

# PÓS-COLHEITA DO MAMÃO (*Carica papaya* L.): LIMITE MÁXIMO DE RESÍDUOS DE ETILENOBISDITIOCARBAMATOS (EBDCs)

E. F. Fay<sup>1</sup>, A. J. B. Luiz<sup>1</sup>, R. B. Abakerli<sup>2</sup>, N. R. Rodrigues<sup>2</sup>, H. H. B. Toledo<sup>3</sup>, T. D. L. Galvão<sup>4</sup>, V. M. Medina<sup>5</sup>, D. S. Martins<sup>6</sup>, O. K. Yamanishi<sup>7</sup>, D. R. C. Souza<sup>1</sup>, M. A. Rosa<sup>1</sup> y A. Bonifácio<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Meio Ambiente - CP. 69, Jaguariúna, SP, Brasil, CEP 13820-000; e-mail: bethfay@cnpma.embrapa.br

<sup>2</sup> CPQBA-UNICAMP Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup> IAL, São Paulo, SP, Brasil

<sup>4</sup> EBDA, Teixeira de Freitas, BA, Brasil

<sup>5</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil

<sup>6</sup> INCAPER, Vitória, ES, Brasil

<sup>7</sup> FMAV- UnB, Brasília, DF, Brasil

<sup>8</sup> CFA-MAPA, Brasília, DF, Brasil

## 1.- Introducción

O Brasil é responsável por 25% da produção mundial de mamão (*Carica papaya* L.), o que equivale a 1,6 milhão de toneladas/ano. Os estados da Bahia e do Espírito Santo destacam-se com 860.000 e 420.500 toneladas/ano, respectivamente. A União Européia é o principal mercado consumidor, para onde exportamos cerca de 70% da nossa produção. No entanto, parte dessas exportações têm sido rechaçadas, na Comunidade Européia, devido a resíduos não conformes de etilenobis(ditiocarbamatos) (EBDCs) nos frutos, conforme registros do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Legalmente os níveis de resíduos de pesticidas são controlados pelos limites máximos de resíduos (LMRs) que são estabelecidos para um par pesticida/cultura, e podem ser inexistentes ou diferentes em diversos países. Quando a cultura não é característica de um determinado país, ensaios de campo para estabelecimento de LMRs não são possíveis de ser efetuados, portanto, não se consegue estabelecer limites dos resíduos de fungicidas ditiocarbamatos na União Européia. Assim, adota-se a prática da tolerância zero que, normalmente é estabelecida no limite de quantificação do método analítico (sem a interferência de matrizes). Por exemplo, na Comunidade Européia, o LMR para EBDCs em mamão é o limite de determinação do método (0,05mg kg<sup>-1</sup>).

O mamoeiro é muito sensível às variações climáticas e ambientais, e por isso é bastante suscetível a várias doenças, demandando rigoroso controle fitossanitário em todas as fases fenológicas da cultura. Certas doenças fúngicas promovem a podridão terminal do caule, do pedúnculo e dos frutos durante o amadurecimento e/ou armazenamento, entre elas, a pinta preta (*Asperisporium caricae*) é uma doença muito comum, que apesar de não causar grandes perdas em produtividade, como outras podridões, resulta na desvalorização do produto. Das doenças de pós-colheita, a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), é a principal, podendo ser responsável por até 40% da perda dos frutos. O controle dessas doenças é feito de forma preventiva com aplicações no campo de fungicidas sendo o mancozebe o mais utilizado. Porém, o

