

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL

SEÇÃO CIRCULANTE

RESÍDUOS DE IMAZALIL E THIABENDAZOLE EM
LARANJAS 'PÊRA' (*Citrus Sinensis* (L.) Osbeck)
TRATADAS EM PÓS-COLHEITA POR IMERSÃO E
PULVERIZAÇÃO

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Jorge José do Vale Oliveira**, aprovada pela Comissão Julgadora em 06 de junho de 2001.

Jorge José do Vale Oliveira
Químico
(Mestre em Ciência de Alimentos)

Campinas, 06 de junho de 2001

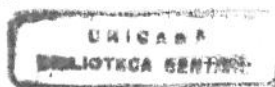

Prof. Dra. Maria Cecília de F. Toledo
Presidente da Banca

Prof. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo
(Orientadora)

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do
título de Doutor em Ciências de Alimentos

Campinas, SP
Junho, 2001

i



UNIDADE	DC
N.º CHAMADA:	T/ UNICAMP
	OL 4r
V.	Ex.
TOMBO BC/	45913
PROC.	16-392/01
C	☐
D	☒
PREC.	R\$ 11,00
DATA	10-08-01
M.º CPD	

CM00158793-3

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

OL4r Oliveira, Jorge José do Vale
Resíduos de imazalil e thiabendazole em laranjas 'Pêra'
(*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) tratadas em pós-colheita por
imersão e pulverização / Jorge José do Vale Oliveira. –
Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientador: Maria Cecília de Figueiredo Toledo
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Laranja. 2.Doenças. 3.Pesticidas. I.Toledo, Maria Cecília
de Figueiredo. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade
de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo
(Orientadora)



Prof. Dra. Lúcia Maria Valente Soares
(Membro)



Prof. Dra. Neura Bragagnolo
(Membro)



Prof. Dra. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim
(Membro)



Prof. Dra. Maria Aparecida Costa
(Membro)

Prof. Dra. Eliane Aparecida Benato Rodrigues da Silva
(Membro)

Prof. Dr. Paulo Roberto Nogueira Carvalho
(Membro)

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo pelo apoio, orientação, paciência e conhecimento transmitido.

Às professoras Dra. Lúcia Maria Valente Soares, Dra. Neura Bragagnolo, Dra. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim, Dra. Maria Aparecida Costa, Dra. Eliane Aparecida Benato Rodrigues da Silva e ao professor Dr. Paulo Roberto Nogueira Carvalho pelas correções e sugestões valiosas apresentadas.

Ao engenheiro agrônomo Dr. Hugo Luciano Gandini pela receptividade e encaminhamento do trabalho.

Aos engenheiros agrônomos Dr. Paulo Sérgio Caminotto e Dr. Marcio Dinardo pelo apoio, atenção preciosa e sugestões.

À Empresa FISCHER S/A Agropecuária por ter cedido a matéria prima e sua infraestrutura para execução dos tratamentos pós-colheita por imersão e pulverização.

À Ingrid Scaturchio Dias e Giovanna Maria da Silva Guimarães pela dedicação e auxílio responsável na parte experimental.

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO GERAL	xiii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica.....	5
1 Doenças de Cítricos Pós-Colheita.....	7
1.1 Infecção Pré-Colheita.....	8
1.2 Infecção Durante e Após a Colheita.....	9
2 Tratamento Pós-Colheita de Cítricos.....	10
2.1 “Drencher”.....	12
2.2 Aerosol.....	12
2.3 Ceras ou Resinas.....	12
2.4 Fumigação.....	13
2.5 Envolvimento com Papel ou Plástico Impregnados.....	13
2.6 Imersão.....	14
2.7 Pulverização.....	14
3 Armazenamento de Laranjas em Atmosfera de Etileno.....	15
4 Pós-colheita com Fungicidas.....	17
4.1 Thiabendazole.....	18
4.1.1 Síntese e Propriedades.....	19
4.1.2 Aspectos Toxicológicos.....	20
4.1.3 Registro do Thiabendazole na Agricultura.....	21
4.1.4 O Emprego do Thiabendazole em Pós-Colheita.....	22
4.1.5 Métodos para Determinação de Thiabendazole.....	25
4.1.6 Resíduos de Thiabendazole em Cítricos.....	29
4.2 Imazalil.....	30
4.2.1 Síntese e Propriedades.....	31
4.2.2 Aspectos Toxicológicos.....	31

4.2.3 Registro do Imazalil na Agricultura.....	32
4.2.4 O Emprego do Imazalil em Pós-Colheita.....	33
4.2.5 Métodos para Determinação de Imazalil.....	36
4.2.6 Resíduos de Imazalil em Cítricos.....	38
5 Referências Bibliográficas.....	40

CAPÍTULO 2

Tratamento de Laranja 'Pêra' em Pós-Colheita por Imersão com Imazalil e Thiabendazole: Eficiência e Níveis Residuais dos Fungicidas.....	73
Resumo.....	75
Summary.....	77
1 Introdução.....	79
2 Material e Métodos.....	81
2.1 Reagentes e Padrões.....	81
2.2 Matéria-Prima	81
2.3 Tratamento Pós-Colheita por Imersão.....	82
2.4 Armazenamento, Homogeneização e Análises das laranjas.....	83
2.5 Método de Extração dos fungicidas	83
2.6 Quantificação por Cromatografia Gasosa.....	84
2.7 Análise de Fitopatologia	85
2.8 Análises Químicas (Ácido Ascórbico, ATT).....	86
2.9 Análises Físico-Químicas.....	86
2.10 Análises Estatística	87
3 Resultados e Discussão.....	87
3.1 Atributos Químicos e Físico-Químicos.....	88
3.2 Controle de Podridões Pós-Colheita e Níveis de Resíduos de Fungicidas.....	90
4 Conclusões.....	95
5 Referências Bibliográficas.....	96

CAPÍTULO 3

Pulverização de Laranjas 'Pêra' com Imazalil e Thiabendazole Após Armazenamento com Etileno: Avaliação da Eficiência no Combate a Fungos e Determinação dos Níveis Residuais dos Fungicidas..... 101

Resumo..... 103

Summary..... 105

1 Introdução..... 107

2 Material e Métodos..... 109

2.1 Reagentes e Padrões..... 109

2.2 Matéria-Prima..... 109

2.3 Tratamento Pós-Colheita Pulverização (Aplicação Prévia de Etileno)..... 110

2.4 Armazenamento..... 112

2.5 Homogeneização e Análise das Laranjas 112

2.6 Método de Extração dos Fungicidas 112

2.7 Quantificação por Cromatografia Gasosa 113

2.8 Fortificação e Recuperação 114

2.9 Análise de Fitopatologia 114

2.10 Análises Químicas (Ácido Ascórbico, ATT) 115

2.11 Análises Físico-Químicas 116

2.12 Análise Estatística..... 116

3 Resultados e Discussão..... 116

3.1. Análises Químicas e Físico-Químicas 117

3.2. Doenças (Identificação, Incidência e Índice) e Resíduos de Fungicidas..... 121

4 Conclusões..... 125

5 Referências Bibliográficas..... 126

CAPÍTULO 4

Estudo da Persistência de Thiabendazole e Imazalil em Laranja 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Tratadas em Pós-Colheita 133

Resumo..... 135

Summary..... 137

1 Introdução..... 139

2. Material e Métodos.....	141
2.1 Matéria-prima.....	141
2.2 Tratamento pós-colheita por imersão.....	141
2.3 Tratamento Pós-Colheita por Pulverização (Aplicação Prévia de Etileno).....	142
2.4 Armazenamento.....	144
2.5 Homogeneização das Laranjas.....	144
2.6 Reagentes e Padrões.....	145
2.7 Método de Extração dos Fungicidas.....	145
2.8 Quantificação por Cromatografia Gasosa.....	145
2.9 Fortificação e Recuperação.....	146
2.10 Análise Estatística.....	147
3 Resultados e Discussão.....	147
3.1 Tratamentos Pós-Colheita por Imersão.....	147
3.2 Tratamento Pós-Colheita por Pulverização.....	150
4 Conclusões.....	153
5. Referências Bibliográficas.....	153

CAPÍTULO 5

Níveis Residuais de Thiabendazole e Imazalil na Casca, na Polpa e na Fruta Inteira de Laranja 'Pêra' Tratadas em Pós-Colheita por Imersão.....	161
Resumo.....	163
Summary.....	165
1 Introdução.....	167
2 Material e Métodos.....	169
2.1 Solventes e Padrões.....	169
2.2 Matéria-Prima.....	169
2.3 Tratamento Pós-Colheita	170
2.4 Extração dos Fungicidas.....	170
2.5 Quantificação Por Cromatografia Gasosa.....	171
3 Resultados e Discussão.....	172
4 Conclusões.....	176
5 Referências Bibliográficas.....	176

CAPÍTULO 6

Resíduos dos Fungicidas Thiabendazole e Imazalil em Laranjas 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Oferecidas para Consumo na Cidade de Campinas, SP..... 183

Resumo..... 185

Summary..... 187

1. Introdução..... 189

2. Material e Métodos..... 191

2.1 Amostras..... 191

2.2 Solventes e Padrões..... 192

2.3 Método de Análise..... 192

3. Resultados e Discussão..... 194

4. Conclusão..... 197

5. Referências Bibliográficas..... 198

Anexo 1

Cromatograma do Imazalil203

Anexo 2

Cromatograma do Thiabendazole.....205

Anexo 3

Curvas Analíticas de Imazalil e Thiabendazole.....207

RESUMO GERAL

No período compreendido entre a colheita e o consumo, as laranjas são suscetíveis à deterioração causadas por microrganismos. Esta deterioração compromete a sua qualidade causando rejeição por parte do consumidor e, conseqüentemente, inviabilizando sua comercialização.

Os objetivos deste trabalho foram identificar os patógenos; determinar parâmetros químicos e físico-químicos da fruta; avaliar a eficiência do tratamento pós-colheita por imersão e pulverização com os fungicidas imazalil e thiabendazole e quantificar os resíduos destes fungicidas no período de armazenamento em laranjas de variedade 'Pêra'. Ainda visando avaliar os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole em amostras consumidas pela população, foram quantificados os resíduos destes fungicidas em laranjas 'Pêra' coletadas no comércio.

Após colheita no campo, as amostras foram conduzidas ao "packing house" e submetidas separadamente aos tratamentos por imersão e pulverização com os fungicidas imazalil (Magnate 500 CE) e thiabendazole (Tecto 600PM) ou a mistura de ambos. Após tratamento por imersão as laranjas foram armazenadas durante 28 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R. (umidade relativa), seguidos de mais cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80\% \pm 5\%$ de U.R., simulando-se as condições de comercialização. No tratamento por pulverização, as laranjas foram armazenadas em atmosfera de etileno durante três dias, pulverizadas com os fungicidas citados acima e armazenadas durante 25 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R., seguidos de armazenamento adicional por cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80\% \pm 5\%$ de U.R.

Foram identificadas sete e cinco espécies de fungos nos tratamentos pós-colheita por imersão e pulverização, respectivamente. Em ambos tratamentos não ocorreram diferenças significativas entre a incidência e o índice de doenças no primeiro armazenamento, independente do tratamento com etileno. Entretanto, nos cinco dias subsequentes de armazenamento, o número de espécies de fungos foi menor nas laranjas tratadas com fungicidas e nas não armazenadas com

etileno. Os menores valores de incidência e índice de doenças ocorreram nas amostras tratadas com as maiores concentrações de imazalil e thiabendazole. Houve diminuição das doenças quando o imazalil foi aplicado nas laranjas formulado com a cera ou pulverizado sozinho seguido da aplicação de cera.

Nos dois tratamentos não foram observadas diferenças significativas nos níveis dos fungicidas entre o início e o final do armazenamento, mesmo com aplicação de etileno e do uso de cera associada aos fungicidas. Após o primeiro armazenamento, as laranjas tratadas por imersão com imazalil e thiabendazole apresentaram níveis acima e abaixo, respectivamente, dos limites estabelecidos pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas, enquanto que as tratadas por pulverização e as coletadas nos supermercados apresentaram níveis destes fungicidas dentro do permitido por esta legislação.

Não ocorreu diferença significativa dos atributos químicos (acidez total titulável (ATT), ácido ascórbico) e físico-químicos (sólidos solúveis totais (SST), pH e cor) entre o início e o final do armazenamento, em ambos os tratamentos. Houve diferença significativa no atributo cor, comparando-se as amostras tratadas com e sem etileno, porém nenhuma diferença de cor entre as amostras de cada tratamento.

Os resultados indicam que a qualidade da laranja, aferida segundo os atributos químicos e físico-químicos, se mantém durante todo o período de armazenamento e as frutas coletadas no comércio atenderam à legislação vigente para resíduos de pesticidas.

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos a citricultura no Brasil apresentou aumento de produtividade, destacando-se no cenário mundial. Os Estados Unidos permaneceram como país líder na produção de laranjas durante toda a década de 70, seguidos de perto pelo Brasil. Com o aumento da produção de cítricos, o Brasil, nas décadas de 80 e 90, passou a ocupar o primeiro lugar mundial como produtor de laranjas, gerando em exportação divisas da ordem de milhões de dólares. O Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor nacional, contribuindo com cerca de 80% de toda a produção brasileira de cítricos, do qual 52% correspondem à laranja 'Pêra'.

Embora o Brasil seja o maior produtor mundial de laranja 'Pêra', em âmbito internacional não é o maior exportador desta fruta. O Brasil exporta cerca de 1% de sua produção de frutas frescas (300.000 t), ocupando o 20º lugar entre os países exportadores. A exportação brasileira de laranja *in natura* é muito baixa; apesar disto, esta fruta lidera em volume exportado, tendo alcançado 99,2 mil toneladas em 1996, rendendo 20,4 milhões de dólares para o Brasil. Este volume inexpressivo de exportação está vinculado à baixa qualidade da laranja brasileira, decorrente de problemas na etapa de pós-colheita, de doenças e de embalagens.

A comercialização da laranja está inserida no contexto da complexidade do mundo moderno, onde nem sempre os centros de produção agrícola ficam perto dos grandes centros de consumo. Entre estes dois centros, o produtor e o consumidor, milhares de toneladas de frutas são transportadas. Este problema de distância existe no mesmo país onde são produzidos os alimentos, agravando-se mais ainda quando se trata de exportação, onde o alimento após a colheita é transportado até o local de armazenamento, embarcado em navios, conduzido via marítima durante determinado período até o país de destino, novamente transportado até local de armazenamento e comercializado em seguida. Durante este período, entre a colheita e o consumo, pode ocorrer perda de qualidade das laranjas devido a fatores fisiológicos, mecânicos e de doenças causadas por microrganismos.

Os fatores fisiológicos dizem respeito à transpiração, perda de água e desordens provocadas nas laranjas devido às condições de estocagem e transporte; os danos mecânicos estão relacionados com a manipulação e a forma como as frutas são transportadas. Além destes dois fatores contribuírem para aumentar a vulnerabilidade das laranjas à penetração de microrganismos causadores de podridão, existe a ocorrência natural de doenças atribuídas a estes patógenos.

As doenças de pós-colheita podem acarretar perdas de 25 a 50% das frutas cítricas. A manifestação destas doenças ocorre através do aparecimento de podridões na superfície do fruto. As mais relevantes são o bolor verde, o bolor azul e a podridão amarga, provocadas, respectivamente, pelos fungos *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* e *Geotrichum candidum*.

O tratamento em pós-colheita com o emprego de fungicidas, sucedido por armazenamento durante determinado período em temperatura e umidade controladas, é a tecnologia empregada em todo o mundo para garantir a qualidade da fruta através do controle dos fungos responsáveis por estas doenças. Entre os fungicidas utilizados em pós-colheita, o imazalil e o thiabendazole são recomendados para controlar a ação dos fungos.

Embora o controle pós-colheita seja utilizado para garantir a qualidade da laranja e prolongar seu tempo de vida, existem restrições quanto à presença de níveis de resíduos acima do estabelecido pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas, ou pela legislação do país de destino.

Além da questão relativa às legislações de resíduos de pesticidas, a laranja deve ser avaliada quanto à sua composição química para verificar se ocorreu alguma alteração durante o seu armazenamento. Outro fator diz respeito ao padrão organoléptico do consumidor. O europeu, por exemplo, exige para consumo uma laranja com coloração amarela, enquanto o brasileiro consome a fruta madura, independente da sua cor.

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Identificar os fungos e respectivas doenças em laranjas durante diferentes períodos de armazenamento após tratamentos em pós-colheita por imersão e pulverização.
2. Avaliar atributos químicos e físico-químicos da fruta tratada, ou não, com etileno durante os períodos de armazenamento, após tratamentos em pós-colheita por pulverização.
3. Estudar os efeitos de tratamentos pós-colheita com fungicidas, no controle de doenças em laranjas e avaliar os seus níveis residuais.
4. Estudar a persistência dos fungicidas imazalil e thiabendazole durante os períodos de armazenamento de 25 e 28 dias após tratamentos em pós-colheita por imersão e pulverização, respectivamente.
5. Avaliar os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole na casca, na polpa e no fruto inteiro, após tratamento pós-colheita por imersão, em cada etapa de armazenamento de 0, 7, 14, 21 e 28 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa (U.R.)
6. Determinar os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole em laranjas comercializadas na cidade de Campinas.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. DOENÇAS DE CÍTRICOS PÓS-COLHEITA

Inúmeros vegetais e frutas são transportados do campo onde são cultivados até o local de consumo, podendo levar dias para chegar ao seu destino final. Isto ocorre principalmente quando o local de produção agrícola fica distante do centro consumidor, como geralmente acontece com os produtos destinados à exportação. Durante as etapas de colheita, transporte e armazenamento, o alimento *in natura* é susceptível à perda de qualidade, o que pode inviabilizar sua comercialização e consumo (ECKERT & OGAWA, 1967; ECKERT, 1983; LIEBERMAN, 1983).

Esta perda de qualidade pode ser atribuída a diferentes fatores. Um deles é o fisiológico, devido à diminuição do teor de água, à transpiração e às condições inadequadas de armazenamento. O segundo é o fator mecânico, que está associado à queda do produto e sua manipulação agressiva e, finalmente, o fator doenças, sejam estas oriundas do cultivo no campo, provocadas por patógenos em quiescência ou adquiridas no decorrer do período de pós-colheita até o momento do consumo. Os dois primeiros fatores deixam o alimento vulnerável, contribuindo para o aumento da incidência de doenças (PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, 1991).

Conforme conceituado por GAUMANN (1950), doença é um processo dinâmico no qual hospedeiro e patógeno, em íntima relação com o meio, se influenciam mutuamente, do que resultam modificações morfológicas e fisiológicas.

É enorme o número de doenças catalogadas pela literatura, envolvendo a planta cítrica e o seu fruto, em todas as etapas de vida dos mesmos. Entretanto, como não é o enfoque do presente trabalho abranger todo este universo, serão abordados apenas as doenças restritas aos frutos cítricos, que se manifestam no período de pós-colheita.

As doenças de pós-colheita de frutas cítricas podem ser divididas em dois grupos, segundo CUÑAT & CASAS, 1979: doenças cuja infecção original ocorreu no

campo, durante o cultivo da fruta (pré-colheita), e aquelas cuja injúria verifica-se no momento da colheita ou depois da colheita do fruto (pós-colheita), em decorrência das condições ambientais inadequadas e manipulação imprópria da fruta.

1.1 Infecção Pré-Colheita

Estas infecções são causadas por fungos que atacam o fruto e nele permanecem de forma quiescente, vindo a se manifestar posteriormente depois da colheita.

Uma destas infecções, a podridão peduncular, ocorre em frutos cítricos no campo onde as condições climáticas de umidade, calor e chuva favorecem o ataque dos fungos *Diplodia natalensis* e *Phomopsi citri*, causadores desta doença. Manifesta-se no pedúnculo do fruto, por isto possui esta denominação, e é mais freqüente em árvores velhas, que possuem ramos com extremidade seca. Os fungos crescem nos frutos em desenvolvimento e são levados até o pedúnculo do fruto através da chuva, permanecendo neste local de forma latente e manifestando-se através da perfuração do tecido do pedúnculo após a colheita (SAVASTANO & FAWCETT, 1929; LOUCKS & HOPKINS, 1946; BROWN & WILSON, 1968).

Um segundo tipo de podridão é a causada pelo fungo *Alternaria spp.* Este fungo é transportado pelo ar e se aloja nas flores e nos frutos em desenvolvimento, permanecendo de forma quiescente nestes até a sua manifestação depois da colheita. A doença atinge o eixo central do fruto e penetra na polpa, provocando podridão interna sem ser percebida externamente (BROWN & McCORNACK, 1972).

Desenvolvendo-se na superfície do solo úmido, os esporos de várias espécies de fungos *Phytophthora*, através de respingos da chuva ou levados pelo vento, atingem o fruto provocando a podridão marrom. Este tipo de injúria atinge todo o fruto, manifestando-se somente depois de três e dez dias de incubação nas temperaturas de 25°C e 10°C, respectivamente (WHITESIDE, 1970; FELD et al., 1979; CHITZANIDIS & LASCARIS, 1981).

A antracnose é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. A infecção é consequência do ataque do fungo através da casca ou da injúria durante o crescimento da planta no campo, vindo a manifestar-se após a colheita (BROWN, 1975; BROWN & BARMORE, 1977; BARMORE & BROWN 1978).

1.2 Infecção Durante e Após a Colheita

Alguns fungos estão presentes no meio ambiente e nas superfícies dos frutos aguardando as condições favoráveis para sua atuação. Uma das situações propícias é o momento da colheita. Se esta colheita não for realizada de maneira criteriosa e se a técnica empregada não for adequada, a casca do fruto, que fisiologicamente atua protegendo a polpa, pode sofrer alguma lesão que irá favorecer a penetração e germinação dos esporos do fungo. Esta situação permanece durante todo o período de pós-colheita até o momento do consumo do fruto.

Uma destas infecções é conhecida como bolor verde, causada pelo fungo *Penicillium digitatum* em regiões de clima seco e pouca chuva. Não só no campo, como também nos locais de estocagem, os fungos podem chegar à superfície das frutas, conduzidos pela corrente de ar, e aí permanecer de forma latente. A saída de água e de nutrientes do local do ferimento fornece o alimento para a germinação dos esporos, provocando a infecção no albedo em um período de 48 horas à temperatura de 20°C a 25°C. Se a temperatura for controlada e mantida abaixo de 10°C, esta enfermidade se desenvolve muito lentamente. Em volta da região da casca, onde ocorreu a inoculação do fungo, surge um mofo verde, razão pela qual é denominado de podridão verde (HOPKINS & LOUCKS, 1948). Por um mecanismo semelhante, porém de forma mais lenta e em temperaturas abaixo de 10°C, o fungo *Penicillium italicum* penetra pela cutícula intacta e provoca a formação do mofo azul, lesão conhecida como podridão azul (BARMORE & BROWN, 1982).

A podridão amarga geralmente afeta o fruto maduro em toda a sua superfície, em ambientes de alta umidade e temperaturas acima de 15°C. Esta lesão em pós-colheita é induzida pelo fungo *Geotrichum candidum* e causa podridão mole, aquosa, com cheiro característico de fermentação (BUTLER et al., 1965; BROWN, 1979).

A Tabela 1 apresenta as doenças em pós-colheita e os respectivos fungos responsáveis por estas injúrias juntamente com alguns pesquisadores que os pesquisaram e identificaram em citros. No rodapé da Tabela 1 são citados também os autores que relataram as descobertas destes fungos.

Tabela 1. Doenças em pós-colheita de frutas cítricas.

Doenças	Fungos	Referências
Infecção oriunda do campo (quiescente)		
Podridão Peduncular (podridão preta)	<i>Alternaria citri</i> ¹	SCHIFFMANN-NADEL et al., 1981
Podridão Peduncular	<i>Diplodia natalensis</i>	BROWN & WILSON, 1968
Podridão Peduncular	<i>Phomopsis citri</i> ²	BROWN & WILSON, 1968
Podridão Marrom	<i>Phytophthora citrophthora</i> ³	OXENHAM & STONE, 1969
Podridão Marrom	<i>Phytophthora parasitica</i>	OXENHAM & STONE, 1969
Antracnose	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ⁴	BROWN, 1975
Infecção oriunda na colheita e em Pós-colheita		
Podridão verde	<i>Penicillium digitatum</i> ⁵	BARMORE & BROWN, 1982
Podridão azul	<i>Penicillium italicum</i> ⁶	BARMORE & BROWN, 1982
Podridão amarga	<i>Geotrichum candidum</i> ⁷	BROWN, 1979

1 - PIERCE, N. B. *Bot. Gaz.*, 33: 234, 1902.

2 - *Phytopathology*, 2: 109-113, 1912.(TUSET, 1987)

3 - LEONIAN, L. H. *Amer. J. Bot.*, 12: 444, 1925.

4 - *Fungi Agrum.*, 2: 6, 1882. (TUSET, 1987)

5 - SACCARDO, P. A. *Mycotheca Italiana*, n. 986, 1881.

6 - WEHMER, C. *Hedwigia*, 33: 211-214, 1894.

7 - LINK, J.H.F. *Magaz. Naturf. Fr. Berlin*. III, p. 17, 1809.

2. TRATAMENTO PÓS-COLHEITA DE CÍTRICOS

As frutas e vegetais devem ser cultivados com cuidados adequados durante o seu crescimento no campo. Além da necessidade de se realizar uma adubação correta e uma irrigação apropriada para o desenvolvimento sadio de uma planta, o

produtor deve ficar atento ao ataque de pragas e de doenças que possam comprometer ou inviabilizar a produção agrícola. O emprego de agrotóxicos é uma das tecnologias utilizadas contra o ataque destas pragas e um meio de neutralizar as doenças. Usando este recurso o produtor pode garantir uma fruta de aspecto agradável e de boa qualidade no momento da colheita.

Entretanto, nem sempre o padrão de qualidade das frutas no momento da colheita é mantido até a ocasião do consumo. Adversidades vinculadas ao transporte do alimento até seu destino podem contribuir para provocar a sua depreciação ou inviabilizar a fruta para consumo. Em 1969, SMOOT relatou que ocorreu 20% de deterioração em citros quando os mesmos eram armazenados a 21°C sem nenhum tratamento em pós-colheita. Para evitar estas perdas, garantir a qualidade ou assegurar uma depreciação mínima da fruta, utiliza-se a tecnologia pós-colheita através de tratamentos físicos ou químicos.

Nos tratamentos físicos as frutas em pós-colheita são submetidas ao calor, à radiação ou ao armazenamento e transporte de frutos a baixas temperaturas (FEICHTENBERGER et al., 1997). Ação fungistática tem sido demonstrada quando amostras são submetidas a tratamentos térmicos com caldas a altas temperaturas, associados ou não com tratamentos químicos (SMOOT & MELVIN, 1964; HARDING & SAVAGE, 1964; ECKERT & SOMMER, 1967; HOUCK, 1967; WILLIEMS et al., 1994; SMILANICK et al., 1995). Verifica-se também o mesmo combate antifúngico quando as frutas são expostas à aplicação de vários tipos de radiações como, por exemplo, a gama e o ultra-som (BERAHA et al., 1959; DENNISON & AHMED, 1966; DHARKAR, 1964; SPALDING & REEDER, 1985; STEVENS et al., 1996).

Nos tratamentos químicos são utilizadas substâncias químicas conhecidas como fungicidas. Os objetivos da tecnologia em pós-colheita com fungicidas são reduzir o máximo possível o número de patógenos presentes na superfície do fruto, eliminar as infecções latentes oriundas do campo, bloquear a esporulação dos fungos e evitar a dispersão dos esporos para outras frutas durante o período compreendido entre a colheita e o consumo.

As técnicas utilizadas em pós-colheita para aplicação de fungicidas são: 1) “drencher”; 2) aerossol; 3) ceras ou resinas; 4) fumigação; 5) envolvimento com papel ou plástico impregnados; 6) imersão; 7) pulverização.

2.1 “Drencher”

Na técnica conhecida como “drencher”, as frutas são submetidas à aplicação dos fungicidas acondicionadas em engradados de madeiras, ou em outros recipientes, na entrada do local de armazenamento. Neste caso, as frutas não recebem nenhuma lavagem prévia. Recomendam-se cuidados especiais durante este tratamento porque porções de terra, barro, galhos, folhas ou quaisquer sujeiras advindas da colheita podem alterar a formulação da calda. Esta técnica é indicada quando as frutas são submetidas previamente ao desverdecimento ou quando são guardadas provisoriamente em frigoríficos antes de serem armazenadas em câmaras adequadas. Desta forma, o tratamento bloqueia ou retarda o crescimento dos fungos latentes (BROWN et al., 1988; BROWN & CRAIG, 1989).

2.2 Aerossol

Neste tratamento, as frutas são acondicionadas em câmaras de armazenamento, onde ocorre a aplicação do fungicida em forma de aerossol. O fungicida no estado líquido é dispersado em forma de partículas muito finas, conduzida pelo ar no interior da câmara, formando uma névoa que envolve todo o fruto e inclusive se deposita nas paredes e no chão da câmara. Quando o ar quente conduz estas partículas o tratamento é denominado de termonebulização (TUSET, 1987).

2.3 Ceras ou Resinas

Os fungicidas podem ser aplicados em formulações contendo ceras ou resinas. Existem dois tipos de formulações: suspensão do fungicida em uma emulsão de cera em água (CA) e outra formulação em que o fungicida é dissolvido com cera ou resina solúvel em um hidrocarboneto (CD). Estas duas formulações são

utilizadas quando se submete a fruta à imersão ou pulverização (HARDING, 1967; COHEN et al., 1986; BROWN et al., 1983).

2.4 Fumigação

A aplicação do fungicida na forma de gás, no interior de uma câmara de armazenamento, é conhecida como fumigação. Os fungicidas são formulados e comercializados em forma de pastilhas que deflagram o gás através do mecanismo de autocombustão. Esta forma de aplicação foi muito utilizada na década de setenta com os fungicidas thiabendazole, imazalil, vinclozolin e outros (KATCHANSKY, 1973).

O resultado obtido com esta técnica nem sempre logrou êxito. Algumas situações pontuais apresentaram resultados satisfatórios, porém em caso de armazenamento por um período longo outras formas de aplicação são mais eficientes (TUSET, 1987).

2.5 Envolvimento com Papel ou Plástico Impregnados

A técnica de impregnar papel ou plástico com fungicidas voláteis foi muito empregada em citros na década de 60 (TUSET, 1987).

No início foi utilizado o fungicida difenil, porém os fungos foram adquirindo resistência e com o passar do tempo foi necessário aumentar as doses para atingir o objetivo de neutralizar os microrganismos. Outra limitação desta técnica é a alteração do sabor das frutas, em função das mesmas ficarem durante certo período confinadas nos envoltórios de papel ou em embalagem de plástico (TUSET, 1987). Nas décadas de 70 e 80 foi utilizado com sucesso o envolvimento de frutas em filmes de polietileno de alta (HDPE) e baixa (LOPE) densidades e de cloreto de polivinil (PVC), para a redução da perda de peso das frutas e diminuição da incidência de doenças (GUTTER, 1969; BEN-YEHOSHUA et al, 1981).

2.6 Imersão

A imersão é uma técnica de pós-colheita cujo procedimento consiste em submergir a fruta durante determinado período (geralmente de 1 a 3 minutos) em um reservatório com calda formulada com suspensão do fungicida. Esta técnica é o procedimento mais antigo utilizado na tecnologia de pós-colheita (LAFUENTE et al., 1984).

Nos reservatórios onde são preparadas as caldas dos fungicidas as amostras são submersas manualmente ou através de um sistema automático com esteira, por onde as frutas são transportadas. As caldas preparadas para o tratamento devem ter grande volume de suspensão de fungicidas e um dos cuidados especiais é manter a calda sob constante agitação, uma vez que a maioria dos fungicidas é insolúvel em água. É recomendável fazer uma pré-lavagem das frutas antes da imersão, com a finalidade de eliminar as sujidades que acompanharam as amostras durante a colheita. Sem estas sujidades, o tratamento das frutas por imersão é mais eficiente. Este tratamento é considerado como a melhor técnica da tecnologia de pós-colheita. Todos os sítios onde possam existir esporos de fungos estarão em contato com o fungicida, resultando em um tratamento mais eficaz no combate a doenças (TUSET, 1987).

2.7 Pulverização

A pulverização consiste na aplicação do fungicida na forma de chuva fina, semelhante ao procedimento utilizado na aplicação no campo. O sistema automatizado é formado por um reservatório com o fungicida em suspensão, agitado ininterruptamente durante o processo. Um bomba de recalque é colocada interceptando uma tubulação, com uma extremidade imersa no reservatório e a outra extremidade colocada de forma perpendicular à passagem das frutas por uma esteira conduzida automaticamente. Na parte inferior da tubulação, acima da passagem dos frutos, há furos por onde a suspensão do fungicida é pulverizada na forma de chuva.

A pulverização pode ser realizada com descarte da calda após primeiro tratamento ou com reutilização da mesma através de um sistema automático que retorna a suspensão do fungicida para o reservatório inicial (BROWN et al., 1983).

3. ARMAZENAMENTO DE LARANJAS EM ATMOSFERA DE ETILENO

Alguns consumidores, principalmente os europeus, exigem que a laranja tenha coloração amarela, ao contrário do consumidor brasileiro, que consome a laranja com coloração verde. Para o europeu, o amadurecimento da laranja está associado com a coloração amarela da casca. Assim, do ponto de vista comercial é importante que a fruta exportada para a Europa atenda ao padrão organoléptico de exigência do país importador (TING & ROUSEFF, 1986).

A tecnologia de obtenção de uma laranja amarela a partir da fruta com cor verde teve início em 1910, através de COUSINS. Este pesquisador verificou o amadurecimento de bananas em consequência de emissões gasosas provenientes de frutos de outras espécies. Somente anos mais tarde, GANE, 1934, demonstrou ser o etileno a substância responsável por este efeito de maturação.

Ainda neste estágio inicial de desenvolvimento da tecnologia em pós-colheita, KIDD & WEST, em 1924, descobriram que a maçã e outras frutas apresentavam aumento da taxa de respiração depois da colheita, inclusive produzindo o gás etileno, até atingir um ápice que correspondia ao amadurecimento comercial. A partir desta observação estes autores denominaram as frutas com este comportamento de climatéricas, ou seja, frutas que amadurecem ligadas à planta e que podem, dependendo da época de colheita, sofrer o processo de amadurecimento fora da planta. Outras frutas que só amadurecem ligadas à planta, sofrendo interrupção do amadurecimento após a colheita, são classificadas como não-climatéricas.

No primeiro experimento com o etileno, realizado por KIDD & WEST (1933), foi demonstrada a sua eficácia no amadurecimento de frutas. Inúmeros são os

trabalhos em que frutas climatéricas como banana, manga, maçã e mamão são colhidas sem ter atingido o estágio de maturação, sendo então submetidas ao armazenamento em atmosfera de etileno com a finalidade de concluir ou acelerar o seu amadurecimento (BURG, 1962; BURG & BURG, 1962; BURG & BURG, 1965; MATTOO & MODI, 1969; PRATT & GOESCHL, 1969; REID et al., 1973; SFAKIOTASKIS & DILLEY, 1973; FUCHS et al., 1975; THOMAS & JANAVE, 1992).

O etileno (C_2H_4) é considerado um hormônio de maturação e envelhecimento de vegetais. Não só é utilizado para esta finalidade, como também para provocar a degradação da clorofila, eliminando a cor verde das frutas e promovendo o aparecimento dos carotenóides (BRAVER, 1949; YOUNG & JAHN, 1972).

Um dos primeiros trabalhos utilizando o gás etileno para desverdecimento da casca de frutas cítricas foi realizado por FULTON et al. (1929). Estes pesquisadores avaliaram amostras armazenadas sem e com etileno e constataram que estas últimas apresentavam coloração amarelada ao final do ensaio. Em 1933, WINSTON concluiu que durante armazenamento de laranjas em atmosfera de etileno este gás proporcionava o desverdecimento artificial da casca da fruta. A partir desta constatação outros autores realizaram pesquisas com este gás, em diferentes variedades de cítricos, principalmente com a finalidade de obterem frutas com melhor aparência e mais atrativas (Tabela 2).

Tabela 2. Variedades de laranjas submetidas ao desverdecimento.

Variedade	Espécie	Referência
Laranja 'Ruby'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	AHARONI & HOUCK, 1982
Laranja 'Tarocco'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	AHARONI & HOUCK, 1982
Laranja 'Sanguinello'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	AHARONI & HOUCK, 1982
Laranja 'Valencia'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	KITAGAWA et al., 1978 EL-ZEFTAWI, 1973 McCORNACK, 1971
Laranja 'Hamlin'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	McCORNACK, 1971
Laranja 'Trovita'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	KITAGAWA et al., 1978
Laranja 'Navel'	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	KITAGAWA et al., 1978

4. PÓS-COLHEITA COM FUNGICIDAS

Os primeiros tratamentos químicos com fungicidas empregados para controlar a deterioração de frutas cítricas foram realizados por FULTON & BOWMAN, 1924, e BARGER, 1928, com as soluções alcalinas de tetraborato de sódio (borax) e bicarbonato de sódio, respectivamente. Ainda no início dos estudos com estas substâncias, outros pesquisadores avaliaram a eficiência das mesmas no controle de podridão de citros (BARGER & HAWKINS, 1925; DOIDGE, 1929). Nestas primeiras pesquisas, realizadas com laranjas, soluções com concentrações de 6 a 8% de borax foram suficientes para controlar os fungos *Penicillium* e a podridão peduncular causada pelos fungos *Diplodia natalensis* e *Phomopsis citri*. A partir da descoberta destes pesquisadores, foram desenvolvidos vários fungicidas para uso no tratamento em pós-colheita de citricos (Tabela 3).

Tabela 3. Fungicidas aplicados em pós-colheita em citricos.

FUNGICIDA	FÓRMULA MOLECULAR	REFERÊNCIAS
Borax	$C_8H_{19}O_8B_4$	FULTON & BOWMAN, 1924
Bicarbonato de sódio	$NaHCO_3$	BARGER, 1928
Difenil	$C_{12}H_{10}$	TOMKINS, 1934; TOMKINS, 1935
Orto- Fenilfenol (OPP)	$C_{12}H_{10}O$	TOMKINS, 1936
Tiurêia, Quinosol, Tiocetamida, 2-Aminotiazol	CH_4N_2S , $C_{18}H_{14}O_2N_2$, H_2SO_4 , $C_2H_5N_2S$, $C_3H_4N_2S$	CHILDS & SIEGLER, 1946
2,4 - D	$C_8H_7O_3Cl_2$	STEWART, 1949
Amônia	NH_3	ROISTACHER et al., 1955
Carbonato de Amônia	$N_2H_8CO_3$	KLOTZ, 1957
Nitrogênio Tricloreto	NCl_3	KLOTZ, 1957
Dicloroetileno	$C_2H_4Cl_2$	BERRY, 1958
Dicloroisocianurato	$C_3O_3Cl_2Na$	ECKERT et al., 1960
Etano 1,2 Dibromo 1,1,2,2 Tetracoloro (DBTCE)	C_2Cl_4Br	ECKERT & KOLBEZEN, 1963
2 - AB	$C_4H_{11}N$	HAYWARD et al., 1967
Guazatine	$C_{10}H_{24}N_6$, C_2H_4O	YAMADA, 1976
Tiofanato de metila	$C_{12}H_{14}O_2S_2$	YAMADA, 1976
Sec- Butilamida	$C_4H_{11}N$	GUTTER, 1977
Sorbato de Potássio	$C_6H_7O_2K$	SMOOT & McCONARCK, 1978
Fenpropimorph	$C_{20}H_{34}ON$	GUTTER, 1981

O thiabendazole (a partir da descoberta de suas propriedades antifúngicas por CRIVELLI, em 1966) e o imazalil (sete anos mais tarde, introduzido por LAVILLE, 1973) têm sido empregados na tecnologia de pós-colheita para combater fungos em diferentes variedades de citros, através de diferentes técnicas de aplicação (HOLMES & ECKERT, 1992; ECKERT, 1995).

BROWN & DEZMAN (1990), estudaram o efeito do imazalil no combate ao fungo *Penicillium digitatum*; BARMORE & BROWN (1982), pesquisaram a contaminação de frutas cítricas pelos fungos *P. digitatum* e *P. italicum* durante o contato entre elas; DIAZ-BORRAS et al., 1987, KURAMOTO (1976), HARDING (1976), avaliaram a resistência de *P. digitatum* e *P. italicum* à aplicação de thiabendazole.

Outros fungos que atacam os citros em pós-colheita como o *Phomopsis* e o *Diplodia*, causadores da podridão peduncular e o *Geotrichum candidum*, responsável pela podridão amarga, foram pesquisados por vários autores quanto à resistência aos fungicidas thiabendazole e imazalil (BURGER & DAVIS, 1982; McCORNACK & BROWN, 1977; BROWN, 1981; BROWN, 1984; SCHACHNAI & BARASH, 1982).

4.1 Thiabendazole

O thiabendazole (Figura 1), também conhecido como TBZ, de nomenclatura IUPAC 2-(Thiazol-4-il) benzimidazole, foi introduzido pela Merck & Co. Inc. em 1962 como um antielmíntico para uso em seres humanos e animais.

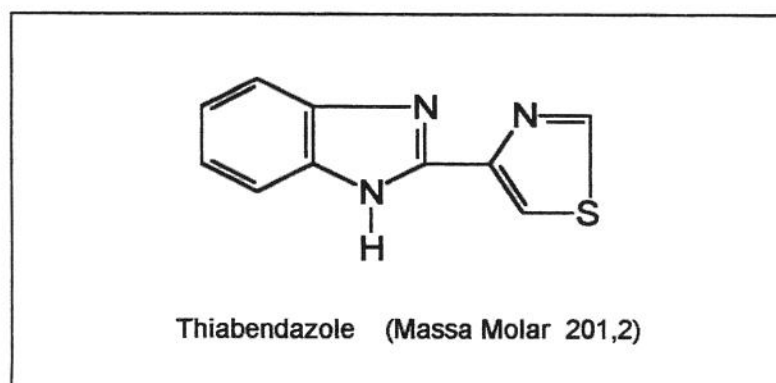


Figura 1. Estrutura molecular do thiabendazole

A sua propriedade antifúngica para uso na agricultura foi reconhecida somente em 1968, sendo lançado no mercado com o número de código de MK-360 e com os nomes comerciais de "Mertect", "Tecto" e "Storite" (WORTHING, 1979).

4.1.1 Síntese e Propriedades

A molécula do thiabendazole foi sintetizada através da condensação do ácido polifosfórico de tiazol-4-carboximida com o-fenilenediamina. É um pó colorido, com ponto de fusão entre 304-305°C, não volátil à temperatura ambiente, que sublima quando aquecido a 310°C. Na temperatura de 25°C é solúvel a pH=2 (10g/l de água), pH=12 (>50mg/l de água), 4,2g/l de acetona, 2,1g/l de acetato de etila, 9,3g/l de metanol. É estável a hidrólise, luz e calor nas Condições Normais de Temperatura e Pressão (CNTP) (BROWN et al., 1961; GREENDA, 1965).

O thiabendazole é pouco solúvel em água em meio neutro; porém, em meio fortemente ácido (pH<3) e fortemente básico (pH>14) apresenta alta solubilidade. Devido à natureza anfótera dos átomos de nitrogênio do núcleo imidazol, o thiabendazole a pH=3 comporta-se como um cátion e a pH=14 como um ânion (Figura 2). Como no tratamento em pós-colheita utiliza-se água neutra, o thiabendazole permanece em suspensão, sendo necessário manter a calda em constante agitação para assegurar uma distribuição uniforme deste fungicida (CUÑAT & CASAS, 1979).

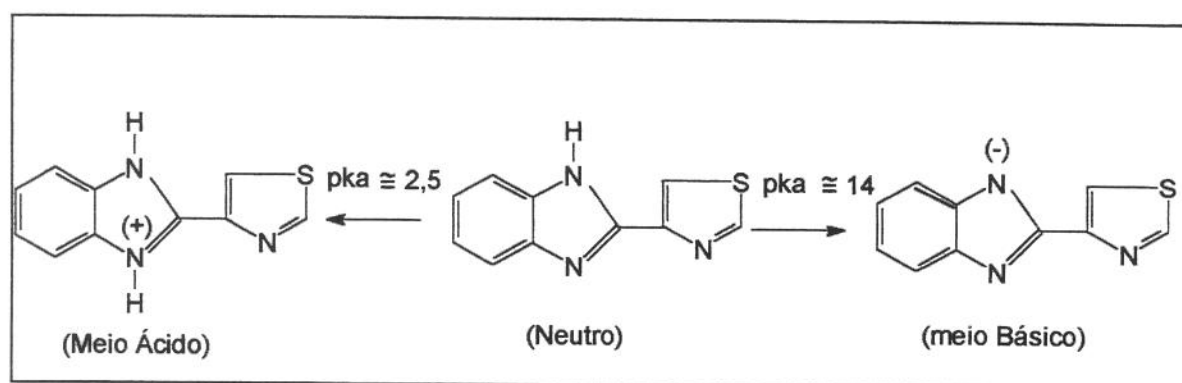


Figura 2. Caráter anfótero do thiabendazole em meio neutro, ácido e básico.

4.1.2 Aspectos Toxicológicos

Muitos ensaios toxicológicos e farmacológicos foram realizados em várias espécies de animais como cachorro, porco, camundongo, coelho, galinha, cavalo e peru, quando foram descobertas as propriedades antielmíntica e antifúngica do thiabendazole (BROWN et al., 1961; CUCKLER, 1961; REINECKE & ROSSITER, 1962; LEIPER & CROWLEY, 1963; ROBERTS & BENTINCK-SMITH, 1964; ISWARIAH & RAO, 1964; ROBINSON et al., 1965).

