

**ESTUDO DA PERSISTÊNCIA DE RESÍDUOS DE LINDANE E ENDOSULFAN  
ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA À GÁS, EM GRÃOS DE CAFÉ**

**CLOVIS RIBAS**

**Orientador: Gilberto Casadei de Batista**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Entomologia.

**P I R A Ç I C A B A**  
Estado de São Paulo - Brasil  
Outubro, 1976

À -

meus pais

O F E R E Ç O

À

*Sonia Maria, minha esposa e*

*ã*

*Ana Carolina, nossa filha*

D E D I C O

## A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof. Dr. Gilberto Casadei de Batista, pela orientação nos trabalhos e revisão dos originais;
- Ao Eng<sup>o</sup>-Agr<sup>o</sup> Pesquisador Científico Nabor Dias Netto, da Seção de Pragas das Plantas Industriais do Instituto Biológico, pela inestimável colaboração prestada na instalação e condução dos experimentos;
- Ao Eng<sup>o</sup>-Agr<sup>o</sup> Pesquisador Científico Pedro Pigati, Chefe da Seção de Resíduos do Instituto Biológico, pelo apoio e incentivo constante;
- Às Colegas da Seção de Resíduos Eng<sup>a</sup>-Agr<sup>a</sup> Marilene da Silva Ferreira e Cleusa Maria A. Guindani, pela valiosa colaboração na realização das análises de resíduos;
- Ao Prof. Dr. Domingos Gallo, pela sua receptividade e apoio;
- Aos Sr.<sup>s</sup> Luiz Chiaretto, José Moraes de Oliveira e Antonio Cabrera Lopes, pelos auxílios prestados;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão de bolsa de estudos.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

## Í N D I C E

	Página
1 - RESUMO .....	1
2 - INTRODUÇÃO .....	5
3 - REVISÃO DE LITERATURA .....	10
3.1 - Definições e conceitos .....	10
3.2 - Deposição, penetração e persistência de pesti- cidas .....	13
3.3 - Cromatografia a gás em análises de resíduos de inseticidas .....	24
3.3.1 - Definição, princípios e nomenclatura .....	24
3.3.2 - Histórico .....	27
3.4 - Resíduos de inseticidas em café .....	30
3.5 - Endosulfan .....	33
3.6 - Lindane .....	42
4 - MATERIAL E MÉTODOS .....	48
4.1 - Descrição do método de análise de resíduos .....	49
4.1.1 - Extração .....	49
4.1.2 - Purificação .....	49
4.1.2.1 - Partição em solventes .....	49
4.1.2.2 - Coluna de florisil .....	50
4.1.3 - Determinação .....	51

	Página
4.2 - Instalação dos experimentos .....	52
4.2.1 - Experimento 1 .....	52
4.2.2 - Experimento 2 .....	53
4.2.3 - Experimento 3 .....	54
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
5.1 - Experimento 1 .....	57
5.2 - Experimento 2 .....	68
5.3 - Experimento 3 .....	71
6 - CONCLUSÕES .....	73
7 - SUMMARY .....	76
8 - LITERATURA CITADA .....	80

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Ciclo dos pesticidas no meio ambiente (EDWARDS, 1970) .....	7
FIGURA 2 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café após quatro pulverizações de 700 g p.a./ha (RIBAS <i>et alii</i> , 1974) .....	17
FIGURA 3 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café após quatro pulverizações de 700 g p.a./ha - (log resíduos - tempo) (RIBAS <i>et alii</i> , 1974) .....	18
FIGURA 4 - Curvas mostrando os estágios X , Y e Z de desaparecimento de resíduos de dieldrin e Ovotran em frutas cítricas (GUNTHER e BLINN, 1956) .....	19
FIGURA 5 - Diagrama esquemático de cromatógrafo a gás .....	26
FIGURA 6 - Fórmula plana de endosulfan .....	34
FIGURA 7 - Fórmula espacial do Isômero I ou $\alpha$ e do Isômero II ou $\beta$ de endosulfan .....	35
FIGURA 8 - Fórmula plana de sulfato de endosulfan .....	36

FIGURA 9 - Fórmula plana de BHC e fórmula espacial de $\gamma$ -BHC ou lindane .....	43
FIGURA 10 - Persistência de resíduos de lindane em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p.a./ha (log resíduos - tempo) .....	60
FIGURA 11 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha (log resíduos - tempo) .....	63

## LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 - Resíduos de endosulfan decorrentes de condições práticas de aplicação, em diversas culturas (Adaptado de MAIER-BODE, 1968) .....	37
QUADRO 2 - Resíduos de lindane em alimentos de origem vegetal (EDWARDS, 1970) .....	45
QUADRO 3 - Persistência de resíduos de lindane em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p.a./ha .....	58
QUADRO 4 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha .....	61
QUADRO 5 - Resíduos de lindane em grãos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p.a./ha .....	64
QUADRO 6 - Resíduos de endosulfan em grãos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha .....	65