mancozebe é um produto com características físico-químicas que não permitem a análise direta de seus resíduos. Sua determinação é feita de forma indireta pela quantificação de dissulfeto de carbono (CS<sub>2</sub>) gerado numa hidrólise ácida. O problema associado à análise indireta é a geração endógena de CS<sub>2</sub>. Esse fato é conhecido na família das brássicas e nas caricáceas foi demonstrado nas variedades Golden, Sunrise solo e Tainung cultivadas sem utilização de agroquímicos sulfurados níveis endógenos variando entre <0,02 até 0,34 mg kg<sup>-1</sup>. No entanto, o enxofre é um elemento essencial para o crescimento das plantas e sua deficiência causa o amarelecimento das folhas sendo que no mamoeiro o crescimento é prejudicado antes da manifestação visual desse sintoma. Em situação real de cultivo, o suprimento de enxofre é efetuado com fertilizantes na forma de sulfato. Um outro produto muito utilizado nesse cultivo é a calda sulfocálcica, um polissulfeto de cálcio, para o controle de insetos.

Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a concentração endógena de CS<sub>2</sub> com aquelas de aplicação em campo de mancozebe, calda sulfocálcica e sulfato de amônio. Além disso, pretendeu-se estabelecer um valor de concentração de CS<sub>2</sub> capaz de discriminar os resíduos verdadeiros dos níveis endógenos de CS<sub>2</sub>.

## 2.- Material e métodos

### 2.1 Ensaio de campo

Os experimentos de campo para obtenção de amostras de mamão controle foram efetuados nas áreas representativas da produção brasileira nos estados da Bahia e Espírito Santo. Aos 50 dias da sementeira, em solo também sem tratamento, as mudas foram transplantadas para áreas experimentais. As mudas das variedades Golden, Sunrise solo e Tainung foram produzidas a partir de sementes de plantas que não receberam qualquer tratamento químico com compostos sulfurados. Amostras controle foram coletadas aleatoriamente na fase comercial de maturação, e estas não foram tratadas durante todo o ciclo da cultura, com fungicidas do grupo dos ditiocarbamatos. Amostras

tratadas com o fungicida, em cultivo comercial, também foram avaliadas aos 0, 3, 7 e 14 dias após aplicação (DAT) do fungicida. Num das áreas selecionadas foram efetuados os tratamentos com calda sulfocálcica e sulfato de amônio.

## 2.2 Análise de CS<sub>2</sub>

### 2.2.1 Processamento de amostras

Tão logo foram recebidas, as amostras de mamão foram mantidas em temperatura entre 5 e 10°C para retardar o amadurecimento dos frutos até a etapa de processamento. Todas as amostras utilizadas eram sadias e foram picadas antes da análise.

### 2.2.2 Método analítico para determinação de CS<sub>2</sub> por partição em iso-octano

Foram pesadas, diretamente nos frascos de reação, 50 g de amostra, adicionadas de 150 mL de solução de cloreto estano 1,5 % em 12 % de ácido clorídrico e 25 mL de iso-octano. O frasco foi tampado e incubado por duas horas a 80 °C. Após o resfriamento à temperatura ambiente uma alíquota da camada de iso-octano foi transferida para frasco de injeção e analisada contra uma curva de calibração obtida com dissulfeto de carbono em iso-octano, na faixa de concentração de 0,03 até 0,8 µg mL<sup>-1</sup>. O dissulfeto de carbono foi analisado em cromatógrafo gasoso HP-6890 equipado com detector fotométrico de chama com filtro no modo enxofre, coluna HP-Plot Q de 30 m x 0,53 mm x 40 µm. As condições cromatográficas para análise de CS<sub>2</sub> em coluna megabore de poliestireno divinilbenzeno, fluxo de gás de arraste 7,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura do injetor 150 °C; temperatura do detector 200 °C; programação do forno 80 °C por 3 min, 10 °C min<sup>-1</sup> até 250 °C. Os reagentes CS<sub>2</sub>, iso-octano, cloreto estano e ácido clorídrico foram grau analítico ou grau resíduo. O LOQ, limite de quantificação, foi de 0,02 mg kg<sup>-1</sup>.