A administração de thiabendazole em ovelha como um antielmíntico resultou em baixos níveis deste fungicida no fígado do animal. Comprovou-se também que os resíduos foram eliminados pela urina depois de três dias de aplicação. Foram administradas doses terapêuticas em animais lactentes e as análises do leite após 24 horas acusaram a presença de thiabendazole. Em função deste resultado, recomenda-se não utilizar para consumo humano o leite de animais submetidos a tratamentos com thiabendazole para controle de helmínticos (VETTORAZZI, 1977).

Estudos de metabolismo de thiabendazole em camundongo, cachorro, ovelhas e gatos indicaram rápida absorção deste fungicida pelo trato gastrointestinal destes animais e excreção através da urina e fezes no período de três a oito dias. Estudos realizados no leite de vaca constataram 0,1% da concentração de thiabendazole administrado oralmente neste animal (VETTORAZZI, 1977).

Estudos de curta duração em camundongo, ovelha, porco e galinha, através de administração oral ou incorporando doses de thiabendazole à dieta destes animais, por um período de quatro a 50 semanas, resultaram em diminuição do timus, depleção da glândula tireóide e involução do rim (VETTORAZZI, 1977).

Após administração de thiabendazole por dois anos na dieta de camundongos, a glândula tireóide destes animais apresentou endurecimento (VETTORAZZI, 1977).

Testes de toxicidade oral aguda realizados em macacos, camundongos e coelhos indicaram LD₅₀ de 3,6g/kg, 3,1g/kg e >3,8g/kg, respectivamente (ROBINSON et al., 1965).

Estudos visando obter a dose sem efeito observável (NOAEL) demonstraram que para macacos esta dose foi de 30mg/kg peso corpóreo/dia, para camundongos 10mg/kg peso corpóreo/dia, e para cachorro 20mg/kg peso corpóreo/dia. Com base nestes valores, foi estabelecida uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0,05mg/kg peso corpóreo/dia (FAO/WHO, 1971).

Na reunião de 1977, a IDA estabelecida pelo JMPR (Joint Meeting on Pesticide Residue) foi aumentada para 0,3mg/kg peso corpóreo/dia e, em 1992, novamente reduzida para 0,1mg/kg de peso corpóreo/dia, valor este que se mantém inalterado até o presente (FAO/WHO, 1998).

4.1.3 Registro do Thiabendazole na Agricultura

A descoberta de que o thiabendazole poderia ser utilizado na agricultura no combate a fungos ocorreu em 1966. Entretanto, somente em 1971 foi estabelecida pelo CODEX sua regulamentação de uso para esta finalidade (CRIVELLI, 1966; FAO/WHO, 1998).

O thiabendazole é um fungicida sistêmico indicado para uso em diversas culturas no campo e em culturas como citros em pós-colheita. A tolerância para a cultura de citros em pós-colheita foi estabelecida em 10mg/kg pelo CODEX, nos EUA, Austrália, Canadá e Japão e em 6mg/kg na França, Alemanha, Espanha, Suíça e Itália (NAGY & WARDOWSKI, 1981).

No Brasil, o thiabendazole foi registrado em 1990 para uso no campo e em pós-colheita em diversas culturas. A tolerância para uso em citros em pós-colheita é de 10mg/kg na fruta inteira, não havendo registro para a polpa ou para a casca. A concentração prevista da suspensão de thiabendazole na calda é de 100g i.a

(ingrediente ativo)/100L, podendo ser utilizado através das diversas técnicas de pós-colheita (BRASIL, 1990; BRASIL, 1990a).

4.1.4 O Emprego de Thiabendazole em Pós-Colheita

O tratamento em pós-colheita, utilizado para manter a qualidade do fruto desde a colheita até o consumo, está associado com a aplicação de fungicidas, eliminação ou bloqueio da ação dos fungos e, conseqüentemente, ação profilática de combate a doenças.

Antes da década de 60, o procedimento usual de tratar as frutas cítricas consistia em lavá-las em solução quente (43°C) com fungicidas ou passar a fruta em papel impregnado com bifenil. Os primeiros fungicidas utilizados foram o borax (borato de sódio), carbonato de sódio e o-fenilfenato de sódio, porém, estes fungicidas não penetravam na superfície da fruta com eficácia. Somente a partir da década de 60, quando da descoberta de fungicidas alternativos, como os benzimidazoles, o thiabendazole foi incluído no grupo de substâncias com potencial para ser administrado em pós-colheita (ECKERT & OGAWA, 1985). Várias pesquisas foram então realizadas com o thiabendazole após a descoberta das suas propriedades antifúngicas e de sua eficácia em combater fungos em pós-colheita.

Segundo SEBERRY & BALDWIN, 1968, os pioneiros no emprego do thiabendazole na agricultura foram STARON, ALLARD e GUG, no ano de 1964. Dois anos mais tarde, em 1966, CRIVELLI relatou que o fungo *Penicillium*, responsável pela podridão em laranjas, era inibido após administração de thiabendazole.

A partir destes estudos iniciais de uso do thiabendazole na agricultura, muitos autores pesquisaram a eficiência deste fungicida após inocular os fungos nas amostras de citros. Um destas pesquisas foi realizada por HARDING, em 1968, após inocular esporos de *Penicillium digitatum* em laranjas. Este pesquisador concluiu que não havia diferença entre os resultados obtidos aplicando benomil ou thiabendazole no combate a este fungo.

Contrariando este resultado, GUTTER (1969), comparando a eficiência de thiabendazole com a de imazalil e benomil, aplicados em pós-colheita em laranjas 'Shamouti' e 'Valencia' para combater *Penicillium spp.*, obteve melhor resultado com o fungicida benomil. Outros estudos também confirmaram esta observação (SMOOT & MELVIN, 1969; McCORNACK & BROWN, 1969; GUTTER, 1970; LAVILLE, 1971).

Também neste período inicial outros trabalhos relataram a eficiência do thiabendazole no combate de fungos inoculados naturalmente em laranjas. VANDERWEYEN & TROGOFF, 1969, trataram laranjas de variedade Valencia por imersão durante quatro minutos com diferentes fungicidas, entre eles o TBZ. Após cinco dias a 19°C, as frutas foram inoculadas com esporos de *P. digitatum*. Depois de sete dias as frutas foram examinadas, sendo confirmada a eficiência do tratamento.

VANDERWEYEN & TROGOFF, 1969a, relataram a eficácia de alguns fungicidas, inclusive do thiabendazole 0,5%, contra a podridão verde. As frutas foram inoculadas com os fungos um dia antes ou cinco dias após tratamento em pós-colheita com os fungicidas. O benomil foi superior a todos os outros fungicidas com efeito curativo de 72-79% e efeito preventivo de 83-87%. Os fungicidas foram eficientes contra os fungos *Penicillium*, porém não controlaram outros fungos como o *Rhizopus sp.*

CUILLE & BUR-REVAULT (1969) verificaram que o thiabendazole formulado junto com a cera ou resina era eficiente em prevenir, durante o transporte e armazenamento, os danos provocados por fungos inoculados artificialmente em laranjas.

Ainda nos anos iniciais das pesquisas com thiabendazole, ANON, 1970 submeteu laranjas de variedades 'Hamlin', 'Pineapple' e 'Valencia' à aplicação com este fungicida, com o objetivo de combater os fungos *Penicillium digitatum* e *Diplodia natalensis*, responsáveis pela podridão verde e podridão peduncular,

respectivamente. As duas primeiras variedades apresentaram perdas de 20% e a variedade 'Valencia' apresentou 15% de incidência de doenças quando não tratadas com thiabendazole. Apenas 5% de deterioração foi observada nestas variedades quando tratadas por imersão com 0,1% de thiabendazole ao final de três semanas de armazenamento a 70°F.

Avaliando os efeitos curativos e preventivos do benomil, tiofanato metílico e thiabendazole contra o mofo verde e azul em frutas cítricas, KLOTZ & HARDING, 1970, VANDERWEYEN et al., 1971 e TRIGUI, 1969, constataram a eficiência destes fungicidas no combate de *Penicillium spp.*

Além destas pesquisas, muitos outros estudos foram realizados avaliando a eficácia de diferentes formas de tratamento no combate aos fungos que atacam os citros em pós-colheita.

As formulações do thiabendazole e outros fungicidas aplicados em suspensão com água, incorporados ou não a cera ou resina, foram estudados por vários autores com o objetivo de avaliar a eficiência no controle dos fungos *P. italicum*, *P. digitatum*, *Diplodia natalensis*, *Phomopsis citri*, *Alternaria citri*, em diferentes variedades de laranjas como 'Baladi', 'Mandarin', 'Toranja', 'Valencia', 'Washington navel', 'Vera', 'Hamlin', 'Pineapple', 'Temple'. A eficácia no controle destes patógenos nestas variedades foi obtida em alguns experimentos com o thiabendazole formulado apenas com água e em outros ensaios com este fungicida incorporado a cera ou a resina, após armazenamento das frutas em diferentes condições de temperatura e umidade (GUTTER, 1970a; SMOOT & MELVIN, 1970; SMOOT & MELVIN, 1970a; DALAL et al., 1971; PELSER, 1972; PELSER, 1973; ISSHAK et al., 1973; SUBRASMANNIAN et al., 1973; PELSER, 1974; GUTTER et al., 1974; RISK & ISSAK, 1974; REIG et al., 1979; EL-REFAI & MAHMOUD, 1982; EL-REFAI et al., 1982; BOWN, 1983; BROWN, 1984; EL-TOBESHY et al., 1984a).

O thiabendazole associado com outros fungicidas no tratamento em pós-colheita de citros apresentou, em algumas pesquisas, mais eficiência no combate a

doenças do que quando aplicado sozinho, evidenciando o efeito sinérgico destas formulações em neutralizar a inoculação dos fungos (REIG et al., 1979; KITAGAWA & TANI, 1984; DIAS-BORRAS et al., 1988).

O modo de aplicação dos fungicidas no tratamento em pós-colheita, a sequência deste tratamento antes e após a inoculação artificial ou natural dos patógenos e as diferentes condições de armazenamento, nos trabalhos realizados por vários pesquisadores, apresentaram diferentes influências nos resultados de eficácia em relação ao combate das doenças de frutas cítricas (COLL & LEAL, 1970; PELSER, 1973a; RIPPON & WILD, 1973; SMOOT & MELVIN, 1973; SMOOT & MELVIN, 1973a; ISSHAK et al., 1974; RIPPON, 1974; RIPPON & WILD, 1974; ABD-EL-LATIEF et al., 1975; SMOOT & MELVIN, 1975; BEZERRA et al., 1976; TUSET et al., 1977; SMOOT & MCCORNACK, 1978; GUTTER, 1982; SANTANA et al., 1983; RAO, 1984; EL-TOBSHY et al., 1984a; BROWN, 1985; BROWN & CRAIG, 1989).

Embora algumas pesquisas tenham revelado a eficácia do thiabendazole no combate aos fungos, vários autores constataram, em diferentes regiões geográficas, a resistência dos patógenos *P. italicum* e *P. digitatum* ao tratamento em pós-colheita com thiabendazole em frutas cítricas (HARDING, 1972; HOUCK, 1977; MCCORNACK et al., 1977; TONINI, et al., 1977; McDONALD et al., 1979; DAVÉ et al., 1980; ECKERT & WILD, 1983; EL-GOORANI et al., 1983; ECKERT & OGAWA, 1985; JIMENEZ-CUESTA et al., 1985).

4.1.5 Métodos para Determinação de Thiabendazole

O tratamento em pós-colheita em laranjas com fungicidas é imprescindível porque garante menor incidência de doenças nas frutas, assegura a qualidade das mesmas e evita prejuízos econômicos ao produtor. Entretanto, os resíduos remanescentes nas frutas devem ser quantificados para esclarecer se o produto encontra-se próprio para consumo em relação às legislações de resíduos de pesticidas do país onde a fruta será consumida.

Existem vários métodos para quantificação de thiabendazole em laranjas. Alguns estão estabelecidos com base na característica fluorescente do thiabendazole, outros usam espectrofotometria, polarografia de pulso (Tabela 4), cromatografia gasosa (Tabela 5) e cromatografia líquida de alta eficiência (Tabela 6).

O primeiro método de quantificação de thiabendazole em laranja foi desenvolvido pela Merck and Co. (PAM, 1969) utilizando cromatografia em camada delgada. O thiabendazole foi extraído com acetato de etila, lavado com 0,1mol/L de NaOH e água, particionado para 0,1mol/L HCl e quantificado por fluorescência a 360 nm com excitação em 302 nm.

Tabela 4 . Métodos de quantificação de thiabendazole.

QUANTIFICAÇÃO	METODOLOGIA/OBSERVAÇÕES	REFERÊNCIA
Espectrofotometria	Extrato diclorometano/ 0,1mol/L HCl. Reação com $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$. $\lambda=605\text{nm}$	KROELLER, 1971
Espectrofluorimetria	Extração: acetato de etila. Eluição: metanol:HCl (0,1mol/L) (99:1 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}=302\text{nm}$ $\lambda_{\text{em.}}=355\text{nm}$	NORMAN et al., 1972a
Espectrofotometria	Extração clorofórmio/ Ácido/ Básico $\lambda=302\text{nm}$	RAJZMAN, 1974
Polarografia (Pulso diferencial)	Extração/Limpeza: acetato de etila/ NaOH extração/ HCl	SMOLA & SONTAG, 1985

No ano seguinte, MESTRES et al., 1970, desenvolveram um método de quantificação de thiabendazole em laranja por espectrofotometria. Neste método a fruta inteira foi homogeneizada com hidróxido de amônio e em seguida o thiabendazole foi extraído com acetato de etila. A limpeza do extrato foi realizada da mesma forma que o método da Merck & Co. e a absorbância do extrato foi medida em 304 nm.

Tabela 5. Métodos de quantificação de thiabendazole por cromatografia gasosa.

DETECTOR	EXTRAÇÃO	METODOLOGIA/OBSERVAÇÕES	REFERÊNCIA
Ionização de chama	Acetato de Etila/Tampão (0,4mol/L NaC ₂ H ₅ 3,4mol/L NaCl (3:1 v/v)	Coluna empacotada 10% DC-200. Derivatização com dimetilformamida dimetil acetaldeido.	TANAKA & FUJIMOTO, 1976
Captura de elétrons	Acetato de Etila	Coluna empacotada 5% OV-101. Derivatização com cloreto de pentafluorbenzil.	NOSE et al., 1977
Captura de elétrons	Actetato de Etila	Coluna empacotada 3% OV-17. Derivatização com PFB-Br (brometo de pentafluorbenzil).	TJAN & JANSEN, 1979
Ionização de chama	Acetato de Etila	Coluna empacotada 10% FFAP (polietileno glicol)	ISSHIKI et al., 1980a
Fotometria de chama	Diclorometano	Coluna empacotada 10% OV-351 (polietileno glicol)	ISSHIKI et al., 1981
Nitrogênio fósforo	Hexano/Actetato de Etila (90:10 v/v)	Coluna capilar fase ligada SE-54 (metil fenil siloxano)	LAFUENTE et al., 1987
Nitrogênio Fósforo	Meio Básico (NaOH) (pH=8-9)	Coluna Capilar DB-5 (metil fenil siloxano)	OISHI et al., 1994
Nitrogênio fósforo	Hexano/Actetato de Etila (50:50 v/v)	Coluna Capilar DB-5 (metil fenil siloxano)	SCHIRRA et al., 1998
Termoiônico específico	Hexano/Actetato de Etila (50:50 v/v)	Coluna Capilar DB-5 (metil fenil siloxano)	NAVICKIENE & RIBEIRO, 1999

HAYWARD & MCCORNACK, 1971, propuseram um método de quantificação de thiabendazole por colorimetria, medindo a absorbância no comprimento de onda de 605 nm em espectrofotômetro. A metodologia envolveu três etapas: extração de thiabendazole da fruta, limpeza do extrato para eliminação dos interferentes e desenvolvimento da cor para medir a quantidade do fungicida presente. Para executar estas etapas, os pesquisadores em questão fizeram uma adaptação simplificando a extração e limpeza do método espectrofluorimétrico de DUGGAN

et al., 1969, e combinando com a modificação colorimétrica do método proposto por SZALKOWSKI & KANORA, 1965 e SZALKOWSKI, 1966.

Tabela 6. Métodos de quantificação de thiabendazole por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

DETECTOR	EXTRAÇÃO	METODOLOGIA/OBSERVAÇÕES	REFERÊNCIA
Ultra Violeta	Acetato de Etila	Coluna empacotada Hitachi (gel n.3010-metanol) Fase móvel: KOH/ metanol $\lambda=277\text{nm}$	MAEDA & TSUJI, 1976
Fluorescência	Metanol	Coluna RP-18 (5 μm). Fase móvel: metanol: 0,28% amônia (60:40 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}$ 395nm $\lambda_{\text{em.}}$ 350nm	ISSHIKI et al., 1980
Fluorescência	Acetato de Etila	Coluna RP-18 (7 μm). Fase móvel: metanol:tampão fosfato pH=8 (60:40 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}$ 285nm $\lambda_{\text{em.}}$ 350nm	KITADA et al., 1982
Ultra Violeta	Acetato de Etila	Coluna C-18 (10 μm). Fase móvel:metanol:0,16mol/L KH_2PO_4 (1:1 v/v). $\lambda=298\text{nm}$	YAMADA et al., 1984
Fluorescência	Metanol	Coluna LC-100 (5 μm). Fase móvel: ion-par/ metanol (65:35 v/v) $\lambda_{\text{ex.}}$ 305nm $\lambda_{\text{em.}}$ 345nm	GILVYDIS & WALTERS, 1990
Fluorescência	3g/ Na_2HPO_4 /10g Na_2SO_4 /Acetato de Etila	Coluna C-18 (5 μm). Fase Móvel: acetonitrila:1% p/v H_3PO_4 (58:42 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}$ 245nm $\lambda_{\text{em.}}$ 330nm	MOTOHASHI et al., 1990
Fluorescência	Acetato de Etila	Coluna C-8(5 μm)(octa siloxano). Fase móvel acetonitrila: H_3PO_4 (0,1mol/L) (80:20 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}$ 305nm $\lambda_{\text{em.}}$ 380nm.	MOTOHASHI et al., 1991
Ultra Violeta	Acetona	Coluna PLRP-S(5 μm)(poliestireno divinilbenzeno). Fase móvel: metanol/ tampão fosfato pH=7(70:30 v/v). $\lambda=280\text{nm}$.	HIEMSTRA et al., 1995
Fluorescência	Acetato de Etila	Coluna de troca catiônica SCX-ácido benzeno sulfônico. Fase Móvel: Acetonitrila:tampão fosfato pH=3,4(25:75 v/v). $\lambda_{\text{ex.}}$ 305nm $\lambda_{\text{em.}}$ 380nm	ARENAS et al., 1996

SCHIRRA et al. (1996) e SCHIRRA et al. (1998) utilizaram a mesma metodologia de extração de imazalil e thiabendazole empregada por MINELLI et al. (1996). Estes pesquisadores extraíram estes fungicidas de amostras de citros com a

mistura de hexano:acetato de etila (1:1 v/v) e em seguida quantificaram o imazalil e thiabendazole com detector de nitrogênio fosfóro.

4.1.6 Resíduos de Thiabendazole em Cítricos

Após descoberta por CRIVELLI, em 1966, da eficácia do thiabendazole em combater em pós-colheita os fungos *Penicillium* em laranjas, muitos pesquisadores utilizaram este fungicida em diferentes formulações, visando neutralizar ou eliminar estes fungos. Outras pesquisas também foram realizadas para avaliar se sua eficiência era mais abrangente, no sentido de suprimir os esporos de outros fungos causadores de injúrias em pós-colheita, como o *Diplodia*, o *Phomopsis*, o *Alternaria* e o *Geotrichum*.

Um dos pioneiros em pesquisa com thiabendazole em laranjas foram ROSENBLUM & MERIWETHER, 1970, do Laboratório de Radiatividade, Merck Sharp & Dolme Research, Rahway, New Jersey, EUA. Estes pesquisadores determinaram a persistência de thiabendazole na casca e polpa de laranjas, pelo método de indicador de radiatividade. As laranjas foram tratadas em pós-colheita imersão com thiabendazole (0,1%) em suspensão aquosa e armazenadas durante o período de 4 semanas. A casca inteira reteve em média 46mg/kg de thiabendazole, enquanto a parte interna da casca apresentou de 8 a 21% deste nível, sugerindo pouca difusão deste fungicida para esta secção. A parte comestível das laranjas ficou livre de thiabendazole e os níveis deste fungicida permaneceram os mesmos ao final do período de armazenamento.

NORMAN et al., 1972, pesquisando os resíduos de thiabendazole em laranjas da variedade 'Navel' observaram que a maior parte dos resíduos ficou retida na casca, o que foi confirmado por outros pesquisadores em anos posteriores. Nestes ensaios constatou-se que não ocorreu penetração dos fungicidas da casca para a polpa ao longo do tempo e que o teor de resíduos podia decrescer, dependendo das condições de temperatura e do período de armazenamento (ABD-ALLAH et al., 1974; STEURBAUT et al., 1974; ISSHIKI et al., 1982; ISSHIKI et al., 1982a;

IBE et al., 1982; ZADROZINSKA et al., 1983; SCHIRRA et al., 1986; SCHIRRA et al., 1998).

Grande parte dos estudos abordando resíduos de fungicidas foram realizados em países importadores, como Japão, Suíça, França, Bélgica, Polônia, Egito, Áustria e Itália, em frutas cítricas procedentes de regiões distintas como Grécia, Itália, Turquia e Israel. A maior parte das amostras apresentou níveis de thiabendazole abaixo da tolerância estabelecida pela legislação dos países importadores e o número de amostras com teor deste fungicida acima da tolerância foi insignificante (WESTOE et al., 1974; RISK & ISSHAK, 1974; ITO et al., 1976; SILVA et al., 1976; IWAIDA et al., 1977; ANDERSSON & MATTSSON, 1977; ISSHIKI et al., 1980; ISSHIKI et al., 1981; ISSHIKI et al., 1982; ISSHIKI et al., 1982a; YASUDA et al., 1982; KITAGAWA & KAWADA, 1984; SMOLA & SONTAG, 1985; OHLIN & FLYGH, 1986).

Outros pesquisadores quantificaram os níveis de resíduos de thiabendazole em frutas cítricas após submetê-las a diferentes tratamentos em pós-colheita. Nestes trabalhos foram correlacionados as concentrações eficazes no combate dos fungos e os níveis de resíduos dos fungicidas remanescentes nas frutas cítricas (EL-REFAI et al., 1982; AGABBIO & SCHIRRA, 1984; EL-TOBSHY et al., 1984; KOENIGER & WALLNOEFER, 1990).

4.2 Imazalil

O imazalil (Figura 3), de nomenclatura IUPAC 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-(2-propeniloxy)etil]-1H-imidazol, foi introduzido em 1972 pela Janssen Pharmaceutica de Beerse, Bélgica, como um fungicida experimental com o código "R23979". A partir de 1974, a Decco Division of Pennwalt Corporation adquiriu os direitos sobre este composto para realização de pesquisas com patógenos de pós-colheita. (KAPLAN & DAVE, 1979; WORTHING, 1979).

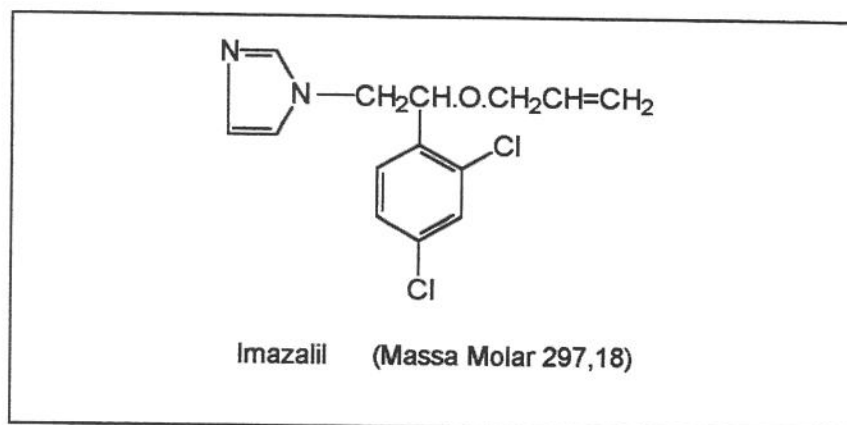


Figura 3. Estrutura molecular do imazalil

4.2.1 Síntese e Propriedades

O imazalil é um líquido cuja coloração vai de amarelo para marrom, de fórmula molecular $C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$ e massa molar 297,18, com densidade D_{25} 1,2429g/mL e pressão de vapor 70nPa. É ligeiramente solúvel em água (0,03g/100ml de solução aquosa) e amplamente solúvel nos solventes orgânicos. É quimicamente estável à temperatura ambiente na ausência de luz e termicamente estável a 285°C. Em solução aquosa é estável a 40°C em pH variando de 2,7 a 7,0 (LAVILLE et al., 1978; WORTHING, 1979).

4.2.2 Aspectos Toxicológicos

O imazalil é moderadamente tóxico por ingestão, com DL_{50} de 227 a 343mg/kg de peso corpóreo para ratos. Quando aplicado em cachorro, a DL_{50} apresentou valor acima de 640 mg/kg de peso corpóreo do animal. Testes de DL_{50} através da pele apresentaram valores entre 4200 a 4880mg/kg em ratos indicando ligeira toxicidade deste fungicida. Gansos submetidos a testes com imazalil apresentaram sintomas de excitação no folículo dos cabelos, falta de coordenação muscular, diminuição da tensão arterial, tremores e vômitos. Indivíduos com sensibilidade apresentaram sintomas de dermatite quando em contato com o imazalil (FAO, 1977; KIDD & JAMES, 1991).

A adição de imazalil diariamente na dieta de ratos em quantidades correspondentes a 0,4mg/kg de peso corpóreo durante 14 semanas não mostraram alterações na aparência do animal, nem no comportamento, no consumo de alimentos e nos exames de urina. O mesmo ocorreu quando grupo de ratos foram submetidos a dieta diária de 0,4mg/kg de peso corpóreo durante 6, 12 e 24 meses. Experimentos similares em cachorros com dieta de 0,5m/kg também apresentaram resultados semelhantes. Altas doses administradas na dieta destes animais provocaram aumento do fígado, porém, outros parâmetros observados não acusaram alterações do estado normal. A um grupo de ratos foram administrados 5,0mg/kg de imazalil diariamente durante 30 meses e neste período não ocorreu aparecimento de tumores quando comparados com os animais de controle (FAO, 1977).

Em reunião do JMPR (Joint Meeting on Pesticide Residue) realizada no ano de 1991, estabeleceu-se para o imazalil, a partir da análise dos dados toxicológicos, uma IDA (Ingestão Diária Aceitável) de 0,03mg/kg de peso corpóreo (FAO/WHO, 1998).

4.2.3 Registro do Imazalil na Agricultura

A partir de 1977 o imazalil foi listado pelo CODEX como fungicida para uso na agricultura em pré-colheita e em pós-colheita para algumas culturas, inclusive as frutas cítricas. Neste caso, foi estabelecido o valor de 5,0mg/kg como limite máximo de resíduos (LMRs) para o imazalil (FAO/WHO, 1998).

Em alguns países europeus como França, Alemanha, Espanha, Suíça, Suécia e em outras regiões do mundo como Israel, Austrália e Nova Zelândia, a tolerância do imazalil para a cultura de citros foi estabelecida em 5,0mg/kg para o fruto inteiro (NAGY & WARDOWSKI, 1981).

O imazalil (Magnate 500 CE) foi registrado no Brasil em 1 de setembro de 1998, pela Portaria N° 699. Através desta portaria, a Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas prescreve o uso do imazalil em pós-colheita nas culturas de banana,

mamão, manga e citros. Para cítricos o limite máximo de resíduo (LMRs) é de 5,0mg/kg. Com referência à concentração da calda para aplicação em pós-colheita, o imazalil foi registrado no Brasil sob N° 34/98, sendo autorizada pelo Ministério da Agricultura para citros a dosagem de 100g do ingrediente ativo (i.a.) por 100L de água, para combate do bolor verde produzido pelo fungo *Penicillium digitatum* (BRASIL, 1998; BRASIL, 1998a).

4.2.4 O Emprego do Imazalil em Pós-Colheita

A utilização de fungicidas em cítricos após a colheita resolveu um dos relevantes problemas de comercialização de grandes volumes deste tipo de frutas: as doenças de origem fúngica causadoras de deterioração. Entretanto, um dos problemas comuns na química de controle de patógenos é a habilidade do fungo patogênico em desenvolver resistência aos fungicidas. A utilização freqüente em “packing house” de alguns fungicidas em pós-colheita, como ortofenilfenato de sódio, benomil e thiabendazole, criou fungos com resistência a estes compostos.

Alguns fungos como o *Penicillium digitatum* e o *Penicillium italicum* apresentaram resistência a fungicidas como thiabendazole e benomil no sudeste da Califórnia, na Flórida, Israel e Austrália (HARDING, 1972; ECKERT & KOLBEZEN, 1977; SMOOT & BROWN, 1974; McDONALD et al., 1979; ECKERT, 1982). Em função da perda da eficiência destes fungicidas, algumas substâncias novas foram testadas visando substituí-los, entre elas o imazalil.

O primeiro trabalho em pós-colheita revelando as propriedades antifúngicas e confirmando a eficiência do imazalil (código n. R23979) em proteger as frutas cítricas contra a deterioração provocada pelos fungos *P. digitatum* e *P. italicum* foi realizado por LAVILLE, 1973.

A partir deste trabalho inicial, sucederam-se várias pesquisas em diferentes partes do mundo com esta nova molécula. Em 1976, HARDING relatou a eficiência do imazalil em combater espécies de *Penicillium* resistentes à ação dos benzimidazoles, thiabendazole e benomil. Outros pesquisadores também

constatarem a eficiência do imazalil no combate destes fungos em diferentes regiões em que os mesmos apresentavam resistências à aplicação de thiabendazole em cítricos (LAVILLE, 1978; BIONDI et al., 1979; KAPLAN & DAVE, 1979; DIAZ-BORRAS et al., 1987; DIAZ-BORRAS et al., 1987a; DIAZ-BORRAS & VILA-AGUILAR, 1989; ; DIAZ-BORRAS & VILA-AGUILAR, 1987; ECKERT et al., 1994).

BEN-YEHOSHUA, et al., 1981, estudaram um método de embalar as frutas individualmente em filme de alta densidade de polietileno visando controlar a deterioração de quatro variedades de frutas cítricas. Como esta técnica resultou em menor deterioração quando as frutas foram embaladas após aplicação do fungicida imazalil, outros pesquisadores também a utilizaram empregando diferentes materiais de embalagem (JIMENEZ-CUESTA et al., 1983; BARMORE & FLYE, 1986; HALE et al., 1986; MILLER et al., 1986; MILLER & MCDONALD, 1989).

Toranjias exportadas da Florida para o Japão foram submetidas, simulando as condições de exportação, a cinco testes para avaliar o tratamento em pós-colheita de quatro fungicidas (ortofenilfenato(SOPP), thiabendazole(TBZ), imazalil e SOPP + TBZ) no controle de podridões. Nenhum destes fungicidas foi efetivo em combater a podridão amarga nem evitar a expansão de doenças entre as frutas dentro da mesma caixa. Estes fungicidas foram eficientes em combater a podridão amarga e o mofo verde quando adicionados ao bifenil (SMOOT & HALE, 1977).

Foram realizadas comparações entre imazalil e os fungicidas benomil e thiabendazole no controle de podridão de laranjas de variedade 'Valencia'. As frutas foram tratadas em pós-colheita com estes fungicidas. Os esporos do fungo *Penicillium digitatum* foram inibidos devido ao imazalil e este fungicida controlou a deterioração das laranjas 'Valencia', armazenadas durante 11 semanas a 4,5°C, da mesma forma que o benomil. Ambos fungicidas foram também eficazes quando as frutas foram armazenadas durante uma semana a 21°C, simulando as condições de comercialização (McCORNACK & BROWN, 1977).

TUSET et al., 1977, inocularam vários esporos de fungos em frutas cítricas maduras. Em seguida submeteram as frutas à imersão com 10 fungicidas, aplicados sozinhos ou combinados. O tratamento mais eficiente no controle de *Penicillium italicum*, *Botrytis cinerea* e *Alternaria citri* foi obtido com as frutas submetidas à imersão com 0,2% de imazalil.

LAVILLE et al., 1977 submeteram as frutas cítricas a tratamento em pós-colheita com imazalil nas concentrações de 500mg/L e 1000mg/L formulados com água e aplicados na forma de “drencher” ou por imersão. Ambos tratamentos foram eficientes no controle de *Penicillium*. Estes autores asseguram que este fungicida não apresenta eficácia no tratamento contra podridão peduncular e podridão amarga.

Cítricos de variedade ‘Satsuma mandarin’ foram inoculados com os fungos *Penicillium italicum*, *Botrytis cinerea* e *Alternaria citri* durante o ano de 1975. Em seguida, 10 fungicidas foram aplicados sozinhos ou em combinação em pós-colheita por imersão. Todas as formulações com imazalil (R-23979) foram eficazes no combate destes fungos, porém aquela a 0,2% apresentou o melhor resultado (LAVILLE et al., 1977).

Foram avaliados os efeitos do imazalil e outros fungicidas no controle dos fungos *Penicillium digitatum* e *P. italicum*. Imazalil, na concentração de 0,1%, foi eficaz em reduzir em 88-91% a incidência de infecção (PRATELLA et al., 1980).

Amostras de toranja foram tratadas em pós-colheita com benomil, ortofenilfenato de sódio (SOOP), imazalil e etaconazole e armazenadas em condições ambientais ou tratadas com os últimos três fungicidas e armazenadas a 12°C. Imazalil e etaconazole foram tão eficientes quanto benomil em condições ambientais e foram mais eficientes do que SOOP a 12°C (BURGER & DAVIS, 1982)

Estudos realizados por BROWN, 1985, com vários fungicidas para controle de deterioração de frutas cítricas em pós-colheita resultaram nos seguintes dados: a deterioração foi significativamente reduzida por imazalil e guazatine, porém o nível

de controle não foi melhor do que com thiabendazole e benomil; o mofo verde, causado pelo fungo *Penicillium difitatum*, foi efetivamente controlado com guazatine, thiabendazole e imazalil aplicados isoladamente. Dos fungicidas testados, o benomil, o thiabendazole, o sorbato de potássio e o imazalil foram aprovados para aplicação em frutas cítricas no controle de deterioração em pós-colheita.

A eficiência no combate dos fungos dos fungicidas thiabendazole, imazalil e benomil aplicados na forma de aerosol em engradados de cítricos, imediatamente antes do processo de desverdecimento, foi comparada com as aplicações destes fungicidas usando as técnicas de “drencher”, antes do desverdecimento, e da pulverização após desverdecimento. A aplicação de benomil na forma de aerosol foi o único tratamento realmente eficaz na redução da podridão peduncular provocada pelo fungo *Diplodia natalensis*. Nenhuma das aplicações na forma de aerosol controlou o mofo verde provocado pelo *Penicillium digitatum*. Para o controle de podridão peduncular a aplicação dos fungicidas na forma de aerosol durante o desverdecimento não foi tão eficaz quanto a aplicação pela técnica de “drencher” antes do desverdecimento (BROWN & CRAIG, 1989).

DIAZ-BORRAS et al., 1989, testaram *in vitro* a 25°C e alta umidade, os fungicidas thiabendazole (10, 50, 100, 200 e 480mg/L), imazalil e ortofenilfenato de sódio (1, 5, 10, 50 e 100mg/L) em cinco cepas do fungo *Fusarium* isolados de frutas cítricas durante armazenamento em pós-colheita. As diferentes cepas apresentaram diferentes graus de resistências. As DL₅₀ de benomil e thiabendazole ficaram entre 50 a 100mg/L e as de imazalil e ortofenilfenato de sódio entre 10 e 50mg/L.

4.2.5 Métodos para Determinação de Imazalil

Uma das primeiras metodologias para quantificação de imazalil em citros foi relatada por GREENBERG & RESNICK, 1977. Segundo estes autores, o imazalil foi extraído com acetonitrila e o extrato foi submetido à limpeza através da cromatografia de coluna com florisil, sendo posteriormente quantificado por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons e coluna empacotada

4% OV-17. A recuperação da metodologia foi de 80-95% na fruta contaminada com 0,50mg/kg a 2,0mg/kg de imazalil e o limite de quantificação foi 0,01mg/kg.

Algumas metodologias tem sido empregadas para quantificar imazalil em cítricos utilizando a cromatografia a gás com detectores de ionização de chama, nitrogênio-fosfóro e captura de elétrons, e a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultra-violeta (Tabela 7).

Tabela 7. Métodos de quantificação de imazalil em citros.

QUANTIFICAÇÃO	METODOLOGIA/ OBSERVAÇÕES	REFERÊNCIA
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Detector UV ($\lambda=202\text{nm}$)	Extração: acetato de etila. Fase móvel: acetonitrila/ tampão fosfato-NaCl (47:53 v/v). Coluna fase reversa Lichrosorb C-18 (10 μm).	NORMAN &FOUSE, 1978
Cromatografia Gasosa Detector de ionização de chama	Extração: acetona: água (2:1 v/v). Limpeza do extrato: cromatografia de filtração em gel. Coluna empacotada: 1,5% OV-17/ 1,95% QF-1.	SPECHT & TILLKES, 1980
Cromatografia Gasosa Detector de captura de elétrons	Extração: heptano/ álcool isoamil	STEIN et al., 1981
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Detector UV ($\lambda=\text{nm}$)	Extração: heptano/ álcool isoamil (95:5v/v). Fase móvel: (32% K ₂ HPO ₄ 0,01mol/L: 68% acetonitrila)/ metanol (50:50 v/v). Coluna RP-18 (5 μm).	WYNANTS, 1982
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Detector UV ($\lambda=204\text{nm}$)	Extração: hexano: acetona (90:10 v/v)	LAFUENTE &TADEO, 1985
Cromatografia Gasosa Detector de captura de elétrons	Extração: hexano: acetona (90:10 v/v)	LAFUENTE &TADEO, 1985
Cromatografia Gasosa Detector N-P	Extração: hexano: acetona (90:10 v/v). Coluna capilar SE-54	LAFUENTE &TADEO, 1987
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Detector UV($\lambda=204\text{nm}$)	Extração: diclorometano. Fase móvel: metanol: água (75:25 v/v). Coluna RPB (5 μm).	FRIAR & REYNOLDS, 1994

WYNANTES, em 1977, discutiu sobre as várias metodologias de quantificação de imazalil em cítricos. A cromatografia a gás com detector de ionização de chama é recomendada para análise deste fungicida em cítricos *in natura* que foram

submetidos a tratamento em pós-colheita por imersão em recipiente contendo formulação em água ou com cera. Foram sugeridas outras metodologias seguida do procedimento de limpeza do extrato e posterior quantificação usando detector de condutividade de elétrons. Segundo este autor, a cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia em camada delgada não são recomendadas para determinação de traços de imazalil.

4.2.6 Resíduos de Imazalil em Cítricos

Um dos primeiros trabalhos avaliando os níveis de resíduos de imazalil em frutas cítricas após tratamento em pós-colheita foi feito por GREENBERG & RESNICK em 1977. As frutas foram tratadas em pós-colheita através da técnica de imersão em recipientes formulados com imazalil em suspensão aquosa (100 a 4000mg i.a./L) e com cera (500 a 8000mg i.a./L). As análises destas frutas revelaram níveis residuais de 0,5 a 2,0mg/kg e 1,0 a 11,0mg/kg de imazalil, respectivamente. Segundo os autores, não ocorreu diferença significativa entre os níveis de resíduos nas frutas armazenadas a 4°C e 22-25°C durante 14 dias. Os níveis de resíduos do fungicida na fruta aumentaram com o aumento da concentração do imazalil no tratamento em pós-colheita.

Toranjias foram submetidas a tratamento em pós-colheita durante 30 segundos com solução de imazalil a 1000mg/L, secadas, acondicionadas em caixa e armazenadas 10°C/95% de U.R. (umidade relativa) durante 18 e 36 horas, 14 e 21 dias. Os resíduos de imazalil encontrados na polpa ao final de 14 e 21 dias, respectivamente, foram de 0,14mg/kg e 0,17mg/kg, indicando que ocorreu penetração da casca para a polpa (STEIN et al., 1981).

Foram realizados estudos com o objetivo de avaliar a persistência de imazalil em laranjas de variedades 'Washington navel' e 'Hernandina clementines' após tratamento em pós-colheita por imersão (500 ou 1000mg/L) e armazenamento durante sete dias a 18°C/60-70% de umidade relativa e de 60 dias a 5°C/95%. Os resultados das análises de resíduos indicaram persistência deste fungicida (LAFUENTE et al., 1984).

Outro estudo avaliando a estabilidade de imazalil foi realizado por TSUMURA-HASEGAWA et al., 1992. Estes pesquisadores trataram frutas cítricas em pós-colheita por imersão com oito fungicidas, entre estes o imazalil. Em seguida as frutas foram armazenadas a 14°C e os fungicidas foram analisados em intervalos de sete dias. O imazalil foi extremamente estável. Após oito semanas de armazenamento os limões foram processados para obtenção de geléia. Em cada etapa do processamento foram realizadas análises de resíduos dos fungicidas, sendo que na etapa final foram encontrados resíduos equivalentes a 42% de imazalil adicionado.

Foi investigada a translocação de vários pesticidas, entre eles o imazalil, da casca para a polpa de frutas cítricas. Exceto para os pesticidas solúveis em água, a maior relação entre a concentração na polpa/casca foi obtida para os imidazóis (imazalil) (NAGAYAMA et al., 1995).

Com o objetivo de monitorar a ingestão diária total do fungicida imazalil através de vários alimentos coletados entre 1989 e 1991 em supermercados de Osaka, Japão, MATSUMOTO et al., 1994, analisaram, por cromatografia líquida de alta eficiência, 89 alimentos (classificados dentro de um grupo de 13 alimentos). Somente no último ano foram detectados resíduos de imazalil (0,045mg/kg e 1,96mg/kg nas polpas de toranja e limão, respectivamente).

Frutas cítricas foram submetidas a tratamento em pós-colheita imersão em água com e sem imazalil, na faixa de concentração de 250 a 1500mg/L à temperatura ambiente (20°C) e a 50°C. Em seguida, as frutas foram armazenadas a 9°C durante 13 semanas e mais uma semana adicional a 20°C. Os níveis de resíduos de imazalil na temperatura de 20°C variaram de 1,47 a 5,05mg/kg (SCHIRRA et al., 1996).

Foram avaliados os níveis dos resíduos de seis fungicidas aplicados em pós-colheita (difenil, ortofenilfenato, 2,4-D, thiabendazole, benomil e imazalil) em amostras de frutas cítricas através das metodologias de cromatografia gasosa

com detetor de massas e cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência. Foram encontrados resíduos de imazalil em 20 das 32 amostras analisadas (TONOGAI et al., 1992a).

FRIAR & REYNOLDS, 1994, quantificaram os níveis de resíduos de imazalil em laranjas 'Seville' *in natura* e processada. O processamento das frutas foi realizado em sistema aberto e em microondas. Os níveis de resíduos deste fungicida na geléia foi cerca de 50% maior do que na fruta *in natura*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-ALLAH, M. A.; ABU-SALEM, F. M.; ISMAIL, F. A. Fungicidal residues on and in Egyptian oranges. **Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition**, v. 24, n. ½, p. 127-136, 1974.
- ABD-EL-LATIEF, F.; EL-AZZOUNI, M. M.; KHATTAB, M. M. The effect of some fungicide and wax treatments on the keeping quality and storage behaviour of Amoun orange fruits. **Beitraege zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinaermedizin**, v. 13, n. 3, p. 323-328, 1975.
- AGABBIO, M. & SCHIRRA, M. **Not. Ortoflorofrutt**, v. 10, p. 139-143, 1984. Apud. PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Postharvest applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. **Journal Association of Official Analitical Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 745-765, 1991.
- AHARONI, Y.; HOUCK, L. G. Change in rind, flesh, and juice color of blood oranges stored in air supplemented with ethylene or in oxygen-enriched atmospheres. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 2091-2092, 1982.
- ANDERSSON, A.; MATTSSON, S. Fungicides in fruit and vegetables, February 1974 June 1976. **Var Foeda**, v. 29 (suppl. 1), 19p., 1977.
- ANON. Tbz curbs citrus decay. **Agricultural Research**, v. 19, n. 4, p. 10, 1970.

- ARENAS, R. V.; RAHMAN, H.; JOHNSON, N. A. Determination of thiabendazole residues in whole citrus fruits by liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 79, n. 2, p. 579-582, 1996.
- BARGER, W. R. Sodium bicarbonate as citrus fruit disinfectant. **California Citrograph**, v. 13, n. 164, p. 172-174, 1928.
- BARGER, W. R.; HAWKINS, L. A. Borax as a disinfectant for citrus fruit. **Journal Agricultural Research**, v. 30, p. 189-192, 1925.
- BARMORE, C. R.; BROWN, G. E. Preharvest ethephon application reduces anthracnose on Robinson tangerines. **Plant Disease Reporter**, v. 62, p. 541-544, 1978.
- BARMORE, C. R.; BROWN, G. E. Spread of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* during contact between citrus fruits. **Phytopathology**, v. 72, p. 116-120, 1982.
- BARMORE, C. R.; FLYE, S. R. Quality of individually film wrapped lemons. **Citrograph**, v. 71, n. 8, p. 165-168, 171, 1986.
- BEN-YEHOSHUA, S.; APELBAUM, A.; COHEN, E. Decay control and fungicide residues in citrus fruits seal-packed in a high-density polyethylene film. **Pesticide Science**, v. 12, n. 5, p. 485-490, 1981.
- BERAHA, L.; RAMSEY, G. B.; SMITH, M. A.; WRIGHT, W. R. Factors influencing the use of gamma radiation to control decay of lemons and oranges. **Phytopathology**, v. 49, p. 91-96, 1959.