QUADRO 7 - Resíduos de lindane em grãos de café cru e torrado, provenientes de plantas tratadas quatro vezes com 800 g p.a./ha .....	69
QUADRO 8 - Resíduos de endosulfan em grãos de café cru e torrado, provenientes de plantas tratadas quatro vezes com 1.400 g p.a./ha .....	70
QUADRO 9 - Resíduos de lindane em grãos e cascas de café provenientes de plantas tratadas uma única vez com 400 g p.a./ha, em diferentes épocas .....	72

## 1 - RESUMO

Neste trabalho, procurou-se estudar a persistência dos resí  
duos de lindane e endosulfan em frutos de café, desde o momento da aplica  
ção na cultura, visando o controle da broca, *Hypothenemus hampei* (Ferr.,  
1867) , passando pelas fases de colheita, secagem, beneficiamento, até a  
torração dos grãos, além de estudar também a influência da época de apli  
cação na quantidade final de resíduos.

O método empregado nas análises de resíduos foi adaptado de  
U.S.D.H.E.W. (1971) por RIBAS (1974), e constou de extração com acetoni  
trilo e purificação através de partição em éter de petróleo e cromatogra  
fia em coluna de florisil. O extrato purificado foi concentrado e inje  
tado em cromatógrafo a gás marca Beckman, equipado com coluna contendo

10% de DC-200 e detector de captura de elétrons. Para o cálculo das quantidades de resíduos presentes, os cromatogramas obtidos a partir dos extratos das amostras foram comparados com cromatogramas obtidos de soluções contendo quantidades conhecidas de lindane e endosulfan.

Foram instalados três experimentos. O Experimento 1 foi instalado em cafezal da variedade Mundo Novo, com quinze anos de idade, localizado na Fazenda Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP, e constou do estudo da persistência dos resíduos de lindane e endosulfan em frutos de café que haviam sido pulverizados duas vezes com as dosagens de 400 e 700 g p.a./ha respectivamente ; foram realizadas análises de resíduos em frutos coletados imediatamente após a segunda aplicação e subsequentemente em frutos coletados aos 7 , 21 , 42 , 84 e 120 dias após a segunda pulverização ; depois da última coleta, os frutos remanescentes nas plantas foram colhidos e colocados para secar em terreiro, beneficiados e submetidos a análises de resíduos ; a seguir, os grãos de café foram torrados à temperatura de 250°C e novamente analisados. O Experimento 2 foi instalado no mesmo local e constou do estudo do comportamento em grãos de café, durante a fase de torração, de resíduos de lindane e endosulfan, decorrentes de quatro aplicações de 800 e 1.400 g p.a./ha respectivamente. O Experimento 3 foi instalado em cafezal de variedade Mundo Novo 379/19, com dezesseis anos de idade, localizado na Fazenda Roseira, município de Campinas, SP, e constou do estudo da influência da época de pulverização na quantidade de resíduos de lindane nos grãos de café ; foram realizadas pulverizações a 140 , a 110 , a 85 e a 55 dias

da colheita e amostras de grãos e cascas provenientes de cada tratamento foram submetidas a análises de resíduos.

A metodologia empregada permitiu que fosse atingida uma sensibilidade da ordem de 0,001 ppm para resíduos de lindane e de 0,005 ppm para resíduos de endosulfan.

Os níveis de resíduos de lindane nos grãos de café beneficiados são maiores do que nos frutos colhidos no estado "cereja", sendo que os resíduos de endosulfan presentes nos frutos colhidos no estado "cereja" desapareceram após os processos de secagem e beneficiamento.

O número de aplicações e as dosagens tem influência nos níveis finais de resíduos de lindane e endosulfan em grãos de café.

O processo de torração de grãos de café reduz o nível de resíduos de lindane e endosulfan a quantidades menores do que o limite de detecção do método, sendo que esses valores estão de acordo com as tolerâncias estabelecidas pela C.N.N.P.A. do Ministério da Saúde e que são 0,001 ppm para lindane e "sem resíduos" com limite de detecção de 0,01 ppm para endosulfan.

Duas aplicações de lindane na dosagem de 400 g p.a./ha, obedecendo-se um período de carência de 120 dias determinaram a ocorrência de resíduos de 0,042 ppm, superiores à tolerância.

Os resíduos decorrentes de duas aplicações de endosulfan na dosagem de 700 g p.a./ha, obedecendo-se um período de carência de 120 dias estiveram de acordo com a tolerância, pois foram menores que 0,005 ppm.

Quanto mais próximo da colheita foi realizado o tratamento com 400 g p.a./ha de lindane, maiores foram os resíduos presentes nos frutos inteiros (cascas + grãos) e nas cascas e, menores foram os resíduos presentes nos grãos.

