

RESÍDUOS DE ^{14}C -PROCHLORAZ EM MANGAS IRRADIADAS *

MARIA APARECIDA COSTA **

VALDEMAR LUIZ TORNISIELO ***

JULIO MARCOS MELGES WALDER ***

O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis residuais de Prochloraz aplicado em mangas, na pré e pós-colheita após o tratamento com radiação. Os frutos foram submetidos à radiação gama na dose de 1,0 kGy visando verificar se a mesma induziu a degradação do fungicida. As mangas tratadas na pós-colheita foram armazenadas por 21 dias a 12 °C. Os resíduos de Prochloraz não apresentaram decréscimo durante o período de carência (21 dias) estabelecido pela Legislação Brasileira de Agrotóxicos. O armazenamento refrigerado (12 °C) e a irradiação gama também não contribuíram para a degradação do fungicida. O Prochloraz ficou retido principalmente na casca (média = 1,64 µg/g), que funcionou como barreira à contaminação da polpa (média = 0,06 µg/g). O produto de degradação, formado nas cascas das mangas tratadas na pós-colheita, foi identificado como sendo o BTS 44596. Os metabólitos, encontrados em níveis baixos, confirmaram a ocorrência de baixa degradação do fungicida em mangas.

PALAVRAS-CHAVE: MANGAS; RADIAÇÃO; PROCHLORAZ; Mangifera indica; RESÍDUOS.

1 INTRODUÇÃO

A presença de resíduos de fungicidas em frutas pode ocorrer devido à aplicação de produtos químicos, visando o controle de doenças como a

* Extraído da Tese apresentada, pelo primeiro autor, ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba (SP) para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

** Bióloga, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Laboratório de Ecotoxicologia, Piracicaba, SP.

*** Pesquisadores, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, SP.

antracnose em mangas. Elevadas temperaturas e umidade relativa, comuns em países tropicais, favorecem o desenvolvimento de várias doenças, tanto na fase de pré como de pós-colheita, cujo controle depende do uso de fungicidas, entre os quais o Prochloraz.

De acordo com DODD et al. (1991), o Prochloraz pode ser usado na pós-colheita no controle da antracnose desenvolvida pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Sua mobilidade em plantas é translaminar e, segundo SAINT-BLANQUAT & MY (1983), o produto é absorvido na superfície da planta, não apresentando poder de penetração. Em estudo realizado por COOKE et al. (1979), usando morangos como sistema de planta-teste, tal afirmação foi confirmada.

O Prochloraz foi utilizado no controle de doenças de frutas cítricas na pós-colheita, sendo que, aproximadamente, 30% do resíduo encontrado na laranja "in natura" também foi encontrado no suco (FAO, 1983). MULLER & BURT (1989) estudando o fungicida Prochloraz em mangas, verificaram que os níveis residuais na casca das frutas foram reduzidos em 50%, 14 dias após o tratamento, sendo 0,1; 6,8 e 0,7 µg/g na polpa, casca e fruto inteiro, respectivamente. SCALON et al. (1996) realizaram experimento com Benomil em mangas, tendo observado que o fungicida não atingiu a polpa. Segundo esses autores, a casca da manga é altamente cerosa, espessa e pouco permeável, motivo pelo qual o fungicida teria ficado retido na camada superficial.

O Prochloraz encontra-se entre os fungicidas sistêmicos mais usados para erradicar os apressórios e hifas latentes na superfície dos tecidos de frutos, como as mangas. Estudos do comportamento dos agroquímicos que apresentam grande importância na agricultura tornam-se necessários, pois são os que acarretam maiores problemas ao ecossistema.

A diminuição dos efeitos indesejáveis dos pesticidas tem sido pesquisada, sendo o uso da irradiação gama uma das possibilidades para descontaminação de seus resíduos. Segundo LUCHINI (1995) a irradiação gama induziu a degradação de Paration em soluções aquosas, após o tratamento com dose de 1,0 kGy, e em metanol o Paration foi totalmente degradado com dose de 30 kGy.