- BERRY, S. Z. Effects of an ethylene dichloride and trichloroethane mixture on three citrus fruit pathogens. **Plant Disease Reporter**, v. 42, p. 102-106, 1958.
- BEZERRA, J. E. F.; TEIXEIRA, S. L.; CHAVES, G. M.; CONDÉ, A. R.; MARRICA, I. Eficiência do Thiabendazol e Benomil no controle do mofo verde (*Penicillium digitatum* Sacc.) em laranja lima (*Citrus sinensis* Osb.). **Revista Ceres**, v. 23, n.130, p. 440-452, 1976.
- BIONDI, G.; BRIGATI, S.; FOSCHI, F. *Penicillium* control of citrus fruit. **Bulletin de l'Institut International du Froid**, v. 59, n. 4, p. 1134-1135, 1979.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Imazalil (Magnate 500 CE)**, registro 34/98 de 15 de maio de 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Thiabendazole (Tecto 600 PM)**, registro 998400 de 5 de março de 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 37 de 30 de Out. 1990. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I, p. 20755, 31 de Outubro de 1990a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº. 699 de 1 de setembro de 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Seção I p. 172-E de 9 de Setembro de 1998a.
- BRAVER, J. B. S. Artificial coloring of citrus fruit. In Citrus products. **Interscience Publishers**, New York, p. 34-40, 1949.
- BROWN, G. E. Biology and control of *Geotrichum candidum*, the cause of citrus sour rot. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 92, p. 186-189, 1979.

- BROWN, G. E. Control of Florida citrus decays with guazatine. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 96, p. 335-337, 1983.
- BROWN, G. E. Effectiveness of postharvest fungicides for the control of citrus fruit decays. **Citrus Industry**, v. 66, n. 9, p. 53-58, p. 60, 1985.
- BROWN, G. E. Efficacy of citrus postharvest fungicides applied in water or resin solution water wax. **Plant Disease**, v. 68, p. 415-418, 1984.
- BROWN, G. E. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits. **Phytopathology**, v. 65, p. 404-409, 1975.
- BROWN, G. E. Investigations with experimental citrus postharvest fungicides in Florida. **Proceedings of the International Society Citriculture**, v. 2, p. 815-818, 1981.
- BROWN, G. E.; BARMORE, C. R. The effect of ethylene on susceptibility of Robinson tangerines to anthracnose. **Phytopathology**, v. 67, p. 120-123, 1977.
- BROWN, G. E.; CRAIG, J. O. Effectiveness of aerosol fungicide applications in the degreening room for control of citrus fruit decay. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 102, p. 181-185, 1989.
- BROWN, G. E.; DEZMAN, D. J. Uptake of imazalil by citrus fruit after postharvest application and the effect of residue distribution on sporulation of *Penicillium digitatum*. **Plant Disease**, v. 74, n. 11, p. 927-930, 1990.
- BROWN, G. E.; HAGY, S.; MARAULJA, M. Residues from postharvest nonrecovery spray applications of imazalil to oranges and effects on green mold caused by *Penicillium digitatum*. **Plant Disease**, v. 67, n. 9, p. 954-957, 1983.

- BROWN, G. E.; MAWK, P.; CRAIG, J. O. Pallet treatment with benomyl of citrus fruit on trucks for control of diplodia stem-end rot. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 101, p. 187-190, 1988.
- BROWN, G. E.; McCORNACK, A. A. Decay caused by *Alternaria citri* in Florida citrus fruit. **Plant Disease Reporter**, v. 56, n. 10, p. 909-912, 1972.
- BROWN, G. E.; WILSON, W. C. Mode of entry of *Diplodia natalensis* and *Phomopsis citri* into Florida oranges. **Phytopathology**, v. 58, p. 736-739, 1968.
- BROWN, H. D.; MATZUK, A. R.; ILVES, I. R.; PETERSON, L. H.; HARRIS, S. A.; SARETT, L. H.; EGERTON, J. R.; YAKSTIS, J. J.; CAMPBELL, W. C. and CUCKLER, A. C. Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-Thianzoly)- benzimidazole, a new anthelmintic. **Journal American Chemical Society**, v. 83, p. 1764, 1961.
- BURG, S. P. The physiology of ethylene formation. **Annal Review Plant Physiology**, v. 13, p. 265-302, 1962.
- BURG, S. P.; BURG, E. A. Ethylene action and the ripening of fruits. **Science**, v. 148, p. 1190-1196, 1965.
- BURG, S. P.; BURG, E. A. Role of ethylene in fruit ripening. **Plant Physiology**, v. 37, p. 179-189, 1962.
- BURGER, D. W.; DAVIS, R. M. New fungicides for the postharvest control of stem-end-rot in Texas grapefruit. **HortScience**, v. 17, n. 6, p. 976-977, 1982.
- BUTLER, E. E.; WEBSTER, R. K.; ECKERT, J. W. Taxonomy, pathogenicity, and physiological properties of the fungus causing sour rot of citrus. **Phytopathology**, v. 55, p. 1262-1268, 1965.

- CHILDS, J. F. L.; SIEGLER, E. A. Controlling orange decay: Thiourea, thiocetamide, 2-aminothiazole, and quinozol in aqueous solution. **Ind. Eng. Chem.**, v. 38, p. 82, 1946. Apud. DEZMAN, D. J.; NAGY, S.; BROWN, E. Postharvest fungal decay control chemicals: treatments and residues in citrus fruits. **Residue Reviews**, v. 97, p. 37-92, 1986.
- CHITZANIDIS, A.; LASCARIS, D. Research on phytophthora rots of oranges in Greece. **Proceedings International Society Citriculture**, v. 2, p. 796-799, 1981.
- COHEN, E.; SHALOM, Y.; AXELROD, Y.; ADATO, I; ROSENBERGER, I. Control and prevention of contact infection of brown rot disease with fosetyl-aluminium, and residues levels in post-harvest-treated citrus fruits. **Pesticide Science**, v. 20, p. 83-87, 1986.
- COLL, J.; LEAL, J. A. Effect of three synthetic fungicides on the green and blue putrefaction moulds of oranges. **Anales de Bromatologia**, v. 22, n. 3, p. 299-322, 1970.
- COUSINS, H. H. Jamaica Dept. Agri. Ann. Rept., v. 7, p. 15, 1910. Apud. TEIXEIRA, A. R.; TORRES, M. A.; CARMONA, M. A.; BARREIRO, M. G.; SILVA, M. J.; CABRAL, M. L. **Frutos**. Conservação pelo frio com especial referência ao caso da pera "Rocha", p. 63-68, 1985.
- CRIVELLI, G. Ricerche sulla utilizzazione e commercializzazione degli agrumi. Nota V: Prove sul potere fungistatico del 2-(4' triazolil) benzimidazolo sui *Penicillium* delle arance. **Freddo**, v. 20, n° 3, p. 25-29, 1966.
- CUCKLER, A. C. Thiabendazole, a new broad spectrum anthelmintic. **Journal of the Parasitology**, v.47, Suppl., p. 36-37, 1961.

- CUILLE, J.; BUR-REVAULT, L. Treatment of oranges against *Penicillium* species with thiabendazole based formulations. **Fruits**, v. 24, n. 9/10, p. 421-424, 465-468, 1969.
- CUÑAT, P.; CASAS, A. Frutos, productos horticolas y derivados Tratamientos fungicidas para evitar las alteraciones posteriores a la recoleccion de los frutos cítricos. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 423-434, 1979.
- DALAL, V. B.; EIPESON, W. E.; SINGH, N. S. Wax emulsion for fresh fruits and vegetables to extend their storage life. **Indian Food Packer**, v. 25, n. 5, p. 9-15, 1971.
- DAVÉ, B. A.; KAPLAN, H. J.; PETRI, J. F. The isolation of *Penicillium digitatum* Sacc. strains tolerant to 2-AB, SOPP, TBZ and benomyl. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 93, p. 344-347, 1980.
- DENNISON, R. A. ; AHMED, E. M. Review of the status of irradiation effects on citrus fruits. In Food Irradiation, 619-634 **International Atomic Energy Agency**, Vienna, p. 956, 1966.
- DHARKAR, S. D. Sensization of microorganisms to radiation by previous ultrasonic treatment. **Journal of the Food Science**, v. 29, p. 641-643, 1964.
- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R.; HERNANDEZ-GIMENEZ, E. Synergistic effect of fungicides on resistant strains of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 79-85, 1988.
- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R. Imazalil resistant *Penicillium* isolates from Spanish citrus packinghouses. **Microbiologie Aliments Nutrition**, v. 7, n. 2, p. 191-192, 1989.

- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R. Study of fungal flora in cold stores for citrus fruits. **Alimentaria**, v. 183, p. 77-79, 81-82, 1987.
- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R.; BRIONES-PEREZ, A. I. Ineffectiveness in vitro of commercial fungicide for control of *Fusarium* sp. isolated from Spanish citrus fruit warehouses. **Alimentaria**, v. 199, p. 79-80, 1989.
- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R.; HERNANDEZ-GIMENEZ, E. Detection of *Penicillium italicum*, resistant to OPPS, benomyl, TBZ and CGA-64251, isolated from Spanish citrus fruit packing stations. **Alimentaria**, v. 184, p. 59-61, p. 63-70, 1987a.
- DIAZ-BORRAS, M. A.; VILA-AGUILAR, R.; HERNANDEZ-GIMENEZ, E. Resistance to SOPP, benomyl, TBZ and CGA-64251 in strains of *Penicillium digitatum* isolated from Spanish citrus packinghouses. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 439-445, 1987.
- DOIDGE, J. H. Some diseases of citrus prevalent in South Africa. **South African Journal Science**, v. 26, p. 320-325, 1929.
- DUGGAN, R. E.; BARRY, H. C.; JOHNSON, L. Y.; WILLIAMS, S. (Ed.) **Pesticide Analytical Manual**. V. II, Thiabendazole, 1969.
- ECKERT, J. W. Case study 5: *Penicillium* decay of citrus fruits. In **Fungicide Resistance in Crop Protection**, ed. J. Dekker, S. G. Georgopoulos, pp. 231-50. Wageningen, Netherlands: Ctr. Agric. Publ. Doc. 265 pp., 1982.
- ECKERT, J. W. In: **Post-harvest Physiology and Crop Preservation**, M. Lieberman (Ed.) Plenum Press, New York. p. 265-285, 1983.
- ECKERT, J. W. Postharvest disease control: experience with citrus fruit. **Tree Fruit Postharvest Journal**, v. 6, p. 9-12, 1995.

- ECKERT, J. W.; KOLBEZEN, M. J. Influence of formulation and application method on the effectiveness of benzimidazole fungicides for controlling postharvest diseases of citrus fruits. **Netherlands Journal Plant Pathology**, (In Press). v. 83 (supl. 1), p. 343-352, 1977.
- ECKERT, J. W.; KOLBEZEN, M. J. Sym-dibromotetrachloroethane – a new fungistat for control of fruit decay. **Phitopathology**, v. 53, p. 755-761, 1963.
- ECKERT, J. W.; KOLBEZEN, M. J.; WHIPPLE, F. O.; LOEHR, B. F.; FUCHS, R. J. Control of citrus fruit decay with dichloroisocyanuric acid. **Phitopathology**, v. 50, p. 83-84, 1960.
- ECKERT, J. W.; OGAWA, J. M. In: **Fungicides**, D. C. Torgeson (Ed.), Academic Press, New York. V. I, p. 287-378, 1967.
- ECKERT, J. W.; OGAWA, J. M. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. **Annual Review Phytopathology**, v. 23, p. 421-454, 1985.
- ECKERT, J. W.; SIEVERT, J. R.; RATNAYAKE, M. Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouses by resistance biotypes of *Penicillium digitatum*. **Plant Disease**, v. 78, n.10, p. 971-974, 1994.
- ECKERT, J. W.; SOMMER, N. F. Control of diseases of fruits and vegetables by postharvest treatment. **Annual Review of Phytopathology**, v. 5, p. 391-432, 1967.
- ECKERT, J. W.; WILD, B. L. Problems of fungicide resistance in *Penicillium* rot of citrus fruits. In **Pest Resistance to Pesticides**, ed, G. P. Georgiou, T. Saito, pp. 525-56. New York/London: Plenum. 1983. 809 p.

- EL-GOORANI, M. A.; EL-KASHEIR, H. M.; KABEEL, M. T.; SHOEIB, A. Resistance to benzimidazole fungicides of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum* isolated from packinghouses and orchards in Egypt. **Plant Disease**, v. 68, p. 100-102, 1983.
- EL-REFAI, A. M.; MAHMOUD, M. B. Comparison of thiabendazole formulations and application methods for control of green mould of oranges. **Fruits**, v. 37, n. 1, p. 27-31, 1982.
- EL-REFAI, A. M.; MAHMOUD, M. B.; ROFAEL, N. HANA, A. Relationship between mode of application of thiabendazole and its effectiveness for inhibiting green mold sporulation on oranges. **Fruits**, v. 37, n. 11, p. 723-726, 1982.
- EL-TOBSHY, Z. M.; ABDEL, L. M. F.; MAHMOUD, M. B. Thiabendazole residues on navel orange fruit and its effect on green mold sporulation. **Agricultural Research Review**, v. 60, n. 2, p. 225-231, 1984.
- EL-TOBSHY Z. M.; ABDEL, L. M. F.; MAHMOUD M. B. Influence of chemical application time on green mold control of navel orange. **Agricultural Research Review**, v. 60, n. 2, p. 233-243, 1984a.
- EL-ZEFTAWI, B. M. De-greening of valencia oranges. **Food Technology in Australia**. September, p. 449-451, 1973.
- FEICHTENBERGER, E.; MÜLLER, G. W.; GUIRADO, N. Doenças dos citros (Citrus sp.) In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; RESENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia. Doenças de plantas cultivadas, 3ª Ed., São Paulo: **Agronômica Ceres**, v. 2, p. 261-296, 1997.
- FAO. Pesticides Residues in Food 1977. FAO Plant Production and Protection Paper 10. FAO, Geneva, Switzerland, 1977. 10-42.

- FAO/WHO. 1970. **Evaluations of some pesticide residues in food.** FAO/AGP/1970/M/12/1(1971): WHO/Food Add./71.42(1971).
- FAO/WHO. **CODEX ALIMENTARIUS.** 2ª Ed., Rome. V. 2B, p. 98, p.160, 1998.
- FELD, S. J.; MENGE, J. A.; PEHRSON, J. E. Brown rot of citrus: A review of the disease. **California Citrography**, v. 64, p. 101-106, 1979.
- FRIAR, P. M. K.; REYNOLDS, S. L. The effect of home processing on postharvest fungicide residues in citrus fruit: residues of imazalil, 2-phenylphenol and thiabendazole in 'home-made' marmalade, prepared from Late Valencia oranges. **Food Additives and Contaminants**, v. 11, n. 1, p. 57-70, 1994.
- FUCHS, Y.; ZAUBERMAN, G.; YANKO, U.; HOMSKY, S. Ripening of mango fruits with ethylene. **Tropical Science**, v. 17, n. 4, p. 211-216, 1975.
- FULTON, H. R.; BOWMAN, J. J. Preliminary results with the borax treatment of citrus fruits for the prevention of blue mold rot. **Journal and Agricultural and Research**, v. 28, p. 961-968, 1924.
- FULTON, H. R.; STEV, H. E.; WOOTTEN, J. F. Injuries and rots that may fallow the use of gases in the coloring of Florida citrus fruits. **Florida State Horticultural Society Proceeding**, v. 42, p. 184-191, 1929.
- FUNGI AGRUM.**, 2: 6, 1882. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos.** Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia. p. 206, 1987.
- GANE, R. Nature, Lond., v. 134, p.1008, 1934. Apud. TEIXEIRA, A. R.; TORRES, M. A.; CARMONA, M. A.; BARREIRO, M. G.; SILVA, M. J.; CABRAL, M. L. **Frutos.** Conservação pelo frio com especial referência ao caso da pera "Rocha". 63-68, 1985.

- GAUMANN, E. Principles of plant infection. Ed. Crosby Lockwood & Son Ltd. London, 1950. 543p.
- GILVYDIS, D. M.; WALTERS, S. M. Ion-Pairing Liquid Chromatography Determination of Benzimidazole Fungicides in Foods. **Journal Association of Analytical Chemistry**, v. 73, n. 5, p. 753-761, 1990.
- GREENBERG, R.; RESNICK, C. A gas-liquid chromatographic method for determining imazalil residues in citrus fruit. **Pesticide Science**, v. 8, n. 1, p. 59-64, 1977.
- GREND, V. J. **Journal Org. Chem.** V. 30, p. 259, 1965. Apud. WORTHING, C. R. **The pesticide manual**. Ed. The British Crop Protection Council. 6th. 655 p., 1979.
- GUTTER, Y. Comparative effectiveness of benomyl, thiabendazole, and other antifungal compounds for postharvest control of *Penicillium* decay in Shamouti and Valencia oranges. **Plant Disease Reporter**, v. 53, n. 6, June, p. 474-478, 1969.
- GUTTER, Y. Comparative effectiveness of Sonax, thiabendazole and sodium orthophenylphenate in controlling green mould of citrus fruits. **Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v. 89, n. 6, p. 332-336, 1982.
- GUTTER, Y. Effectiveness of thiabendazole and benomyl in controlling green mold of Shamouti and Valencia oranges. **Israel Journal Agricultural Research**, v. 20, n. 2, p. 91-95, 1970.
- GUTTER, Y. Effect of incorporating fungicides in Tag wax their effectiveness in controlling green mould in oranges. **Israel Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 3, p. 135-37, 1970a.

- GUTTER, Y. Investigations on new postharvest fungicides. **Israel Proceeding International Society Citriculture**, v. 2, p. 810-811, 1981.
- GUTTER, Y. Problems of decay in marketing citrus fruit: Strategy and solutions around the world. **Israel Proceeding International Society Citriculture**, v. 1, p. 242-244, 1977.
- GUTTER, Y.; YANKO, U.; DAVIDSON, M.; RAHAT, M. Relationship between mode of application of thiabendazole and its effectiveness for control of green mold and inhibiting fungus sporulation on oranges. **Phytopathology**, v. 64, p. 1477-1478, 1974.
- HALE, P. W.; MILLER, W. R.; SMOOT, J. J. Evaluation of a heat-shrinkable copolymer film coated with imazalil for decay control of Florida grapefruit. **Tropical Science**, v.26, n. 2, p. 67-71, 1986.
- HARDING, P. R. J. Wax emulsion additives for control of storage decay in lemons. **Plant Disease Report**, v. 51, p. 781-784, 1967.
- HARDING, P. R. J. Comparison of fungicide 1991, thiabendazole, and sodium orthophenylphenate for control of *Penicillium* molds of postharvest citrus fruits. **Plant Disease Reporter**, v. 52, n. 8, p. 623-625, 1968.
- HARDING, P. R. J. Differential sensitivity of thiabendazole by strains of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **Plant Disease Reporter**, v. 56, n. 3, p. 256-260, 1972.
- HARDING, P. R. J. R23979, a new imidazole derivative effective against post harvest decay of citrus by molds resistant to thiabendazole, benomyl, and 2-aminobutane. **Plant Disease Reporter**, v. 60, n. 8, p. 643-646, 1976.

- HARDING, P. R. J.; SAVAGE, D. C. Investigation of possible correlation of hot-water washing with excessive storage decay in coastal California packing house. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 808-810, 1964.
- HAYWARD, F. W.; GRIERSON, W.; McCORNACK, A. A. A colorimetric method for 2-aminobutane and applications. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 80, p. 305-308, 1967.
- HAYWARD, F. W.; McCORNACK, A. A. A colorimetric method for the determination of residues of thiabendazole in citrus fruits. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, p. 272-274, 1971.
- HIEMSTRA, M.; JOOSTEN, J. A.; KOK, A. Fully Automated Solid-Phase Extraction Cleanup and On-Line. Liquid Chromatographic Determination of Benzimidazole. Fungicides in Fruit and Vegetables. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 78, n. 5, p. 1267-1274, 1995.
- HOLMES, G. H.; ECKERT, J. W. Reduced sensitivity of *Penicillium digitatum* to imazalil, thiabendazole and 0-phenylphenol. **Phytopathology**, v. 82, p.1069 (Abstract), 1992.
- HOPKINS, E. J.; LOUCKS, K. W. A curing procedure for the reduction of mould decay in citrus fruits. **Fla. Agric. Exp. Stn. Bull.**, v. 450, p. 26, 1948.
- HOUCK, L. G. Hot water treatments for control of *Penicillium digitatum* green mold of Eureka lemons. **Phytopathology**, v. 57, p. 99, (Abstract), 1967
- HOUCK, L. G. Problems of resistance to citrus fungicides. **Proceedings International Society Citriculture**, v. 1, p. 263-269, 1977.

- IBE, A.; NISHIJIMA, M.; KANMURI, M.; YASUDA, K.; SAITO, K.; NAKAZAWA, K.; KAMIMURA, H.; NAKAZATO, M.; KIKUCHI, Y.; FUJINUMA, K.; NAGAYAMA, T.; USHIYAMA, H.; NAOI, Y. Studies on fungicides in citrus fruits. II. Permeability and removal of diphenyl, o-phenylphenol and thiabendazole. **Annual Report of Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health**, v. 33, p. 198-202, 1982.
- ISSHAK, Y. M.; RIZK, S. S.; KHALIL, R. I.; FAHMI, B. A.; SALAMA, S. B. A comparative study on several fungicides for citrus fruits. **Agricultural Research Review**, v. 51, n. 5, p. 31-36, 1973.
- ISSHAK, Y. M.; RIZK, S. S.; KHALIL, R. I.; FAHMI, B. A. Long term storage of Valencia orange treated by thiabendazole. **Agricultural Research Review**, v. 52, n. 3, p. 85-98, 1974.
- ISSHIKI, K.; TSUMURA, S.; WATANABE, T. Determination of diphenyl, o-phenylphenol and thiabendazole in citrus fruits. **Nippon Nôgeikagaku Kaishi**, v. 54, n. 12, p. 1045-1050, 1980a.
- ISSHIKI, K.; TSUMURA, S.; WATANABE, T. Determination of thiabendazole in bananas and citrus fruits. **Nippon Nôgeikagaku Kaishi**, v. 55, n. 8, p. 695-698, 1981.
- ISSHIKI, K.; TSUMURA, S.; WATANABE, T. Fungicides in citrus fruits. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 2149-2151, 1982.
- ISSHIKI, K.; TSUMURA, S.; WATANABE, T. High performance liquid chromatography of thiabendazole residues in banana and citrus fruits. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, v. 63, p. 747-749, 1980.

- ISSHIKI, K.; TSUMURA, S.; WATANABE, T. Post-harvest fungicides in edible parts of citrus fruits. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 993-999, 1982a.
- ISWARIAH, V.; RAO, N. M. S. Thiabendazole, a new broad spectrum anthelmic, clinical trials. **Journal Ass. Physicians India**, v. 12, p. 305-308, 1964.
- ITO, Y.; TONOGAI, Y.; TOYODA, M.; SUZUKI, H.; OGAWA, S.; IWAIDA, M. Contents of diphenyl (DP), o-phenylphenol (OPP) and thiabendazole (TB) in imported citrus fruits and citrus fruit products. **Bulletin of the National Institute of Hygienic Sciences**, v. 96, p. 133-137, 1976.
- IWAIDA, M.; KANEDA, Y.; ITO Y.; TOYADA, M.; SUZUKI, H.; WATANABE, T.; MATSUMOTO, Y.; TONOGAI, Y.; NAKAMURA, K. Results of the chemical inspections of imported foods from April 1976 to March 1977. **Bulletin of the National Institute of Hygienic Sciences [Eisei Shikenjo Hokoku]**, v. 95, p. 115-121, 1977.
- JIMENEZ-CUESTA, M.; DIAZ, M. DE LOS, A.; VILA, R.; HERNANDEZ, E. Loss of resistance to fungicides in *Penicillium* sp. strains isolated from citrus fruit stores. **Microbiologie Aliments Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 173-180, 1985.
- JIMENEZ-CUESTA, M.; MARTINEZ-JAVEGA, J. M.; CUQUERELLA, J. Plastic individual seal-packaging of Spanish citrus fruit. (In 'Refrigeration in the service of man. **XVth International Congress of Refrigeration**. Paris. V. 3'G[see FSTA (1986) 18 G4E11]. p. 251-257, 1983.
- KAPLAN, H. J.; DAVE, B. A. The current status of imazalil: a postharvest fungicide for citrus. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 92, p. 37-43, 1979.

- KATCHANSKY, M. Fumigation of produce storage rooms with thiabendazole thermal dusting tablets for control of pathogenic fungi. **Proceedings 2nd International Citrus Congress**, v. 3, p. 343-346, 1973.
- KIDD, F.; WEST, C. The course of respiratory activity through-out the life of an apple. **Gt. Brit. Food Invest. Board**, p. 27-30, 1924.
- KIDD, F.; WEST, C. Rep. Dep. Scient. Ind. Res., Fd Invest. Bd, Lond. p. 36, 1933. Apud. REID, M. S.; RHODRS, M. J. C.; HULME, A. C. Changes in ethylene and CO₂ during the ripening of apples. **Journal Science Food Agricultural**, v. 24, p. 971-979, 1973.
- KIDD, H.; JAMES, D.R. The Agrochemicals Handbook, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, 1991.
- KITADA, Y.; SASAKI, M.; TANIGAWA, K. Simultaneous Liquid Chromatography Determination of Thiabendazole, o-Phenylphenol, and Diphenyl Residues in Citrus Fruits, Without Prior Cleanup. **Journal Association of Analytical Chemistry**, v. 65, n. 6, p.1302-1304, 1982.
- KITAGAWA, H.; KAWADA, K. **Proceedings International Society Citriculture**, v. 1, p. 500-503, 1984. Apud. PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Postharvest applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. **Journal Association of Official Analytical Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 745-765, 1991.
- KITAGAWA, H.; KAWADA, K.; TARUTANI, T. Effectiveness of ethylene degreening of certain citrus cultivars. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 103, n. 1, p. 113-115, 1978.
- KITAGAWA, H.; TANI, T. Effect of potassium sorbate and thiabendazole mixture on the control of green and blue molds of citrus fruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 52, n. 4, p. 464-468, 1984.

- KLOTZ, L. J. Control of decay of citrus fruits in cartons. **Citrus Leaves**, v. 37, p. 6-7, 1957.
- KLOTZ, L. J.; HARDING, P. R. Control of post harvest decay of citrus fruits. **California Citograph**, v. 55, n. 7, p. 259 & 261-262, 1970.
- KOENIGER, M.; WALLNOEFER, P. R. Transfer of thiabendazole residues from the peel of citrus fruit to the hands and the fruit flesh. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, v. 86, n. 8, p. 251-253, 1990.
- KROELLER, E. [Investigations into determination of thiabendazole residues in the peel of sweet oranges.] Untersuchungen zur Restmengenbestimmung von Thiabendazol auf den Schalen von Apfelsinen. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, v. 67, n.7, p. 229-231, 1971.
- KURAMOTO, K. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in strains of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* in Japan. **Plant Disease Reporter**, v. 61, n. 9, p. 788-791, 1976.
- LAFUENTE, M. T.; TADEO, J. L. Residues analysis of postharvest imidazole fungicides in citrus fruit by HPLC and GLC. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, n. ½, p. 99-108, 1985.
- LAFUENTE, M. T.; TADEO, J. L. GLC multiresidue analysis of postharvest fungicides in citrus fruit. **Zeitschrift fuer Analytische-Chemie**, v. 328, n. ½, p. 105-107, 1987.
- LAFUENTE, M. T.; TADEO, J. L.; TUSET, J. J. GLC analysis of thiabendazole residues in citrus fruit. **Journal of Chromatographic Science**, v. 25, n.2 , p. 84-87, 1987.

- LAFUENTE, M. T.; TUSET, J. J.; PIQUER, J.; ESTELLES, A.; TADEO, J. L.
Determination of imazalil fungicide residues in citrus fruits. Penetration and persistence. **Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Agrícola**. N. 26, p. 83-91, 1984.
- LAVILLE, E. Evolution des pourritures d'entroposage des agrumes avec l'utilisation de nouveaux fungicides de traitement après récolte. **Fruits**, v. 26, n. 4, p. 301-304, 1971
- LAVILLE, E. Étude des activités du R. 23979 et de ses sels sur les pourritures à *Penicillium* (*Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*) des oranges. **Fruits**, v. 28, n. 7-8, p. 545-547, 1973.
- LAVILLE, E. Postharvest fungicide treatment of citrus fruits. Effect of imazalil. **Fruits**, v. 33, n. 2, p. 101-105, 1978.
- LAVILLE, E. Y.; HARDING, P. R.; DAGAN, Y.; RAHAT, M.; KRAGHT, A. J.; RIPPON, L. E. Studies on imazalil as potential treatment for control of citrus fruit decay. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, p. 269-273, 1977.
- LAVILLE, E. Y.; HARDING, P. R.; DAGAN, Y.; RAHAT, M.; RIPPON, L. E. Synthèse des essais entrepris avec l'imazalil sur les pourritures des agrumes après récolte. **Fruits**, v. 33, n. 4, p. 257-267, 1978.
- LEIPER, J. W. G.; CROWLEY, J. Thiabendazole tested against the gastrointestinal nematods of British farm animals (excluding sheep). **Journal Helminth**, v. 37, p. 47-56, 1963.
- LEONIAN, L. H. **Amer. J. Bot.**, V. 12, p. 444, 1925. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia, p. 206, 1987.

- LIEBERMAN, M. In: **Post-harvest Physiology and Crop Preservation**, M. Lieberman (Ed.) Plenum Press, New York. 1983, 553p.
- LINK, J. H. F. **Magaz. Naturf. Fr. Berlin**, v. III, p. 17, 1809. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia, 1987. 206 p.
- LOUCKS, K. W.; HOPKINS, E. F. A study of the occurrence of Phomopsi and the Diplodia rots in Florida oranges under various conditions and treatments. **Phytopathology**, v. 36, p. 750-757, 1946.
- MAEDA, M.; TSUJI, A. Determination of benomyl and 2-(4-thiazolyl) benzimidazole in plant tissues by high-performance liquid chromatography using fluorimetric detection. **Journal of Chromatography**, v. 120, n 2, p. 449-455, 1976.
- MATSUMOTO, H.; MURAKAMI, Y.; KUWABARA, K.; NISHIMUNE, T.; SUEKI, K. Total diet study of intake of fungicide imazalil in Osaka, Japan. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 42, n. 1/2, p. 99-106, 1994.
- MATTOO, A. K.; MODI, V. V. Ethylene and ripening of mangoes. **Plant Physiology**, v. 44, p. 398-310, 1969.
- McCORNACK, A. A. Effect of ethylene degreening on decay of Florida citrus fruit. **Florida State Horticultural Society**, p. 270-272, 1971
- McCORNACK, A. A.; BROWN, G. E. Benlate, an experimental postharvest citrus fungicide. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 82, p. 235-238, 1969.
- McCORNACK, A. A.; BROWN, G. E. Decay control of Florida citrus fruit with imazalil. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 90, p. 141-144, 1977.

- McCORNACK, A. A.; BROWN, G. E.; SMOOT, J. J. R23979, an experimental postharvest citrus fungicide with activity against benzimidazole-resistant *Penicilliums*. **Plant Disease Reporter**, v. 61, p. 788-791, 1977.
- McDONALD, R. E.; RISSE, L. A.; HILLEBRAND, B. M. Resistance to thiabendazole and benomyl of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* isolated from citrus fruit from various countries. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 104, n. 3, p. 333-335, 1979.
- MESTRES, R.; CAMPO, M.; TOURTE, J. **Journal Travaux Society Pharmacie. Montpellier**, v. 30, p. 193-202, 1970.
- MILLER, W. R.; McDONALD, R. E. Condition of waxed or film-wrapped Minneola tangelos after storage. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 102, p. 190-192, 1989.
- MILLER, W.; HATTON, T.; HALE, P.; RASMUSSEN, G.; HOOGENDOORN, H. Overseas tests of wrapped grapefruit in nonrefrigerated van containers. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 99, p. 114-117, 1986.
- MINELLI, E. V.; ANGIONI, A.; CABRAS, P.; GARAU, M. M.; PIRISI, F. M.; CABITZA, F.; CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal of Food Science**, v. 1, p. 57-62, 1996.
- MOTOHASHI, N.; NAGASHIMA, H.; MEYER, R. High-performance liquid chromatography of fungicides in citrus fruits. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 14, n. 19, p. 3591-3602, 1991.
- MOTOHASHI, N.; NAGASHIMA, H.; MEYER, R. Simultaneous determination of fungicide residue in citrus. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 13, n.2, p. 345-355, 1990.

- NAGAYAMA, T.; KOBAYASHI, M.; SHODA, H.; ITO, M.; TAMURA, Y. Relationship between pesticide residues in fruit peel and flesh. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, v. 36, n. 3, p. 383-392, 1995.
- NAGY, S.; WARDOWSKI, W. F. International citrus postharvest fungicide tolerances. Florida Cooperative Extension Service, Univ. of FL, **Institute Food Agricultur. Science**. Packinghouse Newsletter, v. 119, 1981. Apud. DEZMAN, D. J.; NAGY, S.; BROWN, G. E. Postharvest fungal decay control chemicals: treatments and residues in citrus fruits. **Residue Reviews**, v. 97, p. 37-92, 1986.
- NAVICKIENE, S.; RIBEIRO, M. L. Rapid method for the Determination of Thiabendazole and Imazalil. Residues in Oranges by Capillary Column Gas Chromatography. **Journal High Resolution Chromatography**, v. 22, n. 5, p. 303-304, 1999.
- NORMAN, S. M.; FOUSE, D. C. High pressure liquid chromatographic determination of imazalil residues in citrus fruit. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 61, n. 6, p. 1469-1474, 1978.
- NORMAN, S. M.; FOUSE, D. C.; CRAFT, C. C. Thiabendazole residues on and in citrus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 1227-1230, 1972.
- NORMAN, S. M.; FOUSE, D. C.; CRAFT, C. C. Thin layer chromatographic separation and spectrophotofluorometric determination of thiabendazole residues on and in citrus. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 55, p.1239-1244, 1972a.
- NOSE, N.; KOBAYASKI, S.; TANAKA, A.; HIROSE, A.; WATANABE, A. Determination of thyabendazole by electron-capture gas-Liquid chromatography after reaction with pentafluorobenzol chloride. **Journal of Chromatography**, v. 130, p. 410-413, 1977.

- OHLIN, B.; FLYGH, E. Residues of pesticides in fruits and vegetables determined by high performance liquid chromatography. **Var Foda, Supplement**, v. 38 (suppl. 1), p. 56-63, 1986.
- OISHI, M.; ONISHI, K.; KANO, I.; NAKAZAWA, H.; TANABE, S. Capillary Gas Chromatographic Determination of Thiabendazole in Citrus and Apple Juices. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v. 77, n. 5, p. 1293-1296, 1994.
- OXENHAM, B. L.; STONE, Y. L. Citrus brown rot in Queensland. **Queensland Journal Agric. Anim. Sci.**, v. 26, p. 173-180, 1969.
- PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Postharvest applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. **Journal Association of Official Analitical Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 745-765, 1991.
- PELSER, P. du T. Influence of application method on the efficacy of benomyl and thiabendazole in controlling post-harvest rots of citrus fruit. **The Citrus and Sub Tropical Fruit Journal**, v. 474, p. 12, 13, 16, 1973.
- PELSER, P. du T. Influence of Thiabendazole and Benomyl on *Alternaria* rot in stored grapefruit. **The Citrus and Sub Tropical Fruit Journal**, v. 6, p. 15-17, 1974.
- PELSER, P. du T. Decay control in Washington navel and Valencia oranges by application of TBZ or benomyl suspended in water or incorporated into waxes. **Citrus and Sub Tropical Fruit Journal**, v. 463, p. 12-13, 1972.
- PELSER, P. du T. Post-harvest decay in citrus fruit. New fungicides show promise of control. **Citrus and Sub Tropical Fruit Journal**, v. 474, p. 7-8, 1973a.
- PAM.** Pesticide Analytical Manual, V. II, Food and Drug Administration, Washington, D. C., pp. 120 a 242, 1969.

- PHYTOPATHOLOGY, 2: 109-113, 1912. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia, p. 206, 1987
- PIERCE, N. B. **Bot. Gaz.** V. 33, p. 234, 1902. Apud. TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia, p. 206, 1987.
- PRATELLA, G. C.; BIONDI, G.; BRIGATI, S. New prospects in fight against citrus *Penicillium*. **Frutticoltura**, v. 42, n. 6, p. 55-57, 1980.
- PRATT, H. K.; GOESCHL, J. D. Physiological roles of ethylene in plants. **Annual Ver. Plant Physiology**, v. 20, p. 541-584, 1969.
- RAJZMAN, A. Determination of Thiabendazole in citrus fruits by ultraviolet spectrophotometry. **Analyst**, v. 99, p.120-127, 1974.
- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Journal of Food Science and Technology**, India, v. 21, n. 1, p. 25-28, 1984.
- REID, M. S.; RHODRS, M. J. C.; HULME, A. C. Changes in ethylene and CO₂ during the ripening of apples. **Journal Science Food Agricultural**, v. 24, p. 971-979, 1973.
- REIG, F. A.; ALBERT, B. A.; MARTINEZ, J. J. M. Comparison of the fungicidal effect of thiabendazole solution and suspension at various concentrations with 2 concentrations of ortho-phenyl phenol. **Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Tecnologia Agraria**, v. 5, p. 169-183, 1979.
- REINECKE, R. K.; ROSSITER, L. W. Anthelmintic trials with thiabendazole. **Journal S. Afr. Vet. Med. Ass.**, v. 33, p.193-199, 1962.

- RIPPON, L. E.; WILD, B. L. Comparison of four systemic fungicides for post-harvest treatment of citrus. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, v. 13, n. 65, p. 724-726, 1973.
- RIPPON, L. E.; WILD, B. L. The bulk dipping of citrus fruit. **Australian Citrus News**, v. 50 (April), p. 8-9, 1974
- RISK, S. S.; ISSHAK, Y. M. Thiabendazole as a postharvest disinfectant for citrus fruits. **Agricultural Research Review**, v. 52, n. 3, p. 39-46, 1974.
- ROBERTS, S. J.; BENTINCK-SMITH, J. Therapeutic results of the use of thiabendazole against strongyles in horses. **Cornell Vet.**, v. 54, p. 291-292, 1964.
- ROBINSON, H. J.; STOERCK, H. C.; GRAESSLE, O. E. Studies on toxicologic and pharmacologic properties of thiabendazole. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 7, p. 53-63, 1965.
- ROISTACHER, C. N.; EAKS, I. L.; KLOTZ, L. J. Ammonia gas to control blue-green mold decay of citrus fruit. **Plant Disease Reporter**, v. 39, p. 202-205, 1955.
- ROSENBLUM, C.; MERIWETHER, H. T. Determination by the radioactive indicator method of the retention and stability of thiabendazole in treated Valencia oranges. **Journal of Radioanalytical Chemistry**, v. 6, n. 2, p. 379-384, 1970.
- SACCARDO, P. A. **Mycotheca Italiana**, n. 986, 1881. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia, p. 206, 1987.

- SANTANA, M. C.; LOS ANGELES TORRES, M. DE. [Effect of a pre-degreening treatment on the decay of citrus fruits after cold storage.] In: Refrigeration in the service of man. **XVIth International Congress of Refrigeration. Paris**, v. 3, p. 783-790, 1983.
- SAVASTANO, G.; FAWCETT, H. S. A study of decay in citrus fruits produced by inoculations with know mixtures of fungi at different constant temperatures. **Journal of Agricultural Research**, v. 39, p. 163-198, 1929.
- SCHACHNAI, A.; BARASH, I. Evaluation of the fungicides CGA64251, guazatine, sodium o-phenylphenate, and imazalil for control of sour rot on lemon fruits. **Plant Disease**, v. 66, p. 733-735, 1982.
- SCHIFFMANN-NADEL, M.; WAKS, J.; GUTTER, Y.; CHALUTZ, E. Alternaria rot of citrus fruit. **Proceedings International Society Citriculture**, v. 2, p. 791-793, 1981.
- SCHIRRA, M.; ANGIONI, A.; RUGGIU, R.; MINELI, E. V.; CABRAS, P. Thiabendazole uptake and persistence in lemons following postharvest dips at 50°C. Ital. **Journal Food Science**, v. 10, n. 2, p. 165-170, 1998.
- SCHIRRA, M.; ATZENI, A.; GUIISO, G. **Proc. Nat. Congr. Il Recente Contributo Della Ricerca Allo Sviluppo Dell'Agrumicoltura Italiana**, p. 435-438, 1986.
- SCHIRRA, M.; CABRAS, P.; ANGIONI, A.; MELIS, M. Residue level of imazalil fungicide in lemons following prestorage dip treatment at 20 and 50 degree. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 2865-2869, 1996.
- SEBERRY, J. A.; BALDWIN, R. A. Thiabendazole and 2-Aminobutane as post-harvest for citrus. **Australian Journal Experimental Agriculture Animal Husbandry**, v. 8, p. 440-443, 1968.

- SFAKIOTAKIS, E. M.; DILLEY, D. R. Internal ethylene concentrations in apple fruits attached to or detached from the tree. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 98, n. 5, p. 501-503, 1973.
- SILVA, Hda; PEPIN, G.; BOUDENE, C. Results of a study on residues of benomyl and thiabendazole in fruit and vegetables sold in the Paris region. **Medecine et Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 181-187, 1976.
- SMILANICK, J. L.; MARGOSAN, D. A.; HENSON, D. J. Evaluation of heated solutions of sulfur dioxide, ethanol, and hydrogen peroxide to control postharvest green mold of lemons. **Plant disease**, v. 79, p. 742-747, 1995.
- SMOLA, U.; SONTAG, G. Polarographic determination of thiabendazole. **Mikrochimica Acta**, v. III (3/4), p. 239-251, 1985.
- SMOOT, J. J.; BROWN, G. E. Occurrence of benzimidazole resistant strains of *Penicillium digitatum* in Florida citrus packinghouses. **Plant Disease Reporter**, v. 58, n. 10, p. 933-934, 1974.
- SMOOT, J. J. Decay of Florida citrus fruits stored in controlled atmospheres and in air. **Proceedings First International Citrus Symposium**, v. 3, p. 1285-1293, 1969.
- SMOOT, J. J.; HALE, P. W. Evaluation of decay control treatments and shipping containers for export of grapefruit to Japan. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 90, p. 152-154, 1977.
- SMOOT, J. J.; McCORNACK, A. A. The use of potassium sorbate for citrus decay control. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 91, p. 119-122, 1978.

- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. A comparison of postharvest fungicides for decay control of Florida oranges. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 82, p. 243-246, 1969.
- SMOOT, J. J.; MELVIN C. F. Decay of degreened citrus fruit as affected by time of washing and T.B.Z. application. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 85, p. 235-238, 1973.
- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. Decay control of Florida citrus fruits with packinghouse applications of thiabendazole. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 83, p. 225-228, 1970.
- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. Decay control of Florida citrus fruits. **Citrus Industry**, v. 52, n. 1, p. 5-7, 1970a.
- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. Decay control of oranges with benomyl by three methods of postharvest application. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 87, p. 234-36, 1975.
- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. Decay of degreened citrus fruits. **Citrus Industry**, v. 53 [54], n. 1, p. 8-11, 1973a.
- SMOOT, J. J.; MELVIN, C. F. Hot water as a control for decay of oranges. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 76, p. 322-327, 1964.
- SPALDING, D. H.; REEDER, W. F. Effect of hot water and gamma radiation on postharvest decay of grapefruit. **Proceedings of the Florida States and Horticultural Society**, v. 98, p. 207-208, 1985.

- SPECHT, W.; TILLKES, M. Method for gas-chromatographic determination of crop protectant residues after cleanup by gel permeation chromatography and silica gel mini-column chromatography. II. Determination of the fungicides, bitertanol, fluotrimazol, fuberidazol, imazalil, rabendazole, triadimefon and triadimenol in plants and soil. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v. 33, n. 1, p. 61-85, 1980.
- STEIN, E. R.; CARTER, W. W.; MURRAY, A. T. A modification of imazalil residue analysis in treated grapefruit. **Journal of Environmental Science and Health, B**, v. 16, n. 4, p. 427-437, 1981.
- STEURBAUT, W.; DEJONCKHEERE, W.; KIPS, R. H. Residues of Benomyl, biphenyl, OPP and thiabendazole in citrus fruits, bananas and derived products. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, v. 39, n. 2, p. 1325-1336, 1974.
- STEVENS, C.; WILSON, C. L.; LU, J. Y.; KHAN, V. A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; KABWE, M. K.; HAUNG, Z.; ADEYENE, O.; PUSEY, L. P.; WISIEWSKI, M. E.; WEST, M. Plant hormones induced by ultraviolet light-c for controlling postharvest diseases of tree fruits. **Crop protection**, v. 15, n.2, p. 129-134, 1996.
- STEWART, W. S. Effects of 2,4 – dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5 – trichlorophenoxyacetic acid on citrus fruit storage. **Proceedings American Society Horticultural Science**, v. 54, p. 109-117, 1949.
- SUBRAMANIAN, T. M.; SADASIVAM, R.; RAMAN, N. V. Screening of some fungicides for the control of storage decay in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco). **Indian Journal of Agricultural Science**, v. 43, n. 3, 284-287, 1973.
- SZALKOWSKI, C. R. Thiabendazole in feeds . **Journal of the Association of the Analytical Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 312-317, 1966.