## 2 - INTRODUÇÃO

Os primeiros pesticidas usados eram produtos orgânicos naturais como fencis provenientes da queima de certos tipos de madeira, extratos de fumo, rotenona, piretrinas ou produtos inorgânicos naturais contendo enxofre, cobre, arsênico, antimônio, mercúrio, zinco, manganês, etc. Até a II Guerra Mundial, esses eram os únicos pesticidas utilizados, quando foram então sintetizados o DDT e, posteriormente, outros inseticidas que além de terem sido de grande utilidade na agricultura, foram de grande eficiência no controle de artropodos transmissores de doenças de animais e seres humanos. O uso dos inseticidas clorados salvou milhões de vidas e aumentou grandemente a produção de alimentos, sendo suas propriedades de persistência bastante conhecidas. Entretanto, até o início da

década de 50 poucos estudos haviam sido feitos a respeito dos malefícios decorrentes de seus usos contínuos. Havia evidência que níveis residuais muito altos no solo poderiam ser fitotóxicos ; pequenas quantidades eram encontradas em plantas, animais e leite ; mortalidades de peixes podiam ser observadas quando eram realizados tratamentos de água, em campanhas anti-malária. Tudo isso porém, era tido como consequência normal e inevitável e, de pouco interesse (EDWARDS, 1970). Durante a década de 50 e nos primeiros anos da década de 1960 , apareceram os primeiros relatos da constatação de grandes níveis de resíduos desses inseticidas em solos (FLEMING, 1953 ; GINSBURG, 1954 ; LICHTENSTEIN, 1958) e de pequenas quantidades em água e fundo de rios (ROSEN, 1959). Houve indicações que inseticidas clorados não eram somente armazenados em tecidos de invertebrados e vertebrados menores mas, eram também encontrados nas camadas superiores da cadeia alimentar biológica (DE WITT, 1955 ; HUNT, 1966 ; EDWARDS, 1970). A Figura I ilustra o movimento dos pesticidas e seus resíduos através de vários compartimentos do meio ambiente.

Essas descobertas começaram a causar preocupação quanto a possíveis efeitos, a longo prazo, das enormes quantidades de pesticidas usadas às vezes indiscriminadamente e esses fatos atraíram para o problema, a atenção de cientistas, políticos e leigos, sendo que o exagerado valor atribuído por alguns, aos malefícios causados pelos resíduos de pesticidas tornou ainda mais controversa a necessidade do uso desses produtos (CARSON, 1962). Isso tudo concorreu para a conscientização da necessidade de pesquisas sobre a química dos pesticidas e diretamente contribuiu pa