A irradiação tem se mostrado como alternativa viável na conservação de alimentos e no controle de antracnose. DOMARCO et al. (1989) encontraram resultados satisfatórios ao avaliarem as características químicas e sensoriais de mangas Haden, utilizando doses de 0,8; 0,9 e 1,0 kGy. Trabalhos têm sido realizados visando utilizá-la na degradação de produtos químicos. Entretanto, ainda há discrepância entre os resultados informados pelos autores sobre os percentuais de degradação. Quando esta taxa é alta, as concentrações dos radicais reativos aumentam

e favorecem a combinação radical-radical. Outros fatores como a presença de adsorventes podem ser responsáveis por degradação menor, assim como os resíduos contidos na superfície externa seca de um alimento (LÉPINE, 1991).

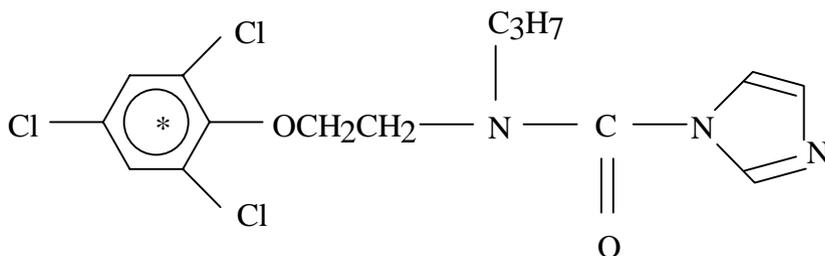
O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de resíduos do fungicida Prochloraz em mangas utilizando a interação com a radiação gama para verificar possível indução na degradação do fungicida e formação de metabólitos na polpa e na casca das frutas, tratadas na pós-colheita.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O Prochloraz, N-propil [2 (2,4,6 triclórofenox) etil] carbamoilimidazol, com massa molecular igual a 376,7 gramas, apresenta solubilidade em água de 34 mg/L (25 °C), pressão de vapor $1,5 \times 10^{-4}$ Pa e constante de Henry $1,7 \times 10^{-3}$ Pa/mM. A sinonímia do Prochloraz é Jade; BTS 40542 e Sportak, sendo seus metabólitos a BTS 44596, o BTS 44595 e o BTS 445186. O limite máximo de resíduos estabelecido para manga é de 0,2 µg/g para tratamento pós-colheita, com intervalo de segurança de 21 dias (BRASIL, 1995). Pertencente à classe toxicológica I, a dose recomendada para mangas é de 49,5g i.a./100 g placebo/100L H₂O.

A atividade do composto radioativo ¹⁴C-Prochloraz, marcado uniformemente nos carbonos do anel (Figura 1), foi de 3,5 MBq e atividade específica de 250 MBq mg⁻¹, com 99% de pureza.

FIGURA 1 - FÓRMULA ESTRUTURAL DO FUNGICIDA PROCHLORAZ



* local de marcação.

Foram utilizadas mangas de 20 mangueiras (*Mangifera indica*) da variedade Haden, cultivadas em pomar situado no Departamento de Horticultura, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba/SP.

A identificação do produto original e metabólitos foi realizada pela técnica de cromatografia em camada delgada utilizando-se placas de sílica gel 60 F₂₄₅ (Merck), sobre as quais foram aplicados o padrão Prochloraz e os três metabólitos (BTS 44595, 44596 e 445186). A eluição das placas ocorreu em sistema de solventes hexano:acetona (LAFUENTE & TADEO, 1985), na proporção 75:25 v/v. Após a secagem, as manchas foram visualizadas com o auxílio da luz ultravioleta (245–360 nm) e seus fatores de retenção (RF) foram determinados. Após a secagem ao ar livre, os cromatogramas foram obtidos com detector linear de radiação “Scanner” Automatic TLC Linear Analyzer.

As mangas foram selecionadas com, aproximadamente, o mesmo tamanho e grau de maturação, porém com o estágio de amadurecimento fisiológico ainda não atingido. O experimento foi subdividido em duas fases, envolvendo dois tratamentos: aplicação do ¹⁴C-Prochloraz e radiação gama.

