9, 1988.
45. FAO. Plant production and protection. Paper 116. Pesticide residues in food - 1992. Report 1992.

46. FARROW, R.P.; LAMB, F.C.; COOK, R.W.; KIMBALL, J.R.; ELKINS, E.R. Removal of DDT, malathion, and carbaryl from tomatoes by commercial and home preparative methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16(1): 65-71, jan./feb. 1968.
47. FARROW, R.P.; LAMB, F.C.; ELKINS, E.R.; COOK, R.W.; KAWAI, M.; CORTES, A. Effect of commercial and home preparative procedures on parathion and carbaryl residues in broccoli. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 7(1): 75-79, jan./feb. 1969.
48. FISHBEIN, L. Toxicological aspects of fungicides. In: Antifungal compounds V. 2 Interations in Biological and Ecological Systems. Sisler MR and HD (eds), 1977, p.537-544.
49. FISHBEIN, L. & FAWKES, J. Thin-layer chromatography of metallic derivatives of ethylenebis (dithiocarbamic acid) and their degradation products. Journal of Chromatography. 19: 364, 1965.
50. FRANK, R.; BRAUN, H.E.; STANEK, J. Removal of captan from treated apples. Archives Environmental Toxicology, 12: 265-69, 1983.
51. FRANK, R.; BRAUN, H.E.; RIPLEY, B.D. Residues of insecticides, fungicides, and herbicides in fruit produced in Ontario, Canada, 1980-1984. Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 39: 272-9, 1987.
52. GAVA, A. J. Princípios de Tecnologia de Alimentos. São Paulo, Nobel, 1978. 284 p. il. 20cm.



53. GEISSBÜHLER, H.; HASELBACH, C. On the behavior of DDVP upon storage and processing of insecticide-treated cereals. Rep't. to CIBA Ltd. by Battelle Memorial Institute, Geneva, 1963.
54. GEL'FAND, S. YU. & GORELIK, L.D. Effect of preservation on residual DDVP in apples, carrots and products made from them. Konservnaya i Ovoshchesushil'naya Promyshlennost, 10: 40-41, 1982.
55. GETZENDANER, M. E. Gas chromatographic determination of residues of dalapon in several substracte. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 52: 824, 1969.
56. GILVYDIS, D.M. & WALTERS, S.M. Determination of captan, folpet, and captafol in fruits and vegetables, using two multiresidue methods. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 67(5): 909-912, 1984.
57. GILVYDIS, D.M. & WALTERS, S.M.; SPIVAK, E.S.; HEDBLAD, R.K. Residues of captan and folpet in strawberries and grapes. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 69(5): 803-6, 1986.
58. GOEBEL, H.; GORBACH, S.; KNAUF, W.; RIMPAU, R. H.; HÜTTENBACH, H. Properties, effects, residues, and analytics of the insecticide endosulfan. In: GUNTHER, F.A. & GUNTHER, J.D., eds. Residues Reviews: residues of pesticide and other contaminants in the total environment. New York, Spring-Verlag, 1982. v.83 p.1-176.

59. GOLDMAN, P. R.; BERNASKI, H. J.; QUINN, D. L. Mancozeb three month dietary study in rats. Alemanha, Rohm & Haas, 1986. (report 85R-167 february 27).
60. GREENHALGH, R. & BELANGER, A. Persistence and uptake of carbofuran in a humic mesisol and the effects of drying and storing soil samples on residue levels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29, 231, 1981.
61. GUINDANI, C.M.A; UNGARO, M.T.S. Avaliação de Resíduos de Dicofol e Endossulfan em Morangos Comercializados. Biológico, 54(7/12) 53-54, jun/dez., 1988.
62. GUNTHER, F.A. & WESTLAKE, W.E.: Unplubished data (1972). apud. KAWAR, N. S.; BATISTA, G. C. de; GUNTHER, F. A. Pesticide stability in cold-stored plants parts, soils, and dairy products, and in cold-stored extractives solutions. In: GUNTHER, F. A. & GUNTHER, J. D., eds. Residue Reviews: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York, Spring-Verlag, 1973. v.48 p.45-77.43.
63. GUPTA, H.C. & PAREEK, B.L. Removal of carbaryl residues from onion. Journal of Food Science and Technology, 15(5): 215-16, 1978.
64. GUPTA, P. K. & GUPTA, R. C. Pharmacology, toxicology and degradation of endosulfan. A review. Toxicology, 13: 115-30, 1979
65. GUSTAFSSON, K.H. & FAHLGREN, C.H. Determination of dithiocarbamate fungicides in vegetable foodstuffs by high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 31: 461-463, 1983.