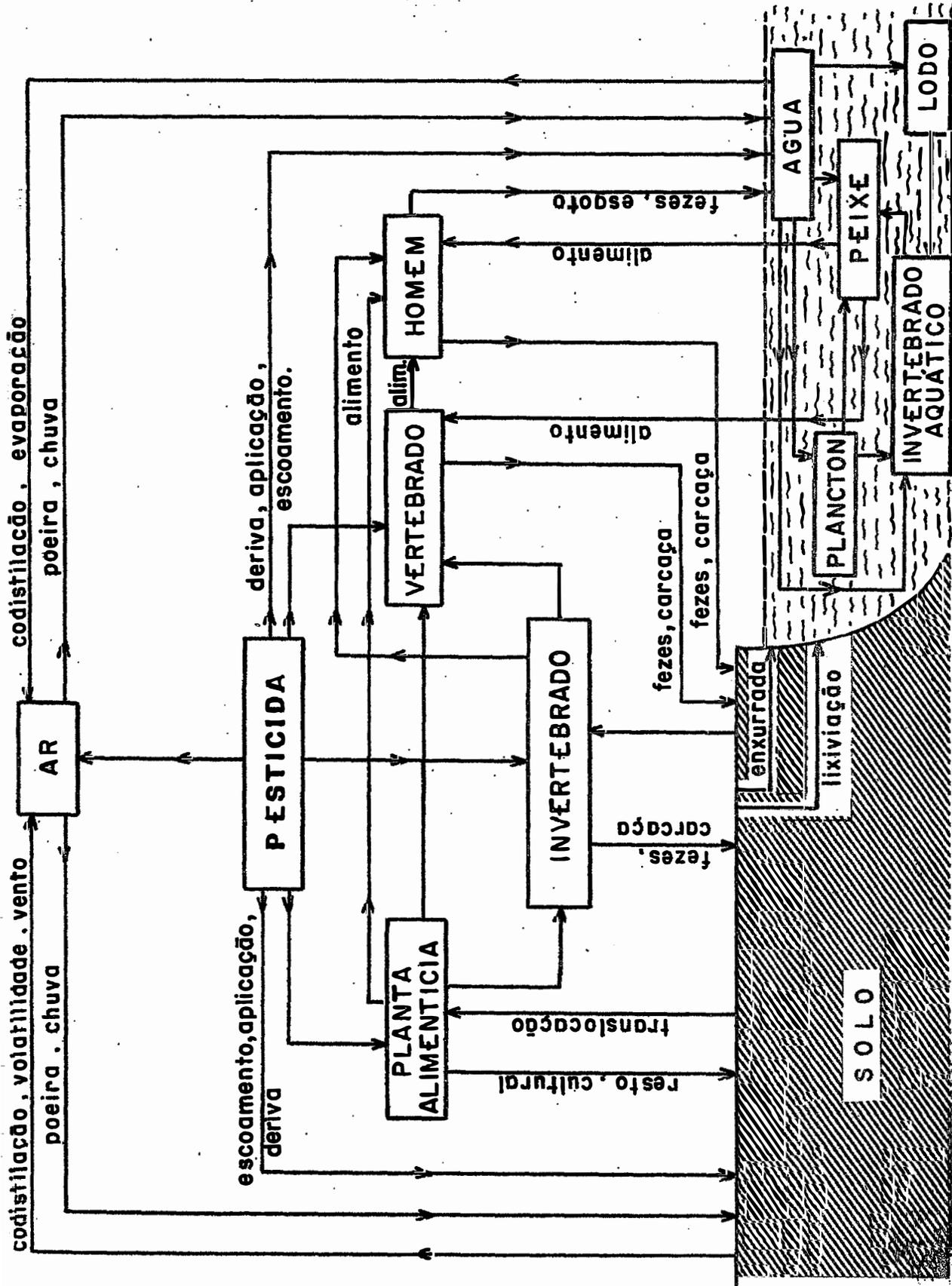


FIGURA 1 - Ciclo dos pesticidas no meio ambiente (EDWARDS, 1970).

ra a racionalização do emprego desses produtos. Mostrou também, a necessidade do uso de pesticidas igualmente eficientes porém de poder residual menor, como os inseticidas fosforados que haviam derivado de gases tóxicos utilizados na II Grande Guerra Mundial. O aparecimento de resistência dos insetos aos produtos organoclorados deu mais ênfase à procura de novos inseticidas que a essa altura já eram sintetizados a uma razão fenomenal (EBELING, 1963). Enquanto que originalmente havia um mérito especial para o pesticida que possuísse uma ação residual prolongada e um largo espectro de atividade biológica no que se refere ao número de espécies de praga susceptíveis, agora um período residual breve é considerado ser uma característica desejável e pesticidas altamente específicos estão sendo procurados.

Essas considerações e também o desejo normal de um uso econômico dos pesticidas, estimulou o interesse nos fatores que favorecem a extrema eficiência por unidade de pesticida depositado e maior interesse ainda no destino final dos resíduos sobre ou dentro da planta, animal ou substrato tratado.

Os inseticidas clorados são reconhecidamente muito persistentes e a presença de seus resíduos em grãos de café pode acarretar sérios problemas, não somente do ponto de vista do consumo interno, pelos danos que esses resíduos podem causar à população, como também, pelas dificuldades que poderão ser criadas às nossas exportações devido às restrições impostas por nações importadoras, visto serem as legislações vigentes nesses países extremamente rigorosas no que se refere à presença de

resíduos de inseticidas clorados em produtos importados. Pela grande importância que o café representa para a economia nacional, pois na pauta das exportações ele sempre ocupou um lugar destacado, e pelo quase total desconhecimento do comportamento dos resíduos de inseticidas clorados nas diferentes fases do ciclo dessa cultura, idealizou-se o presente trabalho.

Os objetivos visados foram: estudar o comportamento dos resíduos de lindane e endosulfan, desde o momento da aplicação na cultura, contra a broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867), até a época da colheita; persistência durante as fases de secagem, beneficiamento e torração, além do efeito da época de aplicação na quantidade final de resíduos.

Espera-se assim obter os dados necessários para o estabelecimento das normas a serem empregadas para que o nível de resíduos nos grãos beneficiados estejam dentro dos limites de tolerância estabelecidos pelas nações importadoras.

### 3 - REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 - DEFINIÇÕES E CONCEITOS

O Conselho Nacional de Normas e Padrões para Alimentos através da Resolução 12/74 considera:

##### 1 - Pesticida:

A substância ou mistura de substâncias destinada a prevenir a ação ou destruir direta ou indiretamente insetos, ácaros, roedores, fungos, nematóides, ervas daninhas, bactérias e outras formas de vida animal ou vegetal prejudiciais à lavoura, à pecuária, seus produtos e outras matérias primas alimentares.

2 - Resíduo de pesticida:

A quantidade de pesticida e/ou seus derivados remanescentes no alimento, decorrente do emprego do pesticida, e expresso em partes (em peso) do pesticida e/ou seus derivados por um milhão de partes (em peso) do alimento (ppm).

3 - Resíduo desprezível:

A quantidade de resíduo de pesticida considerada toxicologicamente insignificante.

4 - Resíduo não intencional (Limite Prático):

O que ocorre no alimento como resultado da contaminação sem que o pesticida tenha sido aplicado intencionalmente.