- SZALKOWSKI, C. R.; KANORA, J. Spectrophotometric determination of thiabendazole in feeds. **Journal of the Association of the Analytical Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 288-295, 1965.
- TANAKA, A.; FUJIMOTO, Y. Gas Chromatographic Determination of Thiabendazole in Fruits as its Methyl Derivative. **Journal of Chromatography**, v.117, p. 149-160, 1976.
- THOMAS, P.; JANAVE, M.T. Effect of temperature on chlorophyllase activity, chlorophyll degradation and carotenoids of Cavendish bananas during ripening. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 7, p. 57-63, 1992.
- TING, S. V.; ROUSEFF, R. L.; Citrus fruits and their products. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 1986. 293 p.
- TJAN, G. H.; JANSEN, J. T. A. Gas-liquid chromatographic determination of thiabendazole and methyl 2-benzimidazole carbamate in fruits and crops. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, v. 62, n. 4, p. 769-773, 1979.
- TOMKINS, R. G. Iodized wraps for the prevention of rotting of fruit. **Journal Pomol. Horticultural Science**, v. 12, p. 311-320, 1934.
- TOMKINS, R. G. Treated wraps for the prevention of rotting. **Rep. Food Invest. Board London**, p. 149-151, 1936.
- TOMKINS, R. G. Wraps for the prevention of rotting of fruit. **Rep. Food Invest. Board London**, p. 129-131, 1935.
- TONINI, G.; LANZA, G.; CIRNINO, A. The state of the fight against *Penicillium* on citrus fruits. **Frutticoltura**, v. 39, n. 12, p. 43-45, 1977.

- TONOGAI, Y.; TSUMURA, Y.; NAKAMURA, Y.; ITO, Y. Analytical results of post-harvest pesticide in citrus fruits and fruits juices by GC-MS (SIM) and HPLC with fluorescent detector. **Bulletin of the National Institute of Hygienic Sciences**, v. 110, n. 4, p. 135-140, 1992a.
- TRIGUI, A. Essais de traitement des moisissures des agrumes. **Bulletin de la Faculté d'Agronomie**. Tunis, V. 24/25, p. 5-16, 1969. In: HORTICULTURAL ABSTRACTS, V. 42, n. 2, p. 572, june 1972. (Abstracts 4874).
- TSUMURA-HASEGAWA, Y.; TONOGAI, Y.; NAKAMURA, Y.; ITO, Y. Residues of post-harvest application pesticides in citrus fruit after storage and processing into lemon marmalade. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, v. 33, n. 3, p. 258-266, 1992
- TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca. 1987. 206 p.
- TUSET, J. J.; CARRERES, R.; HINAREJOS, C. Control of post-harvest fungal decay in satsuma fruits. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, p. 320-322, 1977.
- VANDERWEYEN, A.; BESRI, M.; PINEAU, R. New treatment against green mould of Washington oranges. **Awamia**, v. 38, p. 45-56, 1971.
- VANDERWEYEN, A.; TROGOFF, H. DE. Activity of some materials against green rot of Washington oranges. **Awamia**, v. 33, p. 113-122, 1969a.
- VANDERWEYEN, A.; TROGOFF, H. DE. Protection of harvested oranges against *Penicillium digitatum* Sacc. **Awamia**, v. 32, p. 1-22, 1969.

- 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: GUNTHER, F. A. (Ed.) **Residue Reviews**: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York: Springer-Verlag, v. 66, p. 173-184, 1977.
- WEHMER, C. **Hedwigia**. V. 33, p. 211-214, 1894. Apud TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca, Valencia. 1987. p. 206.
- WESTOEAE, G.; ANDERSSON, A .; MATTSSON, S. Fungicides in citrus fruit, apple and pears, march 1972-january 1974. **Var Foeda**, v. 26, (Suppl. 1) p. 1-18, 1974.
- WHITESIDE, J. O. Factors contributing to the restricted occurrence of citrus brown rot in Florida. **Plant Disease Reporter**, v. 54, p. 608-612, 1970.
- WILLIEMS, M. R.; BROWN, M. A.; VESK, M.; BRADY, C. Effect of postharvest heat treatments on fruit quality, surface structure and fungal disease in Valencia oranges. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 34, n. 8, p. 1183-1190, 1994.
- WINSTON, J. R. Some factors influencing decay in Florida citrus fruits. **Florida State Horticultural Society Proceeding**, v. 46, p. 82-84, 1933
- WORTHING, C. R. **The pesticide manual**. Ed. The British Crop Protection Council. 6th. 1979. 655 p.
- WYNANTS, J. A specific HPLC method for residual imazalil and its main metabolite T 824. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, v. 47, n. 1, p. 347-359, 1982.

- WYNANTS, J. Chromatographic assay methods os imazalil in citrus fruit. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, p. 1107-1113, 1977.
- YAMADA, S. Evaluation of candidate pesticides (B- III) fungicides: Fruit trees. Jpn Pest. Inf. N. 28, p. 1976. Apud. DEZMAN, D. J.; NAGY, S.; BROWN, E. Postharvest fungal decay control chemicals: treatments and residues in citrus fruits. **Residue Reviews**, v. 97, p. 37-92, 1986.
- YAMADA, T.; AOKI, H.; AKAKI, M. Determination of residual thiabendazole in citrus fruits and bananas by high performance liquid chromatography. **Agricultural Biological Chemistry**, v. 48, p. 1883, 1984.
- YASUDA, K.; NISHIJIMA, M.; KANMURI, M.; SAITO, K.; NAKAZAWA, K.; KAMIMURA, H.; NAKAZATO, M.; KIKUCHI, Y.; IBE A.; FUJINUMA, K.; NAGAYAMA, T.; USHIYAMA, H.; NAOI, Y. Studies on fungicides in citrus fruits. I. Market investigation of citrus fruits. **Annual Report of Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health**, v. 33, p. 191-197, 1982.
- YOUNG, R.; JAHN, O. Ethylene-induced carotenoid accumulation in citrus fruits rinds. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 97, n. 2, p. 258-261, 1972.
- ZADROZINSKA, J.; KWAŚT, M.; LUDWICKI, J.; MATRASZEK, S. G. Determination of pesticide residues in citrus fruits. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 34, n. 2, p. 189-195, 1983.

CAPÍTULO 2

TRATAMENTO DE LARANJA 'PÊRA' EM PÓS-COLHEITA
POR IMERSÃO COM IMAZALIL E THIABENDAZOLE:
EFICIÊNCIA E NÍVEIS RESIDUAIS DOS FUNGICIDAS

TRATAMENTO DE LARANJA 'PÊRA' EM PÓS-COLHEITA POR IMERSÃO COM IMAZALIL E THIABENDAZOLE: EFICIÊNCIA E NÍVEIS RESIDUAIS DOS FUNGICIDAS

RESUMO: Laranjas 'Pêra' foram submetidas a tratamento em pós-colheita por imersão durante um minuto em soluções de imazalil (Magnate 500 CE), thiabendazole (Tecto 600 PM) e mistura de ambos, em diferentes concentrações. Após o tratamento as amostras foram armazenadas durante 28 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R. (umidade relativa), seguidos de um segundo armazenamento de mais cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ de U.R. Os resíduos de imazalil e thiabendazole foram determinados por cromatografia gasosa com detectores de ionização de chama e fotometria de chama, respectivamente. Foram identificadas sete espécies de fungos: *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp., *Geotrichum candidum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Guignardia citricarpa*, sendo a antracnose e a podridão amarga as doenças mais frequentes. A qualidade da laranja não foi alterada durante o armazenamento, conforme indicado por parâmetros químicos e físico-químicos. O tratamento em pós-colheita foi eficiente apenas no segundo armazenamento, sendo que esta eficiência foi diretamente proporcional ao aumento da concentração dos fungicidas aplicados isoladamente. Quando formulados em conjunto, os menores valores de incidência e índice de doença foram observados nas laranjas tratadas com uma mistura de imazalil e thiabendazole nas concentrações de 1000+2000mg/L, respectivamente. Os níveis de resíduos dos fungicidas no final do armazenamento foram, em geral, inferiores aos limites máximos estabelecidos pela Legislação Brasileira.

Palavras-Chave: Laranja, doenças da laranja, pós-colheita, imazalil, thiabendazole, resíduos de fungicidas.

TREATMENT OF 'PÊRA' ORANGES IN POSTHARVEST BY DIPPING WITH IMAZALIL AND THIABENDAZOLE: EFFECTIVENESS AND FUNGICIDE RESIDUES.

SUMMARY: 'Pêra' oranges were dipped for one minute in solutions of either imazalil (Magnate 500 EC), thiabendazole (Tecto 600PM) or both fungicides, at various concentrations. After the treatment the oranges were stored during 28 days at $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ R. U. followed by a further five days at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ R.U. Imazalil and thiabendazole residues were determined by gas chromatography using a flame ionization detector (FID) and a flame photometric detector (FPD), respectively. Anthracnose and sour rot were the most frequent diseases. Seven species of fungi were identified: *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp., *Geotrichum candidum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Guignardia citricarpa*. No change in the orange quality was observed during storage as measured by chemical and physicochemical parameters. The postharvest treatment was effective only during the second storage period. When formulated alone, the individual fungicide efficiency increased with the increase of its concentration. When used in combination, the lowest incidence and disease index were observed in oranges samples treated with a mixture of 1000 + 2000mg/L of imazalil and thiabendazole, respectively. Residue levels of the fungicides at the end of the storage period were in general below the maximum permitted levels established by the Brazilian Legislation.

Keywords: Orange, oranges diseases, postharvest, imazalil, thiabendazole, fungicides residues.

1. INTRODUÇÃO

Embora sendo o maior produtor mundial de citros, o Brasil não se destaca entre os maiores exportadores. A laranja 'Pêra', considerada uma variedade brasileira, lidera em 41% a produção do Brasil e também é a fruta com maior volume de exportação, tendo alcançado no ano de 1996 uma produção de 99,2 mil toneladas, atingindo a receita de 20,4 milhões de dólares. A baixa qualidade das laranjas brasileiras, decorrente da ocorrência de doenças nas etapas de pós-colheita e de embalagens inadequadas, é a principal responsável pelos resultados pouco expressivos na exportação (AMARO & MAIA, 1997; CARRARO et al., 1994).

Em um mercado competitivo, toda fruta comercializada *in natura* deve possuir qualidade suficiente para ser aceita pelo consumidor. Há vários parâmetros para avaliação da qualidade de uma fruta. A presença de resíduos de agrotóxicos com potencial tóxico à saúde humana, as propriedades nutricionais, as características organolépticas de cor e odor, doenças, danos físicos, entre outros, são fatores indispensáveis na avaliação da qualidade das frutas. Também de grande relevância são as características químicas e físico-químicas, consideradas como atributos de aferição da aceitabilidade do produto pelo consumidor (DURAN, 1980; KADER, 1985; MARTENS & BAARDSET, 1987).

As principais doenças que atingem as laranjas, no período compreendido entre a colheita e o consumo, são o bolor verde, provocada pelo fungo *Penicillium digitatum* e o bolor azul, causado pelo fungo *Penicillium italicum*. Outras doenças também podem incidir, como a podridão negra, a antracnose, a podridão de *Aspergillus*, a podridão marrom, a podridão amarga e a podridão peduncular, relacionadas com os fungos *Alternaria ssp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus niger*, *Phytophthora spp.*, *Geotrichum candidum* e *Lasiodiplodia theobromae*, respectivamente (BROOKS, 1944; BROWN, 1975; BROWN, 1979; SCHIFFMANN-NADEL et al., 1981; BROWN & ECKERT, 1989; McDONALD et al., 1979).

Estas doenças depreciam as frutas, comprometem a sua qualidade e inviabilizam sua comercialização e consumo. Para contornar estes problemas as frutas são submetidas a tratamentos físicos (calor e radiação) e químicos em pós-colheita. No tratamento químico em pós-colheita, a técnica de submergir a fruta em calda formulada com fungicida, entre outras metodologias, é a mais utilizada, em função de toda a superfície da fruta permanecer em contato com a calda fungicida, o que teoricamente proporciona maior eficiência no controle dos fungos causadores destas doenças (TUSET, 1987).

Os fungicidas imazalil e thiabendazole, entre outras substâncias químicas, são muito utilizados no preparo destas caldas fungicidas. O imazalil (Magnate 500 CE) e o thiabendazole (Tecto 600 PM) foram registrados no Brasil pelo Ministério da Agricultura sob os números 34/98 e 998400, respectivamente, para uso em pós-colheita em citros no controle dos bolores verde e azul (BRASIL, 1990; BRASIL, 1998). As dosagens previstas nestes registros são de 100g do ingrediente ativo em 100L para o imazalil e 90g do ingrediente ativo em 100L para pequenos períodos e 800g do ingrediente ativo em 100L em períodos longos para o thiabendazole (BRASIL, 1990a ; BRASIL, 1998a).

Várias pesquisas foram realizadas para avaliar o tratamento com os fungicidas imazalil e thiabendazole em pós-colheita usando a técnica de imersão, com diferentes variedades de frutas cítricas. Na maioria dos trabalhos as frutas cítricas foram inoculadas artificialmente com determinada espécie de fungo, submetidas ao tratamento com fungicidas e, em seguida, avaliadas para verificar se ocorreu alguma deterioração.

Após o tratamento em pós-colheita as frutas devem ser analisadas quanto à presença de resíduos destes fungicidas, uma vez que, devido a sua natureza tóxica, legislações nacionais e internacionais estabelecem tolerâncias para os mesmos.

Não estão disponíveis na literatura pesquisas abordando a eficiência do tratamento em pós-colheita de laranjas 'Pêra' com os fungicidas thiabendazole e imazalil, através da técnica de imersão, no controle de doenças provocadas por fungos, e tampouco dados sobre os níveis de resíduos destes fungicidas nesta variedade de laranja.

Os objetivos deste trabalho foram identificar os patógenos, determinar alguns parâmetros químicos e físico-químicos, avaliar a eficiência do tratamento pós-colheita por imersão com os fungicidas imazalil e thiabendazole e quantificar os resíduos destes fungicidas em laranjas 'Pêra', no período de armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes e Padrões

Soluções contendo 100mg/L (preparadas em metanol grau resíduo, Lichrosolv) dos padrões de imazalil (Dr. Ehrenstorfer, Augusburg, Alemanha) e thiabendazole (Merck & Co., Inc., Rahway, NJ) foram diluídas a 10, 5,0, 1,0, 0,5, 0,2 e 0,1mg/L com hexano grau resíduo (Lichrosolv). Os demais reagentes utilizados foram NaCl (tratado previamente em mufla durante oito horas a 450°C), Na₂SO₄ (tratado previamente em mufla durante oito horas a 650°C) e o solvente acetato de etila grau resíduo (Lichrosolv).

2.2 Matéria-Prima

Foram empregadas laranjas da variedade 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cultivadas no ano de 1998 na Fazenda da FISCHER S/A AGROPECUÁRIA no município de Matão/SP, sem aplicação dos fungicidas imazalil e thiabendazole no campo. As laranjas foram colhidas em fevereiro de 1999, transportadas até o local da realização dos ensaios, lavadas com água (para retirada de sujidades oriundas da colheita) e secadas à temperatura ambiente.

2.3 Tratamento Pós-Colheita por Imersão

O experimento com as laranjas seguiram as etapas do fluxograma da figura 1. Na etapa correspondente ao tratamento pós-colheita, reservaram-se dez recipientes de alumínio de 50 litros onde foram preparados 30 litros de calda contendo os fungicidas imazalil (Magnate 500 CE) e thiabendazole (Tecto 600 PM), com 0,002% de espalhante adesivo (Iharaguen-s), em concentrações correspondentes aos tratamentos 2 a 11 (Tabela 1). O tratamento 1 correspondeu às laranjas que não foram submetidas a qualquer tratamento (controle). As amostras testemunhas foram submetidas ao tratamento 2 com espalhante adesivo.

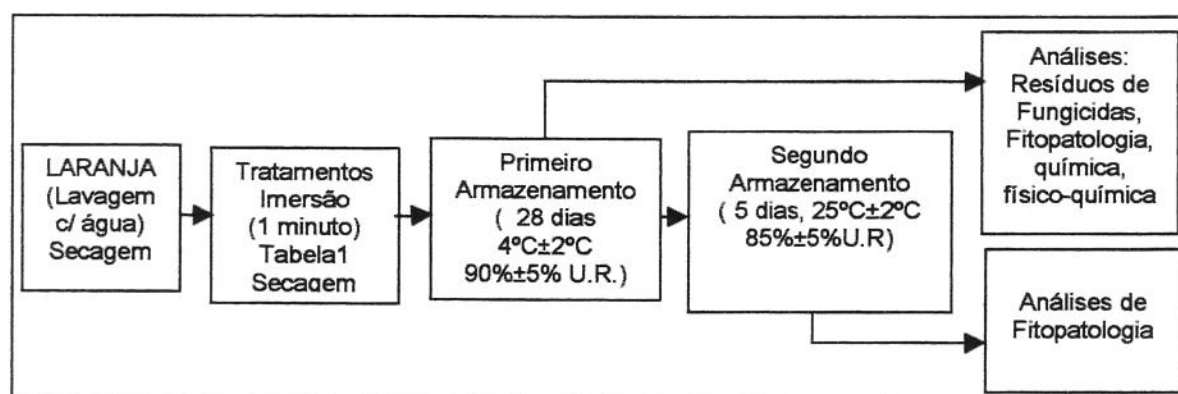


Figura 1. Fluxograma do tratamento das laranjas em pós-colheita por imersão.

Tabela 1. Concentração dos fungicidas nos tratamentos das laranjas por imersão

Tratamentos	[Fungicidas + Espalhante Adesivo (EA)/30L]
1(Controle)	-
2(Testemunha)	[E A (0,002%)]
3	Imazalil (500mg/L) + E A (0,002%)
4	Imazalil (1000mg/L) + E A (0,002%)
5	Imazalil (2000mg/L) + E A (0,002%)
6	Thiabendazole (1000mg/L) + E A (0,002%)
7	Thiabendazole (2000mg/L) + E A (0,002%)
8	Thiabendazole (3000mg/L) + E A (0,002%)
9	Imazalil + Thiabendazole (1000 + 1000)mg/L + E A (0,002%)
10	Imazalil + Thiabendazole (1000 + 2000)mg/L + E A (0,002%)
11	Imazalil + Thiabendazole (2000 + 1000)mg/L + E A (0,002%)

2.4 Armazenamento, Homogeneização e Análises das Laranjas

Após serem submetidas aos 11 tratamentos em pós-colheita e secadas à temperatura ambiente, as laranjas foram acondicionadas em caixas de papelão com orifícios, tampadas e armazenadas em câmara a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ U.R., durante 28 dias. Após este período, as frutas foram armazenadas por um tempo adicional de 5 dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ U.R.

Terminado o primeiro período de armazenamento, uma parte das frutas inteiras de cada tratamento foi cortada em pequenos pedaços, homogeneizada em processador, acondicionada em frascos de vidro fechados com tampas envolvidas em papel alumínio e armazenada em “freezer” a -20°C até a ocasião das análises de resíduos dos fungicidas. Dez laranjas de cada tratamento foram destinadas às análises de pH, sólidos solúveis totais (SST), ácido ascórbico, acidez total e cor, medida pelos parâmetros “a” (azul-amarelo), “b” (verde-vermelho) e “L” (luminosidade). Foram realizadas três repetições para cada uma destas análises.

As análises para identificação de fungos, incidência e índice de doenças foram realizadas em 15 amostras no final do primeiro e segundo armazenamentos, com quatro repetições.

2.5 Método de Extração dos Fungicidas

A extração dos fungicidas foi conduzida conforme o método de MINELLI et al. (1996). Pesaram-se 5g de amostra em tubo de vidro 50 mL, adicionando-se a seguir 2g de NaCl e 10mL da mistura hexano:acetato de etila (1:1 v/v). O tubo foi fechado com tampa de teflon e agitado durante 30 minutos em agitador rotatório. Após 10 minutos de repouso, transferiu-se uma alíquota de 5,0mL para tubo concentrador contendo 0,5g de Na_2SO_4 .

Após cinco minutos, o extrato foi transferido para outro tubo e evaporado com nitrogênio até 1,0mL, ou diluído com hexano até a faixa de concentração da resposta linear do detector, antes da injeção em cromatógrafo à gás.

2.6 Quantificação por Cromatografia Gasosa

Os fungicidas imazalil e thiabendazole foram analisados em cromatógrafo à gás HP-6890, com detectores de ionização de chama e fotometria de chama, respectivamente. As condições da análise estão descritas abaixo:

Cromatógrafo com detector de ionização de chama: coluna capilar HP-50+50% fenil metil siloxano (30m de comprimento, 320µm de diâmetro interno e 0,25µm de filme). Gás de arraste nitrogênio com vazão constante de 2,0mL/min; programação de temperatura de 40°C durante dois minutos, primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo “pulsed splitless” a 250°C, pressão 58,6MPa, vazão 64,6mL/min.; injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga 60mL/min até um minuto; detector a 300°C com hidrogênio a 35mL/min, ar sintético a 400mL/min e “make up” de 35mL/min. O tempo de retenção para o imazalil nestas condições foi de 17,5 minutos (Anexo 1).

Cromatógrafo com detector de fotometria de chama: coluna capilar (pressão constante de 28.48psi) HP-5% fenil metil polissiloxano (30m de comprimento, 320µm de diâmetro interno e 0,25µm de filme). As demais condições cromatográficas foram: programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo “pulsed splitless” a 250°C, pressão 58,6MPa, injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga 15mL/min até um minuto; detector a 250°C com filtro para detecção de enxofre (393nm), hidrogênio a 50mL/min, ar sintético 60mL/min e “make up” a 60mL/min. Nestas condições, o tempo de retenção do thiabendazole foi de 16,5 minutos (Anexo 2).

As curvas analíticas foram construídas relacionando área do pico versus concentração (mg/L) do imazalil e thiabendazole, com linearidade nas faixas de

concentrações de 0,2mg/L a 2,0mg/L e de 0,1mg/L a 2,0mg/L, com coeficientes de correlação de 0,9962 e 0,9997, respectivamente (Anexo 3).

Amostras isentas dos fungicidas foram fortificadas com concentrações de 0,5 e 1,0mg/kg de imazalil e thiabendazole. Os fungicidas foram extraídos e analisados conforme descrito anteriormente. A recuperação foi calculada pela razão entre o teor detectado do analito adicionado e a quantidade efetivamente adicionada, multiplicada por 100.

2.7 Análise de Fitopatologia

Para isolamento dos patógenos foi utilizada a metodologia de TUIITE, 1969, como descrito a seguir:

Fragmentos da amostra com sintomas de doenças foram retirados com uma lâmina cirúrgica, higienizados para eliminação das sujidades superficiais e depositados em placa de Petri contendo álcool etílico (70%) durante trinta segundos. Em seguida, os fragmentos foram retirados desta placa e colocados em uma nova placa de Petri com hipoclorito de sódio (2%). Posteriormente os fragmentos foram enxaguados duas vezes em água esterilizada e colocados em papel de filtro para secagem. Na sequência, foram colocados em meio de cultura (BDA – Batata Dextrose Agar), introduzidos em uma câmara asséptica (câmara de germinação Marconi tipo BOD –MA403) e incubados neste meio. Observou-se durante três dias o crescimento dos patógenos.

A identificação dos patógenos causadores de podridões pós-colheita nas laranjas foi realizado com auxílio de chave de classificação, referências bibliográficas, analisando-se estruturas do microorganismo em microscópio óptico (Nikon – Labophot –2). As estruturas foram retiradas tanto de lesões de frutas como da cultura pura do patógeno em meio de cultura.

Para análise de incidência de doenças, realizou-se a contagem do número de laranjas que apresentavam sintomas de doenças. Para a severidade adotou-se

um sistema de notas variando de zero a quatro, de acordo com a área lesionada na laranja (0=nenhum; 1=1 a 25%; 2=25% a 50%; 3=50% a 75%; 4=75% a 100%). Após determinação da severidade, obteve-se o índice de doenças utilizando-se a fórmula abaixo, onde ID=índice de doenças; $n_{(1...4)}$ =número de laranjas infectadas (escala de notas); N=número total de laranjas; T=nota máxima

$$ID (\%) = \frac{[(1. n_1) + (2. n_2) + (3. n_3) + (4. n_4)] \times 100}{T.N}$$

2.8 Análises Químicas (Ácido Ascórbico, ATT)

Foi utilizado o método de Tilmans (LEES, 1975) para quantificação do teor de ácido ascórbico em suco da laranja. Em 100g do suco adicionou-se 1% de ácido oxálico, titulando-se a seguir com solução de 2,6-diclorofenolindofenol-sódio (DCFI) (2%) até aparecimento de coloração rosada persistente. O resultado foi expresso em mg de ácido ascórbico em 100g de suco.

A acidez total titulável (ATT) em amostras de laranja foi expressa como quantidade de ácido cítrico determinada por titulação com 0,1mol/L de NaOH, utilizando-se de pHmetro digital Mettler Toledo modelo 320 com eletrodo Mettler Toledo Inlab 413, até ponto de viragem em pH 8,10 (CARVALHO et al., 1980). O resultado foi expresso em mg de ácido cítrico anidro em 100g de suco.

2.9 Análises Físico-Químicas

Para determinação do pH do suco das laranjas foi utilizado o pHmetro digital Mettler Toledo modelo 320 com eletrodo Mettler Toledo Inlab 413, com compensação automática de temperatura (IAL, 1985).

A quantificação dos sólidos solúveis totais (SST), em °Brix, foi obtida através de leitura em refratômetro Atago modelo N1 com escala de 0-32° (PEARSON, 1973).

Para a avaliação da cor da fruta foi utilizado o Colorímetro Minolta modelo CR-300, utilizando o sistema “L”, “a” e “b”, onde L é a luminosidade que, varia de 0 (preto) a 100 (branco), e “a” e “b” são coordenadas de croma, sendo -a (verde), +a(vermelho) e -b(azul), +b(amarelo), ambos variando de -60 a +60. Foram marcados dois pontos em cada pólo e mais dois pontos no equador da laranja para realização das medidas diretas de cor.

2.10 Análise Estatística

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento completamente casualizado, com três repetições por tratamento para as análises químicas e físico químicas e de resíduos de fungicidas, e com quatro repetições para as análises de incidência e índice de doenças. Os resultados foram submetidos à análise de variância paramétrica univariada e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (GOMES, 1976). Foi utilizada a transformação $\arcsen\sqrt{x/100}$ nos cálculos estatísticos da incidência de doenças e índice de doenças.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de resíduos dos fungicidas e a dos atributos químicos e físico-químicos foram realizadas no início e no final do primeiro armazenamento, enquanto que a caracterização dos fungos, a incidência de doenças e índice de doenças foram realizados apenas no final dos armazenamentos.

O primeiro período de armazenamento ($4^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\%\pm 5\%$ U.R.) procurou representar as condições em que as frutas são transportadas e o segundo, com cinco dias adicionais a $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\%\pm 5\%$ U.R. visou simular o período e as condições de comercialização da fruta no local de consumo.

3.1 Atributos Químicos e Físico-Químicos

Os resultados das análises de ácido ascórbico, acidez total titulável (ATT), pH e sólidos solúveis totais (SST) encontram-se na Tabela 2 e os de cor “a” (azul-amarelo), “b” (verde-vermelho) e “L” (Luminosidade) encontram-se na Tabela 3.

De acordo com a avaliação estatística (Tabela 2), não houve diferença significativa nos teores de acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), pH, ácido ascórbico e cor entre os tratamentos para o mesmo período de armazenamento, e nem entre o início e o final do armazenamento para o mesmo tratamento. As diferenças nos valores encontrados podem ser atribuídas à variabilidade natural entre laranjas, já que diferentes amostras de laranjas foram analisadas. Este resultado indica que os tratamentos com os fungicidas seguido de armazenamento, nas condições utilizadas no presente estudo, não afetaram a qualidade da laranja. Em períodos mais longos de armazenamento e em temperaturas mais elevadas (três meses a 5-8°C), PRUTHI et al., 1984, verificaram alterações significativas no teor de ácido ascórbico em laranjas de diversas variedades.

Em geral, os teores de ácido ascórbico das laranjas analisadas encontram-se na faixa relatada para laranjas não adulteradas (41-53 mg/100g), segundo KOCH & HESS (1971).

Os níveis de SST, praticamente inalterados durante o armazenamento, estão de acordo com os resultados relatados para as laranjas ‘Valencia late’ e ‘Blood-red’, após armazenamento durante três meses a 5-8°C (PRUTHI et al.; 1984). A quantidade de SST determinada no presente estudo enquadra-se na faixa de 9,1 a 13,5, encontrada por BUFFA & BELLENOT (1962) e MONEY & CHRISTIAN (1950) ao analisarem sucos de laranjas de diferentes variedades, visando caracterizá-los para evitar adulterações.

Tabela 2. Teores médios e estimativa de desvio padrão de acidez total titulável (ATT, em mg de ácido cítrico/100g), sólidos solúveis totais (SST, em °Brix), pH e ácido ascórbico (Ac. Asc.) (mg/100g) no início e final do armazenamento a 4°C±2°C / 90%±5% U.R.

Tratamentos e Concentração (mg/mL)	Armazenamento (dias)								
	0				28				
	ATT	SST	pH	Ac. Asc.	ATT	SST	pH	Ac. Asc.	
Controle	1,17 ± 0,80	9,8 ± 0,3	3,2 ± 0,8	44,8 ± 3,2	0,64 ± 0,10	9,1 ± 0,2	3,8 ± 0,1	40,3 ± 0,7	
Testemunha	0,69 ± 0,03	9,5 ± 0,2	3,8 ± 0,6	44,6 ± 0,8	0,65 ± 0,08	9,1 ± 0,1	3,8 ± 0,1	39,6 ± 0,1	
IMZ	500	0,67 ± 0,09	9,2 ± 0,3	3,9 ± 0,1	42,5 ± 1,4	0,79 ± 0,05	9,5 ± 0,4	3,7 ± 0,1	42,6 ± 0,6
	1000	0,68 ± 0,10	9,5 ± 0,2	3,9 ± 0,1	44,0 ± 2,4	0,74 ± 0,03	8,8 ± 0,1	3,7 ± 0,1	41,5 ± 1,7
	2000	0,76 ± 0,08	9,1 ± 0,5	3,8 ± 0,1	43,5 ± 1,6	0,84 ± 0,10	9,3 ± 0,2	3,8 ± 0,1	42,5 ± 1,4
TBZ	1000	0,74 ± 0,03	9,1 ± 0,2	3,8 ± 0,0	45,6 ± 3,6	0,68 ± 0,05	9,3 ± 0,4	3,8 ± 0,1	39,5 ± 2,9
	2000	0,65 ± 0,06	9,1 ± 0,7	3,9 ± 0,2	41,4 ± 3,1	0,66 ± 0,07	8,8 ± 0,2	3,8 ± 0,1	39,9 ± 1,9
	3000	0,70 ± 0,06	9,1 ± 0,3	3,9 ± 0,1	43,5 ± 2,1	0,73 ± 0,08	9,1 ± 0,2	3,8 ± 0,1	42,5 ± 1,1
IMZ + TBZ	1000+1000	0,79 ± 0,10	9,2 ± 0,1	3,8 ± 0,1	44,1 ± 0,6	0,76 ± 0,10	8,9 ± 0,3	3,9 ± 0,1	39,5 ± 1,4
	1000+2000	0,80 ± 0,04	8,9 ± 0,3	3,8 ± 0,5	44,5 ± 1,5	0,70 ± 0,06	8,8 ± 0,3	3,9 ± 0,0	39,5 ± 1,1
	2000+1000	0,85 ± 0,10	8,8 ± 0,3	3,7 ± 0,1	43,7 ± 2,8	0,69 ± 0,06	9,3 ± 0,1	3,9 ± 0,1	40,8 ± 1,1

Obs: Estatisticamente pelo teste de Tukey (5%) não ocorreu diferença significativa dos atributos (ATT, SST, pH, Ac. Asc.) entre dias de armazenamento para o mesmo tratamento nem entre os tratamentos no mesmo armazenamento. Os resultados são média de três determinações.

Da mesma forma que observado para os parâmetros químicos, não foram detectadas alterações estatisticamente significativas nos valores de “a”, “b” e “L” entre diferentes tratamentos e entre o início e final do mesmo tratamento (Tabela 3). Este resultado confirma que a qualidade da laranja manteve-se inalterada após os tratamentos e armazenamento.

Tabela 3. Valores médios e estimativa de desvio padrão de “a” (azul-amarelo), “b” (verde-vermelho) e “L” (Luminosidade) de laranjas ‘Pêra’ tratadas em pós-colheita com imazalil e thiabendazole, armazenadas por 28 dias a 4°C±2°C / 90%±5% U.R

Tratamentos /Fungicida (mg/L)	Armazenamento (dias)					
	0			28		
	a	b	L	a	b	L
Controle	-12,5 ± 0,8	39,1 ± 2,2	54,5 ± 1,5	-14,2 ± 1,2	42,4 ± 2,8	55,4 ± 1,2
Testemunha	-13,0 ± 1,2	40,0 ± 3,6	53,7 ± 2,4	-13,0 ± 2,6	44,4 ± 5,9	56,8 ± 3,5
IMZ						
500	-13,3 ± 3,5	41,1 ± 4,1	52,5 ± 2,6	-16,2 ± 1,0	36,1 ± 3,6	51,5 ± 2,9
1000	-14,2 ± 0,3	42,2 ± 3,5	53,7 ± 1,2	-15,4 ± 0,9	40,0 ± 3,7	55,1 ± 2,4
2000	-15,5 ± 2,2	41,0 ± 4,5	53,8 ± 2,7	-15,7 ± 1,0	39,3 ± 3,6	53,9 ± 2,4
TBZ						
1000	-15,8 ± 0,9	37,5 ± 2,6	51,6 ± 1,6	-15,1 ± 1,3	43,6 ± 3,3	56,5 ± 2,5
2000	-11,9 ± 6,5	39,5 ± 1,4	53,0 ± 1,3	-16,2 ± 0,1	39,4 ± 0,8	55,2 ± 0,9
3000	-14,6 ± 1,0	38,9 ± 2,9	52,4 ± 1,7	-16,8 ± 0,4	39,3 ± 1,1	54,1 ± 0,9
IMZ + TBZ						
1000+1000	-16,0 ± 1,5	38,2 ± 2,6	52,1 ± 1,8	-14,8 ± 0,7	42,3 ± 2,2	55,9 ± 2,5
1000+2000	-15,1 ± 2,1	39,4 ± 3,2	52,9 ± 2,1	-15,4 ± 1,9	39,8 ± 3,3	54,0 ± 3,1
2000+1000	-14,8 ± 1,6	36,4 ± 4,1	51,3 ± 3,2	-13,3 ± 2,3	47,0 ± 3,8	58,8 ± 1,5

Obs: Não ocorreu diferença significativa dos atributos (a, b, L) entre dias de armazenamento para o mesmo tratamento nem entre os tratamentos no mesmo armazenamento (Tukey, 5%). Os resultados são média de três determinações.

IMZ – Imazalil. TBZ – Thiabendazole.

3.2 Controle de Podridões Pós-Colheita e Níveis de Resíduos de Fungicidas

Na Tabela 4 estão apresentadas as freqüências gerais das doenças e fungos durante o primeiro (4°C ± 2°C / 90% ± 5% U.R.) e segundo (cinco dias a 25°C ±

2°C / 85% $\pm$ 5% U.R.) períodos de armazenamento. Não foram detectadas nas amostras analisadas a podridão negra e de *Aspergillus*. De acordo com os resultados encontrados, verifica-se que a antracnose manifestou-se em todos os tratamentos. Esta doença, causada pelo fungo *Collectotrichum gloeosporioides*, inicia-se no campo, permanecendo em infecção quiescente até que a fruta amadureça e os sintomas venham a se manifestar.

Tabela 4. Frequência (%) com que as podridões ocorreram nas laranjas 'Pêra' submetidas aos diferentes tratamentos pós-colheita após 28 dias a 4°C $\pm$ 2°C / 90% $\pm$ 5% U.R. e 5 dias a 25°C $\pm$ 2°C / 85% $\pm$ 5% U.R.

Tratamento (mg/L)	Podridões (%)						
	Bolor Verde (1)	Bolor Azul (2)	Antracnose (3)	Podridão Marrom (4)	Podridão Amarga (5)	Podridão Peduncular (6)	Pinta Preta (7)
Controle	30,8	-	61,5	-	-	-	-
Testemunha	8,8	6,2	56,2	6,2	6,2	-	-
IMZ							
500	-	-	36,4	9,1	36,4	9,1	9,1
1000	-	-	31,2	-	50,0	-	6,2
2000	11,1	-	55,6	-	33,3	-	-
TBZ							
1000	-	-	80,0	-	-	-	19
2000	-	-	66,7	-	33,3	-	-
3000	-	-	50,0	-	25,0	-	-
IMZ + TBZ							
1000+1000	-	-	33,3	-	-	-	16,7
1000+2000	-	-	100	-	-	-	-
2000+1000	-	-	25,0	-	37,5	-	25,0

(1)*Penicillium digitatum*; (2)*Penicillium italicum*; (3)*Colletotrichum gloeosporioides*; (4)*Phytophthora* spp.; (5)*Geotrichum candidum*; (6)*Lasiodiplodia theobromae*; (7)*Guignardia citricarpa*. Imz – Imazalil. TBZ – Thiabendazole.

Embora a literatura relate em várias regiões geográficas um maior número de ocorrência de bolor verde e azul em frutas cítricas, relativamente à antracnose (EL-REFAI & MAHMOUD, 1982; JIMENEZ et al., 1985; DIAZ-BORRAS et al., 1988; BUS, 1992), no presente trabalho ocorreu o contrário. Além disto, apenas no tratamento correspondente à testemunha algumas amostras de laranjas

apresentaram o bolor azul. Vale destacar que as doenças provocadas pelos fungos *Penicillium spp.* em frutas cítricas são as mais importantes. A eficiência dos fungicidas imazalil e tiabendazol no combate dos fungos *P. digitatum* e *P. italicum* em laranjas 'Pêra', observada no presente estudo, foi semelhante à evidenciada por outros pesquisadores em laranjas de variedade 'Shamouti' e 'Valencia' (GUTTER, 1969; BROWN, 1985).

Depois da antracnose, as doenças com maiores incidências foram a podridão amarga, provocada pelo fungo *Geotrichum candidum*, e a pinta preta, causada pelo fungo *Guignardia citricarpa* e, provavelmente, adquirida durante o cultivo da laranja no campo. Destes fungos, apenas o *Geotrichum candidum* está listado entre os mais encontrados em frutas cítricas (BROWN & ECKERT, 1989).

Os resultados relativos à incidência de doenças, definida como a percentagem de amostras com doenças dentro de um número definido de frutas analisadas, e ao índice de doenças, parâmetro que associa incidência e severidade de podridões, estão apresentados na Tabela 5 e ilustrados na Figura 2. A Tabela 5 também apresenta os níveis residuais dos fungicidas ao final do armazenamento à 4° C.

Para o estudo da incidência e índice de doenças, foram selecionadas amostras de laranjas com cores semelhantes e do mesmo tamanho, através de um sistema automatizado disponível no "packing house", acionado e programado por computador. Desta forma, as laranjas destinadas ao experimento possuíam dimensões e coloração uniformes. A incidência e índice de doenças foram calculadas para estas laranjas, levando-se em consideração todas as doenças encontradas, inoculadas naturalmente por patógenos. Em outras pesquisas este cálculo foi feito em relação a uma determinada doença provocada por um fungo específico inoculado artificialmente na fruta (SAVASTANO & FAWCETT, 1929; RAO, 1984), excluindo-se as demais doenças.

Conforme os resultados obtidos, não ocorreu diferença significativa na incidência e índice de doenças entre os tratamentos no primeiro armazenamento de 28 dias a 4°C (Tabela 5). Neste ensaio, as amostras controle, sem qualquer tratamento de imersão, apresentaram menores valores de incidência e índice de doenças do que aquelas tratadas com fungicidas. Este comportamento foi semelhante ao observado por PELSER, 1974, ao utilizar apenas thiabendazole na concentração de 3000mg/L para combater as podridões de *Alternaria* e peduncular em toranja durante longo período de armazenamento. Segundo o relato do autor, as amostras tratadas com este fungicida apresentaram deterioração, provocada pelo fungo *Alternaria citri*, igual ou maior do que o controle, enquanto que para a podridão peduncular não ocorreu diferença.

Tabela 5. Incidência e índice de doenças ($\arcsen\sqrt{x/100}$) e resíduos de imazalil (IMZ) e thiabendazole (TBZ) em laranjas 'Pêra' tratadas em pós-colheita com estes fungicidas e armazenadas por 28 dias a 4°C±2°C / 90%±5% U.R., seguido de mais 5 dias à 25±2°C / 85%±5% U.R.

Tratamentos		Doenças				Resíduos (mg/kg) (c)	
Fungicida	Dosagem (mg/L)	Incidência (%)		Índice(%)		IMZ	TBZ
		(a)	(b)	(a)	(b)		
Controle	-	0,0	13,9	0,0	9,1	-	-
Testemunha	EA	7,5	12,3	5,9	9,4	-	-
IMZ	500	3,8	7,5	2,0	5,9	5,2 ± 0,4	-
	1000	3,8	9,1	2,0	4,5	8,6 ± 2,0	-
	2000	0,0	0,0	0,0	0,0	13,8 ± 3,0	-
TBZ	1000	9,1	11,3	4,5	6,6	-	0,2 ± 0,0
	2000	7,0	3,8	3,5	2,0	-	0,3 ± 0,0
	3000	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,6 ± 0,1
IMZ +TBZ	1000 + 1000	16,9	9,1	8,6	5,3	4,1 ± 0,7	0,1 ± 0,0
	1000 + 2000	3,8	3,8	3,8	3,2	5,1 ± 2,0	0,3 ± 0,0
	2000 + 1000	7,5	3,8	4,1	2,0	6,1 ± 1,8	0,1 ± 0,0

(a)-resultados referentes ao final do primeiro armazenamento (28 dias).

(b)-resultados referentes ao final do segundo armazenamento (28+5dias).

Não ocorreu diferença significativa na incidência e índice de doenças entre os tratamentos (Tukey, 5%).

(c)-os resultados de resíduos dos fungicidas são média de três determinações ± estimativa de desvio padrão e se referem ao final do primeiro armazenamento (28 dias).

Conforme pode ser verificado na Tabela 5 e Figura 2, após o segundo armazenamento (cinco dias a 25°C), as amostras submetidas aos tratamentos

com os fungicidas apresentaram menores incidência e índice de doenças relativamente às laranjas controle e testemunha.

De acordo com os resultados, as menores incidências e índice de doenças foram observadas entre as amostras tratadas com as maiores concentrações dos fungicidas, as quais, conseqüentemente, apresentaram os maiores níveis de resíduos. Estes resultados indicam uma tendência à diminuição da incidência e índice de doenças à medida que aumenta a concentração do fungicida na calda, dentro da faixa empregada no presente estudo (Figura 2).

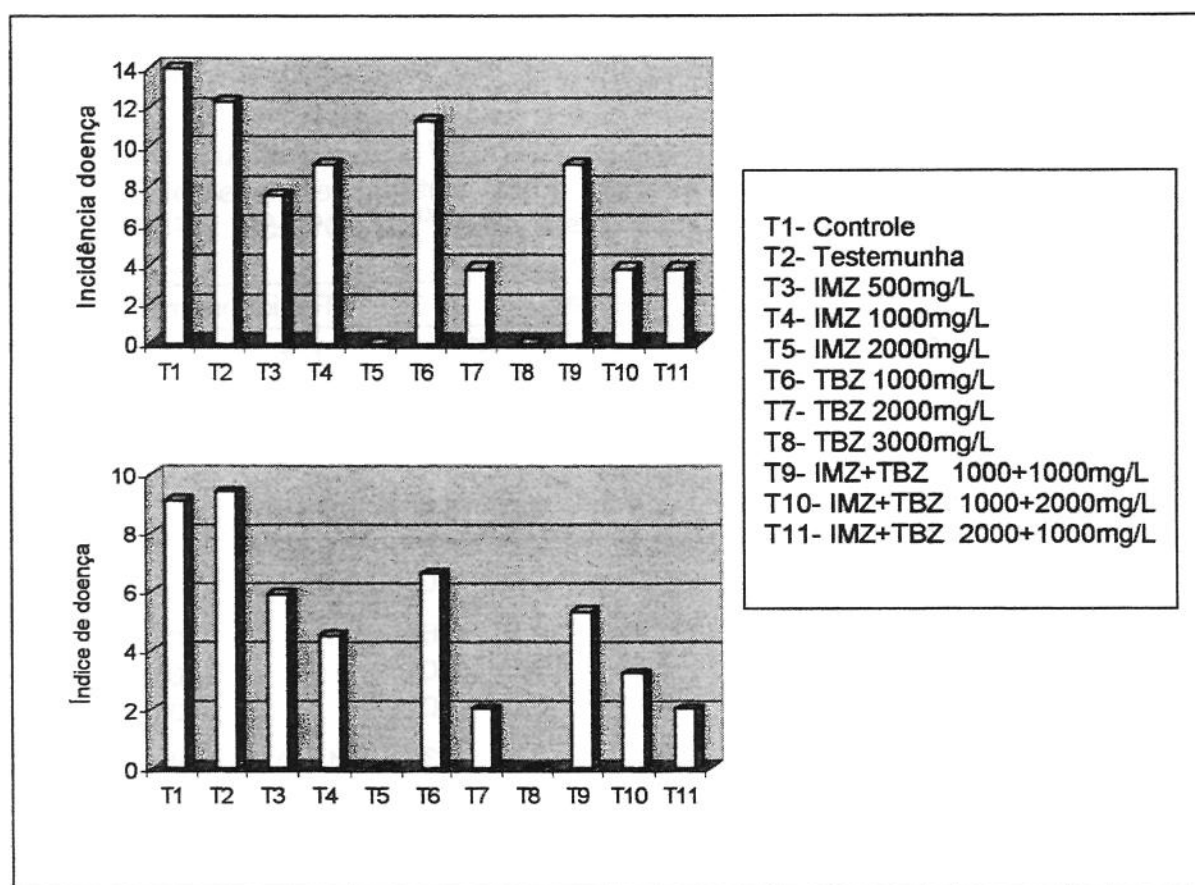


Figura 2. Ilustração da incidência e índice de doenças de laranjas 'Pêra' tratadas em pós-colheita com imazalil e thiabendazole no segundo armazenamento de 5 dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ U.R.