66. GUSTAFSSON, K.H. & THOMPSON R.A. High-pressure liquid chromatography determination of fungicidal dithiocarbamates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 29(4): 729-732, 1981.
67. HEMPHILL, D.D.; BALDWIN, R.E.; DEGUZMAN, A.; DELOACH, H.K. Effects of washing, trimming, and cooking on levels of DDT and derivatives in green beans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 15(2): 290-4, mar/apr, 1967.
68. HOWARD, S. F. & YIP, G. Stability of metallic ethylene bisdithiocarbamates in chopped kale. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 12: 1371, 1971.
69. HYLIN, J.W. Thin-layer chromatography of dithiocarbamate fungicides. Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 1: 76, 1966.
70. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Summary of toxicological evaluations performed by the joint FAO/WHO meeting on pesticide residues (JMPR). Geneva, 1991. 35p. (WHO/PCS/92.9).
71. JAGLAN, P. S. & CHOPRA, S. L. Residues of BHC and DDT in egg plant (*Solanum Melongena*). Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 5(4): 342-6, 1970.
72. KADOUM, A.M. Modification of The micromethod of sample cleanup for thin-layer and gas chromatographic separation and determination of common organic pesticide residues. Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 3: 354, 1968.

73. KAWAR, N. S.; BATISTA, G. C. de; GUNTHER, F. A. Pesticide stability in cold-stored plants parts, soils, and dairy products, and in cold-stored extractives solutions. In: GUNTHER, F. A. & GUNTHER, J. D., eds. Residue Reviews: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York, Spring-Verlag, 1973. v.48 p.45-77.43.
74. KEPPEL, G.E. Modification of the carbon disulfide evolution method for dithiocarbamate residues. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 52(1): 162-167, 1969.
75. KEPPEL, G.E. Collaborative study of the determination of dithiocarbamate residues by a modified carbon disulfide evolution method. Journal of the Association of Official Analytical Chemistry, Washington, 54(3): 528-532, 1971.
76. KOIVISTOINEN, P. Disappearance of malathion from plant material, Ann. Acad. Sci. Fennicae Ser. A IV, Biol. 51, 35, 1961, Apud: Chem. Abst. 56, 2735a, 1962.
77. KOIVISTOINEN, P. & KARINPÄÄ, A. Stability of isopropyl Nphenylcarbamate (IPC) and isopropyl N-(3-chlorophenyl)-carbamate (CIPC) residues on fruit treated after harvest. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 13(5): 459-462, sept./oct. 1965.
78. KOIVISTOINEN, P.; KARINPÄÄ, A.; KONONEN, M.; ROINE, P. Malathion residues on fruit treated by dipping. Journal Agricultural and Food Chemistry, 12: 551, 1964a.