5 - Dose diária aceitável:

A quantidade máxima que, ingerida diariamente durante toda a vida, parece não oferecer risco apreciável à saúde, à luz dos conhecimentos atuais e expressa em mg de pesticida por kg de peso corpóreo (mg/kg).

6 - Tolerância:

A quantidade máxima de resíduo de pesticida tolerada no alimento, como decorrência de sua aplicação adequada, numa fase específica desde a sua produção, até o consumo, expressa em partes (em peso) do

pesticida e/ou seus derivados por um milhão de partes (em peso) do alimento (ppm).

7 - Limite de resíduo não intencional (limite do resíduo prático):

A quantidade máxima de resíduo não intencional de pesticida tolerada em alimentos, expressa em partes (em peso) do pesticida por um milhão de partes (em peso) do alimento (ppm).

8 - Intervalo de segurança ou período de carência:

Intervalo de tempo entre a última aplicação do pesticida e a colheita ou comercialização do vegetal, abate ou ordenha do animal, conforme o caso, a fim de que os resíduos estejam de acordo com as tolerâncias.

9 - Uso adequado ou boa prática agrícola:

Emprego correto e eficaz de um pesticida, considerados os riscos toxicológicos envolvidos em sua aplicação, de modo que os resíduos sejam os menores possíveis e toxicologicamente aceitáveis.

10 - Amostra subjetiva:

Amostra representativa colhida após o emprego conhecido ou suspeitado de um pesticida.

11 - Amostra objetiva:

Amostra representativa colhida sem conhecimento prévio do uso de pesticidas.

### 3.2 - DEPOSIÇÃO, PENETRAÇÃO E PERSISTÊNCIA DE PESTICIDAS

A demonstração da eficiência de um pesticida não é por si só o bastante para que seu uso comercial seja recomendado. Ele precisa ser razoavelmente seguro para aqueles que aplicam suas várias formulações e não deve deixar resíduos prejudiciais nas partes comestíveis das plantas. Devem ser encontrados então, meios de se usar esse pesticida de maneira que os resíduos resultantes do tratamento não excedam à tolerância estabelecida pelos órgãos públicos competentes. A grande maioria dos modernos pesticidas são compostos orgânicos sintéticos, solúveis nos óleos e ceras vegetais ou são sistêmicos, que podem ser translocados por toda a planta, via floema, xilema ou ambos. Infelizmente, dados de resíduos não podem ser extrapolados de uma cultura ou uma dosagem para outra, sendo que dados detalhados de resíduos são necessários para cada cultura, pesticida, formulação e dosagem. Análises de resíduos e pesquisa sobre a química e a físico-química do desaparecimento dos resíduos dos pesticidas constituem um dos mais importantes e modernos campos de estudos sobre os pesticidas (EBELING, 1963).

Segundo GIANNOTTI (1971) resíduo poderia ser interpretado a primeira vista, como simples camada de inseticida que recobre as folhas, frutos ou raízes das plantas depois da aplicação dos mesmos ; tal camada entretanto, deve ser considerada apenas como um depósito do material. Desde que essa camada venha a sofrer a ação dos fatores do clima como chuva, sol, vento, etc., o que fica absorvido em maior ou menor quantidade nas plantas é que deve ser verdadeiramente considerado como resíduos.

As superfícies das plantas variam em composição química, estrutura física e na maneira em que elas são formadas. A penetração dos defensivos agrícolas nas plantas depende principalmente da natureza dessas superfícies e também da formulação e composição do produto usado. A maioria das substâncias aplicadas nas partes aéreas das plantas, de acordo com CRAFTS e FOY (1962), pode penetrar para o interior por:

a) difusão como um vapor através dos estômatos ; b) movimento de massa com um líquido através dos estômatos ; c) difusão através da cutícula e paredes da epiderme ; d) penetração através de hidatódios e lenticelas ou rachaduras na casca.

De acordo com FINLAYSON e MACCARTHY (1965), a penetração de inseticidas para o interior das plantas pode se processar através de vários caminhos que foram estudados por MITCHEL *et alii* (1960) e incluem: através das paredes dos pelos presentes nas células epidérmicas das raízes ; através das cutículas de pêlos das células epidérmicas das partes aéreas ; através da cutícula das células do mesófilo esponjoso, após penetração pelos estômatos ; através da cutícula e paredes para o interior das células epidérmicas associadas com extensões de feixes da bainha ; através de lenticelas ou rachaduras na cutícula e periderma para o interior das células do felogênio ou ainda através da cutícula para a lamela intermediária, entre células adjacentes da epiderme.

A penetração de inseticidas através de folhas e raízes tem sido objeto de extensivos estudos. A penetração através de frutos, de acordo com FINLAYSON e MACCARTHY (1965), foi estudada somente em limões, pêssegos e olivas, os quais verificaram que inseticidas de contac-

to não são normalmente absorvidos em quantidades significativas e são armazenados nas bolsas de óleo da casca, às vezes por longos períodos e que os pesticidas que penetram nos frutos não são facilmente translocados.