Imazalil e thiabendazole, quando aplicados isoladamente nas concentrações de 2000 e 3000mg/L, respectivamente, combateram totalmente a incidência de doenças, o mesmo não ocorrendo com a mistura de ambos (Tabela 5). Estes resultados são similares aos obtidos por BEZERRA et al. (1976), que observaram

que benomil e thiabendazole, quando aplicados isoladamente 24 horas após inoculação de *Penicillium digitatum*, foram mais eficientes no combate a este fungo do que quando formulados juntos. Por outro lado, PELSER (1974), constatou o efeito sinérgico da mistura dos fungicidas thiabendazole e 2,4-D no combate às doenças de podridão peduncular e de podridão de *Alternaria*.

As amostras da laranja inteira fortificadas em níveis de 0,5 mg/kg e 1,0 mg/kg com thiabendazole e imazalil apresentaram recuperações, segundo apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Fortificação e recuperação de thiabendazol e imazalil na laranja inteira.

Fungicidas	Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)			EDP (±)
		n	Amplitude	Média	
Imazalil	1.0	7	(82 - 117)	99.0	12.9
	0.5	5	(94 - 99)	97.0	1.8
Thiabendazole	1.0	8	(83 - 117)	92.6	10.9
	0.5	4	(84 - 117)	95.4	15.5

n = número de determinações. EDP=estimativa de desvio padrão.

Com exceção das frutas submetidas à imersão em emulsão de thiabendazole e imazalil nas concentrações 1000+1000 mg/L, todas as laranjas tratadas com imazalil apresentaram níveis residuais deste fungicida acima do estabelecido pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas (5,0mg/kg). Em relação ao thiabendazole, não foram detectados em qualquer das amostras níveis residuais que ultrapassassem a tolerância estabelecida pela legislação nacional vigente e pelo CODEX (BRASIL, 1990; BRASIL, 1998; FAO/WHO, 1998; FAO/WHO, 1998a).

4.CONCLUSÕES

Os tratamentos em pós-colheita não alteraram a qualidade das frutas, medida através dos parâmetros químicos e físico-químicos.

Os tratamentos em pós-colheita não foram eficazes no controle de doenças no primeiro armazenamento, enquanto no segundo foram eficientes.

Nas condições empregadas no presente estudo, a eficiência do tratamento em pós-colheita foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações dos fungicidas aplicados isoladamente. Quando formulados em conjunto, a atuação mais eficiente do thiabendazole e imazalil ocorreu nas concentrações de 1000+2000mg/L, respectivamente.

Embora os níveis de thiabendazole nas laranjas estivessem abaixo da tolerância estabelecida pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas, somente as frutas submetidas apenas à aplicação deste fungicida e aquelas submersas em caldas de imazalil+thiabendazole (1000+1000mg/L) estavam adequadas para consumo em relação à referida Legislação..

Como o emprego do tratamento em pós colheita por imersão pode resultar em níveis residuais acima da tolerância estabelecida, recomenda-se o monitoramento dos resíduos os fungicidas sempre que esta técnica for utilizada pelo produtor.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARO & MAIA, 1997. Apud. FRANCO, D. A . S. **Controle de bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós-colheita de citros com produtos alternativos**. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Agronômicas da ENESP. Botucatu, 103 p., Fev., 1999.
- BEZERRA, J. E. F.; TEIXEIRA, S. L.; CHAVES, G. M.; CONDE, A. R. MANICA, I. Eficiência do thiabendazole e benomil no controle de mofo verde (*Penicillium digitatum* sacc.) em laranjas lima (*Citrus sinensis* Osb.). **Revista Ceres**, v. 23, n. 130, p. 440-452, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Imazalil (Magnate 500 CE), registro 34/98 de 15 de maio de 1998.

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Thiabendazole (Tecto 600 PM), registro 998400 de 5 de março de 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 37 de 30 de Outubro de 1990. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Seção I, P.0755, 31 de Outubro de 1990a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 699 de 1 de Setembro de 1998. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Seção I, P.172-E de 9 de Setembro de 1998a.
- BROOKS, C. Stem-end rot of oranges and factors affecting its control. **Journal Agricultural Research**, v. 68, p. 363-381, 1944.
- BROWN, G. E. Biology and control of *Geotrichum candidum*, the cause of citrus sour rot. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 92, P. 186-189, 1979.
- BROWN, G. E. Effectiveness of postharvest fungicides for the control of citrus fruit decays. **Citrus Industry**, v. 66, n. 9, 1985.
- BROWN, G. E. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits. **Phytopatology**, v. 65, p. 404-409, 1975.
- BROWN, G. E.; ECKERT, J. W. Postharvest Fungal Diseases In: WHITESIDE, J. O.; GERNSEY, S. M.; TIMMER, L. W. Compendium of citrus diseases. St. Paul, APS Press., p.80, 1989.
- BUFFA, A. ; BELLENOT, P. Caractères analytiques des agrumes d'Algérie au cours de la campagne industrielle 1961-1962. **Fruits**, v.17, n. 9, p. 465-468, 1962.
- BUS, V. G. ED50 levels of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* with reduced sensitivity to thiabendazole, benomyl and imazalil. **Postharvest Biology and Technology**, v.1, n. 4, p. 305-315, 1992.
- CARRARO, A. F.; CUNHA, M. M. Manual de Exportação de Frutas. Brasília: MAARA- SDR- FRUPEX/ IICA, p.254, 1994.

- CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N. Análises químicas de alimentos: manual técnico do Instituto de tecnologia de Alimentos. Campinas, 1990. 121 p.
- DIAZ-BORRAS, M. A .; VILA-AGUILAR, R.; HERNANDEZ-JIMENEZ, E. Sinergistic effect of fungicides on resistant strains of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 79-85, 1988.
- DURAN, L. Conservas. El color em tecnologia de alimentos. **Revista Agroquímica y Tecnología Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 1-12, 1980.
- EL-REFAI, A . M.; MAHMOUD, M.B. Comparison of thiabendazole formulations and application methods for control of green moulds of oranges. **Fruits**, v. 37, n. 1, p. 27-31, 1982.
- FAO/WHO. CODEX ALIMENTARIUS: 2ª Ed., Rome, 1998. Vol. 2B, p. 98.
- FAO/WHO. CODEX ALIMENTARIUS: 2ª Ed., Rome, 1998a. Vol. 2B, p. 160.
- GOMES, F. P. Curso de Estatística Experimental. 5ª Edição. Livraria Nobel S.A. São Paulo, 1976,.430 p..
- GUTTER, Y. Comparative effectiveness of benomyl, thiabendazole, and other antifungal compounds for postharvest control of *Penicillium* decay in shamouti and valencia oranges. **Plant Disease Reporter**, v. 53, n. 6, 1969.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo, 3a Edição, Volume 1, ref. 12, n. 4.7.2., 1985.
- JIMENEZ, M.; DIAZ, M. de los A.; VILA, R.; HERNANDEZ, E. Loss of resistance to fungicides in *Penicillium* sp. Strains isolated from citrus fruit stores. **Microbiologie Aliments Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 173-180, 1985.
- KOCH, J.; HESS, D. Dt Lebensmitt Rdsch, v. 67, p. 185, 1971. Apud MEARS, R. G.; SHENTON, J. Adulteration and characterization of orange and grapefruit juices. **Journal of Food Technology**, v. 8, p. 357-389, 1973.

- KADER, A. A. Quality factors: definition and evaluation for fresh horticultural crops. In: KADER, A. A. Postharvest technology of horticultural crops. California: University of California, p. 118-121, 1985.
- LEES, R. Food analysis and quality control methods for the food manufacturer and buyer. Leonard Hill Books, London, p.58-59, 1975.
- MARTENS, R. B.; BAARDSET, Y. G. Sensory quality. In: WEICHMANN, J. Postharvest physiology of vegetables. New York: Marcel Daker. p. 428-429, 1987.
- MCDONALD, A.A.; RISSE, L. A.; HITLLEBRAND, B. M. Resistance to thiabendazole and benomyl of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* isolated from citrus fruit from several countries. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 104, p. 333-335, 1979.
- MINELLI, E. V., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, M. M., PIRISI, F. M., CABITZA, F., CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal of Food Science**, v. 1, p. 57-62, 1996.
- MONEY, R. W.; CHRISTIAN, W. A. Journal of the Agricultural and Food Chemistry. V. 1, p. 8, 1950. Apud. MEARS, R. G.; SHENTON, A. J. Adulteration and characterization of orange and grapefruit juices. **Journal of Food Technology**, v. 8, p. 357-389, 1973.
- PEARSON, D. Laboratory techniques in food analysis. London: Butterworths, 1973, p. 58-60.
- PELSER, P. du T. Influence of thiabendazole and benomyl on Alternaria rot in stored grapefruit. **The citrus and Sub-Tropical Fruit Journal**. June, p. 15-17, 1974.
- PRUTHI, J. S.; MANAN, J. K.; TEOTIA, M. S.; SETTY, G. R.; EIPESON, W. E.; SAROJA, S.; CHIKKAPPAJI, K. C. Studies on the utilisation of kinnow and malta oranges. **Journal of Food Science and Technology**, v. 21, may/june, p. 123-127, 1984.

- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Journal of Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 25-28, 1984.
- SAVASTANO, G.; FAWCETT, H. S. A study of decay in citrus fruits produced by inoculations with know mixtures of fungi at different constant temperatures. **Journal of Agricultural Research**, v. 39, n. 3, 1929.
- SCHIFFMANN-NADEL, M.; WALKS, J.; GUTTER, Y.; CHALUTZ, E. Alternaria rot of citrus fruit. **Proceedings International Society Citriculture**, v. 2, P. 791-793, 1981.
- TUITE, J. Plant Pathological methods. Fungi and Bacteria. Department of Botany and Plant Pathology. Purdue University. Lafayette, Indiana: Burgess Publishing Company, 1969, 238 p.
- TUSET. J. J. Podredumbres de los frutos citricos: I Pesca. Valencia: Generalitat Valenciana. Conselleria D'agricultura, 1987, 205 p.

CAPÍTULO 3

PULVERIZAÇÃO DE LARANJAS 'PÊRA' COM IMAZALIL E
THIABENDAZOLE APÓS ARMAZENAMENTO COM
ETILENO: AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA NO COMBATE A
FUNGOS E DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DOS
FUNGICIDAS

PULVERIZAÇÃO DE LARANJAS 'PÊRA' COM IMAZALIL E THIABENDAZOLE APÓS ARMAZENAMENTO COM ETILENO: AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA NO COMBATE A FUNGOS E DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DOS FUNGICIDAS

RESUMO: Laranjas 'Pêra' foram previamente estocadas durante três dias com e sem etileno e em seguida pulverizadas com imazalil, thiabendazole e a mistura de ambos, formulados ou não com cera. Em seguida foram armazenadas durante 25 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R., seguidos de mais cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80\% \pm 5\%$ de U.R. Foram identificadas cinco espécies de fungos: *Penicillium digitatum*, *Alternaria sp.*, *Phytophthora sp.*, *Geotrichum candidum* e *Guignardia citricarpa*. Com exceção do atributo cor, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas nos demais parâmetros químicos e físico-químicos, independente da exposição ao etileno. Os resultados obtidos indicam que o etileno é eficiente no desverdecimento de laranjas, sem comprometer seus atributos de qualidade, e que o tratamento posterior com cera contribui para manter inalterado o padrão de cor obtido. A pulverização com imazalil foi eficaz no controle da incidência e do índice de doenças apenas para laranjas armazenadas a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. O tratamento com thiabendazole não foi efetivo no combate às doenças. Em ambos os casos, os níveis residuais dos fungicidas permaneceram abaixo das respectivas tolerâncias estabelecidas pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas.

PALAVRAS-CHAVE: Laranja; Fungos; Tratamento pós-colheita; Imazalil; Thiabendazole

SPRAYING OF 'PÊRA' ORANGE FRUIT WITH IMAZALIL AND THIABENDAZOLE AFTER STORAGE WITH ETHYLENE: EVALUATION OF EFFICIENCY AGAINST FUNGI AND RESIDUES LEVELS OF FUNGICIDES

SUMMARY: Oranges were previously stored for three days with air supplemented with ethylene and then sprayed with imazalil, thiabendazole and a mixture of both fungicides, formulated with and without wax. After the treatment, the oranges were stored during 25 days at $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ R.H., followed by a five days storage at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $80\% \pm 5\%$ R.H. Five pathogens were identified: *Penicillium digitatum*, *Alternaria* sp., *Phytophthora* sp., *Geotrichum candidum* e *Guignardia citricarpa*. With exception of the attribute color, no significative differences were observed in the chemical and physical-chemical parameters, independent of the exposure to ethylene. The results indicate that ethylene is effective for the degreening of orange with no action on the quality parameters. A further treatment with wax contributes to keep the pattern of colour unchanged. Spray application of imazalil was effective in controlling the incidence and disease index in oranges only when the fruits were stored at $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sparying with thiabendazole was not effective against the investigated diseases. For both fungicides, the residue levels were below the respective maximum residue level established by the Brazilian legislation in force.

KEY-WORDS: Orange, Pathogens, Treatment postharvest, Imazalil, Thiabendazole

1. INTRODUÇÃO

A laranja 'Pêra' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] é uma variedade brasileira com potencial para exportação no cenário mundial. Nas duas últimas décadas, o Brasil foi o maior produtor mundial desta variedade e as perspectivas de aumento de produtividade para os próximos anos são promissoras. As condições climáticas e o solo apropriado para o cultivo dos cítricos existentes no Brasil favorecem a colheita abundante desta variedade (HASSE, 1987; DONADIO et al., 1995; MAIA et al., 1996; ABECITRUS, 1999; FNP, 1999).

Entretanto, a alta umidade e a temperatura elevada, que prevalecem na maior parte do ano no Brasil, contribuem para que ocorram perdas de até 30% das frutas caso as mesmas não sejam submetidas a tratamento em pós-colheita com fungicidas. Tais perdas são causadas por fungos, os quais inoculam seus esporos na fruta, durante o crescimento desta no campo, provocando doenças que permanecem latentes, vindo a se manifestar depois da colheita. Outros fungos atacam a fruta após a colheita, até o consumo da mesma (BROWN & WILSON, 1968; ECKERT, 1978; CUÑAT & CASAS, 1979; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, 1991).

No mercado competitivo existente no cenário internacional, a qualidade da fruta é um dos principais fatores que determinam o volume de exportação. Alguns atributos em sua composição química, como ácido ascórbico, sólidos solúveis totais, acidez total titulável e cor, são utilizados como parâmetros de aferição da qualidade da laranja. Estas variáveis fisiológicas podem sofrer alterações se a laranja, no período compreendido entre a colheita e o consumo, ou seja, durante o transporte até o seu destino final, não receber um tratamento adequado em pós-colheita, seguido de armazenamento em temperatura e umidade controladas (BLEINROTH, 1973; KADER, 1985; THOMPSON, 1985; MARTENS & BAARDSET, 1987).

Outro fator que influencia a qualidade é o período de armazenamento associado com a atmosfera de estocagem. AHARONI & HOUCK (1982) verificaram

comportamentos diferentes quanto à alteração de cor em laranjas de variedade 'Rubi', 'Tarocco' e 'Sanguinello' submetidas à atmosferas com ar, etileno ou mistura de oxigênio e nitrogênio. Não foram observadas diferenças significativas nas características químicas e físico-químicas.

A cor é um atributo de grande importância porque é o primeiro contato que o consumidor tem com o alimento. Para obtenção de uma fruta com coloração atraente e que atenda ao padrão de aceitação do consumidor, utiliza-se a tecnologia de aplicação de etileno durante o armazenamento do fruto. O etileno é responsável pelo desverdecimento da casca das laranjas por meio da degradação da clorofila e da biossíntese dos carotenóides. Entretanto, embora a aplicação deste gás solucione a rejeição de frutas com coloração verde, pode acentuar em algumas variedades de citros a vulnerabilidade da fruta em contrair determinadas doenças de pós-colheita (WINSTON, 1933; BROOKS, 1944; GRIERSON & NEWHALL, 1960; YOUNG & JAHN, 1972; EL-ZEFTAWI, 1973; KITAGAWA et al., 1978).

A tecnologia de pós-colheita com fungicidas pode neutralizar a ação dos fungos se aplicada de maneira criteriosa. Existem várias técnicas de aplicação da calda fúngica. A pulverização tem sido uma das mais empregadas e, entre os fungicidas, o imazalil e o thiabendazole têm sido utilizados com mais frequência no combate a vários fungos, como o *Penicillium digitatum*, o *Penicillium italicum*, o *Geotrichum candidum* e o *Alternaria citri*, em diferentes variedades de laranjas (GUTTER et al., 1974; BROWN et al., 1983; KITAGAWA & TANI, 1984; TUSET, 1987; BROWN & CRAIG, 1989).

Aspectos toxicológicos associados com o uso de fungicidas tornam obrigatória a determinação de seus resíduos ao término do tratamento ou ao final de cada período de armazenamento, de forma a garantir níveis abaixo dos limites estabelecidos por legislações específicas, tanto a nível nacional como internacional. No Brasil, o thiabendazole foi registrado para uso em pós-colheita para algumas frutas, com limite máximo de 10,0mg/kg para a laranja inteira,

enquanto o imazalil foi registrado, oito anos depois, com Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecido em 5,0mg/kg (RAO, 1984; BRASIL, 1990; BRASIL, 1998).

Os objetivos deste trabalho foram identificar as doenças e fungos em laranjas 'Pêra', avaliar a eficiência da pulverização das frutas com imazalil e thiabendazole no controle dos fungos, quantificar os níveis residuais destes fungicidas e determinar os atributos ácido ascórbico, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), pH e cor, no período de armazenamento, com e sem etileno.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes e Padrões

Os padrões de imazalil (Dr. Ehrenstorfer, Augusburg, Alemanha) e thiabendazole (Merck & Co., Inc., Rahway, NJ) foram dissolvidos em metanol grau resíduo (Lichrosolv), para preparação de soluções a 100mg/L. Em seguida, por diluição em hexano para resíduo (Lichrosolv), obtiveram-se as concentrações de 10, 5,0, 1,0, 0,5, 0,2 e 0,1mg/L de ambos os fungicidas. Os demais reagentes utilizados foram NaCl (tratado previamente em mufla, durante oito horas, a 450°C), Na₂SO₄ (tratado previamente em mufla, durante oito horas, a 650°C) e o solvente acetato de etila para resíduo (Lichrosolv).

2.2 Matéria-Prima

Laranjas de variedade 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) foram cultivadas no ano de 1998 na Fazenda da Indústria FISCHER Agropecuária, no município de Matão/SP, sem aplicação dos fungicidas imazalil e thiabendazole. As laranjas foram colhidas em fevereiro de 1999, transportadas até o local da realização dos ensaios, lavadas com água (para retirada de sujidades oriundas da colheita) e secadas.

2.3 Tratamento Pós-Colheita Pulverização (Aplicação Prévia de Etileno)

Após colheita no campo, as laranjas foram transportadas até o 'packing house' e submetidas seqüencialmente às seguintes etapas: 1) aplicação prévia de etileno (4mL/L) durante 3 dias; 2) tratamento em pós-colheita por pulverização com os fungicidas imazalil e thiabendazole; 3) armazenamento durante 25 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ U.R., seguidos de mais cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ U.R. (Figura 1).

Na primeira etapa, as laranjas foram pulverizadas com solução de thiabendazole (1000mg/L) e então separadas em dois lotes e armazenadas por 3 dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ UR. Um dos lotes foi ainda submetido à aplicação diária de etileno/ar sintético (4mL/L), durante os três dias de armazenamento. Foram realizadas as análises de resíduos de thiabendazole antes e após o armazenamento.

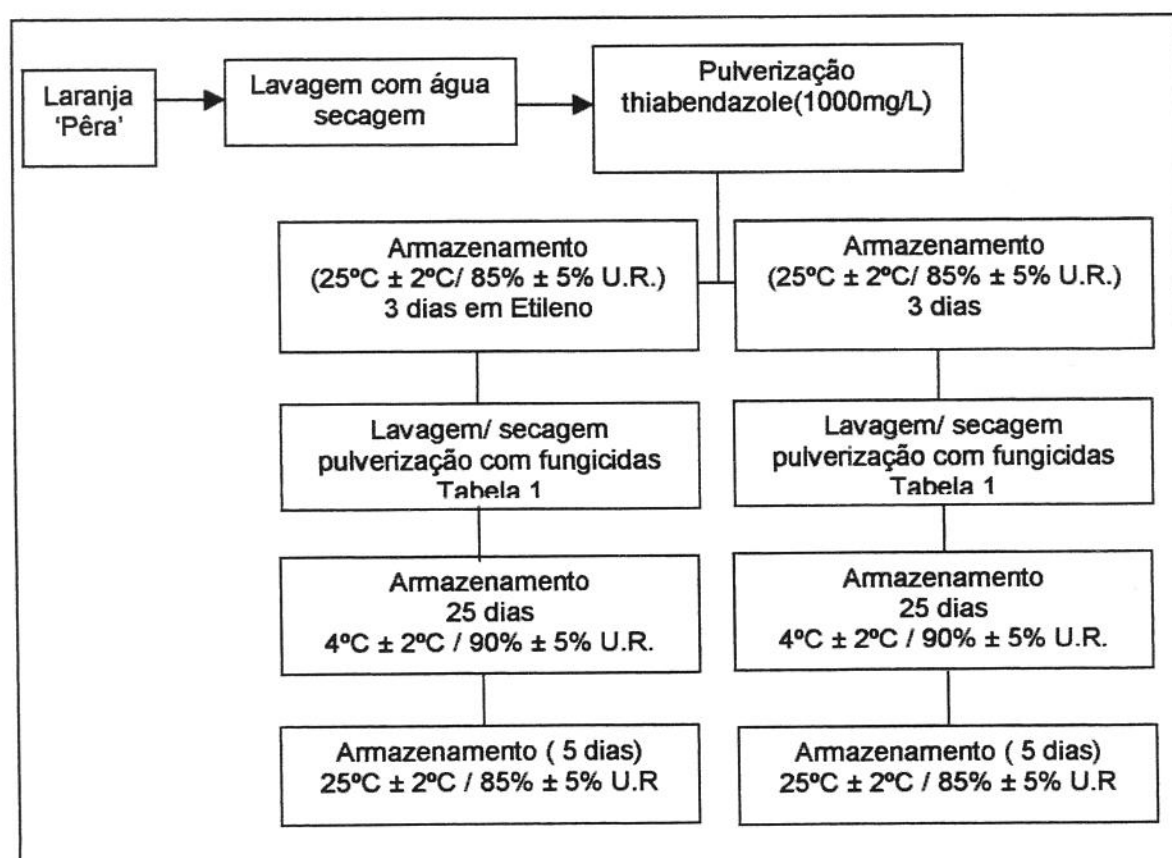


FIGURA 1. Fluxograma do ensaio com as laranjas.

Na segunda etapa, as laranjas armazenadas previamente com e sem etileno foram lavadas separadamente, secadas e divididas em oito lotes. Um dos lotes não foi submetido a nenhum tratamento (controle) e os restantes foram submetidos à pulverização com imazalil (Magnate 500 CE) e thiabendazole (Tecto 600) em combinação com espalhante adesivo (Agral) e cera, sendo que um deles foi pulverizado apenas com cera (testemunha) (Tabela 1) Para cada tratamento foram realizadas três repetições.

As laranjas correspondentes aos tratamentos 3, 4, e 5 foram pulverizadas apenas uma vez com os fungicidas formulados juntos com a cera e as dos tratamentos 6, 7 e 8 (Tabela 1) foram pulverizadas duas vezes, a primeira com os fungicidas formulados com espalhante adesivo, seguido de uma segunda pulverização com cera.

Tabela 1. Tratamentos de laranjas em pós-colheita por pulverização com fungicidas.

Tratamento	Fungicida + Cera	Fungicida + EA (0.002%)	Cera
1 (Controle)	-	-	-
2 (Testemunha)	-	-	Sim
3	IMZ [1000mg/L]	-	-
4	TBZ [1000mg/L]	-	-
5	IMZ+TBZ [1000+1000mg/L]	-	-
6	-	IMZ [1000mg/L]	Sim
7	-	TBZ [1000mg/L]	Sim
8	-	IMZ+TBZ [1000+1000mg/L]	Sim

EA= Espalhante Adesivo. IMZ= Imazalil. TBZ = Thiabendazole

A pulverização foi realizada de forma automatizada no galpão de embalagem da indústria FISCHER Agropecuária. O sistema era formado por uma esteira em movimento, por onde as frutas eram conduzidas, com dois pontos fixos para pulverização separados entre si no percurso das laranjas. Os pulverizadores consistiam de uma tubulação com quatro furos na parte inferior, colocada acima e disposta perpendicularmente à passagem das frutas, interceptada por uma bomba de sucção, com a outra extremidade do tubo submersa em recipiente de plástico de 200 litros em constante agitação, onde foram preparadas as caldas. No local onde ocorria a pulverização, as laranjas eram submetidas a movimento de rotação

para permitir o completo contato com o fungicida. Após pulverização, ainda na esteira, as laranjas passaram por um túnel com ventilação forçada, onde as frutas eram secadas. No final do percurso, as laranjas já secas foram separadas uniformemente por tamanho e cor por meio de comando acionado por computador.

2.4 Armazenamento

Após serem submetidas ao tratamento pós-colheita pulverização e secadas conforme descrito no item anterior, as laranjas foram acondicionadas em caixas de papelão com orifícios, tampadas e armazenadas em câmara, durante 25 dias, a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R. acrescentando-se mais cinco dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ de U.R.

2.5 Homogeneização e Análises das Laranjas

Terminado o primeiro período de armazenamento, dez laranjas inteiras foram cortadas em pequenos pedaços, homogeneizadas em processador, acondicionadas em frascos de vidro fechados com tampas envolvidas em papel alumínio e armazenadas em congelador a -20°C até a ocasião das análises de resíduos dos fungicidas. Dez laranjas foram destinadas às determinações de pH, sólidos solúveis totais (SST), ácido ascórbico, acidez total titulável (ATT) e cor (a, b, L). Foram realizadas três repetições para cada uma destas análises.

As análises para caracterização de fungos, incidência e índice de doenças foram realizadas com quinze amostras do primeiro e segundo armazenamentos, com quatro repetições.

2.6 Método de Extração dos Fungicidas

O método de MINELLI et al. (1996) foi utilizado para extração de imazalil e thiabendazole em laranjas. Em tubo de vidro de 50mL foram pesados 5g de amostra, adicionando-se a seguir 2g de NaCl e 10mL da mistura hexano:acetato

de etila (1:1 v/v). O tubo foi fechado com tampa de teflon e agitado durante 30 minutos em agitador rotatório. Após 10 minutos de repouso, transferiu-se uma alíquota de 5,0mL do sobrenadante para um tubo concentrador contendo 0,5g de Na_2SO_4 .

Após cinco minutos, o extrato foi transferido para outro tubo e evaporado até 1,0mL, ou diluído até a faixa de concentração da resposta linear do detector, e injetado em cromatógrafo gasoso.

2.7 Quantificação por Cromatografia Gasosa

As análises de imazalil e de thiabendazole foram conduzidas utilizando-se cromatógrafo a gás HP 6890 acoplado a microcomputador, equipado com detectores de ionização de chama (FID) e de fotometria de chama (FPD), respectivamente. Foram utilizadas as seguintes condições de análise:

Cromatógrafo com detector FID: coluna capilar HP-50+50% fenil metil siloxano (30m de comprimento, 320 μm de diâmetro interno e 0,25 μm de filme); vazão do gás de arraste (N_2) 2,0mL/min; programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, vazão 64,6mL/min; injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga 60mL/min até um minuto; detector a 300°C com H_2 a 35mL/min, ar sintético a 400mL/min e "make up" de 35mL/min. O tempo de retenção para o imazalil, nestas condições, foi de 17,5 minutos.

Cromatógrafo com detector FPD: coluna capilar HP-5% Fenil metil polissiloxano (30m de comprimento, 320 μm de diâmetro interno, 0,25 μm de filme); vazão do gás de arraste N_2 a 2,0mL/min; com a mesma programação de coluna usada no detector FID; injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga 15mL/min até um minuto; detector a 250°C com filtro para detecção de enxofre (393nm); H_2 hidrogênio a

50mL/min; ar sintético 60mL/min e “make up” a 60mL/min. Nestas condições, o tempo de retenção do thiabendazole foi de 16,5 minutos.

As curvas analíticas foram construídas relacionando área do pico versus concentração (mg/L) do imazalil e thiabendazole, com linearidade nas faixas de concentrações de 0,2mg/L a 2,0mg/L e de 0,1mg/L a 2,0mg/L, com coeficientes de correlação de 0,9962 e 0,9997, respectivamente.

2.8 Fortificação e Recuperação

As amostras isentas dos fungicidas foram fortificadas com thiabendazole e imazalil nas concentrações de 0,5mg/kg e 1,0mg/kg. Em seguida, extraíram-se o thiabendazole e imazalil, segundo o procedimento descrito no subitem «Método de Extração dos Fungicidas». Para quantificação foi utilizado o método do padrão externo, usando-se a curva analítica obtida nas mesmas condições de análise utilizadas para as amostras.

2.9 Análise de Fitopatologia

Para isolamento dos patógenos foi utilizada a metodologia de TUIE (1969), como descrito a seguir. Fragmentos da amostra com sintomas de doenças foram retirados com uma lâmina cirúrgica, higienizados para eliminação das sujidades superficiais e depositados em placa de Petri contendo álcool etílico (70%) durante trinta segundos. Em seguida, os fragmentos foram retirados desta placa e colocados em outra placa de Petri com hipoclorito de sódio (2%). Posteriormente, os fragmentos foram enxaguados duas vezes em água esterilizada e colocados em papel de filtro para secagem. Na sequência, foram colocados em meio de cultura (BDA – Batata Dextrose Ágar), introduzidos em uma câmara asséptica (câmara de germinação Marconi tipo BOD –MA403) e incubados neste meio. Observou-se, durante três dias, o crescimento dos patógenos.

A identificação dos patógenos causadores de podridões pós-colheita foi realizada com auxílio de chave de classificação, referências bibliográficas, analisando-se as

estruturas dos microrganismos em microscópio óptico (Nikon – Labophot –2). As estruturas foram retiradas tanto de lesões de frutas como da cultura pura do patógeno, em meio de cultura.

Para análise de incidência de doenças, realizou-se a contagem do número de laranjas que apresentavam sintomas de doenças. Para a severidade adotou-se um sistema de notas variando de zero a quatro, de acordo com a área lesionada na laranja (0=nenhum; 1=1 a 25%; 2=25% a 50%; 3=50% a 75%; 4=75% a 100%). Após determinação da severidade, obteve-se o índice de doenças utilizando-se a fórmula abaixo, onde ID=índice de doenças, $n_{(1...4)}$ =número de laranjas infectadas (escala de notas) e N=número total de laranjas. T=nota máxima.

$$ID (\%) = \frac{[(1. n_1) + (2. n_2) + (3. n_3) + (4. n_4)] \times 100}{T.N}$$

2.10 Análises Químicas (Ácido Ascórbico, ATT)

O método de Tilmans (LEES, 1975) foi utilizado para quantificação do teor de ácido ascórbico em suco da laranja. Em 100g do suco, adicionou-se 1% de ácido oxálico, titulando-se a seguir com solução de 2,6-diclorofenollindofenol-sódio (DCFI) (2%) até aparecimento de coloração rosada persistente. O resultado foi expresso em mg de ácido ascórbico/100g de suco.

A acidez total titulável (ATT) em amostras de laranja foi expressa como quantidade de ácido cítrico determinada por titulação com 0,1mol/L de NaOH, utilizando-se de pHmetro digital Mettler Toledo modelo 320 com eletrodo Mettler Toledo Inlab 413, até ponto de viragem em pH 8,10 (CARVALHO et al., 1980). O resultado é expresso em mg de ácido cítrico anidro em 100g de suco.

2.11 Análises Físico-Químicas

Para determinação do pH do suco das laranjas foi utilizado o pHmetro digital Mettler Toledo modelo 320 com eletrodo Mettler Toledo Inlab 413, com compensação automática de temperatura (IAL, 1985).

A quantificação dos sólidos solúveis totais (SST), em °Brix, foi obtida por meio de leitura em refratômetro Atago modelo N1, com escala de 0-32° (PEARSON, 1973).

Para a avaliação da cor da fruta foi utilizado o Colorímetro Minolta modelo CR-300, utilizando o sistema "L", "a" e "b". Sendo L a luminosidade que varia de 0 (preto) a 100 (branco) e "a" e "b" são coordenadas de croma, onde -a (verde), +a(vermelho) e -b(azul), +b(amarelo), ambos variando de -60 a +60. Foram marcados dois pontos em cada pólo e mais dois pontos no equador da laranja para realização das medidas diretas de cor.

2.12 Análise Estatística

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento completamente casualizado, com três repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância paramétrica univariada e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (GOMES, 1976). No caso das análises de incidência e índice de doenças, foi adotada a transformação $\sqrt{x/100}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A separação automatizada das laranjas por tamanho e cor fez com que as amostras utilizadas no experimento fossem uniformes. O tratamento com etileno foi realizado antes da pulverização com os fungicidas e posterior armazenamento, uma vez que, operacionalmente, é mais prático comercializar a laranja imediatamente após sua chegada ao destino final.

3.1 Análises Químicas e Físico-Químicas

Os resultados das análises de acidez total titulável (ATT), pH, ácido ascórbico e sólidos solúveis totais (SST) encontram-se na Tabela 2. De acordo com os resultados obtidos, observa-se que não ocorreu diferença significativa quando se comparam todos os atributos químicos e físico-químicos das laranjas armazenadas com et e sem etileno, dentro do mesmo tratamento e período de armazenamento.

Analisando-se separadamente os dados obtidos para as amostras armazenadas com e sem etileno, verifica-se também que não ocorreu diferença significativa nos valores de acidez total titulável (ATT), pH e sólidos solúveis totais (SST) entre os tratamentos no mesmo período de armazenamento e nem entre os dias de armazenamento considerando-se o mesmo tratamento.

A não variação nos valores de pH e sólidos solúveis totais (SST) encontrados no presente estudo também foi observada por MILLER & McDONALD (1991), em laranjas de variedades 'Marsh' e 'Ruby red' ao final do armazenamento de quatro semanas a 10°C, seguido de uma semana a 21°C. Laranjas de variedade 'Ruby', 'Taroco' e 'Sanguinello' também apresentaram os mesmos valores de SST ao final do armazenamento de quatro semanas a 15°C nas atmosferas de ar, etileno/ar e mistura com diferentes proporções de oxigênio e nitrogênio (AHARONI & HOUCK, 1982)

Resultado semelhante ao observado no presente estudo também foi relatado por COHEN *et al.* (1990) que constataram a não alteração de SST e ATT em ácido cítrico de variedade 'Murcot' depois da aplicação de cera e posterior armazenamento por duas semanas a 5°C, seguido de mais uma semana a 17°C. Por outro lado, estes pesquisadores relataram que ocorreu diminuição da ATT nesta variedade cítrica submetida ao mesmo tratamento, quando as frutas foram armazenadas durante quatro semanas a 5°C, seguido de mais uma semana a 17°C.

TABELA 2. Teores médios e estimativa de desvio padrão de acidez total titulável (ATT) (mg de ácido cítrico/100g), sólidos solúveis Totais (SST) em °Brix, pH e ácido ascórbico (Ac. Asc.) (mg/100g) no início e final do armazenamento a 4°C±2°C / 90%±5% U.R.

Tratamentos Concentração (mg/mL)	Armazenamento (Dias)									
	0					25				
	ATT	SST	pH	Ac. Asc.		ATT	SST	pH	Ac. Asc.	
Controle	SE 0,87 ± 0,05 CE 0,92 ± 0,07	8,8 ± 0,5 8,8 ± 0,2	3,7 ± 0,0 3,7 ± 0,0	39,8 ± 1,2 39,8 ± 1,0		0,79 ± 0,04 0,81 ± 0,05	8,4 ± 0,1 8,3 ± 0,1	3,8 ± 0,0 3,8 ± 0,0	39,7 ± 1,1 36,1 ± 1,6	
Testemunha	SE 0,93 ± 0,02 CE 0,94 ± 0,03	10,1 ± 1,2 9,0 ± 0,3	3,7 ± 0,1 3,7 ± 0,0	39,7 ± 0,0 40,2 ± 2,1		0,89 ± 0,03 0,91 ± 0,09	8,7 ± 0,4 8,5 ± 0,2	3,7 ± 0,0 3,7 ± 0,0	39,7 ± 1,4 36,9 ± 1,8	
(IMZ+CERA)	SE 0,97 ± 0,03 CE 0,89 ± 0,06	9,3 ± 0,5 8,8 ± 0,8	3,6 ± 0,0 3,7 ± 0,0	38,8 ± 1,4 40,2 ± 1,9		0,85 ± 0,03 0,78 ± 0,05	8,4 ± 0,3 7,9 ± 0,1	3,8 ± 0,0 3,9 ± 0,0	37,4 ± 1,2 34,3 ± 1,0	
(TBZ+CERA)	SE 0,98 ± 0,04 CE 0,97 ± 0,11	9,2 ± 0,7 9,1 ± 0,5	3,6 ± 0,0 3,7 ± 0,0	41,9 ± 1,7 39,8 ± 0,2		0,94 ± 0,08 0,94 ± 0,04	8,6 ± 0,3 8,4 ± 0,1	3,7 ± 0,0 3,7 ± 0,0	41,6 ± 1,6 36,9 ± 0,4	
(IMZ+TBZ+ CERA)	SE 1,06 ± 0,11 CE 1,01 ± 0,08	8,8 ± 0,4 8,8 ± 0,7	3,6 ± 0,0 3,6 ± 0,0	41,9 ± 1,9 39,3 ± 1,6		0,91 ± 0,05 0,89 ± 0,05	8,4 ± 0,2 8,0 ± 0,1	3,7 ± 0,0 3,7 ± 0,0	37,5 ± 2,0 35,0 ± 2,4	
(IMZ+EA)+CERA	SE 0,98 ± 0,08 CE 0,97 ± 0,11	9,0 ± 0,2 9,0 ± 0,4	3,6 ± 0,0 3,6 ± 0,1	41,3 ± 0,9 40,7 ± 0,4		0,87 ± 0,02 0,83 ± 0,11	8,5 ± 0,1 8,0 ± 0,0	3,7 ± 0,0 3,8 ± 0,1	35,0 ± 0,7 35,4 ± 0,9	
(TBZ+EA)+CERA	SE 0,92 ± 0,07 CE 0,98 ± 0,04	8,3 ± 0,3 9,4 ± 0,5	3,6 ± 0,0 3,6 ± 0,0	39,2 ± 3,1 39,1 ± 0,8		0,87 ± 0,04 0,82 ± 0,03	8,3 ± 0,2 8,0 ± 0,1	3,8 ± 0,0 3,8 ± 0,0	35,9 ± 1,6 34,5 ± 0,7	
(IMZ+TBZ+EA)+CERA	SE 0,92 ± 0,03 CE 0,98 ± 0,03	8,9 ± 0,0 8,4 ± 0,2	3,7 ± 0,0 3,6 ± 0,0	39,3 ± 1,6 39,1 ± 1,7		0,81 ± 0,03 0,89 ± 0,09	8,0 ± 0,2 8,2 ± 0,4	3,8 ± 0,0 3,7 ± 0,0	34,5 ± 0,2 33,8 ± 0,9	

Obs: Estatisticamente pelo teste de Tukey (5%) não ocorreu diferença significativa dos atributos (ATT, SST, pH, Ac. Asc.) entre dias de armazenamento para o mesmo tratamento nem entre os tratamentos no mesmo armazenamento. Os resultados são média de três determinações. IMZ(Imazail – 1000mg/L). TBZ (Thiabendazole – 1000mg/L). SE – Sem Etileno. CE – Com Etileno.

Quanto ao ácido ascórbico, verifica-se que ocorreu um decréscimo de aproximadamente 10% entre o início e o final de 25 dias de armazenamento em praticamente todas as amostras tratadas ou não com etileno e submetidas à pulverização com fungicidas, seguida de aplicação com cera. Para o mesmo dia de armazenamento, observa-se que não ocorreu diferença significativa no teor de ácido ascórbico entre os tratamentos.

Além do tempo relativamente longo de armazenamento favorecer a redução do teor de ácido ascórbico, deve-se considerar também a contribuição do desverdecimento da fruta associado à aplicação de cera que, segundo PURVIS (1983), altera o processo fisiológico de transpiração e respiração da fruta, podendo influenciar a redução deste atributo.

Os resultados das análises de cor, referentes aos valores de "a" (azul-amarelo), "b" (verde-vermelho) e "L" (luminosidade) encontram-se na Figura 2. Conforme verificado nesta figura, os valores de "a" (azul-amarelo), de "b" (verde-vermelho) e de "L" das laranjas tratadas com e sem etileno apresentaram diferenças significativas dentro do mesmo tratamento e armazenamento. Os valores de "a", "b" e "L", sempre maiores para as laranjas tratadas com etileno, indicam que estas frutas apresentaram uma coloração mais amarela do que vermelha e maior luminosidade. Em ambos os tratamentos observa-se que os valores de "a", "b" e "L" das amostras-controle aumentaram com o período de armazenamento, enquanto para os outros tratamentos estes valores permaneceram inalterados. Este resultado pode ser atribuído à aplicação de cera em todas as amostras, exceto no controle, a qual influenciou na respiração fisiológica da fruta, bloqueando o desverdecimento durante o período de armazenamento.

Este resultado concorda com aqueles obtidos por MILLER & McDONALD (1989), que estudando a variedade de citros 'Minneola', tratada em pós-colheita com cera, verificaram a não alteração do parâmetro de cor "a" entre o início e o final de duas semanas a 4,4°C.

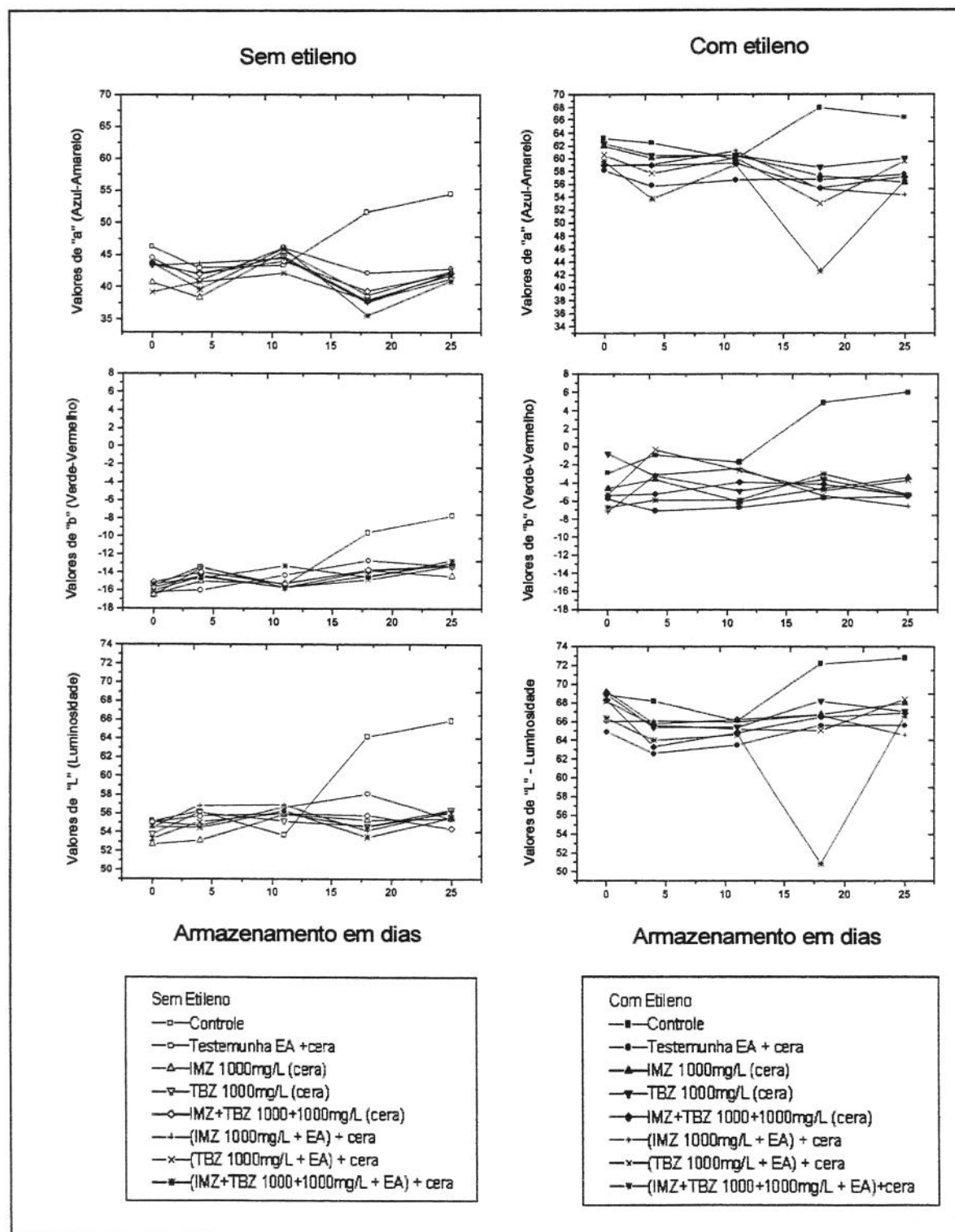


Figura 2. Valores de "a" (azul-amarelo), de "b" (verde-vermelho) e de "L" (luminosidade) das laranjas armazenadas com e sem etileno, durante o armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R.