79. KOIVISTOINEN, P.; KARINPÄÄ, A.; KONONEN, M.; ROINE, P. Magnitude and stability of captan residues in fresh and preserved plant products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 13(5): 468-73, sept./oct. 1965.
80. KOIVISTOINEN, P.; KONONEN, M.; KARINPÄÄ, A.; ROINE, P. Stability of malathion residues in food processing and storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 12(6): 557-60, nov./dec. 1964b.
81. KOIVISTOINEN, P.; ROINE, P. Occurrence and disappearance of parathion and malathion residues in vegetables and fruits. Maataloustieteellinen Aikakauskirja, 31: 294, 1959. Apud Chemical Abstracts 54: 15751d, 1960.
82. LAMB, F.C.; FARROW, R.P.; ELKINS, E.R.; COOK, R.W.; KIMBALL, J.R. Behavior of DDT in potatoes during commercial and home preparation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16(2): 272-5, mar./apr. 1968a.
83. LAMB, F.C.; FARROW, R.P.; ELKINS, E.R.; KIMBALL, J.R.; COOK, R.W. Removal of DDT, parathion, and carbaryl from spinach by commercial and home preparative methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16(6): 967-73, nov./dec. 1968b.
84. LARA, W.H. Determinação de resíduos de pesticidas clorados em alimentos. Revista do Instituto Adolfo Lutz., 32: 89-94, 1972.
85. LARA, W.H. & BARRETO, H.H.C. Influência do processamento sobre os resíduos de aldrin em arroz tratado para o plantio. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 37:57-60, 1977.

86. LAWRENCE, J.F.; PANOPIO, L.G.; LEWIS, D.A.; McLEOD, H.A. Determination of the insecticide/acaricide formetanate in fresh fruit by reversed-phase liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29, 722, 1981.
87. LAWRENCE, J.F.; PANOPIO, L.G.; McLEOD, H.A. Comparison of liquid and gas chromatography for the determination of bromoxynil octanoate and benzoylprop ethyl in wheat products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 1019, 1980.
88. LAWS, E. Q. The phosdrin content of fresh and deep-frozen vegetables. Plant Pathology, 8: 121, 1959.
89. LEE, Y.W. & WESTCOTT, N.D. Direct analysis of carbofuran and 3-hydroxycarbofuran in rape plants by reverse-phase high-pressure liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28: 719, 1980.
90. LOWEN, W.K. Determination of dithiocarbamate residues on food crops. Analytical Chemistry. 23(12): 1846-1850, 1951.
91. LUKE, M. A.; FROBERG, J. E.; MASUMOTO, H. T. Extraction and clean-up of organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 58(5): 1020-1026, 1975.
92. MANALO, G.D.; HUTSON, R.M.E.J.; BENNE, E.J. Removal of DDT spray residues from apples. Michigan Quarterly Bulletin, 29: 15-22, 1946.

93. MARSHALL, W.D. Preprocessing oxidative washes with alkaline hypochlorite to remove ethylenebis(dithiocarbamate) fungicide residues from tomatoes and green beans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 30(4): 649-52, 1982.
94. MCGREGOR, D.B.; BROWN, A.; CATTANACH, P.; EDWARDS, I.; McBRIDE, D.; RIACH, C.; CASPARY, W.J. Responses of the L5178tk<sup>+</sup>/tk<sup>-</sup> mouse lymphoma cell forward mutation assay: III 72 coded chemicals. Environmental Molecular Mutagenesis, 12:85-154, 1988.
95. MCKINLEY, W.P. & MAGARVEY, S.A. Paper chromatography of ferbam, maneb, nabam, thiram, zineb and ziram. Journal of the Association Official Analytical Chemistry, 43: 717, 1960.
96. McNAIR, H.M. & BONELLI, E.J. Basic Gas Chromatography, 5th ed. California, Consolidated Press, 1969. 306 p.
97. MELKEBEKE, G.; ASSCHE, M. VAN; DEJONCKHEERE, W.; STEURBAUT, W.; KIPS, R.H. Effect of some culinary treatments on residue contents of spinach. Revue de L'Agriculture, 36(2): 369-78, 1983.
98. MESTRES, R.; SOUCHON, D.; FONT REAULX, B. de; ORIOL, P. Persistence of pesticide residues on canned vegetables. Studies on fungicides and insecticides. Medicine et Nutrition, 14(6): 415-18, 1978.
99. MILLS, P.A.; ONLEY, J.H.; GAITHER, R.A. Rapid method for chlorinated pesticide residues in nonfatty foods. Journal of the Association Official Analytical Chemists, 46: 186-91, 1963.