As mangas receberam a aplicação de ¹⁴C-Prochloraz na forma de banho de imersão, por 2 minutos, numa solução com concentração de 52,54 µg e atividade de 2,341 MBq, denominada de tratamento pós-colheita. Parte dos lotes tratados foram submetidos à irradiação com dose de 1,0 kGy e taxa de dose de 0,166 kGy/h segundo DOMARCO et al. (1989). Empregou-se fonte de cobalto-60, tipo Gammabeam 650, com atividade de 8,33 x 10¹² Bq, em atmosfera e temperatura ambientes.

Após os tratamentos os frutos foram armazenados durante 21 dias, em câmara fria, com temperatura controlada de 12 ± 1 °C, sob umidade de 75-80% (MEDLICOTT et al., 1990). As mangas tratadas foram analisadas no primeiro dia da aplicação do ¹⁴C-Prochloraz, denominado de carência zero e após 21 dias, ou seja, após o intervalo de segurança estabelecido para o uso do produto em mangas.

Para avaliação dos níveis de resíduos de ¹⁴C-Prochloraz nas mangas realizou-se queima em triplicata da casca e da polpa (400 e 300 mg, respectivamente), em oxidador biológico e ciclo de três minutos. O ¹⁴CO₂ foi capturado em 15 mL de solução cintiladora, composta de 2,5 g PPO; 0,05 g POPOP; 300 mL de metanol; 200 mL de monoetanolamina e 500 mL de tolueno, e a leitura realizada em Espectrômetro de Cintilação Líquida (ELC). Os resíduos de Prochloraz foram extraídos com 10 g de amostra em cartuchos extração de celulose (30x100 mm) com 150 mL de acetona em Soxhlet por duas horas. Após esfriar, o eluato do cartucho foi transferido para o balão do evaporador rotativo e mantido 35 °C até quase a secura da amostra (2 mL). Filtrou-se a amostra em papel de filtro

Watman nº 42, com 10 g de sulfato de sódio anidro granulado e 80 mL de acetona. Retornou-se a amostra ao evaporador rotativo na mesma temperatura, secando-a até 2 mL. Para limpeza da amostra utilizou-se coluna de vidro com 4,0 g de Florisil percolando-se 2 mL de extrato com 90 mL de acetona. O eluato retornou ao evaporador rotativo até quase a secura. O extrato foi transferido para tubo concentrador e seco em nitrogênio até 2 mL.

De cada extrato de amostras foram retiradas alíquotas de 100 mL, as quais foram aplicadas em placas de cromatografia de camada delgada, com aplicador automático, e eluídas com sistema de solvente (hexano/acetona 75:25 v/v) para determinação do Prochloraz e seus metabólitos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESÍDUO DE FUNGICIDA ¹⁴C-PROCHLORAZ NA POLPA DE MANGAS

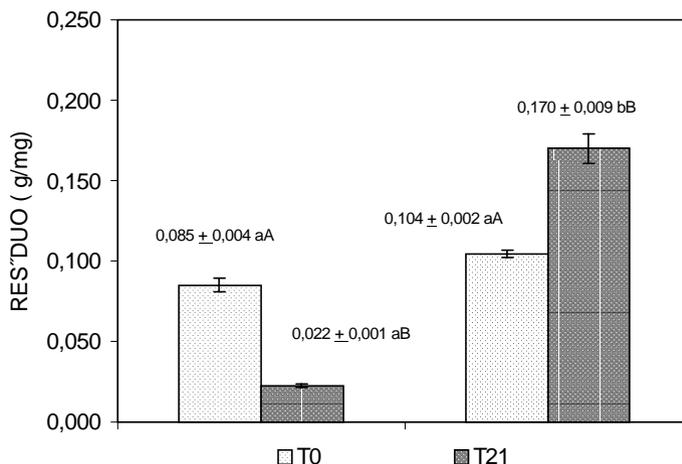
Analisando-se os efeitos da dose de radiação e o período de carência do fungicida Prochloraz na polpa, aplicado na pós-colheita (Figura 2), os níveis de resíduos avaliados na carência zero variaram de 0,085 µg/g em amostras não-irradiadas a 0,104 µg/g em amostras irradiadas, não havendo diferença entre os níveis de resíduos encontrados.