Mesmo sem aplicação de cera, porém submetendo citrus de variedade 'Rubi red' ao tratamento pós-colheita com vapor quente, MILLER & MCDONALD (1991)

verificaram a não alteração do valor de “a” ao final do armazenamento de quatro semanas a 10°C.

3.2 Doenças (Identificação, Incidência e Índice) e Resíduos de Fungicidas

A pulverização das laranjas com as diferentes formulações de fungicidas foi realizada de forma automática, com as caldas sob constante agitação, permitindo a aplicação do produto de maneira homogênea. Também por um sistema automático e computadorizado, as amostras foram previamente separadas por tamanho e cor, garantindo a seleção uniforme das frutas.

Nas amostras analisadas foram encontradas as doenças de bolor verde (*Penicillium digitatum*), podridão negra (*Alternaria sp.*), podridão marrom (*Phytophthora sp.*), podridão amarga (*Geotrichum candidum*) e de pinta preta (*Guignardia citricarpa*). Não foram detectadas as doenças de bolor azul (*P.italicum*), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), podridão de *Aspergillus* (*Aspergillus niger*) e podridão peduncular (*Lasiodyplodia theobromae*).

Das doenças identificadas nas laranjas, a pinta preta, provocada pelo fungo *Guignardia citricarpa*, foi a de maior ocorrência. Esta doença provavelmente ocorreu durante o cultivo da laranja no campo, tendo o fungo permanecido na fruta depois da colheita.

Em relação às amostras com a pinta preta, observou-se maior incidência desta doença nas laranjas que foram submetidas ao desverdecimento com etileno, o que indica que nestas frutas os fungos encontraram uma situação mais favorável para se desenvolver. Resultados similares foram observados por McCORNACK (1971), em laranjas das variedades ‘Hamlin’ e ‘Valencia’, submetidas a desverdecimento com etileno. Neste estudo, a incidência das doenças de podridão peduncular e mofo verde foram maiores nas frutas desverdecidas com etileno do que naquelas armazenadas sem este gás.

Conforme os resultados apresentados, não ocorreu diferença na incidência e índice de doenças entre os tratamentos no primeiro armazenamento a 4°C e 90% de umidade relativa (Tabela 3).

Tabela 3. Incidência e índice de doenças (ID) $\arcsen \sqrt{x/100}$ em laranjas tratadas pós-colheita com diferentes concentrações de fungicidas, previamente expostas ou não ao etileno, no início e final do armazenamento a 4°C ± 2°C / 90% ± 5% de U.R.

ARMAZENAMENTO (25 dias a 4°C ± 2°C / 90% ± 5% de U.R.)			Tratamento Pós-Colheita das laranja							
			Controle	Testemunha	Fungicida + cera			Fungicida + EA, seguido de cera		
					IMZ 1000*	TBZ 1000*	IMZ+TBZ 1000+1000*	IMZ 1000*	TBZ 1000*	IMZ+TBZ 1000+1000*
INCIDÊNCIA	CE	INÍCIO	21,2	21,1	28,1	9,1	12,1	19,9	12,3	5,3
		FIM	14,8	21,7	18,2	24,2	25,8	21,9	29,1	22,8
	SE	INÍCIO	15,9	9,8	14,5	8,4	10,5	12,1	16,6	10,4
		FIM	24,0	14,4	13,7	7,0	12,1	14,4	17,0	22,8
ID	CE	INÍCIO	21,2	21,1	31,0	13,9	12,1	19,9	12,3	17,7
		FIM	21,4	28,7	24,0	28,6	30,7	23,0	31,5	24,8
	SE	INÍCIO	20,1	17,3	14,5	12,1	14,3	18,9	17,7	10,4
		FIM	24,0	19,1	14,8	19,1	22,8	14,4	22,5	24,8

CE =com etileno. SE=sem etileno. EA =Espalhante adesivo. IMZ=imazalil. TBZ=thiabendazole
*=mg/L. As análises da ocorrência de podridões não foram feitas na mesma amostra no início e final do experimento. Os resultados são média de 4 repetições com 15 frutos por parcela.

Os resultados das análises de incidência e índice de doenças no início e final do segundo armazenamento encontram-se na Tabela 4.

Verificam-se nas Tabelas 3 e 4 que na maioria das amostras submetidas previamente à estocagem com etileno ocorreram dentro do mesmo tratamento e armazenamento maior incidência e índice de doenças do que as não tratadas com este gás.

Tabela 4. Incidência e índice de doenças (ID) $\arcsen\sqrt{x/100}$ em laranjas tratadas pós-colheita com diferentes concentrações de fungicidas, previamente expostas ou não ao etileno, no início e final do armazenamento.

ARMAZENAMENTO (5 dias a 25°C ± 2°C / 85% ± 5% de U.R.)			Tratamento Pós-Colheita das laranja							
			Controle	Testemunha	Fungicida + cera			Fungicida + EA, seguido de cera		
					IMZ 1000*	TBZ 1000*	IMZ+TBZ 1000+1000*	IMZ 1000*	TBZ 1000*	IMZ+TBZ 1000+1000*
INCIDÊNCIA	CE	INÍCIO	21,2	21,1	31,0	13,9	12,1	19,9	12,3	17,7
		FIM	21,4	28,7	24,0	28,6	30,7	17,9	31,5	24,8
	SE	INÍCIO	20,1	17,3	14,5	12,1	14,3	18,9	17,7	10,4
		FIM	24,0	19,1	14,8	19,1	22,8	14,4	22,5	24,8
ID	CE	INÍCIO	10,4	10,3	14,4	6,9	6,0	9,7	6,1	8,7
		FIM	12,2	9,1	10,8	16,6	18,0	11,6	15,6	14,8
	SE	INÍCIO	9,9	8,6	7,2	6,0	7,3	5,3	7,8	5,1
		FIM	13,1	9,4	7,3	9,9	10,4	7,1	10,9	15,4

CE =com etileno. SE=sem etileno. EA =Espalhante adesivo. IMZ=imazalil. TBZ=thiabendazole
*=mg/L . As análises da ocorrência de podridões não foram feitas na mesma amostra no início e final do experimento. Os resultados são média de 4 repetições com 20 frutos por parcela.

O armazenamento das laranjas pulverizadas com imazalil (1000mg/L), seguido ou não da aplicação de cera, resultou na redução ou manutenção da incidência de doenças. Entretanto, em todas as outras amostras tratadas com fungicidas, incluindo o controle e a testemunha, observou-se que a incidência de doenças aumentou no final do armazenamento.

Nas laranjas pulverizadas com imazalil formulado junto com a cera, o índice de doenças permaneceu o mesmo ou foi reduzido após o segundo período de armazenamento. Em todos os outros tratamentos, as amostras apresentaram aumento do índice de doenças ao final do armazenamento. Como ocorrido para a incidência, verifica-se que o índice de doenças foi maior nas amostras tratadas previamente com etileno do que naquelas não submetidas a este gás.

Esta tendência de susceptibilidade às doenças em amostras desverdecidas com etileno já foi relatada por outros pesquisadores. McCORNACK (1971) constatou maior incidência de doenças em laranjas de variedades 'Hamlin' e 'Valencia', quando as mesmas foram armazenadas com 4mL/L de etileno. Outros trabalhos também confirmam maior inoculação natural de fungos em citros, decorrente da aplicação deste gás para desverdecimento da casca (FULTON et al., 1929; WINSTON, 1933; BROOKS, 1942; BROOKS, 1944).

As fortificações e os resultados das recuperações dos resíduos de imazalil e thiabendazole na laranja inteira encontram-se na Tabela 5. Verifica-se que as recuperações estão na faixa de concentração dos valores aceitos internacionalmente (70% a 120%).

Tabela 5 - Fortificação e recuperação de thiabendazol e imazalil na laranja inteira.

Fungicidas	Fortificação (mg/kg)	n	Recuperação (%)		EDP (±)
			Amplitude	Média	
Imazalil	1.0	7	(82 - 117)	99.0	12.9
	0.5	5	(94 - 99)	97.0	1.8
Thiabendazole	1.0	8	(83 - 117)	92.6	10.9
	0.5	4	(84 - 117)	95.4	15.5

n = número de determinações. EDP=estimativa de desvio padrão.

Os resultados das análises de resíduos dos fungicidas no início e final do primeiro armazenamento encontram-se na Tabela 6.

Os níveis de resíduos de thiabendazole, decorrentes de sua pulverização em etapa anterior ao armazenamento das laranjas com etileno, foram de 1,86mg/kg e 1,87mg/kg nas laranjas tratadas com etileno e 1,86mg/kg e 1,80mg/kg para as não tratadas com etileno, respectivamente no início e fim dos três dias de armazenamento. Esta aplicação prévia com thiabendazole teve por finalidade proteger a laranja contra doenças favorecidas nas condições utilizadas para desverdecimento das laranjas.

Tabela 6. Resíduos dos fungicidas no início e final do armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R. de laranjas estocadas previamente com ou sem etileno.

Dias		Tratamento Pós-Colheita / Resíduos dos Fungicidas (mg/kg) ^(a)							
		Fungicida (mg/L) + Cera				Fungicida (mg/L) + EA, seguido de Cera			
		MZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000 + TBZ] 1000		IMZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000 + TBZ] 1000	
0	C/E	1,4 ± 0,1	4,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1	3,1 ± 0,7	1,0 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	3,4 ± 0,6
	S/E	1,5 ± 0,1	5,0 ± 0,5	1,0 ± 0,1	2,1 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,2	3,1 ± 0,0
25	C/E	1,5 ± 0,2	4,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	3,8 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,0	2,3 ± 0,7
	S/E	1,3 ± 0,2	2,5 ± 0,2	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,7	1,3 ± 0,2	1,7 ± 0,0	1,4 ± 0,1	2,9 ± 0,2

(a) Média de três determinações ± estimativa de desvio padrão. C/E = com etileno, S/E = sem etileno. Armaz.=armazenamento.

Em todos os tratamentos, os níveis residuais dos fungicidas ficaram abaixo dos respectivos limites máximos de tolerância estabelecidos pela legislação vigente e CODEX (BRASIL, 1990, BRASIL, 1998, FAO/WHO, 1998).

4. CONCLUSÕES

Em relação aos resultados obtidos, conclui-se que:

A aplicação de etileno melhora os parâmetros de cor, tornando a aparência das laranjas mais atraente, e não compromete significativamente os outros atributos químicos e físico-químicos da fruta.

O tratamento com cera pode ser utilizado para manter inalterado um padrão de cor obtido após aplicação do etileno.

O desverdecimento das laranjas com etileno torna as frutas mais vulneráveis à incidência de doenças.

A pulverização com imazalil, formulado junto com cera ou seguido da aplicação de cera, é um tratamento eficiente no controle da incidência e do índice de doenças em laranjas 'Pêra', o mesmo não ocorrendo para o thiabendazole.

As laranjas estavam adequadas para consumo à luz das legislações Brasileira de resíduos de Pesticidas e do CODEX.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS. Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos. (<http://www.abecitrus.com.br/safrano.html>). **Produção de Laranja – Série Histórica**. Capturado em 28 de setembro de 1999.

AHARONI, Y., HOUCK, L. G. Change in rind, flesh, and juice color of blood oranges stored in air supplemented with ethylene or in oxygen-enriched atmosphere. **Journal of Food Science**, California, v. 47, p. 2091-2092, 1982.

BLEINROTH, E. W. Armazenamento de frutos e hortaliças. I. Fundamentos teóricos da conservação pelo frio de frutos e hortaliças. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, p. 35-53, 1973.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº. 37 de 30 de Outubro de 1990. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I p. 0755 de 31 de Outubro de 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº. 699 de 1 de setembro de 1998. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I p. 172-E de 9 de Setembro de 1998.

BROOKS, C. Prevention of stem end rot. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 55, p. 61-69, 1942.

- BROOKS, C. Stem-end rot of oranges and factors affecting its control. **Journal of Agricultural Research**, v. 68, n. 10, p. 363-381, 1944.
- BROWN, G. E., CRAIG, J. O. Effectiveness of aerosol fungicide applications in the degreening room for control of citrus fruit decay. **Florida Florida State and Horticultural Society**, v. 102, p. 181-185, 1989.
- BROWN, G. E., NAGY, S., MARAULJA, M. Residues from postharvest nonrecovery spray applications of imazalil to oranges and effects on green mold caused by *Penicillium digitatum*. **Plant Disease**, v. 67, n. 9, p. 954-957, 1983.
- BROWN, G. E., WILSON, W. C. Mode of entry of *Diplodia natalensis* and *Phomopsis citri* into Florida oranges. **Phytopathology**, v. 58, p. 736-739, 1968.
- CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N. **Análises químicas de alimentos**: manual técnico do Instituto de tecnologia de Alimentos. Campinas, 1990. 121 p.
- COHEN, E., SHALOM, Y., ROSENBERGER, I. Postharvest ethanol buildup and off-flavor in 'Murcott' tangerine fruits. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v. 115, n. 5, p. 775-778, 1990.
- CUÑAT, P., CASAS, A. Frutos, productos horticolas y derivados Tratamientos fungicidas para evitar las alteraciones posteriores a la recoleccion de los frutos cítricos. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 423-434, 1979.
- DONADIO, L. C., FIGUEIREDO, J. O., PIO, R. M. **Variedades cítricas brasileiras**. Jaboticabal, FUNEP. 1995. 228p.

- ECKERT, J. W. Post-harvest diseases of citrus fruit. **Outlook on Agriculture**, p. 225-232, 1978.
- EL-ZEFTAWI, B. M. De-greening of valencia oranges. **Food Technology in Australia**, September, v. 25, n. 9, p. 449-451, 1973.
- FAO/WHO. **CODEX ALIMENTARIUS**. 2ª Ed., Rome. V. 2B, p. 98, p.160, 1998.
- FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Agrianual 99**. São Paulo. 1999. 521p.
- FULTON, H. R., STEVENS, H. E., WOOTTEN, J. F. Injuries and rots that may follow the use of gases in the coloring of Florida citrus fruits. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 42, p. 184-191, 1929.
- GOMES, F. P. **Curso de Estatística Experimental**. 5ª Edição. Livraria Nobel S.A. São Paulo, 1976. 430p.
- GUTTER, Y., YANKO, U., DAVIDSON, M., RAHAT, M. Relationship between mode of application of thiabendazole and its effectiveness for control of green mould and inhibiting fungus sporulation on oranges. **Phytopathology**, v. 64, p. 1477-1478, 1974.
- GRIERSON, W., NEWHALL, W. F. Degreening of florida citrus fruits. **Univ. of Fla. Agr. Expt. Sta. Bul.**, v. 620, p. 1-80, 1960.
- HASSE, G. **A laranja no Brasil 1500-1987**: a história da agroindústria cítrica brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX. São Paulo: Edição Duprat E Iobe. 296 p., 1987.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo, 3ª Edição, Volume 1, ref. 12, n. 4.7.2., 1985.

- KADER, A. A. Quality factors: definition and evaluation for fresh horticultural crops. In: KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. California: University of California, p. 118-121, 1985.
- KITAGAWA, H., KAWADA, K., TARUTANI, T. Effectiveness of ethylene degreening of certain citrus cultivars. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 103, n. 1, p. 113-115, 1978.
- KITAGAWA, H., TANI, T. Effect of potassium sorbate and thiabendazole mixture on the control of green and blue molds of citrus fruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 52, n. 4, p. 464-468, 1984.
- LEES, R. **Food analysis and quality control methods for the food manufacturer and buyer**. Leonard Hill Books, London, p.58-59 , 1975.
- MCCORNACK, A. A. Effect of ethylene desgreening on decay of Florida citrus fruit. **Florida State Horticultural Society**, p. 270-272, 1971.
- MAIA, M. L., AMARO, A. A ., GONÇALVES, J.S., SOUZA, S. A. M. Produção e Comercialização das frutas cítricas no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 1-42, 1996.
- MARTENS, R. B., BAARDSET, Y. G. Sensory quality. In: WEICHMANN, J. **Postharvest physiology of vegetables**. New York: Marcel Daker. p. 428-429, 1987.
- MILLER, W. R., McDONALD, R. E.; Condition of waxed or film-wrapped 'minneola' tangelos after storage. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 102, p. 190-192, 1989.
- MILLER, W.R., McDONALD, R. E. Quality of stored "Marsh" and "Ruby Red" grapefruit after high-temperature, forced-air treatment. **HortScience**, v. 26, n. 9, p. 1188-1191, 1991.

- MINELLI, E. V., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, M. M., PIRISI, F. M., CABITZA, F., CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal of Food Science**, v. 1, p. 57-62, 1996.
- PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Postharvest-applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. **Journal of the Association Official Analalitical Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 745-765, 1991.
- PEARSON, D. **Laboratory techniques in food analysis**. London, Butterworths, London, p. 58-60, 1973.
- PURVIS, S. A. C. Moisture loss and juice quality from waxwd and individually seal-packed citrus fruit. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, v. 96, p. 327-329, 1983.
- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Food Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 25-28, 1984.
- THOMPSON, J. F. Storage systems. In: KADER, A. A. **Postharvest, technology of horticultural crops**. California, University of California. p. 49-53, 1985.
- TUITE, J. **Plant Pathological methods**. Fungi and Bacteria. Department of Borany and Plant Pathology. Purdue Uuniversity. Lafayette, Indiana. Burgess Publising Company, 238 p., 1969.
- TUSET. J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana. Conselleria D'agricultura. Valencia: I Pesca. 205 p., 1987.
- WINSTON, J. R. Some factors influencing decay in Florida citrus fruits. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 46, p. 82-84, 1933.

YOUNG, R., JAHN, O. Ethylene-induced carotenoid accumulation in citrus fruits rind. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 97, n. 2, p. 258-261, 1972.

CAPÍTULO 4

ESTUDO DA PERSISTÊNCIA DE THIABENDAZOLE E IMAZALIL EM LARANJA ‘PÊRA’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) TRATADAS EM PÓS-COLHEITA

ESTUDO DA PERSISTÊNCIA DE THIABENDAZOLE E IMAZALIL EM LARANJA 'PÊRA' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) TRATADA EM PÓS-COLHEITA¹

RESUMO: Estudou-se a persistência de thiabendazole e imazalil em laranjas 'Pêra' tratadas em pós-colheita por imersão e por pulverização, durante armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ U.R. por um período máximo de 28 dias. Antes do tratamento pós-colheita por pulverização, as laranjas foram separadas em dois lotes e armazenadas durante três dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ U.R. Um dos lotes foi submetido diariamente à aplicação de etileno durante o armazenamento e ambos os lotes foram tratados com cera durante a pulverização. Thiabendazole e imazalil foram quantificados por cromatografia gasosa com detector de fotometria de chama e ionização de chama, respectivamente. Nas laranjas submetidas a tratamento por imersão os níveis residuais de thiabendazole variaram na faixa de 0,10mg/kg a 0,76mg/kg e os de imazalil entre 3,65mg/kg e 13,85mg/kg, respectivamente. Com relação ao tratamento pós-colheita por pulverização os níveis residuais de thiabendazole variaram de 1,57mg/kg a 5,60mg/kg e para o imazalil de 0,97mg/kg a 1,71mg/kg. Nos dois tratamentos não foi observada diferença significativa nos níveis dos fungicidas entre o início e o final do armazenamento, mesmo com aplicação de etileno e do uso de cera associada aos fungicidas.

Palavras-chave: Laranja, pós-colheita, imazalil, thiabendazole e resíduos.

**PERSISTENCE OF THIABENDAZOLE AND IMAZALIL IN 'PÉRA'
(*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) ORANGES FRUITS
TREATED IN POSTHARVEST**

SUMMARY. Oranges fruits treated post-harvest by dipping and spraying with thiabendazole and imazalil were analysed for the persistence of the fungicides residues during storage at $4^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\%\pm 5\%$ R.H. for 28 days . Before the spraying treatment the oranges were divided in two portions and stored for three days at $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\%\pm 5\%$ U.R. During storage one of the portions was treated with ethylene and both with wax. Thiabendazole and imazalil were quantified by gas chromatography equipped with flame fotometric and flame ionization detectors, respectively. Levels of thiabendazole and imazalil in the range of 0.10mg/kg to 0.76mg/kg and 3.65mg/kg to 13.85mg/kg were found in the dipping treated oranges. The residues of thiabendazole and imazalil in the spraying treated oranges were in the range of 1.57mg/kg to 5.60mg/kg and 0.97mg/kg to 1.71mg/kg, respectively. In both treatments no significant differences were observed in the levels of fungicides residues during storage, even in the presence of ethylene and wax.

Key-words: Orange, post-harvest, imazalil, thiabendazole, residues.

1. INTRODUÇÃO

Existem vários trabalhos abordando a degradação de pesticidas no meio ambiente, em alimentos *in natura*, como vegetais e frutas, e mesmo durante as diferentes etapas de processamento de produtos alimentícios. As condições de temperatura e umidade, a composição química da matriz onde o pesticida encontra-se presente, a formulação dos produtos processados e o período de armazenamento são parâmetros importantes que podem influenciar o modelo de degradação (ANDERSON et al., 1963; KOIVISTOINEN et al., 1964; BIGHI & SAGLIETTO, 1965; KOIVISTOINEN & KARINPÄÄ, 1965; BENVENUE et al., 1968; BEYNON et al., 1968; BISTON et al., 1970; LAKOTA, 1970; SUETT, 1971; GUNTHER & WESTLAKE, 1973; BECK & HANSEN, 1974; EDWARDS, 1975; OPOROR, 1977; MESTRES et al., 1978; GUPTA & GUPTA, 1979; GREENHALGH & BELANGER, 1981; OLIVEIRA & TOLEDO, 1996; OLIVEIRA et al., 1997).

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja 'Pêra', muito embora no contexto internacional sua exportação não seja expressiva. Apesar disto, entre as frutas brasileiras exportadas, a laranja lidera em volume de exportação, tendo alcançado 99,2 milhões de toneladas em 1996, rendendo 20,4 milhões de dolares para o Brasil (HASSE, 1987; CARRARO & CUNHA, 1994; DONADIO et al., 1995; MAIA et al., 1996; AMARO & MAIA, 1997; ABECITRUS, 1999; FNP, 1999).

Logo após serem colhidas, as laranjas destinadas à exportação ou ao consumo interno estão sujeitas ao ataque de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria* e *Geotrichum*, responsáveis por podridões que inviabilizam a sua comercialização e consumo. Para diminuir a incidência destas doenças e garantir uma qualidade aceitável pelo consumidor, utiliza-se logo após a fruta ter sido colhida a tecnologia do tratamento em pós-colheita, que consiste em submeter as laranjas à aplicação de fungicidas por imersão ou pulverização (ECKERT & SOMMER, 1967; MUIRHEAD, 1974; SMOOT & BROWN, 1974; BROWN et al., 1983; RAO, 1984). Apesar da importância do uso de fungicidas para combater os fungos em pós-colheita, aspectos toxicológicos associados a estas substância podem acarretar

danos a saúde do consumidor, se as mesmas não forem administradas corretamente (VETTORAZZI, 1977; FAO/WHO, 1998).

Além deste tratamento pós-colheita, deve-se considerar também o padrão sensorial do consumidor europeu em relação à laranja madura. Diferente do brasileiro que consome laranja, independente da sua cor, os europeus exigem que a fruta tenha coloração amarela. Para atender esta exigência, as laranjas maduras amarelo-esverdeadas colhidas no Brasil devem ser submetidas à aplicação do gás etileno durante o armazenamento, de forma que as cascas sofram o processo de desverdecimento e adquiram a coloração amarela. O processo de desverdecimento das laranjas provocado pelo etileno está associado com a indução da decomposição da clorofila e a biossíntese dos carotenóides presentes na casca, embora este gás não exerça nenhuma influência sobre a cor do suco de laranja. Além desta aplicação, o etileno também é utilizado para acelerar o amadurecimento de vários tipos de frutas como manga, mamão, banana (EILATI, 1970; YOUNG & JAHN, 1972; HOUCK et al., 1978; KITAGAWA et al., 1978; EL-ZEFTAWI, 1973; AHARONI & HOUCK, 1980; CASTRO, 1988).

Depois da colheita, dependendo do país para onde a fruta será exportada, serão transcorridos no máximo 28 dias até as laranjas serem consumidas, período este correspondente à colheita, transporte até os galpões de embalagens ou “packing house”, tratamento pós-colheita com fungicidas, armazenamento com controle de temperatura e umidade durante o período de exportação, comercialização e consumo. Durante este período é importante estudar o comportamento dos fungicidas quanto ao aspecto da sua persistência.

Em função destes aspectos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a persistência dos fungicidas thiabendazole e imazalil em laranjas ‘Pêra’, após tratamento em pós-colheita por imersão e por pulverização com e sem aplicação de etileno, durante o período de armazenamento de 28 dias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-Prima

Foram utilizadas laranjas da variedade 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) da fazenda da empresa FISCHER S/A Agropecuária no município de Matão/SP, sem aplicação dos fungicidas imazalil e thiabendazole no campo. As frutas foram colhidas em fevereiro de 1999, transportadas até o "packing house" da FISCHER, lavadas com água (para retirada de sujidades oriundas da colheita) e secadas.

2.2 Tratamento Pós-Colheita por Imersão

O tratamento pós-colheita por imersão, o armazenamento e as análises de resíduos dos fungicidas obedeceram a seqüência das etapas descritas no fluxograma da Figura 1.

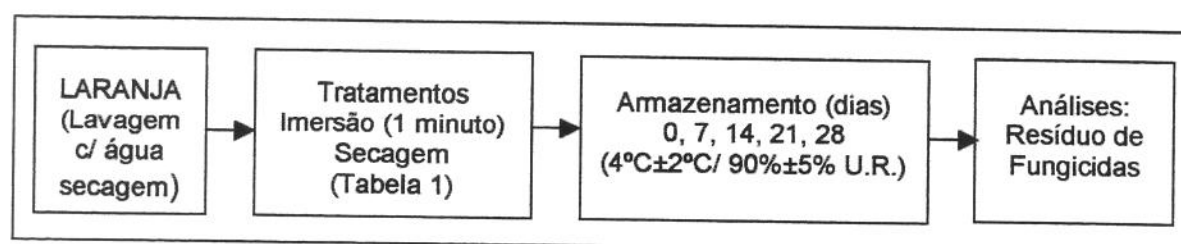


Figura 1. Fluxograma do tratamento de laranja em pós-colheita por imersão.

Tabela 1. Dosagens dos fungicidas nos tratamentos em pós-colheita por imersão.

Tratamentos	Fungicidas + Espalhante Adesivo
1	Controle
2	(Testemunha) E A
3	Imazalil (500mg/L) + E A
4	Imazalil (1000mg/L) + E A
5	Imazalil (2000mg/L) + E A
6	Thiabendazole (1000mg/L) + E A
7	Thiabendazole (2000mg/L) + E A
8	Thiabendazole (3000mg/L) + E A
9	Imazalil (1000mg/L) + Thiabendazole (1000mg/L) + E A
10	Imazalil (1000mg/L) + Thiabendazole (2000mg/L) + E A
11	Imazalil (2000mg/L) + Thiabendazole (1000mg/L) + E A

EA – espalhante adesivo (0,002g/100mL)

Na etapa correspondente ao tratamento em pós-colheita, reservaram-se dez recipientes de alumínio de 50L onde foram preparados 30 L de caldas contendo os fungicidas imazalil (Magnate 500 CE) e thiabendazole (Tecto 600), com 0,002g/100mL de espalhante adesivo (Iharaguen-s) em concentrações correspondentes aos tratamentos 2 a 11 (Tabela 1). O tratamento 1 correspondeu às laranjas que não foram submetidas a nenhum tratamento (controle). No tratamento 2, as amostras (testemunha) foram submetidas à imersão apenas com espalhante adesivo sem fungicidas. Foram realizadas três repetições para cada tratamento.

2.3 Tratamento Pós-Colheita por Pulverização (Aplicação Prévia de Etileno)

O tratamento pós-colheita por pulverização aplicado às laranjas está descrito no fluxograma da Figura 2.

Antes do tratamento pós-colheita por pulverização, as laranjas foram previamente tratadas com thiabendazole (1000mg/L) em solução aquosa, separadas em dois lotes e armazenadas por três dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $85\% \pm 5\%$ UR. Um dos lotes foi submetido à aplicação diária de etileno/ar sintético (4mL/L) durante este período. Foram realizadas as análises de resíduo de thiabendazole antes e após o armazenamento nestas condições.

Após este período, as laranjas foram lavadas, secadas e submetidas a oito tratamentos por pulverização. Destes oito tratamentos, dois foram destinados a amostras testemunhas (sem fungicidas) e o restante reservado para pulverização com imazalil (Magnate 500 CE) e thiabendazole (Tecto 600) em combinação com espalhante adesivo (Agral) e cera (Elf Atochem), conforme detalhado na Tabela 2. Para cada tratamento foram realizadas três repetições.

Os tratamentos em pós-colheita por pulverização foram realizados de forma automatizada no galpão de embalagem da indústria FISCHER S. A. Agropecuária. O sistema era formado por uma esteira em movimento, por onde as

frutas eram conduzidas, com dois pontos fixos para pulverização separados entre si no percurso das laranjas. Os pulverizadores consistiam de uma tubulação com quatro furos na parte inferior, colocada acima e disposta perpendicularmente à passagem das frutas, com a outra extremidade do tubo submerso em recipiente de plástico de 200L, onde foram preparadas as caldas, interceptada por uma bomba de sucção. No local onde ocorria a pulverização, as laranjas sofriam movimento de rotação para permitir o contato completo com o fungicida. Após pulverização, ainda na esteira, as laranjas passaram por um túnel com ventilação forçada onde as frutas eram secadas. No final do percurso as laranjas, já secas, foram separadas por tamanho e cor através de comando acionado por computador.

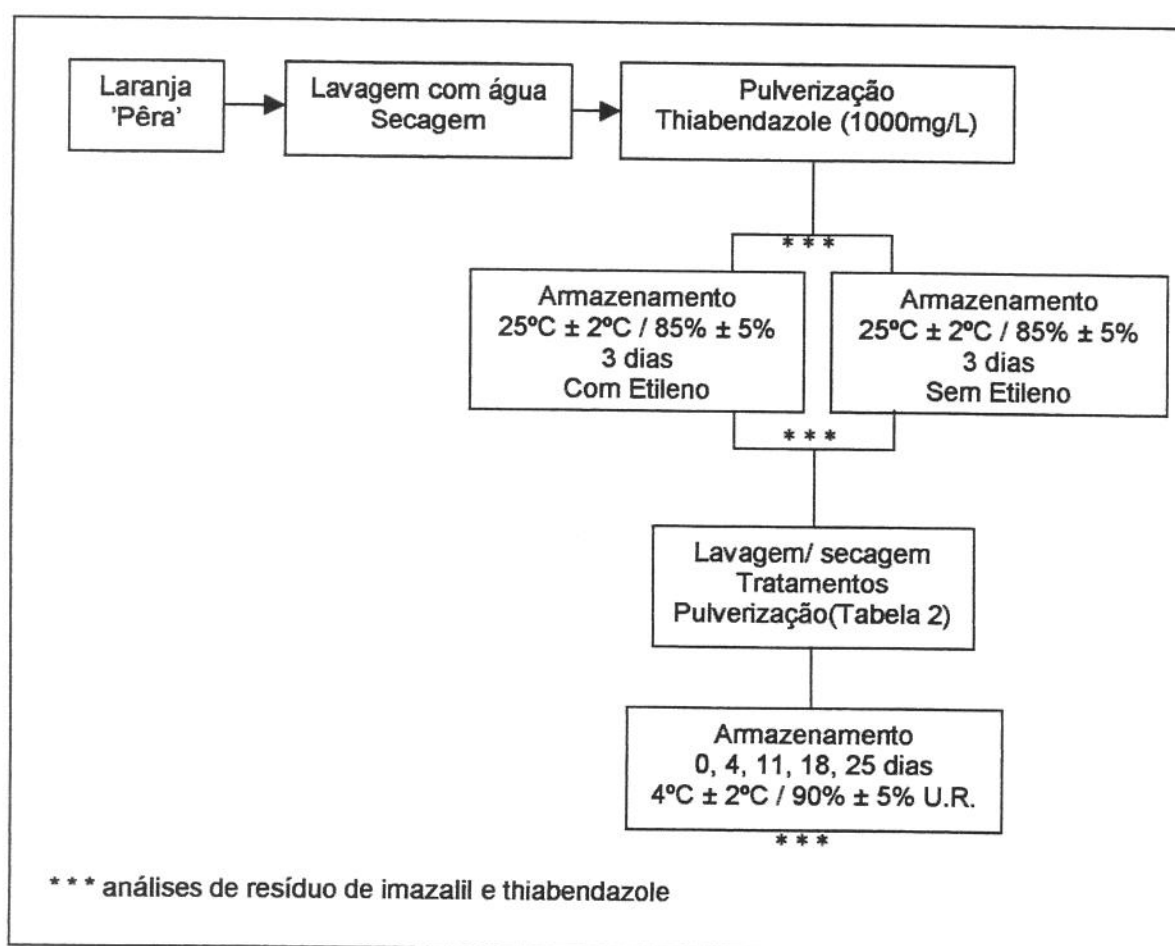


Figura 2. Fluxograma do tratamento pós-colheita por pulverização em laranja 'Pêra'.

Nos tratamentos 3, 4 e 5 as laranjas foram pulverizadas apenas uma vez com os fungicidas misturados junto com a cera, enquanto que nos tratamentos 6, 7 e 8 ocorreram duas pulverizações: primeiro a pulverização com os fungicidas misturados junto com o espalhante adesivo e, na sequência, uma segunda pulverização apenas com cera.

Tabela 2. Tratamentos de laranjas 'Pêra' em pós-colheita com fungicidas por pulverização.

Tratamento	Fungicida + Cera	Fungicida + EA	Cera
1(controle)	-	-	-
2(testemunha)	-	-	Sim
3	IMZ(1000mg/L)	-	-
4	TBZ(1000mg/L)	-	-
5	IMZ(1000mg/L)+TBZ(1000mg/L)	-	-
6	-	IMZ(1000mg/L)	Sim
7	-	TBZ(1000mg/L)	Sim
8	-	IMZ(1000mg/L)+TBZ(1000mg/L)	Sim

EA – Espalhante Adesivo (0,002g/100mL). IMZ= Imazalil, TBZ = Thiabendazole

2.4 Armazenamento

Após serem submetidas aos dois tratamentos em pós-colheita e secadas, as laranjas foram acondicionadas em caixas de papelão com orifícios, tampadas e armazenadas em câmara durante 0, 7, 14, 21 e 28 dias (tratamento por imersão) e 0, 4, 11, 18 e 25 dias (tratamento por pulverização), ambas a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R.

2.5 Homogeneização das Laranjas

Após cada período de armazenamento os frutos inteiros foram cortados em pequenos pedaços, homogeneizados em processador, acondicionados em frascos de vidro, fechados com tampas envolvidas em papel alumínio e armazenados em freezer a -20°C até a ocasião das análises de resíduos dos fungicidas.

2.6 Reagentes e Padrões

Soluções contendo 100mg/L (preparadas em metanol grau resíduo, Lichrosolv) dos padrões de imazalil (Dr. Ehrenstorfer, Augusburg, Alemanha) e thiabendazole (Merck & Co., Inc., Rahway, NJ) foram diluídas a 10, 5,0, 1,0, 0,5, 0,2 e 0,1mg/L com hexano grau resíduo (Lichrosolv). Os demais reagentes utilizados foram NaCl (tratado previamente em mufla durante oito horas a 450°C), Na₂SO₄ (tratado previamente em mufla durante oito horas a 650°C) e o solvente acetato de etila PR (Lichrosolv).

2.7 Método de Extração dos Fungicidas

A extração dos fungicidas foi conduzida conforme o método de MINELLI et al. (1996). Pesaram-se 5g de amostra em tubo de vidro 50mL, adicionando-se a seguir 2g de NaCl e 10mL da mistura hexano:acetato de etila (1:1 v/v). O tubo foi fechado com tampa de teflon e agitado durante 30 minutos em agitador rotatório. Após 10 minutos de repouso, transferiu-se uma alíquota de 5mL para um tubo concentrador contendo 0,5g de Na₂SO₄. Após cinco minutos, o extrato foi transferido para outro tubo e evaporado até 1mL, ou diluído até a faixa de concentração da resposta linear do detector, antes da injeção em cromatógrafo.

2.8 Quantificação por Cromatografia Gasosa

Para quantificação de imazalil foi utilizado cromatógrafo a gás HP 6890 acoplado a um microcomputador e equipado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar HP-50+50% fenil metil siloxano (30m de comprimento, 320µm de diâmetro interno e 0,25µm de filme). As demais condições cromatográficas foram: gás de arraste nitrogênio com vazão constante de 2,0mL/min; coluna submetida a programação de temperatura de 40°C durante dois minutos, primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (2 minutos); injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, vazão 64,6mL/min.; injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga

60mL/min até um minuto; detector a 300°C com hidrogênio a 35mL/min, ar sintético a 400mL/min e “make up” de 35mL/min com nitrogênio. O tempo de retenção para o imazalil nestas condições foi de 17,5 minutos.

Thiabendazole foi determinado no mesmo cromatógrafo, utilizando-se detector de fotometria de chama (FPD) e coluna capilar (pressão constante de 28,48psi) HP-5 % fenil metil polissiloxano (30m de comprimento, 320µm de diâmetro interno e 0,25µm de filme). As demais condições cromatográficas foram: coluna submetida à programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo “pulsed splitless” a 250°C, gás de arraste nitrogênio com pressão 58,6MPa e vazão de 2,0mL/min, injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, fluxo de purga 15mL/min até um minuto; detector a 250°C com filtro para detecção de enxofre (393nm), hidrogênio a 50mL/min, ar sintético 60mL/min e “make up” a 60mL/min com nitrogênio. Nestas condições, o tempo de retenção do thiabendazole foi de 16,5 minutos.

As curvas analíticas foram construídas relacionando área do pico versus concentração (mg/L) do imazalil e thiabendazole, com linearidade nas faixas de concentrações de 0,2mg/L a 2,0mg/L e de 0,1mg/L a 2,0mg/L, com coeficientes de correlação de 0,9962 e 0,9997, respectivamente.

2.9 Fortificação e Recuperação

As amostras isentas dos fungicidas foram fortificadas com concentrações de 0,5mg/kg e 1,0mg/kg de thiabendazole e imazalil. Em seguida, extraíram-se o thiabendazole e imazalil, segundo o procedimento descrito no sub-item «Método de Extração dos Fungicidas». Para quantificação foi utilizado o método do padrão externo, usando-se a curva padrão obtida nas mesmas condições utilizadas para as amostras.

2.10 Análise Estatística

O experimento foi conduzido utilizando o delineamento completamente casualizado, com três repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância paramétrica univariada e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (GOMES, 1976).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em ambos experimentos, as amostras testemunhas não apresentaram picos interferentes nos tempos de retenção de 17,5 e 16,5 minutos dos fungicidas imazalil e thiabendazole, respectivamente. As recuperações de imazalil e thiabendazole nas laranjas fortificadas com estes fungicidas estão na Tabela 3.

Tabela 3 - Fortificação e recuperação de thiabendazol e imazalil na laranja inteira.

Fungicidas	Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)			EDP (±)
		n	Amplitude	Média	
Imazalil	1.0	7	(82 - 117)	99.0	12.9
	0.5	5	(94 - 99)	97.0	1.8
Thiabendazole	1.0	8	(83 - 117)	92.6	10.9
	0.5	4	(84 - 117)	95.4	15.5

n = número de determinações. EDP=estimativa de desvio padrão.

3.1 Tratamento Pós-Colheita por Imersão

Os níveis residuais de thiabendazole e imazalil no tratamento pós-colheita por imersão encontram-se na Tabela 4.

O tratamento em pós-colheita por imersão é a técnica mais utilizada, principalmente para os fungicidas dos grupos de benzimidazol e imidazol. Como as frutas ficam submersas na solução, esta entra em contato com todas as partes

do fruto e, conseqüentemente, espera-se melhor eficácia no controle de podridões (TUSET, 1987).

Conforme pode ser verificado na Tabela 4, em todos os tratamentos por imersão com thiabendazole os níveis de resíduos deste fungicida ficaram abaixo do limite de 10,0 mg/kg, estabelecido para laranjas pelo CODEX (FAO/WHO, 1986) e pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas (BRASIL, 1990). Quanto ao imazalil, apenas o tratamento correspondente à mistura de 1000mg/L de ambos os fungicidas resultou em níveis residuais abaixo da tolerância de 5,0 mg/kg (BRASIL, 1998) durante todo o período de armazenamento.

Tabela 4. Média e estimativa de desvio padrão dos resíduos de imazalil (IMZ) e thiabendazole (TBZ) durante o período de armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R. em laranjas 'Pêra' tratadas pós-colheita por imersão.

Tratamentos		Armazenamento (dias)		Resíduos dos Fungicidas (mg/kg)		
Fungicida	(mg/L)	0	7	14	21	28
IMZ	500	$7,6 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,6$	$6,8 \pm 2,2$	$5,9 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,4$
	1000	$8,6 \pm 2,1$	$9,9 \pm 1,4$	$9,6 \pm 2,5$	$9,6 \pm 2,2$	$8,6 \pm 2,0$
	2000	$10,8 \pm 2,5$	$10,2 \pm 0,9$	$13,5 \pm 2,1$	$11,0 \pm 2,1$	$13,9 \pm 3,7$
TBZ	1000	$0,1 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$
	2000	$0,3 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$
	3000	$0,6 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,5$	$0,6 \pm 0,1$
IMZ + TBZ	1000 + 1000	I	$3,8 \pm 0,3$	$4,0 \pm 0,3$	$3,7 \pm 1,9$	$4,3 \pm 0,7$
		T	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$
	1000 + 2000	I	$4,8 \pm 0,4$	$5,3 \pm 1,6$	$4,1 \pm 0,1$	$5,0 \pm 1,3$
		T	$0,3 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$
	2000 + 1000	I	$6,5 \pm 0,1$	$7,7 \pm 0,9$	$8,6 \pm 0,6$	$6,2 \pm 0,6$
		T	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$

Pelo teste de Tukey (5%) não ocorreu diferença significativa entre os dias de armazenamento para o mesmo tratamento. I= imazalil. T= thiabendazole. Os resultados de resíduos são médias de três determinações.

Embora as concentrações das caldas nos tratamentos nos quais os fungicidas foram aplicados separadamente tenham sido as mesmas, os níveis residuais de imazalil foram bem superiores aos de thiabendazole, o que pode ser parcialmente atribuído às diferenças físico-químicas destes fungicidas, particularmente em relação à solubilidade. Outro fator relevante é a presença do espalhante adesivo

no tratamento com imazalil, associado com o produto comercial deste fungicida em estado líquido, que pode ter facilitado ainda mais a distribuição e retenção deste fungicida através da formação de uma película espessa em toda a fruta, favorecendo a maior concentração do nível residual deste fungicida (PERRY & RIZZI, 1970; CUÑAT & CASAS, 1974).

Através da Tabela 4 que com o aumento da concentração do fungicida aplicado na fruta houve um aumento dos níveis de resíduos na laranja, embora a proporção não tenha se mantido a mesma. Outros trabalhos relataram resultados semelhantes. LAFUENTE et al. (1984) submeteram a variedade de laranja 'Hernandina' ao tratamento em pós-colheita por imersão com imazalil nas concentrações de 500mg/L e 1000mg/L, obtendo após análise dos resíduos na fruta inteira, teores de 4,0mg/kg e 5,9mg/kg, respectivamente, não correspondentes, portanto, à mesma proporção do dobro das concentrações das caldas. SCHIRRA et al. (1996) relataram situações similares de não correspondência exata da proporção entre quantidade aplicada de fungicida e seus resíduos, em limão tratado em pós-colheita por imersão: 500mg/L(2,72mg/kg), 1000mg/L(3,91mg/kg), 1500mg/L(5,07mg/kg).

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, em todos os tratamentos não ocorreu variação significativa nos níveis residuais de imazalil durante os 28 dias de armazenamento. Uma persistência semelhante de imazalil em laranjas das variedades 'Washington navel' e 'Hernandina' foi relatada, por LAFUENTE et al. (1984). Estes pesquisadores submeteram ambas variedades ao tratamento pós-colheita por imersão com 500mg/L de imazalil e, ao final do armazenamento de sete dias a 18°C, os níveis de resíduos deste fungicida de 0,04mg/kg e 0,07mg/kg encontrado na polpa das variedades 'Washington navel' e 'Hernandina', respectivamente, mantiveram-se os mesmos. Já SCHIRRA et al. (1996), ao estudarem a persistência de imazalil em limão, após tratamento pós-colheita por imersão com 1000mg/L deste fungicida, relataram que os níveis residuais variaram de 19,05mg/kg a 8,85mg/kg entre o início e final do armazenamento de 13 semanas a 9°C, evidenciando degradação do imazalil.