### 2.2.3 Soluções padrão de dissulfeto de carbono em iso-octano

Foram preparadas pela diluição sucessiva de uma solução concentrada de 1000 µg mL<sup>-1</sup>, preparada a 20 °C, pela adição de 80 µL de dissulfeto de carbono, grau pa, em um balão volumétrico de 100 mL contendo iso-octano. As concentrações das soluções de trabalho estiveram na faixa de; 0,03 a 0,08 µg mL<sup>-1</sup> para a determinação do LOD na coluna HP PL-OT-Q. O limite de detecção (LOD), na condição analítica, foi obtido calculando o desvio padrão residual (DPr) e o coeficiente angular (a), resultantes das curvas de regressão obtidas, construídas com seis a doze injeções das soluções de padrão de dissulfeto de carbono em iso-octano. O LOD foi de 0.02mg kg<sup>-1</sup>.

### 2.2.4 Número de amostras analisadas

A determinação de CS<sub>2</sub> foi feita em 65 amostras controle,

em 36 tratadas com calda sulfocálcica e fertilizante sulfato de amônio e em 127 amostras tratadas com mancozebe.

## 2.3 Análise estatística

Com todos os dados de CS<sub>2</sub> observados nas amostras tratadas e não tratadas com ditiocarbamato e com o auxílio de um programa de planilha eletrônica, Microsoft Excell foram estabelecidas as funções de probabilidade de distribuição e de distribuição empírica cumulativa. A partir dessas foi estabelecida uma função de classificação que melhor discriminasse entre as amostras tratadas das não tratadas. A qualidade dessa classificação foi avaliada com a estatística "KHAT".

## 3.- Resultados e discussão

Nas amostras controle, as concentrações endógenas de CS<sub>2</sub> variaram entre <0,02 até 0,34 mg kg<sup>-1</sup>, independentemente da cultivar avaliada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Concentração (média ± desvio padrão de CS<sub>2</sub> em amostras de mamão controle (mg kg<sup>-1</sup>)

Cultivar	Local	Concentração de CS <sub>2</sub>
Golden	Barreiras	0,03 ± 0,03
	Linhares	0,03 ± 0,02
	Cruz das Almas	0,21 ± 0,15
	Teixeira de Freitas	0,02 ± 0,02
Tainung	Barreiras	0,01 ± 0,02
Sunrise solo	Cruz das Almas	0,02 ± 0,01
	Teixeira de Freitas	0,02 ± 0,01

A geração fitogênica de CS<sub>2</sub> e de outros compostos voláteis de enxofre tais como sulfeto de carbonila e ácido sulfídrico é um processo relacionado com a degradação de isotiocianatos naturais, provenientes da degradação enzimática dos diferentes glicosinolatos encontrados nas dicotiledôneas. Glicosinolatos são compostos iônicos que apresentam uma ligação tioglicosídica em carbono de uma oxima sulfonada. Os glicosinolatos ocorrem em 15 famílias das dicotiledôneas incluindo as Caricaceas. Geralmente os níveis de glicosinolatos são altos nas sementes e 10 vezes menores nos caules, raízes e folhas. As concentrações variam em função do tipo do tecido, idade fisiológica, saúde e nutrição da planta. Por um dano mecânico no tecido da planta ou pela ação de insetos os glicosinolatos são rapidamente hidrolisados pela enzima mirosinase, liberando glicose e um intermediário instável que perde sulfato e sofre rearranjo não enzimático para isotiocianatos, tiocianatos ou nitrilas, dependendo das condições químicas. Nesse processo a formação de nitrila é favorecida a baixo pH ao passo que em meio neutro há o favorecimento da formação de isotiocianato. Na família das Caricaceas o benzilglicosinolato pode ser encontrado em todas as partes da planta, como também o benzilisotiocianato (BITC). Assim, torna-se evidente que a determinação de resíduos de ditiocarbamatos pela simples dosagem de CS<sub>2</sub> é passível de falso positivo.