Segundo HULL (1970), a penetração de substâncias orgânicas e inorgânicas é geralmente maior em tecidos relativamente mais novos, fato que já foi verificado nas folhas e na maioria das outras partes das plantas.

Persistência em pesticidas pode ser útil ou prejudicial (U.S.D.H.E.W. , 1969). Resíduos duradouros proporcionam controle do organismo visado por longos períodos, evitando assim a necessidade de reaplicações. Todavia, resíduos persistentes podem afetar também organismos não visados pertencentes à flora e fauna, durante muito tempo.

O desaparecimento dos resíduos da maioria dos pesticidas parece depender de reações cinéticas de primeira ordem e consequentemente pode ser representado graficamente como uma linha reta proveniente da relação entre o logaritmo da quantidade de resíduos presente e o período de exposição ou vice-versa (GUNTHER *et alii*, 1953 ; GUNTHER e BLINN, 1955).

Desde que o período requerido para o desaparecimento de uma certa porcentagem de resíduos é independente da quantidade de depósito original, a magnitude do depósito a uma certa data futura pode ser predita de acordo com a inclinação da curva ao tempo em que a predição é feita. Isso é de importância, pois possibilita o conhecimento da data aproximada em que os resíduos alcançarão o nível de tolerância (GUN-

THER e BLINN, 1955).

A Figura 2 mostra a curva de desaparecimento de resíduos de endosulfan em frutos de café, provenientes de plantas tratadas quatro vezes com 700 g p.a./ha, pelo espaço de 95 dias. A Figura 3 mostra a relação entre o logaritmo da quantidade de resíduos e o período de tempo decorrido após a quarta pulverização.

Quando o tratamento é realizado com o inseticida sob a forma de pó ou pó molhável, uma porção do depósito inicial perde-se de uma maneira muito mais rápida que o restante. Nesse caso, o logarítmo da quantidade de resíduos restantes em função do período de exposição, produz uma curva do tipo da Figura 4 (GUNTHER e BLINN, 1956). As porções da curva designadas como X e Y foram chamadas pelos autores de curva de degradação e a porção designada com Z foi chamada de curva de persistência. A porção X da curva acusa uma rápida perda do depô-sito original, dentro dos primeiros dois dias ou menos, como resultado da remoção do material não bem aderido à superfície vegetal, principal - mente por ação dos ventos.

A parte Y da curva representa uma mais prolongada, porém menos rápida, perda da porção aderente do depósito, causada por ero-são devido ao atrito entre as folhas, ramos e frutos ou devido ainda à ação das chuvas.