Com relação aos resultados obtidos para o thiabendazole, também não houve diferença significativa entre 0 e 28 dias de armazenamento. Nota-se, entretanto, que nos tratamentos de TBZ(1000mg/L) e IMZ+TBZ(1000+1000mg/L), tanto no 21º como no 28º dias de armazenamento, foram determinados níveis de thiabendazole relativamente superiores aos dias anteriores. O mesmo comportamento ocorreu em 28 dias de armazenamento no tratamento IMZ+TBZ(1000+2000mg/L). Estes resultados podem ser parcialmente atribuídos à técnica de aplicação em pós-colheita, associada à baixa solubilidade do thiabendazole em água. Segundo TUSET, 1987, imediatamente e durante o tratamento pós-colheita por imersão a calda deve ser agitada continuamente para manter os fungicidas em suspensão. No caso do produto comercial Tecto, o mesmo é comercializado na forma de pó, insolúvel em água, o que faz com que o thiabendazole fique em suspensão na calda. Durante a imersão das laranjas, pelo fato da calda ter sido agitada manualmente, esta agitação não foi uniforme e contínua durante todos os tratamentos, não proporcionando a mesma homogeneização das partículas durante todo o processo. Como consequência, o thiabendazole pode não ter aderido à fruta de maneira uniforme, resultando em concentrações residuais variáveis.

Estudando o tratamento em pós-colheita de thiabendazole em limão, SCHIRRA et al. (1998), constataram a persistência deste fungicida após 13 semanas de armazenamento desta fruta a 8°C, seguido de uma semana a 20°C. Segundo estes pesquisadores, ao final do armazenamento o nível de thiabendazole foi equivalente a 70% do valor inicial.

3.2 Tratamento Pós-Colheita por Pulverização

Os níveis residuais de thiabendazole e imazalil nas amostras submetidas ao tratamento em pós-colheita por pulverização, sem e com aplicação prévia de etileno, encontram-se nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

O etileno foi aplicado antes do tratamento pós-colheita por pulverização porque, do ponto de vista operacional, fica mais fácil a laranja ser comercializada

imediatamente após a chegada ao seu destino final. Os níveis residuais de thiabendazole em zero e três dias ficaram entre 1,86 mg/kg e 1,87 mg/kg para as frutas não tratadas com etileno e entre 1,86 mg/kg e 1,80 mg/kg para as tratadas com etileno.

Tabela 5. Média e estimativa de desvio padrão dos resíduos de imazalil e thiabendazole durante o período de armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R., em laranjas "Pêra" tratadas pós-colheita por pulverização, sem aplicação prévia de etileno.

Dias	Tratamento Pós-Colheita / Resíduos dos Fungicidas (mg/kg)							
	Fungicida (mg/kg) + Cera				Fungicida (mg/kg) + EA seguido de Cera			
	IMZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000 + TBZ] 1000		IMZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000 + TBZ] 1000	
0	1,5 ± 0,1	5,0 ± 0,5	1,0 ± 0,0	2,0 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,2	3,1 ± 0,2
4	1,2 ± 0,3	4,6 ± 1,2	1,0 ± 0,1	2,6 ± 0,8	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,4	4,1 ± 1,2
11	1,4 ± 0,1	5,6 ± 1,0	1,2 ± 0,0	2,9 ± 0,4	1,4 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	3,0 ± 0,3
18	1,5 ± 0,0	4,9 ± 0,5	0,9 ± 0,1	2,9 ± 1,0	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1	3,0 ± 0,6
25	1,2 ± 0,2	2,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,1 ± 0,7	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,1	2,9 ± 0,2

Pelo teste de Tukey (5%) não ocorreu diferença significativa nos níveis de resíduos dos fungicidas entre os dias de armazenamento para o mesmo tratamento. Os resultados são média de três determinações. EA=espalhante adesivo (0,002g/100mL).

Não ocorreu diferença significativa entre os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole para as amostras tratadas, sem e com etileno, no teste de TUKEY (5%), (Tabelas 5 e 6, respectivamente), dentro do mesmo armazenamento e tratamento. Estes resultados foram similares aos obtidos por BROWN et al.(1983). Segundo estes autores, laranja de variedade 'Hamlin', submetida ao desverdecimento com etileno antes da aplicação em pós-colheita com imazalil, apresentaram os mesmos níveis de resíduos das amostras não tratadas com este gás. Segundo estes pesquisadores, o imazalil formulado com água e pulverizado em laranja apresentou mais resíduos nesta fruta do que quando aplicado junto com a cera. Este resultado também foi constatado no presente trabalho com a laranja 'Pêra', comparando-se as mesmas concentrações de imazalil nas Tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 6. Média e estimativa de desvio padrão de resíduos de imazalil e thiabendazole durante o período de armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R. em laranjas “Pêra” tratadas pós-colheita por pulverização, submetidas previamente à aplicação de etileno.

Dias	Tratamento Pós-Colheita / Resíduos dos Fungicidas (mg/kg)							
	Fungicida (mg/kg) + Cera				Fungicida (mg/kg) + EA seguido de Cera			
	IMZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000	+ TBZ] 1000	IMZ 1000	TBZ 1000	[IMZ 1000	+ TBZ] 1000
0	$1,4 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,7$	$1,0 \pm 0,0$	$1,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,6$
4	$1,7 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,0$	$1,4 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,3$
11	$1,7 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,0$	$1,3 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,4$
18	$1,3 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,9$	$1,0 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,3$
25	$1,5 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,0$	$1,7 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,0$	$2,3 \pm 0,7$

Pelo teste de Tukey (5%) não ocorreu diferença significativa nos níveis de resíduos entre os dias de armazenamento no mesmo tratamento. Os resultados são média de três determinações.

EA – espalhante adesivo (0,002g/100mL).

Os níveis de residuais de thiabendazole nas laranjas submetidas à aplicação junto com a cera (Tabelas 5 e 6) foram maiores do que quando o fungicida foi aplicado em solução aquosa (Tabela 4). O mesmo não ocorreu com imazalil. Com relação ao resultado do thiabendazole deve-se levar em consideração que, além da insolubilidade deste fungicida em solução aquosa, a cera provavelmente reteve com a mesma, por atração físico-química, mais partículas do fungicida em suspensão, levando para a superfície do fruto maior quantidade do thiabendazole.

Conforme os resultados apresentados nas tabelas 5 e 6, os níveis residuais de ambos os fungicidas estão abaixo dos limites estabelecidos pelo CODEX e Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas para a laranja.

A aplicação prévia de etileno para desverdecimento das laranjas não contribuiu para que o armazenamento das laranjas, por até 25 dias após tratamento pós-colheita por pulverização, produzisse algum efeito de diminuição dos níveis dos fungicidas. Vale destacar também a mesma persistência dos fungicidas durante o armazenamento, tanto para as aplicações de cera formulada com os fungicidas como para as aplicações dos fungicidas formulados com espalhante adesivo seguido da aplicação de cera.

Os níveis de thiabendazole na laranja após tratamento pós-colheita por pulverização, exceto no caso de 28 dias de armazenamento no tratamento TBZ (1000mg/L) aplicado junto com a cera, apresentaram-se uniformes, confirmando que a agitação mecânica, por ser realizada de forma contínua e homogênea, proporciona uma distribuição mais uniforme dos resíduos dos fungicidas na superfície da fruta.

4.CONCLUSÕES

Todas as amostras submetidas aos tratamentos pós-colheita pulverização estão adequadas para o consumo em relação aos resíduos de imazalil e thiabendazole.

No tratamento pós-colheita por imersão, todas as amostras tratadas com thiabendazole e apenas as tratadas com imazalil na formulação IMZ+TBZ(1000+1000mg/L) atendem à legislação vigente relativa aos limites máximos de resíduos dos fungicidas. Apesar deste resultado, convém ressaltar a necessidade de periodicamente realizar o monitoramento destes fungicidas em laranja, considerando-se que existe a possibilidade do produtor utilizar uma calda com concentração acima da recomendada.

Nos tratamentos pós-colheita por pulverização, as aplicações de cera e de etileno não exerceram quaisquer influências sobre a degradação de thiabendazole e imazalil.

O desverdecimento de laranja 'Pêra' antes da aplicação de imazalil e thiabendazole em pós-colheita por pulverização, não afeta os níveis de resíduos destes fungicidas na fruta.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS (BRASIL) Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos.
(<http://www.abecitrus.com.br/safrano.html>). **Produção de Laranja – Série Histórica**. Capturado em 28 de Setembro de 1999.

- AMARO & MAIA., 1997. Apud. FRANCO, D. A . S. **Controle do bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós-colheita de citros com produtos alternativos**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP. Botucatu. Fevereiro, 1999. 103p.
- AHARONI, Y. ; HOUCK, L. G. Improvement of internal color of oranges stored in oxygen-enriched atmospheres. **Scientia Horticultural**, v. 13, p. 331, 1980.
- 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**, v. 11, n. 5, p. 422-424, sept-act. 1963.
- BECK, J.; HANSEN, K. E. The degradation of quintozene, pentachlorobenzene, hexachlorobenzene and pentachloroaniline in soil. **Pesticide Science**, v. 5, n. 1, p. 41-48, 1974.
- 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**, v. 16, n. 5, p.863-866, sept/oct. 1968.,
- BEYNON, K. I.; EDWARDS, M. J.; ELGAR, K; WRIGHT, A. N. Analysis of crops and soils for residues of chlorfenvinphos insectide and its breakdown products. **Journal Science Food Agriculture**, v. 19, p. 302-307, 1968.
- BIGHI, C.; SAGLIETTO, G. Gas-chromatographic study of the decomposition of thiocarbamic compounds as a function of temperature. **Journal of Chromatography**, v. 17, p.1-12, 1965.

- 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**, v. 5, n. ¾, p. 382-391. 1970.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 37 de 30 de Out. 1990. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I, p. 0755, 31 de Outubro de 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 699 de 1 de Setembro de 1998. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I p. 172-E de 9 de Setembro de 1998.
- BROWN, G.E.; NAGY, S.; MARAULJA, M. Residues from post-harvest nonrecovery spray applications of imazalil to oranges and effects on green mold caused by *Penicillium digitatum*. **Plant Diseases**, v. 67, p. 954-957, 1983.
- CARRARO, A. F.; CUNHA, M. M. **Manual de exportação de frutas**. Brasília: MAARA-SDR-FRUPLEX/IICA. 254p., 1994.
- CASTRO, J. V. Maturação controlada de frutas. In: BLEINROTH, E. W. (Coord.) **Tecnologia de Pós-colheita de Frutas Tropicais**. Campinas: ITAL, 1988. p. 93-102.
- CUÑAT, P.; CASAS, A. Frutos, productos hortícolas y derivados. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 423-434, 1974.
- DONADIO, L. C., FIGUEIREDO, J. O., PIO, R. M. **Variedades cítricas brasileiras**. FUNEP. Jaboticabal. 1995. 228 p.
- ECKERT, J.W.; SOMMER, N.F. Control of diseases of fruits and vegetables by post-harvest. **Annual Reviews of phytopathology**, v. 5, p. 391-432, 1967

EDWARDS, C. A. Factors that effect the persistence of pesticide in plants and soils. **Pure and Applied Chemistry**, v. 42, n. 1/2, p. 39-56, 1975.

EILATI, S. **The changes in color of the ripening orange fruit as effected by endogenous and endogenous factors** . Ph. D. thesis, The Hebrew University of Jerusalem. 1970.

EL-ZEFTAWI, B. M. De-greening of valencia oranges. **Food Technology in Australia**. 449-451, September, 1973.

FAO/WHO. **CODEX ALIMENTARIUS**. 2ª Ed., Rome. V. 2B, p. 98, p.160, 1998.

FAO/WHO. Food Standards Programme. **CODEX ALIMENTARIUS COMISSION**. Codex Maximum Limits for Pesticide Residues. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. CAC/Vol. XII, Ed. 2, p. 65-iv, 110-iv, 31/8/1986.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Agrianual 99**. São Paulo. P. 521, 1999.

GOMES, F. P. **Curso de Estatística Experimental**. 5ª Edição. Livraria Nobel S.A. São Paulo, 1976. 430 p..

GREENHALGH, C. M. A.; 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**, v. 29, p. 231-235, 1981.

GUNTHER, F. A.; WESTLAKE, W.E.: Unpublished data (1972). Apud. KAWAR, N.S.; BATISTA, G.C. de; GUNTHER, F. A. Pesticide stability in cold-stored plants, 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, Springer-Verlag, , v. 48, p.45-77, 1973.

- GUPTA, P.K.; GUPTA, R.C. Pharmacology, toxicology and degradation of endosulfan. A review. **Toxicology**, v. 13, p.115-130, 1979.
- HASSE, G. **A laranja no Brasil 1500-1987**: a história da agroindústria cítrica brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX. Edição Duprat E Iobe. São Paulo.1987. 296 p.
- HOUCK, L. G.; AHARONI, Y.; FOUSE, D. C. Color changes in orange fruit stored in high concentrations of oxygen and in ethylene. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, v. 91, p. 136. 1978.
- KITAGAWA, H; KAWADA, K.; TARUTANI, T. Effectiveness of ethylene degreening of certain citrus cultivars. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 103, n. 1, p. 113-115, 1978.
- KOIVISTOINEN, P.; KARINPÄÄ, A. Stability of isopropyl N-phenylcarbamate (IPC) and isopropyl N-(3-chlorophenyl)-carbamate (CIPC) residues on fruit treated after harvest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 3, n. 5, p. 459-462, sept./oct. 1965.
- KOIVISTOINEN, P.; KONONEN, M.; KARINPÄÄ, A.; ROINE, P. Stability of malathion residues in food processing and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 12, n. 6, p. 557-560, nov./dec. 1964.
- LAFUENTE, M. T.; TUSET, J. J.; PIQUER, J.; ESTELLES, A.; TADEO, J. L. Determinacion de residuos del fungicida imazalil en citricos: penetracion y persistncia. **Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Agricolas**, v. 26, p. 83-91, 1984
- LAKOTA, S. Investigation on the persistence of some herbicides in a water environment. **Gospodarka Rybna**, v. 22, n. 7, p. 12-13, 1970.

- MAIA, M. L.; AMARO, A. A. ; GONÇALVES, J.S.; SOUZA, S. A. M. Produção e Comercialização das frutas cítricas no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 1-42, 1996.
- MESTRES, R.; SOUCHON, D.; FONT REAULX, B. de; ORIOL, P. Persistence of pesticide residues on canned vegetables. Studies on fungicides and inseticides. **Medicine et Nutrition**, v..14, n. 6, p. 415-418, 1978.
- MINELLI, E. V., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, M. M., PIRISI, F. M., CABITZA, F., CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal of Food Science**, v. 1, p. 57-62, 1996.
- MUIRHEAD, I. F. Resistance to benzimidazole fungicides in blue mold of citrus in Queensland. **Journal of Experimental Agriculture Animal Husbandry**, v.14, p. 698-701, 1974.
- OLIVEIRA, J. J. V.; SIGRIST, J. M. M.; SPULVERATO, C. A.; POHLMANN, M. Degradação de benomil em mangas *Palmer* tratadas pós-colheita. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 7, p. 25-32, 1997.
- OLIVEIRA, J. J. V.; TOLEDO, M. C. F. Estudo do efeito da temperatura (5 °C) sobre os níveis residuais de agrotóxicos em morangos. **Pesticidas Revista Técnico Científica**, v. 6, p. 75-86, 1996.
- OPOROR, J. P. Contamination by persistent pesticides: a review. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v.. 43, n. 2, p. 166-175, 1977.
- PERRY, F. J.; RIZZI, A. D. Whitwash trials in walnuts. **California Agriculture**, v. 24, n. 6, p. 8-10. 1970.
- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Journal of Food Science and Technology** , v. 21, n. 1, p. 25-28, 1984.

- SCHIRRA, M.; ANGIONI, A.; RUGGIU, R.; MINELLI, E. U.; CABRAS, P. Thiabendazole uptake and persistence in lemons following postharvest dips at 50 °C. **Italian Journal of Food Science**, v. 10, n. 2, p. 165-170, 1998.
- SCHIRRA, M.; CABRAS, P.; ANGIONI, A.; MELIS, M. Residue level of imazalil fungicide in lemons following prestorage dip treatment at 20 and 50 °C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2865-2869, 1996.
- SMOOT, J.J.; BROWN, G.E. Occurrence of benzimidazole-resistant strains of *Penicillium digitatum* in Florida citrus packinghouses. **Plant Disease Reporter**, v. 58, n. 10, p. 933-934, 1974.
- SUETT, D. L. Persistence and degradation of chlorfenvinphos, diazinon, fonofos and phorate in soils and their uptake by carrots. **Pesticide Science**, v. 2, n. 3, p. 105-112, 1971.
- TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana. Conselleria D'agricultura I Pesca. Valencia.1987. 205 p.
- 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: GUNTHER, F. A. (Ed.) **Residue Reviews**: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York: Springer-Verlag, v. 66, p. 173-184, 1977.
- YOUNG, R.; JAHN, O. Ethylene-induced carotenoid accumulation in citrus fruit rinds. **Journal American Society Horticultural Science**, v. 97, n. 2, p. 258, 1972.

CAPÍTULO 5

NÍVEIS RESIDUAIS DE THIABENDAZOLE E IMAZALIL NA
CASCA, NA POLPA E NA FRUTA INTEIRA DE LARANJA
'PÊRA' TRATADAS EM PÓS-COLHEITA POR IMERSÃO

(Artigo publicado na Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 339-344, Dezembro 2000)

NÍVEIS RESIDUAIS DE THIABENDAZOLE E IMAZALIL NA CASCA, NA POLPA E NA FRUTA INTEIRA DE LARANJA 'PÊRA' TRATADAS EM PÓS-COLHEITA POR IMERSÃO

RESUMO: Foram analisados os níveis de resíduos dos fungicidas imazalil e thiabendazole na casca, na polpa e no fruto inteiro em laranja 'Pêra' por cromatografia gasosa usando detectores de ionização de chama (FID) e de fotometria de chama (FPD), respectivamente. Os frutos foram tratados em pós-colheita por imersão durante um minuto, em emulsão aquosa com 1000mg/L de imazalil (Magnate 500 CE) ou 1000mg/L de thiabendazole (Tecto 600 PM), ambos com 0,002% de espalhante adesivo (Iharaguen-s), e armazenados durante 0, 7, 14, 21 e 28 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R. Foram determinadas na casca resíduos de imazalil e thiabendazole em quantidade superior às detectadas na polpa e na laranja inteira logo após o tratamento, não tendo sido observada migração dos fungicidas da casca para a polpa durante o período de armazenamento. Considerando-se os limites máximos de resíduos estabelecidos pela Legislação Brasileira para o thiabendazole (10mg/kg) e o imazalil (5,0mg/kg) as laranjas tratadas em pós-colheita com estes fungicidas estavam próprias e impróprias para o consumo, respectivamente.

Palavras-chave: Fungo, fungicidas, resíduos

RESIDUES LEVELS OF THIABENDAZOLE AND IMAZALIL IN PEEL, PULP AND WHOLE FRUIT OF 'PÊRA' ORANGES FRUIT TREATED BY DIPPING IN POSTHARVEST

SUMMARY: Residues of the fungicides imazalil and thiabendazole were determined in the whole fruit, peel and pulp of oranges by gas liquid chromatography with flame ionization (FID) and flame photometric (FPD) detectors, respectively. The fruits were treated in postharvest by dipping them for one minute in aqueous suspension of 1000mg/L imazalil (Magnate 500 CE) or 1000mg/L of thiabendazole (Tecto 600 PM), and 0,002% surfactant (Iharaguen-s). The samples were stored during 0, 7, 14, 21 and 28 days at $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ R.H. The highest levels of fungicides residues were detected in the orange peel. Apparently no migration of the fungicides from the peel to the pulp occurred during storage. Considering the maximum residue limits established by the Brazilian Legislation for thiabendazole (10.0mg/kg) and imazalil (5.0mg/kg) it can be concluded that the oranges treated with these fungicides are appropriate and inappropriate for human consumption, respectively.

Keywords: Fungi, fungicides, residues.

1. INTRODUÇÃO

Entre as frutas exportadas pelo Brasil, a laranja *in natura* ocupa uma posição de destaque. Em 1996 a laranja liderou em volume de exportação, tendo alcançado 99,2 milhões de toneladas em 1996, rendendo 20,4 milhões de dólares para o Brasil. Dentro deste quadro, existe uma tendência promissora para o aumento da exportação de laranjas, uma vez que é a fruta mais produzida no Brasil nos últimos anos, apresentando gradativamente taxas crescentes de produtividade. A laranja 'Pêra' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] é a mais importante variedade produzida no Brasil, correspondendo a 52% de toda a produção nacional de citros (HASSE, 1987; CARRARO et al., 1994; DONADIO et al., 1995; MAIA et al., 1996; AMARO & MAIA, 1997; ABECITROS, 1999; FNP, 1999).

Fungos dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria* e *Geotrichum* são em geral os responsáveis por doenças e podridões da laranja, comprometendo sua qualidade e inviabilizando sua comercialização. Uma das providências para neutralizar o ataque destes fungos em frutas é o tratamento em pós-colheita com fungicidas (ECKERT & SOMMER, 1967; LAVILLE, 1973; MUIRHEAD, 1974; SMOOT & BROWN, 1974; CANO et al., 1987; BRANDON et al., 1993).

Há vários tipos de tratamentos em pós-colheita, entre os quais se destacam o banho por imersão, considerada a técnica mais antiga, a pulverização e a fumigação (LAVILLE, 1978; TUSET, 1987). Destes tratamentos, a imersão é muito utilizada em várias espécies de frutas como, por exemplo, maçã, pêra, banana e laranja (DAINES & SNEE, 1969; CARGO & DEWEY, 1970; RIPPON & HOLMES, 1973; HARDENBURG, 1974; LITTLE et al., 1980; RAO, 1984; MARTINDALE, 1988; WILD & HOOD, 1989; RODOV et al., 1995).

O imazalil (Magnate 500 CE) possui registro no Brasil (34/98) para uso em pós-colheita em citros na dosagem de 100g (i.a.) por 100L de água no combate ao bolor verde (BRASIL, 1998), enquanto o thiabendazole (Tecto 600 PM), possui registro no Brasil (998400) também para uso em pós-colheita em citros, na dosagem 90g (i.a.) por 100 L de água, para pequenos períodos e 800g (i.a.) por

100 litros de água para longos períodos, no combate ao bolor verde e bolor azul (BRASIL, 1990).

Embora os fungicidas thiabendazole e imazalil sejam bastante empregados no tratamento em pós-colheita de citros (BROWN et al., 1983; SCHIRRA et al., 1998), a utilização destas substâncias deve ser criteriosa, em função dos riscos toxicológicos associados à administração inadequada dos fungicidas. Além da questão toxicológica, deve ser cumprida a legislação brasileira, que estabelece 10,0mg/kg e 5,0mg/kg, respectivamente, como os limites máximos de resíduos de thiabendazole e imazalil em citros (BRASIL, 1990a; BRASIL, 1998a; FAO/WHO, 1998).

O imazalil é um fungicida sistêmico, moderadamente tóxico por ingestão, com DL_{50} de 227 a 343mg/kg para ratos. Em testes toxicológicos com ratos, o imazalil afetou o sistema nervoso e o fígado dos animais testados. A ingestão diária aceitável (IDA) do imazalil é de 0,03mg/kg de peso corpóreo (FAO/WHO, 1999).

O thiabendazole é um fungicida sistêmico utilizado em pós-colheita em diferentes culturas, entre elas a dos citros. Estudos metabólicos indicam rápida absorção do thiabendazole no trato gastrointestinal de ratos, cachorros e ovelha, com excreção na urina e fezes entre três e oito dias. Estudos realizados evidenciaram que aproximadamente 0,1% da dose oral administrada à vacas foi detectado no leite, no período de 60 horas. Altas doses de thiabendazole em ratos provocaram enfraquecimento da tireóide e aumento do tamanho do rim. Dietas contendo o equivalente a 10mg de thiabendazole por kilo de peso corpóreo, administradas a ratos durante dois anos provocaram o endurecimento da glândula tireóide (VETTORAZZI, 1977). A IDA recomendada para o thiabendazole é de 0,05mg/kg de peso corpóreo (FAO/WHO, 1971).

O aproveitamento da laranja não se restringe apenas à utilização do suco extraído da polpa, que corresponde a 44,81% da fruta, mas também inclui subprodutos com valor nutritivo e comercial, obtidos do bagaço e da casca. Estes subprodutos possuem diferentes aplicações no mercado interno e externo, entre as quais se

destacam o uso como complemento para ração animal, na forma de farelo, e como coadjuvante na indústria alimentícia (óleos essenciais), os quais correspondem a cerca de 49,24% e 1,79%, respectivamente, da massa da laranja (LANZA, & GALVANO, 1971; LANZA, & GALVANO, 1972; KEFFORD, 1973; LEQUERICA & LAFUENTE, 1977; ABECITROS, 2000).

Em função da importância da aplicação de fungicidas na laranja após a colheita e considerando-se o aproveitamento do suco e subprodutos pela indústria de alimentos, os objetivos do presente trabalho foram avaliar os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole na casca, na polpa e na fruta inteira em laranjas 'Pêra' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] tratadas com estes fungicidas, em pós-colheita, por imersão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Solventes e Padrões

Padrão de imazalil (Dr. Ehrenstorfer, Augusburg, Alemanha) e thiabendazole (Merck & Co., Inc., Rahway, NJ) nas concentrações de 100mg/L, preparados em metanol grau pesticida (Lichrosolv), foram diluídos a 10,0 , 5,0 , 1,0 , 0,5 , 0,2 e 0,1mg/L com hexano grau pesticida (Lichrosolv). Os demais reagentes utilizados foram NaCl (tratado a 450°C durante oito horas), Na₂SO₄ (tratado a 650°C durante oito horas) e acetato de etila, grau pesticida (Lichrosolv).

2.2 Matéria Prima

Em pomares de laranjas 'Pêra', cultivadas durante o ano de 1998 na fazenda da indústria Fischer, município de Matão/SP, sem a aplicação dos fungicidas imazalil e thiabendazole, os frutos foram colhidos em fevereiro de 1999, transportados até o local da realização do ensaio ("packing house" da indústria FiSCHER), lavados com água para retirada de sujidades oriundas da colheita, secos e então submetidos aos tratamentos em pós-colheita.

2.3 Tratamento Pós-colheita

As emulsões aquosas contendo 1000mg de ingrediente ativo (i.a.) por litro de imazalil (Magnate 500 CE) ou 1000mg de ingrediente ativo (i.a.) por litro de thiabendazole (Tecto 600 PM), ambas com 0,002% de espalhante adesivo (Iharaguen-s) foram homogeneizadas com espátulas de madeira. As testemunhas foram preparadas sem fungicidas, uma controle e a outra com somente espalhante adesivo. Os tratamentos foram realizados em três repetições. Para isto, um total de duzentos frutos foram imersos por um minuto, separadamente, nas emulsões com fungicidas ou testemunhas, secos ao ar livre, acondicionados em número de dez em caixas de papelão, com quatro orifícios, para permitir a ventilação, tampadas e armazenadas em câmara durante 0, 7, 14, 21 e 28 dias a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ de U.R.

Após armazenamento, uma parte das frutas foram mantidas inteiras e a outra parte foi reservada para separação da casca e da polpa. A casca correspondeu ao albedo mais o flavedo e a polpa, a laranja inteira menos a casca. Em seguida, as laranjas inteiras, as cascas e as polpas foram cortadas em pequenos pedaços e em seguida homogeneizadas em processador, acondicionadas em frascos de vidro fechados com tampas envolvidas em papel alumínio e armazenadas em freezer a -20°C , até a ocasião das análises de resíduos dos fungicidas.

2.4 Extração dos Fungicidas

A extração dos fungicidas foi conduzida conforme o método de MINELLI et al. (1996). Pesaram-se 5g de amostra em tubo de vidro de 50mL, acrescentando-se 2g de NaCl e 10mL da mistura hexano:acetato de etila (1:1 v/v). O tubo, fechado com tampa de teflon, foi agitado durante 30 minutos em agitador rotatório. Após 10 minutos de repouso, transferiu-se uma alíquota de 5,0mL para um tubo concentrador contendo 0,5g de Na_2SO_4 . Após cinco minutos, o extrato foi transferido para outro tubo e evaporado até 1,0mL, ou diluído até a faixa de concentração da resposta linear do detector, antes da injeção em cromatógrafo à gás.

2.5 Quantificação por Cromatografia Gasosa

Para quantificação do imazalil foi utilizado um cromatógrafo à gás, HP (6890), acoplado a um microcomputador, com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar HP-50+50% fenil metil siloxano (30m de comprimento, 320 μ m de diâmetro interno e 0,25 μ m de filme). As demais condições cromatográficas foram: gás de arraste nitrogênio com vazão constante de 2,0mL/min; coluna com programação de temperatura de 40°C durante dois minutos, primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, fluxo 64,6mL/min; injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, fluxo de purga 60mL/min até um minuto; detector a 300°C com hidrogênio a 35mL/min, ar sintético a 400mL/min e "make up" de nitrogênio a 35mL/min. O tempo de retenção para o imazalil nestas condições foi de 17,5 minutos.

O thiabendazole também foi determinado no mesmo cromatógrafo, utilizando-se detector de fotometria de chama (FPD), com coluna capilar (pressão constante de 28,48psi) HP-5 % fenil metil polissiloxano (30m de comprimento, 320 μ m de diâmetro interno e 0,25 μ m de filme). As demais condições cromatográficas foram: gás de arraste nitrogênio com fluxo constante de 2,0mL/min, coluna com programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, injeção pulso a 344,8MPa até um minuto, fluxo de purga 15mL/min até um minuto; detector a 250°C com filtro para detecção de enxofre (393nm), hidrogênio a 50mL/min, ar sintético 60mL/min e "make up" a 60mL/min. Nestas condições, o tempo de retenção do thiabendazole foi de 16,5 minutos.

As curvas analíticas foram construídas relacionando-se a área do pico versus concentração (mg/L) do imazalil e thiabendazole, com linearidade nas faixas de concentrações de 0,2mg/L a 2,0mg/L e de 0,1mg/L a 2,0mg/L. Os coeficientes de correlação foram de 0,9962 e 0,9997, respectivamente.

Para avaliar a recuperação dos fungicidas, foram adicionados thiabendazole e imazalil nas amostras testemunhas nas concentrações de 0,5mg/kg e 1,0mg/kg. Em seguida, procedeu-se a extração dos fungicidas e quantificação por cromatografia gasosa, segundo os procedimentos e condições descritos anteriormente.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fortificações e recuperações de thiabendazole e imazalil na casca, na polpa e no fruto inteiro, no nível de 1,0mg/kg e 0,5mg/kg encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 Fortificação e recuperação de thiabendazole e imazalil em casca, polpa e laranja inteira

Fungicidas	Amostras	Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)			Estimativa do DPA (±)
			n	Faixa	Média	
Imazalil	Casca	1.0	4	(77 - 95)	87.0	8.4
		0.5	4	(106 - 114)	108.7	3.6
	Polpa	1.0	4	(78 - 89)	81.5	5.0
		0.5	4	(85 - 100)	95.2	6.9
	Laranja Inteira	1.0	7	(82 - 117)	99.0	12.9
		0.5	5	(94 - 99)	97.0	1.8
Thiabendazole	Casca	1.0	6	(81 - 100)	89.8	7.6
		0.5	4	(80 - 90)	85.0	4.1
	Polpa	1.0	5	(80 - 106)	89.4	11.9
		0.5	4	(80 - 85)	82.4	2.6
	Laranja Inteira	1.0	8	(83 - 117)	92.6	10.9
		0.5	4	(84 - 117)	95.4	15.5

n = número de determinações. DPA = Desvio Padrão Absoluto

Embora o limite de quantificação do método corresponda a quantidade do pesticida que produz um pico cuja altura é três vezes a altura do ruído do detector, no presente estudo adotou-se como limite de quantificação a menor concentração do thiabendazole (0,1mg/kg) da respectiva curva analítica. Este valor foi adotado

porque representava um nível seguro de confiabilidade das análises e porque é uma concentração que está 100 vezes abaixo da tolerância estabelecida para o thiabendazole pela legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas e pelo CODEX.

Não foram detectados resíduos de imazalil e thiabendazole na casca, na polpa e na laranja inteira nas duas amostras testemunhas, tratadas apenas com água e com espalhante adesivo. Nas análises dos cromatogramas destas duas amostras não foram encontrados picos que interferissem na quantificação dos fungicidas.

Os níveis de resíduos de imazalil e thiabendazole na casca, na polpa e no fruto inteiro, durante os períodos de armazenamento, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis de resíduos de imazalil (IMZ) e thiabendazole (TBZ) na laranja inteira (L.I.), na casca (C.) e na polpa (P.) de frutos de laranja 'Pêra' tratada com estes fungicidas em pós-colheita.

Tratamento		Armazenamento ($4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/90\% \pm 5\%$ de U.R.)									
		(dias)									
		0		7		14		21		28	
		x	y	x	y	x	y	x	y	x	y
IMZ	L.I.	$8,65 \pm 2,55$		$9,91 \pm 1,40$		$9,61 \pm 2,60$		$9,61 \pm 2,20$		$8,59 \pm 2,05$	
	C.	$18,58 \pm 2,33$		$18,43 \pm 5,68$		$14,24 \pm 3,56$		$20,78 \pm 3,74$		$17,82 \pm 0,91$	
	P.	$0,86 \pm 0,04$		$0,86 \pm 0,01$		$0,90 \pm 0,04$		$0,91 \pm 0,08$		$0,83 \pm 0,01$	
TBZ	L.I.	$0,14 \pm 0,01$		$0,14 \pm 0,01$		$0,13 \pm 0,01$		$0,19 \pm 0,02$		$0,20 \pm 0,02$	
	C.	$3,59 \pm 0,01$		$3,24 \pm 0,01$		$3,31 \pm 0,11$		$3,53 \pm 0,59$		$3,09 \pm 1,22$	
	P.	n.d.		n.d.		n.d.		n.d.		n.d.	

x – níveis residuais (mg/kg) (média de três determinações).

y – estimativa de desvio padrão absoluto (média de três determinações).

n.d. – não detectado (abaixo do limite de quantificação do método – 0,10 mg/kg)

A Legislação Brasileira para resíduos de pesticidas estabelece respectivamente para o imazalil e o thiabendazole os limites máximos de 5,0mg/kg (BRASIL, 1998) e 10,0mg/kg (BRASIL, 1990) em citros. Estes valores de tolerâncias são os mesmos estabelecidos pelo CODEX (FAO/WHO, 1998) para o fruto inteiro. Entretanto, não há, nem no CODEX ou na legislação brasileira, limites para a casca e para a polpa.

Embora os níveis de resíduos de thiabendazole estejam abaixo do limite estabelecido pela legislação nacional e pelo CODEX, o mesmo não ocorre com o imazalil, cujos níveis residuais foram superiores a 5mg/kg. Níveis acima do recomendado pelo CODEX também foram encontrados para imazalil no fruto inteiro, em laranjas de variedade Hernandina (*Citros clementina* Hort. ex Tan.), tratadas em pós-colheita por imersão na concentração de 1000mg/kg em solução aquosa (LAFUENTE et al., 1984).

Os níveis residuais de imazalil encontrados na casca e no fruto inteiro foram quase o dobro do tolerado para este fungicida, o que pode ser explicado em função da solubilidade do imazalil em diferentes meios. Segundo CUÑAT & CASAS, 1974, o thiabendazole, apesar de ser solúvel tanto em meio ácido ($\text{pH} < 3$) como no básico ($\text{pH} > 14$), característica ácida e básica devido ao caráter anfótero do átomo de nitrogênio do grupo imidazol (Figura 1), possui baixa solubilidade em água ($\text{pH} = 7$). Como as caldas no tratamento em pós-colheita foram formuladas em solução aquosa neutra, este meio promoveu baixa solubilidade do thiabendazole. Neste caso, é necessário manter o recipiente em constante agitação para assegurar uma distribuição uniforme sobre os frutos. O imazalil, por outro lado, por formar sais solúveis em solução aquosa, é mais solúvel do que o thiabendazole, proporcionando maior distribuição no fruto, o que pode ter levado sua concentração na casca e no fruto inteiro ser bem maior.

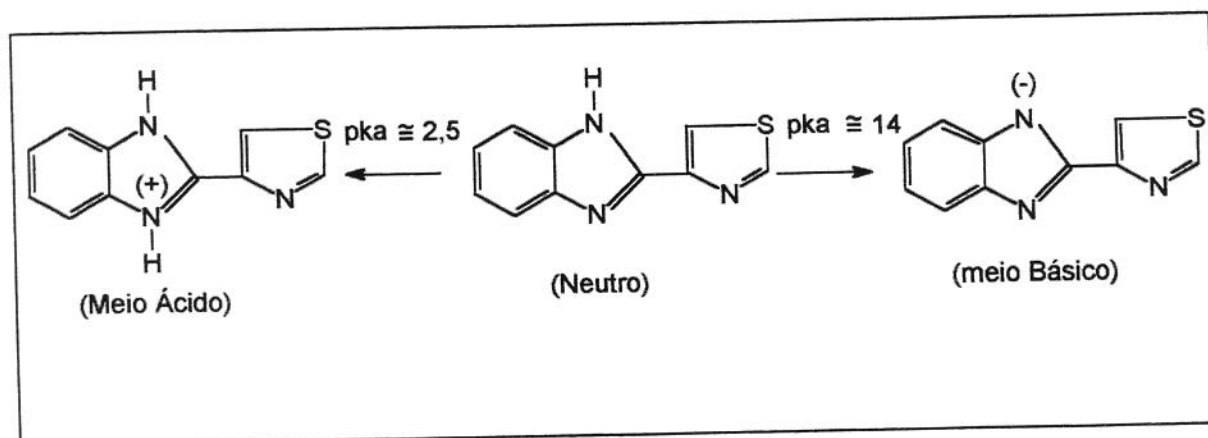


Figura 1. Caráter anfótero do thiabendazole em meio neutro, ácido e básico.

Conforme dados da Tabela 1, os níveis residuais de ambos os fungicidas foram maiores na casca do que na polpa e no fruto inteiro. Estes resultados estão em concordância com os obtidos por OLIVEIRA & TOLEDO (1999), que relataram maiores níveis residuais de imazalil e thiabendazole em cascas que na polpa de laranjas 'Pêra' destinadas ao consumo interno. Resultados semelhantes também foram obtidos por LAFUENTE et al. (1984), em laranjas das variedades 'Washington Navel' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) e 'Hernandina' (*Citros clementina* Hort. ex Tan), após tratamento em pós-colheita, por imersão, com imazalil nas concentrações de 500mg/kg e 1000mg/kg. Estes autores encontraram maiores concentrações de imazalil na película externa do fruto do que no albedo. A casca, representada pelo conjunto da película externa mais o albedo, apresentou cerca do dobro da concentração de imazalil na variedade Hernandina em relação a Washington. Navel. Trabalho realizado por CANO et al. (1987), com duas variedades de maçãs, após tratamento em pós-colheita, evidenciaram maiores quantidades de vários pesticidas, inclusive thiabendazole, na casca do que na polpa.

Em relação à limitada penetração dos fungicidas na polpa, existe uma concordância entre os resultados obtidos no presente trabalho e por outros autores, considerando-se amostras de laranjas e os mesmos fungicidas (LAFUENTE et al., 1984; OLIVEIRA & TOLEDO, 1999). Tal comportamento pode, em parte, ser atribuído à composição química da casca da laranja, onde se aglomeram óleos essenciais constituídos de terpenos, carotenóides e cera epicuticular, os quais podem interagir quimicamente com os pesticidas, atuando como obstáculo à sua penetração (HOLLOWAY & CHALLEN, 1966; BAKER & PROCOPIO, 1975; BAKER et al., 1975; EL-OTOMANI & COGGINS, 1985; FREEMAN et al., 1979; NORDBY & MCDONALD, 1990; NORDBY & McDONALD, 1991).

Outras frutas morfologicamente semelhante à laranja, quanto à presença de cera epicuticular em suas cascas, tais como o abacaxi e a nectarina, têm apresentado comportamento similar em relação à pouca penetração de pesticidas na polpa (CABRAS et al., 1997; CABRERA et al., 1999).

Em função da possibilidade de efeitos adversos à saúde humana decorrentes da ingestão destes fungicidas, recomenda-se o monitoramento dos níveis de resíduos de imazalil nos subprodutos extraídos da casca da laranja tratada com este fungicida, sempre que sejam destinados à indústria.

4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, pode-se concluir que:

Os níveis residuais de thiabendazole em frutos de laranja 'Pêra' tratados sob a forma de imersão em emulsão contendo 1000mg/L do ingrediente ativo, analisados até 28 dias de armazenamento, encontram-se abaixo do limite estabelecido pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas e pelo CODEX, não se constituindo em risco para a saúde humana. Dessa forma o fruto pode ser consumido sem restrições. Contrariamente, os níveis residuais de imazalil, detectados nos frutos tratados em solução contendo 1000mg/L, excedem o limite permitido por estas legislações, representando um risco para a saúde humana e tornando os frutos impróprios para consumo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECITROS. Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos. (<http://www.abecitros.com.br/safrano.html>). **Produção de Laranja – Série Histórica**. Capturado em 28 de setembro de 1999.
- ABECITROS. Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos. (<http://www.abecitros.com.br/subprobr.html>). **Subprodutos da Laranja**. Capturado em 11 de janeiro de 2000.
- AMARO & MAIA., 1997. Apud. FRANCO, D. A . S. **Controle do bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós-colheita de citros com produtos alternativos**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP. Botucatu. Fevereiro, 1999. 103p.

- BAKER, E. A.; PROCOPIO, J. The cuticles of *Citros* species. Composition of the intracuticular lipids of leaves and fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.26, p.1347-1352, 1975.
- BAKER, E. A.; PROCOPIO, J.; HUNT, G. M. The cuticles of *Citros* species. Composition of the intracuticular lipids of leaves and fruits waxes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 26, p. 1093-1101, 1975.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Imazalil (Magnate 500 CE)**, registro 34/98 de 15 de maio de 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Thiabendazole (Tecto 600 PM)**, registro 998400 de 5 de março de 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 37 de 30 de outubro 1990. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Seção I, p. 0755, 31 de outubro de 1990a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 699 de 1 de setembro de 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Seção I p. 172-E de 9 de Setembro de 1998a.
- BRANDON, D. L.; BINDER, R. G.; WILSON, R. E.; MONTAGUE, W. C. Analysis of thiabendazole in potatoes and apples by ELISA using monoclonal antibodies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 41, p. 996-999, 1993.
- BROWN, G.E.; NAGY, S.; MARAULJA, M. Residues from post-harvest nonrecovery spray applications of imazalil to oranges and effects on green mold caused by *Penicillium digitatum*. **Plant Diseases**, St. Paul, v. 67, p. 954-957, 1983.
- CABRAS, P.; ANGIONI, A.; GARAU, V. L.; MELIS, M.; PIRISI, F. M.; MINELLI, E.V. Effect of epicutivular waxes of fruits on the photodegradation of fenthion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, p. 3681-3683, 1997.

- CABRERA, H. A. P.; MENEZES, H. C.; OLIVEIRA, J. J. V. O.; BATISTA, R. F. S. Avaliação da concentração de diuron e paration metílico nos sub-produtos do abacaxi cv Smooth Cayenne processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 20-23, 1999.
- CANO, P.; DE LA PLAZA, J. L.; MUNOZ-DELGADO, L. Determination and persistence of several fungicides in postharvest-treated apples during their cold storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, p. 44-148, 1987.
- CARGO, C. A.; DEWEY, D. H. Thiabendazole and benomyl for control of post harvest decay of apples. **HortScience**, Alexandria, v. 5, p. 259-260, 1970.
- CARRARO, A. F.; CUNHA, M. M. **Manual de exportação de frutas**. Brasília: MAARA-SDR-FRUPLEX/IICA. 254p. ,1994.
- CUÑAT, P.; CASAS, A. Frutos, productos hortícolas y derivados. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 19, n. 4, p. 423-434, 1974.
- DAINES, R.H.; SNEE, R.D. Control of blue mould of apples in storage. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, p. 792-794, 1969.
- DONADIO, L. C., FIGUEIREDO, J. O., PIO, R. M. **Variedades cítricas brasileiras**. Jaboticabal: FUNEP. 228 p., 1995.
- ECKERT, J.W.; SOMMER, N.F. Control of diseases of fruits and vegetables by post-harvest. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 5, p. 391-432, 1967.
- EL-OTOMANI, M.; COGGINS, C. W. Jr. Fruit development and growth regulator effects on normal alkanes of "Washington" navel orange fruit epicuticular wax. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 33, p. 565-663, 1985.
- FAO/WHO. 1970. Evaluations of some pesticide residues in food. FAO/AGP/1970/M/12/1(1971): WHO/Food Add./71.42 (1971).
- FAO/WHO. **CODEX ALIMENTARIUS**. 2ª Ed., Rome, 1998. Vol. 2B, p. 98, p.160.

- FAO/WHO. Food Standards Programme. **Codex Alimentarius Comission**.
http://www.fao.org/waicent/faostat/pest-residue/prff_110.htm. Artigo capturado em 13/12/1999.
- FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Agrianual 99**. São Paulo. P. 521, 1999.
- FREEMAN, B.; ALBRIGO, L. G.; BIGGS, R. H. Ultrastructure and chemistry of cuticular waxes of developing *Citros* leaves and fruits. **Jornal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 41, p. 801-808, 1979.
- HARDENBURG, R. E. Benomyl and thiabendazole treatments reduce decay of apples in polyethylene consumer bags. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 99, p. 236-238, 1974.
- HASSE, G. **A laranja no Brasil 1500-1987**: a história da agroindústria cítrica brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX. São Paulo: Edição Duprat E lobe. 296 p., 1987.
- HOLLOWAY, P. J.; CHALLENG, S. B. Thin-layer chromatography in the study of natural waxes and their constituents. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 25, p. 336-346, 1966.
- KEFFORD, J. F. Citrus fruit processed citrus products in human nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, Basel, v. 18, p. 60-120, 1973 .
- LAFUENTE, M. T.; TUSET, J. J.; PIQUER, J.; ESTELLES, A.; TADEO, J. L. Determinacion de residuos del fungicida imazalil en citricos: penetracion y persistencia. **Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Agricolas**, Valencia, v. 26, p. 83-91, 1984.
- LANZA, A.; GALVANO, G. Ried orange pulp in pig feeding. I. **Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie**, Bologna, v. 25, p. 320-324, 1971.
- LANZA, A.; GALVANO, G. Ried orange pulp in pig feeding. II. **Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie**, Bologna, v. 26, p. 363-366, 1972.