100. MINETT, W.; BELCHER, R. S. Loss of dichlorvos residues in stored wheat. Journal Stored Prod. Research, 6: 269, 1970.
101. MITCHELL, L.R. Collaborative study of the determination of endosulfan, endosulfan sulfate, tetrasul and tetradifon residues in fresh fruits and vegetables. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 59(1): 209-212, 1976.
102. MOATS, W.A. One step chromatographic clean-up of chlorinated hydrocarbon pesticide residues in butter fat. II. Chromatography on Florisil. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 46(2): 172-6, 1963.
103. MUKHERJEE, G.; BANERJEE, A; MATHEW, T.V. Loss of pesticide residues from rice and flour during baking and cooking. Research and Industry, 18(3): 85, 1973.
104. NANGNIOT, P. Possibilites de la methode polarographique and dosage d'insecticides et fongicides. Parasitical (Gembloux), 16: 85, 1960.
105. NATH, G.; JAT, N.R.; SRIVASTAVA, B.P. Effect of washing, cooking and dehydration on the removal of some insecticides from quiabo. Journal of Food Science and Technology, 12(3): 127-31, 1975.
106. NATIONAL CANCER INSTITUTE/ NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH/ PUBLIC HEALTH SERVICES/ U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION, AND WELFARE. Bioassay of endosulfan for possible carcinogenicity CAS n<sup>o</sup> 115-29-7, NCI CG-TR-62. USA, 1978. 93p. (Cancerogenesis Technical Report Series N<sup>o</sup> 62).



107. NELSON, S. S. Metabolism of  $^{14}\text{C}$  Mancozeb in rat, Alemanha, Rohm & Haas, 1986. (Technical Report Nº 31H-86-02. May 21).
108. NGORAN, N.; ERCEGOVICH, C.D.; HICKEY, K.D.; MUMMA, R.O. An improved analytical procedure for captafol residue in apple wood, leaves and fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 27, 1167, 1979.
109. NUNES, L. A. L. Legislação nacional e internacional sobre pesticidas. In: YOKOMIZO, YURIKO. Seminário de Resíduos de Pesticidas, 1, Campinas, ITAL, 1989. p. 29-31.
110. NEWSOME, W.H. & SHIELDS, J.B. Residues of rotenone and rotenolone on lettuce and tomato fruit after treatment in the field with rotenone formulations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 722, 1980.
111. O'HARA, G. P.; DIDONATO, L. J. Dithane M-45 and ethylene thiourea 3 months dietary study in mice. Alemanha, Rohm & Haas, 1985. (report 80R-124. February 18).
112. ORDAS, E.P.; SMITH, V.C.; MEYER, C.F. Spectrophotometric determination of heptachlor and technical chlordan on food and forage crops. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 4: 444-451, 1956.
113. PEASE. H.L. Determination of dithiocarbamate fungicide residues. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 40: 1113-9, 1957.