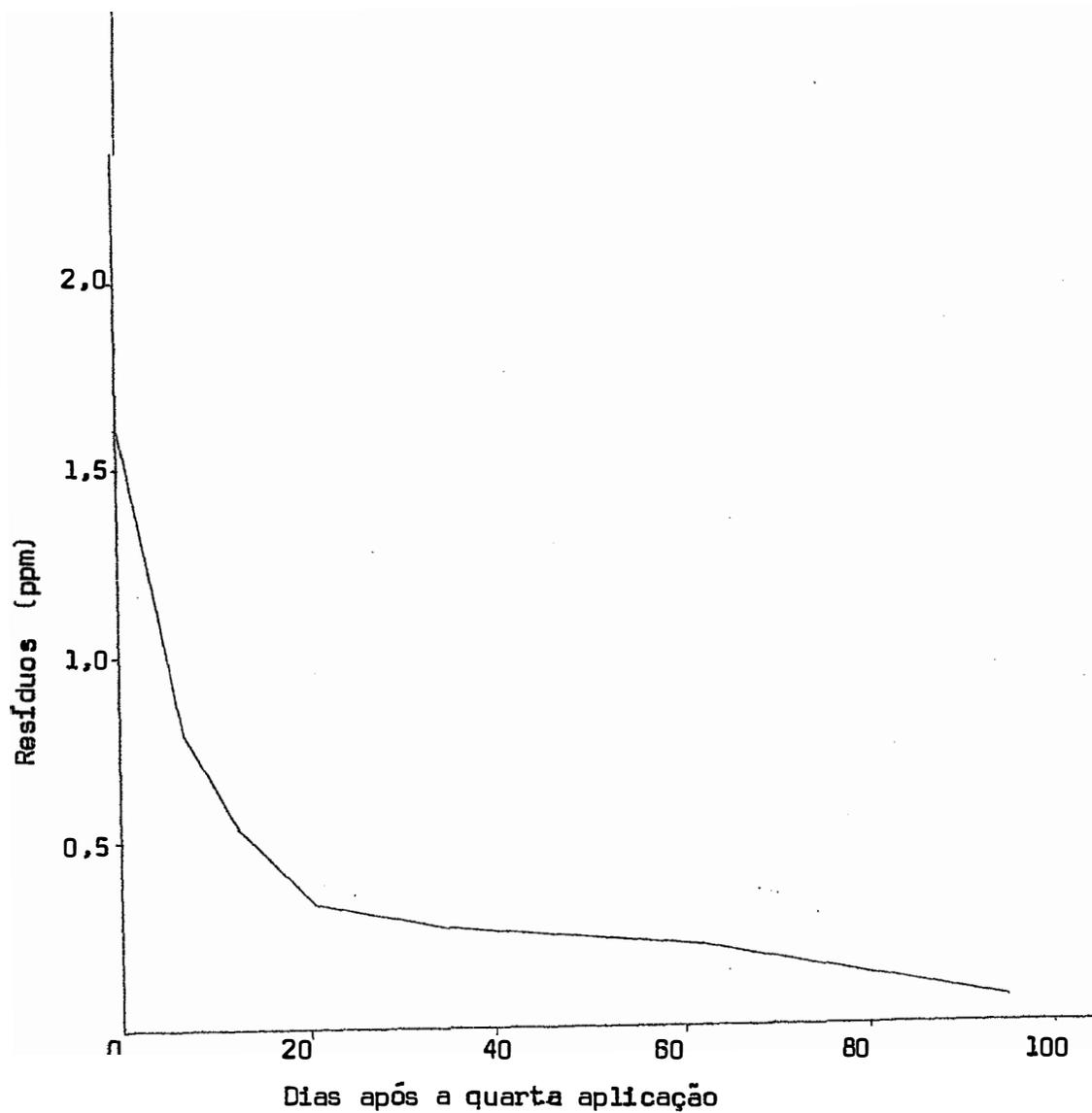


Fig. 2 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café, após quatro pulverizações de 700 g p.a./ha (RIBAS *et alii*, 1974).

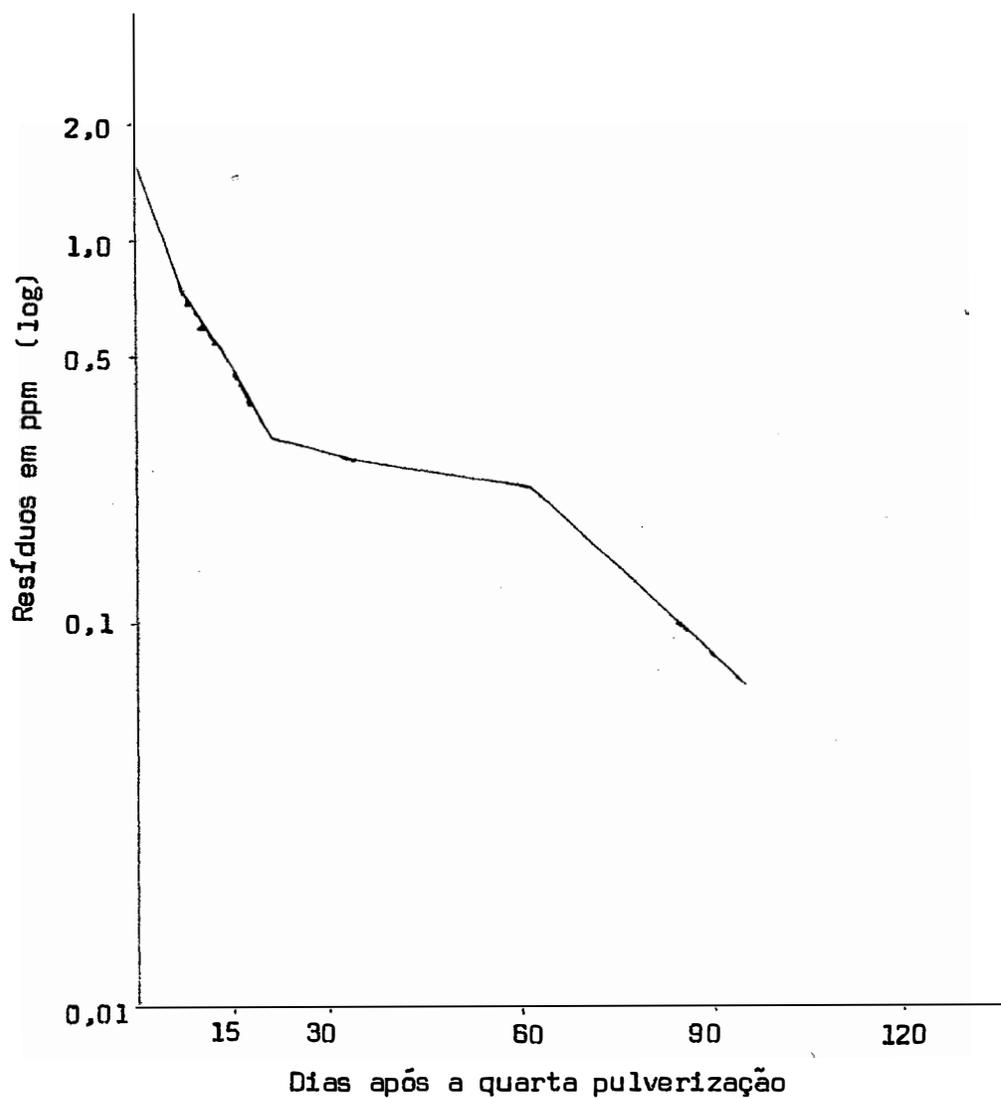


Fig. 3 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café, após quatro pulverizações de 700 g p.a./ha , (log resíduos - tempo) - (RIBAS *et alii*, 1974).