Após o intervalo de segurança de 21 dias, os níveis residuais variaram de 0,022 µg/g em amostras não-irradiadas para 0,170 µg/g em amostras irradiadas, evidenciando diferença entre as duas doses. Para as amostras não-irradiadas encontrou-se maior concentração de Prochloraz no período de carência zero (0,085 µg/g) e nas amostras irradiadas maior concentração do fungicida após 21 dias (0,170 µg/g).

Segundo DOMARCO et al. (1989) a manga irradiada na dose de 1,0 kGy aumenta significativamente seu período de conservação, decorrente do retardamento do seu metabolismo. No entanto, a radiação também pode acelerar o amadurecimento das frutas. A dose utilizada com a finalidade de retardar o processo de amadurecimento, provavelmente, causou sensibilização na casca, aumentando sua permeabilidade à penetração do fungicida. Durante o amadurecimento ocorre a transformação de protopectina em pectina e esta por ação enzimática, sofre desmetoxilação e simplificação das cadeias, causando solubilização até a degradação total quando a fruta está madura. A protopectina predomina nas frutas verdes e junto com o amido (em muitos casos) fornece dureza às frutas. Com a hidrólise de ambas ocorre o amolecimento podendo facilitar a penetração do fungicida e, conseqüentemente, aumentando sua concentração na polpa.

A maior quantidade do fungicida ^{14}C -Prochloraz foi encontrada na casca. Estudo realizado com morangos como frutas-teste, realizado por COOKE et al. (1979), confirma estes resultados.

FIGURA 2 - MÉDIA, DESVIO PADRÃO E TESTE DE TUKEY PARA RESÍDUO DE PROCHLORAZ ($\mu\text{g/g}$), EM POLPA DE MANGA APLICADO NA PÓS-COLHEITA EM FUNÇÃO DA DOSE DE IRRADIAÇÃO E O PERÍODO DE CARÊNCIA, ANALISADOS NA CARÊNCIA ZERO E APÓS 21 DIAS



Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si ao nível de 5% em função da dose de radiação no mesmo período de carência.

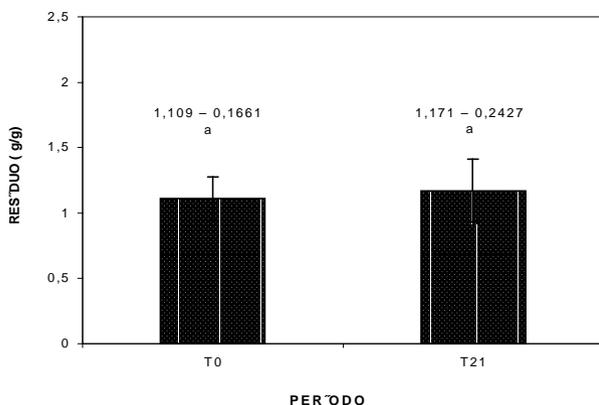
Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si ao nível de 5% em função do período de carência para a mesma dose de radiação.

3.2 RESÍDUO DO FUNGICIDA ^{14}C -PROCHLORAZ NAS CASCAS DE MANGAS

Não houve diferença no nível de resíduo detectado no período de carência zero ($1,109 \mu\text{g/g}$) e após 21 dias ($1,171 \mu\text{g/g}$), no tratamento pós-colheita (Figura 3), evidenciando que o fungicida Prochloraz ficou retido na casca, não ocorrendo degradação do produto.

Segundo LAFUENTE & TADEU (1985), os resíduos de Prochloraz permanecem na casca dos frutos variando conforme a espessura. SCALON et al. (1996) não encontraram resíduo do fungicida Benomil em polpa de manga. Segundo estes autores, a casca da manga é altamente cerosa, espessa e conseqüentemente pouco permeável impedindo a passagem do fungicida da casca para a polpa e, provavelmente, o mesmo fato ocorreu com o fungicida Prochloraz.