- LAVILLE, E. Etude des activités du R 23979 et de ses sels sur les pourritures à *Penicillium* (*P. digitatum* et *P. italicum*) des oranges. **Fruits**, Paris, v. 28, n. 7-8, p. 545-547, 1973.
- LAVILLE, E. Etude des traitements fongicides appliqués aux agrumes après récolte. Action de l'imazalil. **Fruits**, Paris, v. 33, n. 2, p. 101-105, 1978.
- LEQUERICA, J. L.; LAFUENTE, B. Utilization of citros by-products. II. Semi-solid fermentation of orange peel by *Candida utilis*. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 1, n. 1, p. 71-78, 1977.
- LITTLE, C. R.; TAYLOR, H. J.; PEGGIE, I. D. Multiformulation dips for controlling storage disorders of apples and pears. I. Assessing fungicides. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 213-219, 1980.
- MAIA, M. L., AMARO, A. A., GONÇALVES, J.S., SOUZA, S. A. M. Produção e Comercialização das frutas cítricas no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 1-42, 1996.
- MARTINDALE, R. W. Determination of residues of a range of fungicides in postharvest-treated apples during their cold storage. **Analyst**, London, v. 113, p. 1229-1233, 1988.
- MINELLI, E. V., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, M. M., PIRISI, F. M., CABITZA, F., CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 1, p. 57-62, 1996.
- MUIRHEAD, I. F. Resistance to benzimidazole fungicides in blue mold of citros in Queensland. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Maryborough, v. 14, p. 698-701, 1974.
- NORDBY, H. E.; McDONALD, R. E. Squalene in grapefruit waxes a possible natural protectant against chilling injury. **Lipids**, Champaign, v. 25, p. 807-810, 1990.
- NORDBY, H. E.; McDONALD, R. E. Relation-ship of epicuticular wax composition of grapefruit to chilling injury. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, p. 957-962, 1991.

- OLIVEIRA, J. J. V.; TOLEDO, M. C. F. Resíduos dos fungicidas tiabendazol e imazalil em laranjas pêra (*Citros sinensis* (L.) Osbeck cv. Pêra). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p. 25-136, 1999.
- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 21, n. 1, p. 25-28, 1984.
- RIPPON, L. E.; HOLMES, M. G. Post-harvest dipping of bananas. **Agricultural Gazette on New South Wales**, Alstonville, v. 84, n. 4, p. 229-231, 1973.
- RODOV, V.; BEN-YEHOSHUA, S.; ALBAGLI, R.; FANG, D.Q. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 5, p. 119-127, 1995.
- SCHIRRA, M.; ANGIONI, A.; RUGGIU, R.; MINELLI, E. U.; CABRAS, P. Thiabendazole uptake and persistence in lemons following postharvest dips at 50 °C. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 10, n. 2, p. 165-170, 1998.
- SMOOT, J.J.; BROWN, G.E. Occurrence of benzimidazole-resistant strains of *Penicillium digitatum* in Florida citrus packinghouses. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 58, n. 10, p. 933-934, 1974.
- TUSET, J. J. **Podredumbres de los frutos citricos**. Ed. Generalitat Valenciana. Conselleria D'agricultura. Valencia: I Pesca. 205 p., 1987.
- 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: GUNTHER, F. A. (Ed.) **Residue Reviews**: residues of pesticides and other contaminants in the total environment. New York: Springer-Verlag, 1977. v. 66, p. 173-184.
- WILD, B.L.; HOOD, C.W. Hot dip treatments reduce chilling injury in long-term storage Valencia oranges. **HortScience**, Alexandria, v. 24, p. 109-110, 1989.

CAPÍTULO 6

RESÍDUOS DOS FUNGICIDAS THIABENDAZOLE E IMAZALIL EM LARANJAS 'PÊRA' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) OFERECIDAS PARA CONSUMO NA CIDADE DE CAMPINAS, SP

(Artigo publicado na Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 9, p. 125-136, jan./dez. 1999)

**RESÍDUOS DOS FUNGICIDAS THIABENDAZOLE E IMAZALIL EM LARANJAS
'PÊRA' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) OFERECIDAS PARA CONSUMO NA
CIDADE DE CAMPINAS, SP**

RESUMO. Foram analisados os resíduos dos fungicidas thiabendazole e imazalil em laranjas 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) coletadas em supermercados da cidade de Campinas (SP), no período de novembro/1998 a agosto/1999. A metodologia utilizada usou cromatografia gasosa com detectores de fotometria de chama (FPD) e ionização de chama (FID), com limites de quantificação de 0,1mg/kg e 0,2mg/kg para thiabendazole e imazalil, respectivamente. A confirmação da identidade dos picos foi feita em diferentes colunas. Em 46% das amostras analisadas foram encontrados resíduos dos dois fungicidas, sendo que a casca apresentou níveis mais elevados, na faixa de 1,56 a 2,42mg/kg e de 0,17 a 13,32mg/kg, para imazalil e thiabendazole, respectivamente. A percentagem de laranjas contaminadas com thiabendazole foi maior do que com imazalil. Em ambos os casos os níveis residuais dos fungicidas ficaram abaixo dos limites de resíduos estabelecidos pela Legislação Brasileira e recomendados pelo CODEX, que são 5,0mg/kg e 10,0mg/kg, respectivamente, para imazalil e thiabendazole. Em função dos resultados obtidos pode-se concluir que as laranjas analisadas estão adequadas para o consumo.

Palavras-chave: Laranja, imazalil, thiabendazole, resíduos de pesticidas

**RESIDUES OF THIABENDAZOLE AND IMAZALIL IN 'PÊRA' ORANGES (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) AVAILABLE FOR CONSUMPTION
IN CAMPINAS, SP**

SUMMARY: 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) oranges were sampled at local supermarkets in the city of Campinas from November/1998 to December/1999 and analysed for thiabendazole and imazalil residues. The methodology used a gas chromatograph equipped with flame photometric (FPD) and flame ionization detectors (FID). The quantification limits were 0.1mg/kg and 0.2mg/kg for thiabendazole and imazalil, respectively. Peak identities were confirmed by GC using different columns. Of the collected samples, 46% presented residues of both fungicides. The highest levels were detected in the orange peel, in the range of 1.56 mg/kg to 2.42 mg/kg and 0.17 mg/kg to 13.32 mg/kg for Imazalil and thiabendazole, respectively. The percentage of oranges contaminated with thiabendazole was higher than those contaminated with imazalil. For both fungicides the detected residual levels were below the respective MRL in force in Brazil and also recommended by CODEX, which are 5.0mg/kg and 10.0mg/kg, respectively for imazalil and thiabendazole. The results demonstrate that the oranges analysed are appropriate for human consumption.

Keywords: Oranges, imazalil, thiabendazole, pesticide residues

1. INTRODUÇÃO

A laranja conhecida popularmente como 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), 'Pêra rio' ou 'Pêra coroa' é a mais importante variedade cítrica do Brasil. É reconhecida como variedade exclusivamente brasileira, apesar de sua origem genética permanecer obscura. Sabe-se que a laranja foi introduzida no Brasil pelos portugueses no início da sua colonização, em 1500. No século atual ocorreu grande expansão cultural, sendo a laranja 'Pêra' a variedade mais cultivada, comercializada e consumida no Brasil nos últimos anos. O Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor nacional, contribuindo com cerca de 80% de toda a produção brasileira de citros, dos quais 52% correspondem à laranja 'Pêra' (HASSE, 1987; RODRIGUEZ et al., 1991; DONADIO et al., 1995 ; MAIA et al., 1996).

Durante o período compreendido entre a colheita, armazenamento, comercialização e consumo, a laranja pode sofrer danos devido ao transporte e manipulação. Estes danos, associados à temperatura e umidade ambientais favorecem o aparecimento de mofo e podridões, provocados pelos fungos dos gêneros *Penicillium* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Rhizopus stolonifer*. A presença dos fungos pós-colheita pode provocar deterioração em cerca de 25% a 30% das frutas cítricas, comprometendo a qualidade das laranjas e inviabilizando o seu consumo e comercialização, além de trazer prejuízos para o produtor (CUÑAT & CASAS, 1979; Rao, 1984; BROWN, 1985; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, 1991).

Muitos países utilizam o tratamento pós-colheita em laranjas para manter a qualidade da fruta e assegurar a sua comercialização (GREENBERG & RESNICK, 1977; McCORNACK & BROWN, 1977; LAVILLE, 1978; TJAN & JANSEN, 1979; ISSHIKI et al., 1980; EL-REFAI et al., 1982; DAVE et al., 1989). No tratamento pós-colheita aplicam-se, por imersão ou pulverização, os fungicidas imazalil e thiabendazole (Figura 1), com a finalidade de combater os fungos que provocam a

deterioração das frutas, inviabilizando seu comércio (GREENBERG & RESNICK, 1977; LAVILLE et al., 1977; KAPLAN & DAVE, 1979; BURGER & DAVIS, 1982; LAFUENTE et al., 1984; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, 1991; SCHIRRA et al., 1996).

No Estado de São Paulo, as laranjas destinadas ao mercado interno são colhidas nos pomares e transportadas até as "packing-houses" onde, após serem beneficiadas com tratamento em pós-colheita, são embaladas, armazenadas e transportadas para os pontos de comercialização (MAIA et al., 1996).

A legislação brasileira para resíduos de pesticidas (BRASIL, 1990; BRASIL, 1998) e o CODEX (FAO/WHO, 1986) estabelecem limites máximos de 10,0mg/kg e 5,0mg/kg para o thiabendazole e imazalil em citros, respectivamente.

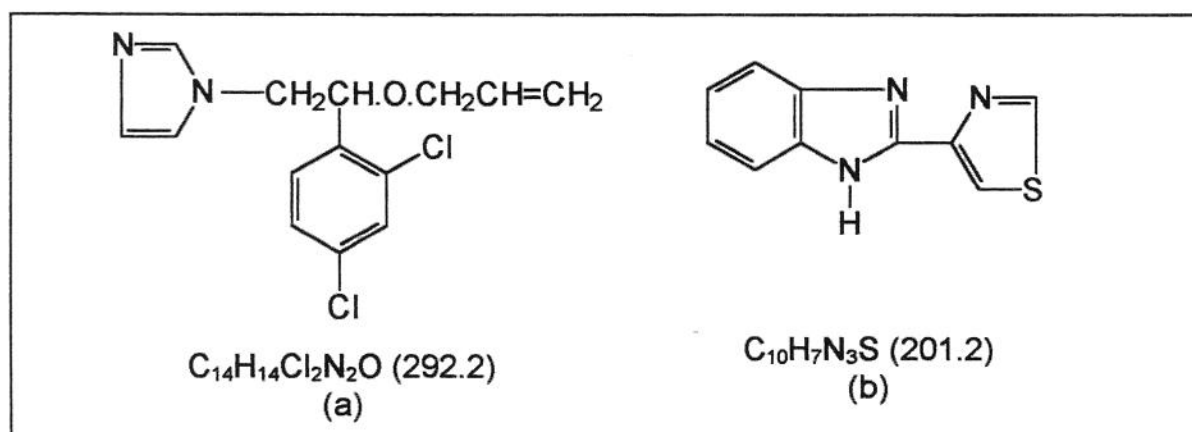


Figura 1. Estruturas, fórmulas e massas molares do imazalil (a) e thiabendazole (b)

O imazalil foi introduzido em 1972, pela Janssen Pharmaceutica, como fungicida sistêmico e a sua inclusão na legislação brasileira de resíduos de pesticidas ocorreu em 1º de setembro de 1998 (BRASIL, 1998), sendo seu uso autorizado em pós-colheita para citros. Este fungicida apresenta propriedade antiesporulante que impede a propagação dos fungos. A DL₅₀ do Imazalil para ratos é de 320mg/kg (CUÑAT & CASAS, 1979; WORTHING, 1979).

O thiabendazole foi introduzido pela Merck & Co. Inc., em 1962, como antihelmíntico e, em 1968, passou a ser utilizado na agricultura como fungicida (WORTHING, 1979; BROWN et al., 1961; CUCKLER, 1961; ROBINSON et al., 1969). Foi incluído na legislação brasileira de resíduos de pesticidas para uso em pós-colheita para citros em 10 de outubro 1990, pela Portaria nº 37 (BRASIL, 1990). Estudos abordando toxicidade sub-aguda em ratos por via oral, nas concentrações de 800mg/kg e 1200mg/kg, resultaram em mortalidade de 30% e 100% dos animais, respectivamente. Nos testes de toxicidade aguda, a DL_{50} para ratos foi de 3,1g/kg (ROBINSON et al., 1965).

O objetivo do presente estudo foi determinar os níveis de resíduos dos fungicidas thiabendazole e imazalil em laranjas 'Pêra' *in natura*, comercializadas na região de Campinas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Laranjas da variedade 'Pêra' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) foram coletadas em supermercados de Campinas, três vezes por mês, no período compreendido entre novembro/1998 e agosto/1999. Em cada coleta, as amostras foram divididas em três grupos, caracterizando três repetições por amostragem. Em cada amostragem, a laranja inteira, a casca e a polpa, separadamente, foram cortadas com faca em pequenos pedaços, homogeneizadas em processador, acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas em freezer a -20°C , até a ocasião das análises. A casca correspondeu ao albedo mais o flavedo e a polpa, a laranja inteira menos a casca.

2.2 Solventes e Padrões

Foram preparadas em metanol grau pesticidas (Lichrosolv) soluções de 100mg/L do padrão de imazalil (Dr. Ehrenstorfer, Augusburg, Alemanha) e thiabendazole (Merck & Co., Inc., Rahway, NJ). A partir destas soluções foram obtidas, por diluição em hexano grau pesticidas (Lichrosolv), soluções padrão contendo 10 , 5,0 , 1,0 , 0,5 , 0,2 e 0,1mg/L dos fungicidas. Os demais reagentes utilizados foram NaCl (tratado previamente em mufla durante oito horas a 450°C), Na₂SO₄ (tratado previamente em mufla durante 8 horas a 650°C) e o solvente acetato de etila grau pesticida (Lichrosolv).

2.3 Método de Análise

A extração dos fungicidas foi conduzida conforme o método de MINELLI et al., (1996). Pesaram-se 5g de amostra em um tubo de vidro de 50mL, acrescentando-se 2g de NaCl e 10mL da mistura hexano:acetato de etila (1:1 v/v). O tubo, fechado com tampa de teflon, foi agitado durante 30 minutos em agitador rotatório. Após 10 minutos de repouso, transferiu-se uma alíquota de 5,0mL para um tubo concentrador contendo 0,5g de Na₂SO₄. Após cinco minutos, o extrato foi transferido para outro tubo e evaporado até 1,0mL, ou diluído até a faixa de concentração da resposta linear do detector, antes da injeção em cromatógrafo a gás.

Para quantificação de imazalil foi utilizado cromatógrafo a gás HP 6890, acoplado a um microcomputador e equipado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar HP-50+50% Fenil metil siloxano, com 30m de comprimento, 320µm de diâmetro interno e 0,25µm de filme. As demais condições cromatográficas foram: vazão constante de 2,0mL/min; programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo "pulsed splitless" a 250°C, pressão 58,6MPa, vazão 64,6mL/min; injeção pulso com 344,8MPa até

um minuto, vazão de purga 60mL/min até um minuto; detector a 300°C com hidrogênio a 35mL/min, ar sintético a 400mL/min e “make up” de 35mL/min. O tempo de retenção para o imazalil nestas condições foi de 17,5 minutos.

Thiabendazole foi determinado no mesmo cromatógrafo, utilizando-se detector de fotometria de chama (FPD) acoplado a um computador e equipado com coluna capilar (pressão constante de 196,39MPa) HP-5% Fenil metil polissiloxano, com 30m de comprimento, 320μm de diâmetro interno e 0,25μm de filme. As demais condições cromatográficas foram: programação de temperatura de 40°C (dois minutos), primeiro gradiente de 20°C/min até 200°C (dois minutos), segundo gradiente de 10°C/min até 240°C (dois minutos); injetor no modo “pulsed splitless” a 250°C, pressão 58,6MPa, injeção pulso com 344,8MPa até um minuto, vazão de purga 15mL/min até um minuto; detector a 250°C com filtro para detecção de enxofre (393nm), hidrogênio a 50mL/min, ar sintético 60mL/min e “make up” a 60mL/min. Nestas condições o tempo de retenção do thiabendazole foi de 16,5 minutos.

As curvas analíticas foram construídas relacionando área do pico versus concentração (mg/L) do imazalil e thiabendazole, nas faixas de concentrações de 0,2mg/L a 2,0mg/L e de 0,1mg/L a 2,0mg/L, com coeficientes de correlação de 0,9962 e 0,9997, respectivamente.

As amostras isentas dos fungicidas foram fortificadas com concentrações de 0,5mg/kg e 1,0mg/kg de thiabendazole e imazalil. Em seguida extraíram-se o thiabendazole e imazalil, segundo o procedimento descrito no item 2.3.

Para identificação do thiabendazole utilizou-se um cromatógrafo a gás (HP 6890) com coluna HP-50+50% Fenil metil siloxano (30m de comprimento, 320μm de diâmetro interno, 0,25μm de filme), acoplada em detector de ionização de chama (FID) nas mesmas condições de análise do imazalil. O tempo de retenção neste caso foi de 12,2 minutos.

Imazalil foi confirmado em cromatógrafo a gás (Varian 3400), com coluna Megabore DB-5 (30m x 0,54mm x 0,25µm). As demais condições foram: programação de temperatura de 180°C, durante dois minutos, gradiente de temperatura de 5°C/min até 240°C (dois minutos), injetor a 240°C e detector de captura de elétrons Ni⁶³ a 300°C; nitrogênio com 137,92MPa de pressão. O tempo de retenção nestas condições foi de 13,2 minutos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi utilizada a mistura de hexano:acetato de etila (1:1 v/v) para a extração dos fungicidas da casca, polpa e laranja inteira, enquanto que no trabalho de MINELLI et al. (1996) e SCHIRRA et al. (1996) foi empregada a mistura acetona:éter de petróleo (1:1 v/v). O emprego da mistura hexano:acetato de etila (1:1 v/v), também utilizada em outros estudos que quantificaram thiabendazole e imazalil em laranjas, resultou na ausência de picos interferentes (SCHIRRA et al., 1998; NAVICKIENE & RIBEIRO, 1999).

Os resultados das recuperações dos fungicidas na casca, polpa e laranja inteira estão incluídos na Tabela 1.

Embora o limite de quantificação do método corresponda à quantidade do analito que produz um pico cuja altura é três vezes a altura do ruído do detector, no presente estudo adotou-se como limite de quantificação as menores concentrações do thiabendazole (0,1mg/kg) e imazalil (0,2mg/kg) das respectivas curvas analíticas. Estes valores foram adotados porque representavam um nível seguro de confiabilidade das análises e porque são concentrações que estão 100 e 25 vezes abaixo da tolerância estabelecida pela Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas e pelo CODEX para o thiabendazole e imazalil, respectivamente.

Tabela 1 Fortificação e recuperação de thiabendazole e imazalil em casca, polpa e laranja inteira.

Fungicidas	Amostras	Fortificação (mg/kg)	Recuperação (%)			Estimativa do DPA (±)
			N	Faixa	Média	
Imazalil	Casca	1.0	4	(77 - 95)	87.0	8.4
		0.5	4	(106 - 114)	108.7	3.6
	Polpa	1.0	4	(78 - 89)	81.5	5.0
		0.5	4	(85 - 100)	95.2	6.9
	Laranja Inteira	1.0	7	(82 - 117)	99.0	12.9
		0.5	5	(94 - 99)	97.0	1.8
Thiabendazole	Casca	1.0	6	(81 - 100)	89.8	7.6
		0.5	4	(80 - 90)	85.0	4.1
	Polpa	1.0	5	(80 - 106)	89.4	11.9
		0.5	4	(80 - 85)	82.4	2.6
	Laranja Inteira	1.0	8	(83 - 117)	92.6	10.9
		0.5	4	(84 - 117)	95.4	15.5

n = número de determinações. DPA = Desvio Padrão Absoluto

A presença dos fungicidas thiabendazole e imazalil nas amostras de laranjas analisadas está ilustrada na Figura 2. Conforme pode ser observado, 54% das amostras não apresentaram resíduos de qualquer um dos fungicidas, dentro do limite de quantificação do método de 0,1mg/kg e 0,2mg/kg para thiabendazole e imazalil, respectivamente. Parte das amostras apresentou apenas thiabendazole ou imazalil e outras ambos os fungicidas, totalizando 46% das amostras analisadas.

ISSHIKI et al. (1982), analisando laranjas importadas pelo Japão, constataram a presença de thiabendazole em todas as amostras analisadas. A presença deste fungicida em todas as laranjas pode ser atribuída ao baixo limite de quantificação do método utilizado pelos autores, relatado como sendo 0,002mg/kg, 50 vezes menor do que o limite de quantificação do thiabendazole obtido no presente estudo.

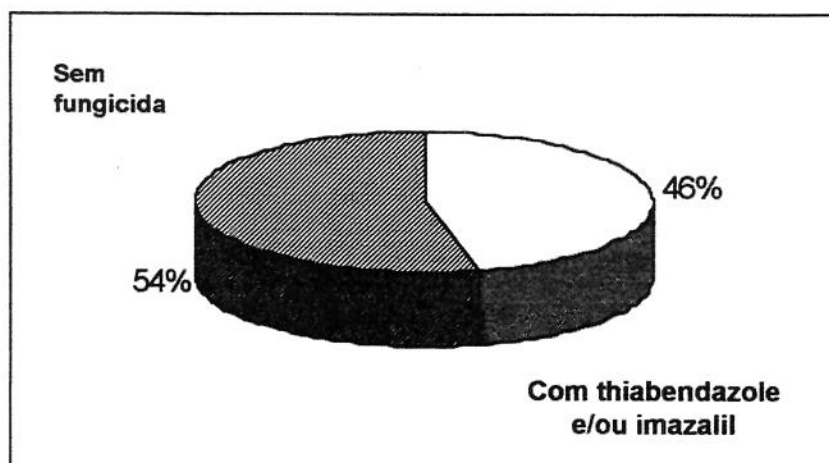


Figura 2. Percentagem de laranjas com e sem thiabendazole e imazalil

Analisando-se o total das laranjas contaminadas, nove apresentaram apenas resíduos de thiabendazole, três apenas resíduos de imazalil e duas, resíduos de ambos os fungicidas (Figura 3). A menor ocorrência de resíduos de imazalil pode ser atribuída à aprovação relativamente recente do uso deste fungicida no Brasil (BRASIL, 1998).

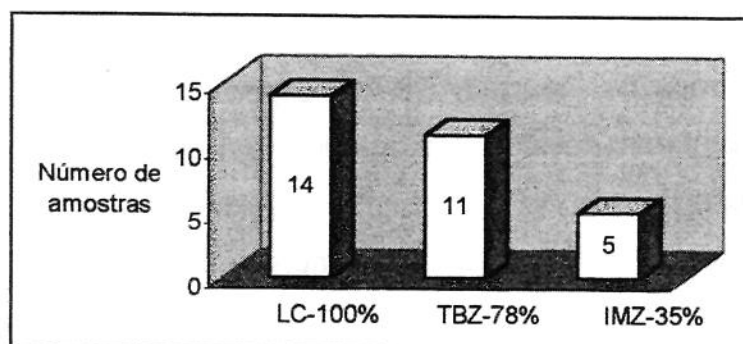


Figura 3. Percentagens de thiabendazole (TBZ) e imazalil (IMZ) nas laranjas contaminadas (LC)

Os resíduos de thiabendazole e imazalil foram analisados separadamente na casca, na polpa e na laranja inteira. A casca apresentou os maiores níveis de ambos os fungicidas, na faixa de 1,56 a 2,42mg/kg para imazalil e de 0,17 a 13,32mg/kg para thiabendazole. Apenas uma amostra apresentou resíduo de thiabendazole na polpa (1,41mg/kg), enquanto que na laranja inteira este

fungicida foi detectado na faixa de concentração de 1,35 a 2,19mg/kg e o imazalil na concentração de 0,96mg/kg, em uma amostra. A Figura 4 ilustra a presença relativa dos fungicidas nas várias partes das laranjas analisadas.

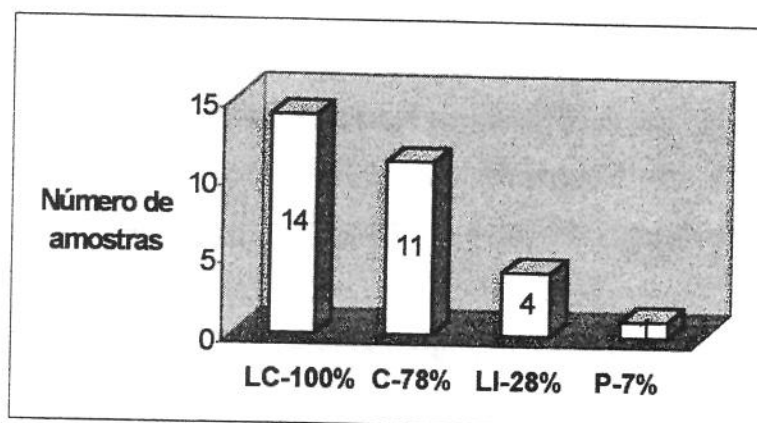


Figura 4. Percentagens de laranjas contaminadas (LC) com fungicidas na casca (C), na polpa (P) e na casca e polpa (LI)

Como a maior parte dos fungicidas fica retida na casca, recomenda-se, caso esta parte da laranja seja utilizada como matéria prima para extração de óleo ou para processamento, que seja realizado estudo dos níveis dos fungicidas nos produtos acabados. Como nem sempre as laranjas são lavadas antes da preparação do suco, seja pelo consumidor em sua residência ou em estabelecimentos comerciais, antes de sua extração em máquinas, é importante que sejam analisados os resíduos de thiabendazole e imazalil no suco, uma vez que existe a possibilidade do mesmo ser contaminado pelos fungicidas presentes nas cascas.

4.CONCLUSÃO

Como os níveis residuais de imazalil e thiabendazole apresentaram-se abaixo dos limites máximos estabelecidos pela Legislação Brasileira para estes fungicidas pode-se concluir que todas as laranjas analisadas estão adequadas para o consumo em relação à presença destas substâncias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 37 de 30 de Out. 1990. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I, p. 20755, 31 de Outubro de 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 699 de 1 de Setembro de 1998. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Seção I p. 172-E de 9 de Setembro de 1998.

BROWN, G. E. Effectiveness of postharvest fungicides for the control of citrus fruits decays. **The Citrus Industry**, v. 66, n. 9, 53-59, 1985.

BROWN, H. D., MATZUK, A. R., ILVES, I. R., PETERSON, L. H., HARRIS, S. A., SARET, L. H., EGERTON, J. R., YAKSTIS, J. J., CAMPBELL, W. C., CUCKLER, A. C. Antiparasitic drugs. IV. 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazole, a new anthelmintic. **Journal American Chemical Society**, v. 83, p.1764, 1961.

BURGER, D. W., DAVIS, R. M. New fungicides for the postharvest control of stem-end-rot in Texas grapefruit. **Hortscience**, v. 17, n. 6, p. 976-977, 1982.

CUCKLER, A. C. Thiabendazole, a new broad spectrum anthelmintic. **Journal Parasitology**. 47 Suppl., p. 36-37, 1961.

CUÑAT, P., CASAS, A. Tratamientos fungicidas para evitar las alteraciones posteriores a la recolección de los frutos cítricos. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 423-434, 1979.

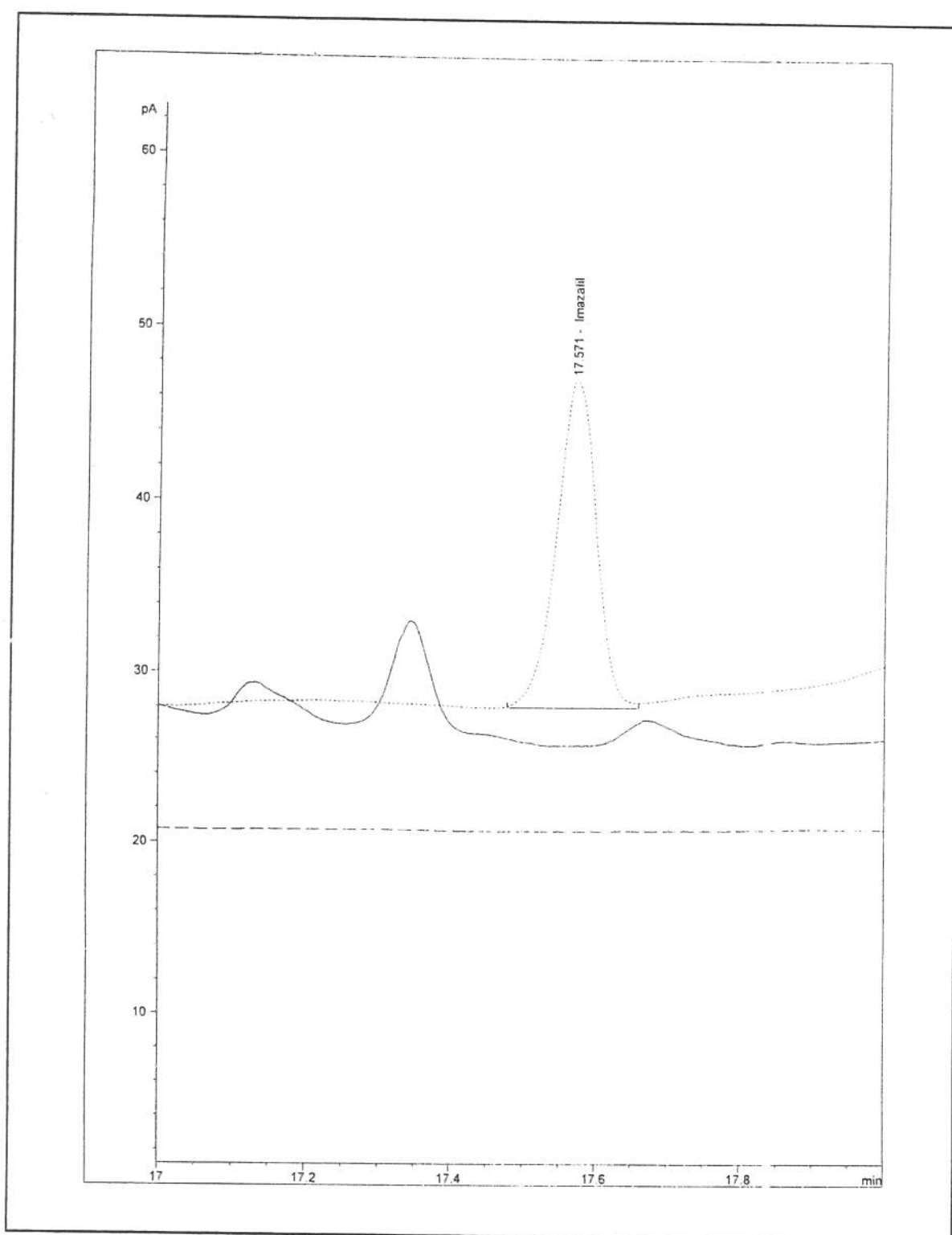
- DAVE, B., SALES, M., WALIA, M. Resistance of different strains of *Penicillium digitatum* to Imazalil treatment in Californian citrus packinghouses. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 102, p. 178-179, 1989.
- DONADIO, L. C., FIGUEIREDO, J. O., PIO, R. M. **Variedades cítricas brasileiras**. FUNEP. Jaboticabal. 228 p., 1995.
- EL-REFAI, A. M., MAHMOUD, M. B., ROFAEL, N., HANA, A. Relationship between mode of application of thiabendazole and its effectiveness for inhibiting green mold sporulation on oranges. **Fruits**, v. 37, n. 11, p. 723-726, 1982.
- FAO/WHO. Food Standards Programme. **Codex Alimentarius Commission**. Codex Maximum Limits for Pesticide Residues. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. CAC/Vol. XII, Ed. 2, p. 65-iv, 110-iv, 31/8/1986.
- GREENBERG, R., RESNICK, C. Gas-liquid chromatographic method for determining Imazalil residues in citrus fruit. **Pesticide Science**, v. 8, p. 59-64, 1977.
- HASSE, G. **A laranja no Brasil 1500-1987**: a história da agroindústria cítrica brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX. Edição Duprat E Iobe. São Paulo. 296 p., 1987.
- ISSHIKI, K., TSUMURA, S., WATANABE, T. High performance liquid chromatography of thiabendazole residues in banana and citrus fruits. **Journal of the Association of the Official Analytical chemists**, v. 63, n. 4, p. 747-749, 1980.

- ISSHIKI, K., TSUMURA, S., WATANABE, T. Post-harvest fungicides in edible parts of citros fruits. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 993-999, 1982.
- KAPLAN, H. J., DAVE, B. A. The current status of Imazalil: a post harvest fungicide for citros. **Proceedings of the Florida State and Horticultural Society**, v. 92, p. 37-43, 1979.
- LAFUENTE, M. T., TUSET, J. J. PIQUER, J., ESTELLES, A., TADEO, J. L. Determinacion de residuos del fungicida Imazalil en citricos: penetracion y persistencia. **Anales del Instituto Nacional del Investigaciones Agrarias Agrícolas**. Ser. Agric., v. 26, p. 83-91, 1984.
- LAVILLE, E. Etude des traitements fongicides appliqués aux agrumes après récolte. Action de l'Imazalil. **Fruits**, v. 33, n. 2, 101-105, 1978.
- LAVILLE, E. Y., HARDING, P. R., DAGAN, Y., RAHAT, M., KRAGHT, A. J., RIPPON, L. Studies on Imazalil as potencial treatment for control of citros fruit decay. **Proceedings of the International Society Citricultural**, v. 1, p. 269-273, 1977.
- MAIA, M. L., AMARO, A. A ., GONÇALVES, J.S., SOUZA, S. A. M. Produção e Comercialização das Frutas Cítrica no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, SP, v. 43, n. 1, p. 1-42, 1996
- McCORNACK, A. A., BROWN, G. E. Decay control of florida citros fruits with Imazalil. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 90, p. 141-144, 1977.

- MINELLI, E. V., ANGIONI, A., CABRAS, P., GARAU, M. M., PIRISI, F. M., CABITZA, F., CUBEDDU, M. Persistence of some pesticides in peach fruit. **Italian Journal Food Science**, v. 1, p. 57-62, 1996.
- NAVICKIENE, S., RIBEIRO, M.L. Rapid method for the determination of thiabendazole and Imazalil residues in oranges by capillary column gas chromatography. **Journal High Resolution Chromatography**, v. 22, n. 5, p. 303-304, 1999.
- PAPADOUPOULOU-MOURKIDOU, E. Postharvest-Applied Agrochemicals and Their Residues in Fresh Fruits and Vegetables. . **Journal of the Association of the Official Analytical chemists**, v. 74, n. 5, p. 745-765, 1991.
- RAO, N. N. R. Effect of post-harvest fungicidal treatment of citrus fruits against the control of green mold rot. **Journal of Food Science and Technology** , v. 21, n. 1, p. 25-28, 1984.
- ROBINSON, H. J., SILBER, R.H., GRAESSLE, O. E. Thiabendazole: toxicological pharmacological, and antifungal properties. **Texas Reports on Biology and Medicine**. V. 27(suppl. 2), p. 537-560, 1969.
- ROBINSON, H. J., STOERK, H. C., GRAESSLE, O. E. Studies on the toxicologic and pharmacologic properties of thiabendazole. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 7, p. 53-63, 1965.
- RODRIGUEZ, O., VIÉGAS, F., POMPEU JR., J., AMARO, A. A. **Citricultura brasileira**. Volume 1, Segunda ed. Campinas, SP, Fundação Cargill, 1991.

- SCHIRRA, M., ANGIONI, A., RUGGIU, E., MINELLI, E. V., CABRAS, P.
Thiabendazole uptake and persistence in lemons following postharvest dips at 50°. **Italian Journal Food Science**, v. 10, n. 21, p. 65-170, 1998.
- SCHIRRA, M., CABRAS, P., ANGIONI, A., MELIS, M. Residue level of Imazalil fungicide in lemons following prestorage dip treatment at 20 and 50°C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 2865-2869, 1996.
- TJAN, G. H., JANSEN, J. T. A. Gas-liquid chromatographic determination of thiabendazole and methyl 2-benzimidazole carbamate in fruits and crops. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, v. 62, n. 4, p. 769-773, 1979.
- WORTHING, C. R. **The Pesticide Manual**. Nottingham, The British Crop Protection Council, 1979.

Anexo 1. Cromatograma do Imazalil



Cromatógrafo à gás (HP 6890) com detector de ionização de chama (FID).

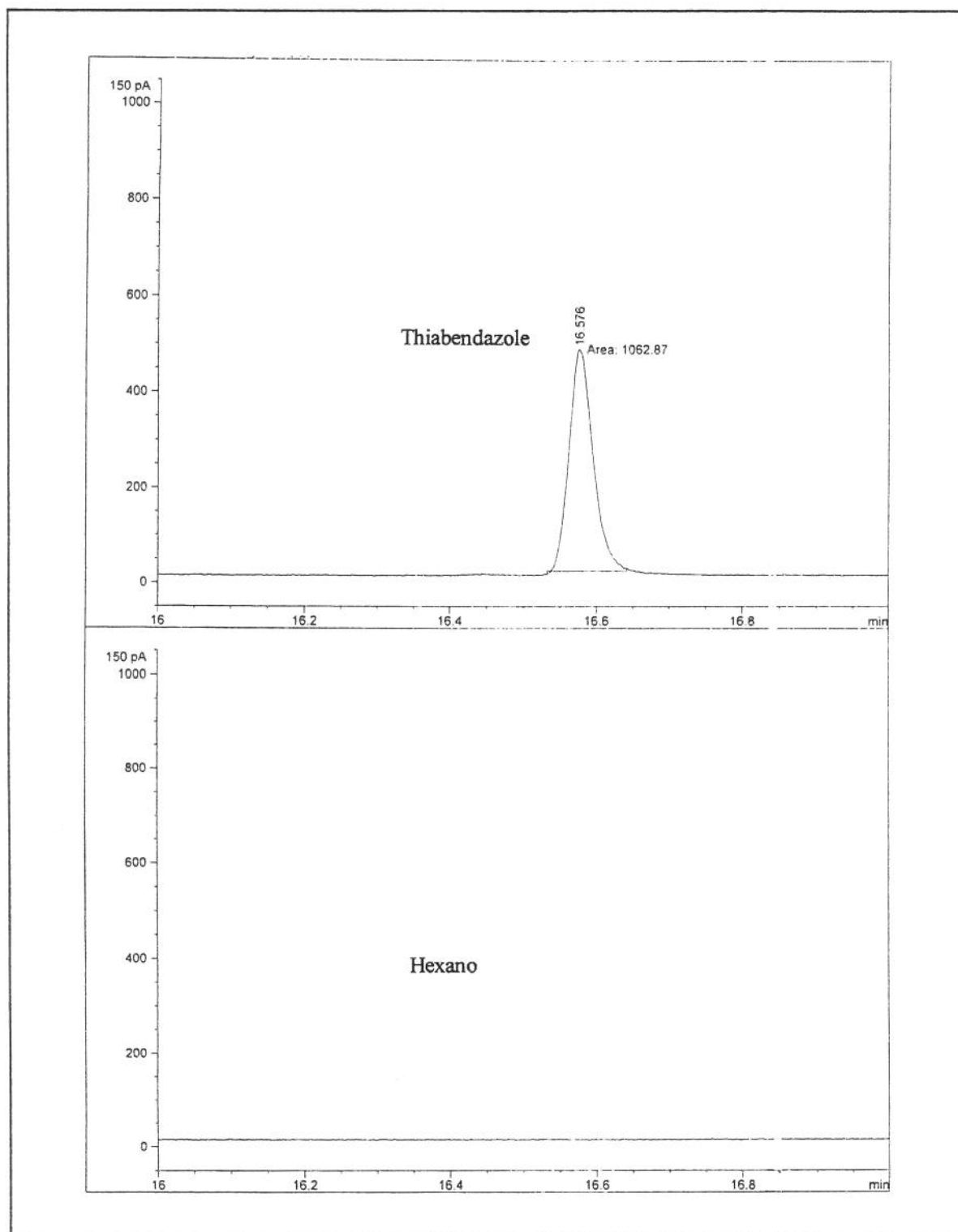
Condições cromatográficas: vide Material e Método (capítulos 2, 3, 4, 5, 6).

Cromatograma do imazalil (.....) (5,0mg/L), hexano (-----) e polpa de laranja(—) (2,5g/5mL).

Volumes injetados: 3 μ L.

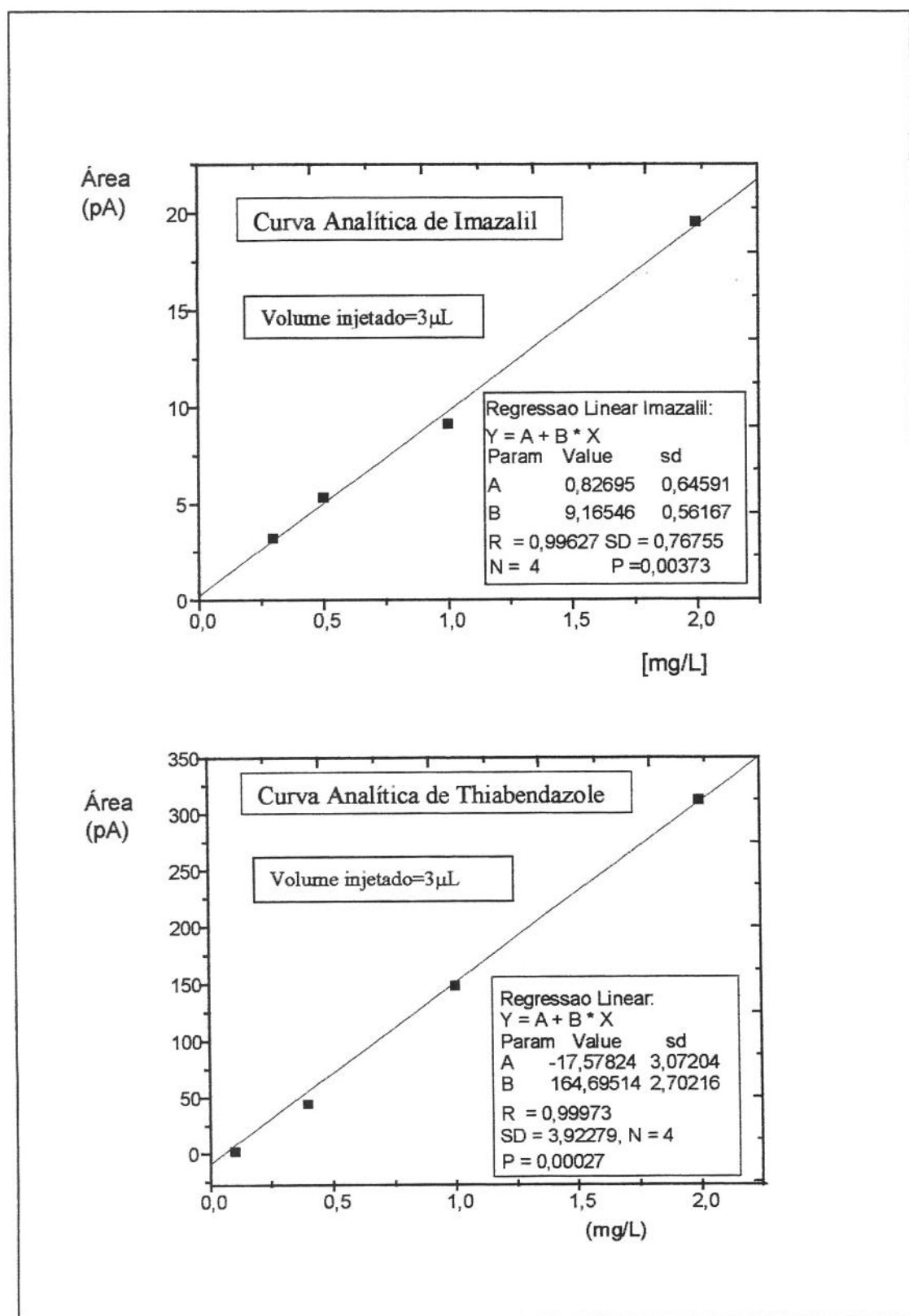
Tempo de retenção do imazalil: 17,5 minutos.

Anexo 2. Cromatograma do Thiabendazole



Cromatógrafo à gás (HP 6890) com detector de fotometria de chama (FPD).
Condições cromatográficas: vide Material e Método (capítulos 2, 3, 4, 5, 6).
Cromatograma do thiabendazole (3,0 μ L de 2,0mg/L).
Tempo de retenção do thiabendazole: 16,5 minutos.
Cromatograma do hexano (3,0 μ L).

Anexo 3. Curvas Analíticas de Imazalil e Thiabendazole



ERRATA

Página *i* : Substituir *Sinensis* por *sinensis*.

Página 103 : Substituir 80% por 85%.

Página 105 : Substituir 80% por 85%.

Página 115 : Substituir 2,6-diclorofenollindofenol-sódio por 2,6-diclorofenolindofenol-sódio.

Página 117 : Retirar do texto: et.

Página 153 : Substituir 28 por 25.

Página 173 : Substituir Tabela 1 por Tabela 2.

Página 193 : Substituir identificação por confirmação.