Os resíduos de mancozebe variaram de 0,39 até 12,40 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resíduos de ditiocarbamato em mamão (média  $\pm$  desvio padrão), expressos em CS<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>), aos 0, 3, 7 e 14 dias após as aplicações dos tratamentos (DAT) de mancozebe

Cultivar	0 DAT	3 DAT	7 DAT	14 DAT
<i>Golden</i>	1,7 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,4
	3,7 $\pm$ 1,3	1,7 $\pm$ 1,2	3,4 $\pm$ 3,4	4,4 $\pm$ 5,5
	1,8 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,6	0,6 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1
	4,6 $\pm$ 1,3	3,6 $\pm$ 1,5	2,8 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 1,1
<i>Taimung</i>	0,9 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 1,5	2,3 $\pm$ 3,3
<i>Sunrise solo</i>	4,9 $\pm$ 1,0	3,5 $\pm$ 1,1	2,9 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 0,5

No tratamento com calda sulfocálcica houve um aumento, em relação às amostras controle, na concentração de CS<sub>2</sub> que variou entre 0,02 a 0,8 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 3). Por outro lado a adubação com sulfato de amônio não causa diferença na concentração endógena de CS<sub>2</sub>.

**Tabela 3.** Concentração (média  $\pm$  desvio padrão) de CS<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>), aos 3, 7, 15 e 18 dias após tratamento (DAT) com calda sulfocálcica

Cultivar	3 DAT	7 DAT	15 DAT	18 DAT
<i>Golden</i>	0,16 $\pm$ 0,07	0,15 $\pm$ 0,14	0,23 $\pm$ 0,13	0,25 $\pm$ 0,14
<i>Sunrise solo</i>	0,13 $\pm$ 0,08	0,45 $\pm$ 0,21	0,14 $\pm$ 0,07	0,22 $\pm$ 0,17

Foi estabelecida uma função de classificação que melhor discriminasse entre as amostras que receberam e que não receberam tratamento com o fungicida. A função de classificação foi obtida pelo uso conjunto das distribuições de probabilidade empírica acumulada. Então, buscou-se encontrar um único valor de corte para a concentração de CS<sub>2</sub> acima do qual estaria a maioria nos frutos tratados com EBDCs, e abaixo do qual, a maioria dos frutos de mamão controle. A qualidade dessa função de classificação encontrada foi avaliada através de uma matriz de erro e com a estatística ("KHAT"). No conjunto de dados analisados, o valor da concentração de CS<sub>2</sub> que atende simultaneamente às restrições está entre 0,34 e 0,39 mg kg<sup>-1</sup> de CS<sub>2</sub>, com "KHAT" de 0,98873. Então, foi assumido o valor médio de 0,36 mg kg<sup>-1</sup> como sendo aquele que permite a melhor discriminação entre CS<sub>2</sub> endógeno e resíduos reais de ditiocarbamatos. Esse valor de corte é confirmado mesmo para as amostras tratadas com calda sulfocálcica ("KHAT" de 0,894) embora possa haver algum falso positivo.

Tais resultados demonstram que um novo valor de LMR deve ser proposto para minimizar falsos positivos sobre resíduos de ditiocarbamatos em mamão. Este valor é recomendado como referência para o LMR de CS<sub>2</sub> em mamão (*Carica papaya* L.), o que equivale dizer que valores maiores que este indicariam a utilização de EBDCs.

#### 4.- Conclusão

Podemos concluir pelos resultados encontrados que há geração fitogênica de CS<sub>2</sub> em mamão. Os dados apresentados neste trabalho demonstram que níveis de CS<sub>2</sub> abaixo de 0,36 mg kg<sup>-1</sup> não implicam na utilização de fungicidas do grupo dos ditiocarbamatos na cultura. A alteração do LMR pela União Européia poderá vir a beneficiar os produtores e exportadores brasileiros, ao minimizar os riscos de recusa das remessas da fruta nacional para aquele mercado.