FIGURA 3 - MÉDIA, DESVIO PADRÃO E TESTE DE TUKEY PARA RESÍDUO DE PROCHLORAZ ($\mu\text{g/g}$), EM CASCAS DE MANGA, APLICADO NA PÓS-COLHEITA, DURANTE O PERÍODO DE CARÊNCIA ZERO (T0) E APÓS 21 DIAS (T21)



3.3 IDENTIFICAÇÃO DO FUNGICIDA PROCHLORAZ E METABÓLITOS EM MANGAS

A análise por cromatografia em camada delgada, realizada nas polpas de mangas, não revelou nenhum espectro do fungicida Prochloraz e de seus metabólitos, devido à baixa atividade detectada nestas amostras. No entanto, para as amostras de casca foram identificados o Prochloraz e seu metabólito BTS 44596 pelos cromatogramas e seus valores de R_f (Tabela 1).

Os resultados obtidos indicaram a presença do produto Prochloraz ($R_f = 0,18$) tanto nas amostras irradiadas quanto nas não-irradiadas. Verificou-se que a radiação gama não contribuiu para a degradação do fungicida Prochloraz, pois os fatores de retenção obtidos de amostras irradiadas não diferiram das amostras não-irradiadas.

TABELA 1- VALORES DE RF DO PROCHLORAZ E SEUS METABÓLITOS EM CASCAS DE MANGAS IRRADIADAS E NÃO-IRRADIADAS

Tratamentos	Prochloraz	Metabólitos Rf/códigos		
	Rf = 0,18	Rf = 0,12 BTS 44595	Rf = 0,34 BTS 44596	Rf = 0,48 BTS 445186
P s-Colheita irradiados (21 dias)	+	-	+	-
P s-Colheita n ^o irradiados (21 dias)	+	-	+	-

(+) = presença; (-) = ausência.

Os dados obtidos confirmam a opinião de LÉPINE (1991) de que os pesticidas podem não ser degradados por radiação em baixas doses e dependem, também, do meio em que se encontram. Portanto, a dose de 1,0 kGy utilizada neste estudo considerada como a melhor para conservação de mangas da variedade Haden, segundo DOMARCO et al. (1989), não contribuiu para a degradação do Prochloraz. Entretanto, os trabalhos realizados nesta área ainda são poucos e não se deve extrapolar os resultados para todos os pesticidas e nem para todas as espécies ou variedades de frutos. A legislação de agrotóxico (BRASIL, 1995) estabelece para mangas o valor de 0,2 µg/g de Prochloraz como o limite máximo de resíduo (LMR) e 21 dias de carência. Com os resultados obtidos em mangas pode-se verificar nos tratamentos e interações que os níveis de resíduos detectados nas polpas (Figura 1) foram inferiores a 0,2 µg/g de Prochloraz. No entanto, o mesmo não ocorreu quando se analisou as cascas, cujos níveis de resíduos foram superiores a 0,2 µg/g nos tratamentos e nas interações.

Pode-se verificar que a temperatura de 12 °C, considerada ideal para armazenagem de mangas, não alterou a degradação do fungicida Prochloraz. Foi observado em outros trabalhos que a redução dos níveis de resíduos depende de vários fatores, como condições de estocagem (tempo e temperatura), tipo de alimento e natureza do contaminante.

Embora o Prochloraz não tenha sido degradado na casca, atingindo os limites estabelecidos pela Legislação Brasileira de Agrotóxico, este resíduo não interfere na qualidade do fruto, pois somente a polpa é aproveitada para consumo. Em estudos realizados com Prochloraz, em laranjas e tangerinas, foi verificado após 14 dias níveis de 4,0 e 4,4 µg/g

no fruto inteiro e 0,52 e 0,63 µg/g no albedo para laranja e tangerina, respectivamente. Segundo LAFUENTE & TADEO (1985) os resíduos permanecem na casca das frutas.

Como o Prochloraz fica retido na casca pode-se sugerir a opção de lavar com água os frutos conforme trabalho realizado por OLIVEIRA (1993) que detectou redução nos níveis de resíduos de Dicofol em morangos após lavagem.

4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que o fungicida Prochloraz não apresenta decréscimo nos níveis residuais durante o período de carência estabelecido pela Legislação Brasileira de Agrotóxicos em cascas de mangas no tratamento pós-colheita. A casca de manga atua como sistema de proteção reduzindo ao mínimo a penetração do fungicida para a polpa. A polpa analisada estava própria para consumo de acordo com a legislação vigente. Verificou-se também que a irradiação gama com dose de 1,0 kGy não contribuiu para a degradação do Prochloraz em mangas.