114. QUISTAD, G.B. & MENN, J.J. The disposition of pesticides in higher plants. In: GUNTHER, F. A. & GUNTHER, J. D., eds. Residue Reviews: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York, Spring-Verlag, 1983. v.85 p.174-197.
115. RALLS, J.W.; GILMORE, D.R.; CORTES, A.; SCHUTT, S.M.; MERCER, W.A. Residue levels of diazinon and its transformation products on tomatoes, spinach and beans. Food Technology, 21: 1030-2, july 1967.
116. RAO, B.N.; SULTAN, M.A.; REDDY, K.N. Removal of monocrotophos and phosalone emulsifiable concentrates from grape berries by different processing procedures. Indian Journal of Agricultural Sciences, 57(10): 761-4, oct. 1987.
117. RAO, D.M.R. Improved cleanup technique for estimation of endosulfan residues from fish tissues under tropical conditions. Journal of the Association Official Analytical Chemists, 64(2): 340-2, 1981.
118. RAO, D.M.R.; DEVI, A.P.; MURTY, A.S. Toxicity and metabolism of endosulfan and its effect on oxygen consumption and total nitrogen excretion of the fish *Macrogathus aculeatum*. Pesticide Biochemistry Physiology, 15: 282-7, 1981.
119. RAO, D.M.R. & MURTY, A.S. Toxicity, biotransformation and elimination of endosulfan in *Anabas testudineus* (Bloch). Indian Journal Experimental Biology, 18: 664-666, 1980.
120. REYES, F. G.R. & TOLEDO, M.C.F. Toxicologia de alimentos. Campinas, Fundação André Toselo, 1988. p.163.n

121. RITCEY, G.; FRANK, R.; McEWEN, F.L.; BRAUN, H.E. Captan residues on strawberries and estimates of exposure to pickers. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 38(5): 840-6, 1987.
122. ROBERTS, D. The assimilation and chronic effects of sub-lethal concentrations of endosulfan on condition and spawning in the common mussel, *Mytilus edulis*. Mariner Biology, 16: 119-125, 1972.
123. SAX, I. Dangerous properties of industrial materials, 6th ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York, 1984, p.1606.
124. SCHLUNEGGER, U.P. Zur quantitativen Isolierung lipophiler Substanzen, insbesondere des Thiodans (Endosulfan) aus Organen. Archives of Toxicology, 23, 122, 1968.
125. SMITH, F. F.; GIANG, P.; TAYLOR, E. A. Reduction of malathion residues on vegetables by washings. Journal of Economic Entomology, 48: 209, 1955.
126. SOARES, I.A.A. Resíduos de inseticidas organoclorados em hortaliças e frutas. Tese de Mestrado, Belo Horizonte, Dez, 1986. 86 p.
127. SOLOV, EVA, E.I.; LYUBIVAYA, A.I.; KABANOVA, N.N. The effect of technological processing on carbophose content of canned vegetables. Konservnaya i Ovoshchesushil'naya Promyshlennost, 10: 14-5, 1974.
128. STEVENSON, A. Mancozeb. In: CIPAC Handbook. s.l., Robinson Brothers, 1972. p. 1288.

129. STREET, J. C. Methods removal of pesticide residue. Canadian Medicine Association Journal, 25(100): 154-60. jan. 1969.
130. STUMPF, K. & ABHAVER, J. An up-to-date review of the environmental chemistry of endosulfan. Frankfurt, Hoechst, 1986. 23 p. (Hoechst, Report n<sup>o</sup> B 81/86). (Translation of Doc. n<sup>o</sup> A34444).
131. TANTAWY, G.; ADAM, F.A.; MAREI, A.S.M.; KHAMIS, A.E.; EL-SEBAE, A.H. International removal of insecticide residues from certain vegetable crops. Alexandria Journal of Agricultural Research, 23(3): 595-8, 1975.
132. THOMPSON, B. D. & MIDDELEM, C. H. VAN. The removal of toxaphene and parathion residues from tomatoes, green beans, celery and mustard with detergent washings. Proceeding American Society for Horticultural Science, 65: 357-64, 1955.
133. TIMOFEEVA, O.A. & SHVARTSMAN, G.A. Effect of canning procedure on residues of hexachlorobutadiene in grape juice and hexachlorocyclohexane in stewed prunes. Konservnaya i Ovoshchesushil'naya Promyshlennost, 5: 32-4, 1973.
134. UNGARO, M.T.S.; GUINDANI, C.M.A.; FERREIRA, M.S.; BAGDONAS, M. Resultados de análises de resíduos de inseticidas clorados e fosforados em frutas e hortaliças no período de 1978 a 1983. Biológico, 51(9): 239-241, set., 1985.
135. UNGARO, M.T.S.; GUINDANI, C.M.A.; FERREIRA, M.S.; BAGDONAS, M. Resíduos de inseticidas clorados e fosforados em frutas e hortaliças (III). Biológico, 53(7/12): 51-56, jul-Dez. 1987.

136. UNGARO, M.T.S.; PIGATI, P.; GUINDANI, C.M.A.; FERREIRA, M.S.; GEBARA, A.B.; ISHIZAKI, T. Resíduos de Inseticidas Clorados e Fosforados em Frutas e Hortaliças (II). Biológico, 49(1):1-8, janeiro, 1983.
137. VETTORAZZI, G. State of the art of the toxicological evaluation carried out by the joint FAO/WHO Expert Committee on Pesticide Residues. III. Miscellaneous pesticides used in agriculture and public health. In: GHUNTER, F.A. & GUNTHER, J.D., eds. Residues Reviews: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York, Springer-Verlag, 1977. V.66 p.154-84.
138. VETTORAZZI, G. & RADAELLI-BENVENUTI, B.M. Internacional regulatory aspects for pesticide chemicals. Vol.II, 1982, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
139. WALKER, K. C. DDT residue and its removal from apples and pears. Proc. American Society for Horticultural Science, 55: 85-9, 1948.
140. WARE, G.W. Modes of action for fungicides In: THE PESTICIDE BOOK. 3<sup>o</sup> ed. Arizona, Thomas Publications, 1989. p.176.
141. WHEELER, W.B.; THOMPSON, N.P.; ANDRADE, P.; KRAUSE, R.T. Extraction efficiencies for pesticides in crops. 1. [<sup>14</sup>C]carbaryl extraction from mustard green end radishes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26, 1333, 1978.
142. WHO - Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70 (Geneva:WHO), 1987.

143. WILL, H. Bringt die Einhaltung der Ruckstandswerte im Gemusebau besondere Probleme? Industrielle Obst-und Gemuseverwertung, 55(7): 186-7, 1970.
144. WILKES, P.S. Detection of bis-(trichloromethyl) disulfide in strawberries. Bulletin Environmental Contamination Toxicology, 23: 820-824, 1979.
145. WILSON, A.M.; BUSHWAY, A.A.; BUSHWAY, R.J. Residue analysis of isopropyl N-(3-chlorophenyl)carbamate in fruits and vegetables using high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry., 29, 746, 1981.
146. WINTERLIN, W.: Unpublished data (1972). Apud: KAWAR, N. S.; BATISTA, G. C. de; GUNTHER, F. A. Pesticide stability in cold-stored plants parts, soils, and dairy products, and in cold-stored extractives solutions. In: GUNTHER, F. A. & GUNTHER, J. D., eds. Residue Reviews: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York, Spring-Verlag, 1973. v.48 p.45-77.43.
147. WOLF, H.R.; ELLIOT, J.W.; DURHAM, W.F. The trend of DDT and parathion residues on apples grown in central. Washington. Journal of Economic Entomology, 52(6): 1053-7, 1959.
148. WORTHING, C.R. The Pesticide manual. Nottingham; The British Crop Protection Council, 1979.
149. YOKOMIZO, Y. Legislação brasileira e internacional sobre pesticidas. Resíduos de Pesticidas em Alimentos, Campinas, 220-3, nov. 1984.

150. ZANINI, E.; BARBERIS, E.; RONCO, C. Gas chromatographic determination of vinclozolin and endosulfan in strawberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28: 464-66, 1980.
151. ZIELINSKI, Jr. W.L. & FISHBEIN, L. Gas chromatography of metallic derivatives of ethylenebis (dithiocarbamic acids). Journal of Chromatography., 23: 302-304, 1966.