Abstract

¹⁴C-PROCHLORAZ RESIDUES IN IRRADIATED MANGOES

The aim of this work was to evaluate the Prochloraz residual levels applied in mangoes, in pre and post-harvest after radiation treatment. The fruits were submitted to gamma radiation with of 1,0 kGy dose, aiming to verify if it induces the fungicide degradation. Treated post-harvest mangoes were stored, at 12 °C during 21 days. Prochloraz residues did not present reduction after safe period (21 days), established by the Brazilian legislation on agrochemicals. The refrigerated storage (12 °C) and the gamma radiation also did not contribute to the degradation of the fungicide. Prochloraz was mainly retained in the peels (mean = 1,64 µg/g) which served as barrier to the pulp (mean = 0,06 µg/g) contamination. The degradation product, formed in peels of post-harvest treated mangoes was the metabolite BTS 44596. The metabolites found in very low levels, confirm that low fungicide degradation occurs in mangoes.

KEY-WORDS: MANGOES; RADIATION; PROCHLORAZ; Mangifera indica; RESIDUES.

REFERÊNCIAS

- 1 BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação de substâncias para uso fitossanitário e domissanitário**: portarias do Ministério da Saúde. São Paulo: ILSI, 1995.

- 2 COOKE, B.K.; PAPPAS, A.C.; JORDAN, V.W.L.; WESTERN, N.M. Traslocation of Benomil, Prochloraz and procymidone in relation to control of *Botrytis cinerea* in strawberries. **Pesticide Science**, v.10, n. 6, p.467-472, 1979.
- 3 DOMARCO, R.E.; WALDER, J.M.; ARTUR, V.; SPOTO, M.H.F. Conservação de mangas através da radiação gama. Características, físicas, químicas e sensoriais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 12., Rio de Janeiro, 1989. **Resumos...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1989. p.171.
- 4 DODD, J.C.; BUGANTE, R.; KOOMEN, I.; JEFFRIES, P.; JEGER, M.J. Pre and post-harvest control mango anthracnose in the Phillipines. **Plant Pathology**, v.40, n. 4, p.576-583, 1991.
- 5 FAO. Food and Agriculture Organization. Pesticides residues in food: evaluations. **FAO Plant Production and Protection Paper**, v.61, n. 49, p. 394-442, 1983.
- 6 LAFUENTE, M.T.; TADEO J.L. Residues analysis of post-harvest Imidazole fungicides in citrus fruit by HPLC and GLC. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1/2, p.99-108, 1985.
- 7 LÉPINE, F.L. Effects of ionizing radiation on pesticides in a food irradiation perspective: a bibliographic review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.32, n.12, p.2112-2118, 1991.
- 8 LUCHINI, L.C. **Degradação do inseticida Paration etílico em diversas matrizes ambientais por meio de radiações ionizantes gama (γ) do cobalto-60.** São Carlos, 1995. 124 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 9 MEDLICOTT, A.P.; SIGRIST, J.M.M.; SY, O.O. Repining of mangos is following low temperature storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.115, n.3, p.430-434, 1990.
- 10 MULLER, A.T.; BURT, J. R. Post-harvest storage control of mango stem-end rot with fungicidals dips. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, v.29, n. 1, p.125-127, 1989.
- 11 OLIVEIRA, J.J.V. **Resíduo de agrotóxico e sua redução por lavagem com água e estocagem em geladeira (5 °C).** Campinas, 1993. 130 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 12 SAINT-BLANQUAT DE; MY, J. Qu'est-ce que le Prochloraz? **La Defense des Vegetaux**, v.37, n. 221, p.121-144, 1983.
- 13 SCALON, S.P.Q.; OLIVEIRA, J.J.V.; LIMA, L.C.O.L. Resíduos de Benomil em polpas de mangas "Haden" armazenadas em atmosfera modificada. **Pesticidas: R. Técnico-Científica**, v.6, p. 42-53, 1996.