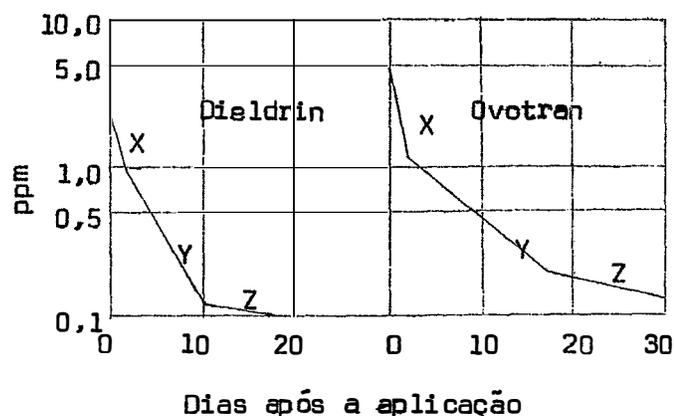


Fig. 4 - Curvas mostrando os estágios de desaparecimento de resíduos de dieldrin e Ovotran em frutas cítricas (GUNTHER e BLINN, 1956).

Segundo EBELING (1963), a penetração dos resíduos pode influenciar a natureza da curva de desaparecimento e esse fato por si só explica, pelo menos teoricamente, uma função multilinear de resíduo e tempo. Esse fato foi demonstrado também por MATSUMURA (1960) através da deposição em folhas de feijão de uma solução de malathion em acetona.

Ele obteve uma curva típica de desaparecimento de resíduos e atribuiu a descontinuidade verificada na curva, a partir do terceiro dia após a aplicação, ao fato de ter o inseticida penetrado abaixo da superfície das folhas e após aquele período de tempo, a rápida perda por volatilização de resíduos superficiais já havia deixado de ocorrer.

O assunto referente a penetração foi estudado também por CRAFTS e FOY (1962) ; GUNTHER e JEPSON (1954) e por GUNTHER e BLINN (1955) que distinguiram três categorias de resíduos, designadas como A, B e C , sendo:

A : resíduo extracuticular - resíduo aderente à camada de cera (depósito superficial).

B : resíduo cuticular - resíduo incrustado ou dissolvido na camada de cera.

C : resíduo sub cuticular ou resíduo presente abaixo da camada de cera.

O conhecimento dos fatores físicos e físico-químicos envolvidos no desaparecimento dos resíduos de pesticidas é um assunto de importância prática considerável. Esses fatores, de acordo com EBELING (1963) podem ser divididos em dois grupos. No primeiro estão aqueles comuns a todos os pesticidas e são a natureza da planta tratada — as características físicas de sua superfície e seu grau de desenvolvimento; a natureza da formulação do pesticida — grau e intensidade de penetração ou a tenacidade de seu depósito inicial ; fatores que provocam a remoção dos depósitos superficiais, tais como chuva, vento, luz, umidade, e ação mecânica. Esses fatores possuem grande influência na fase de re

resíduo graficamente indicado como X e Y na Figura 4 . Suas influências decrescem rapidamente após a eliminação dos depósitos iniciais embora alguns fatores como a temperatura e luz continuem agindo durante todo o tempo. No segundo grupo, estão os fatores dependentes da natureza do produto, incluindo volatilização e decomposição química. Esses fatores possuem influência durante as fases X , Y e Z do desaparecimento dos resíduos. Muitos pesticidas podem penetrar no tecido da planta e serem metabolizados ou então quimicamente alterados, afetando a quantidade e a persistência dos resíduos.

A persistência de inseticidas em plantas segundo FINLAYSON e MACCARTHY (1965) pode ser medida pela eficiência biológica contra pragas no campo, por testes biológicos de laboratório através do uso de organismos sensíveis e através do emprego de métodos químicos de análise. Inseticidas de contacto aplicados na folhagem das plantas podem ser absorvidos e às vezes translocados por toda a planta, persistindo em quantidades mensuráveis por tempos variáveis. A persistência é influenciada pela diluição causada, pelo crescimento do vegetal e pela degradação resultante do metabolismo da planta.

De acordo com SUTHERLAND (1965), a curva de desaparecimento de resíduos onde a concentração é locada contra o tempo, poderia ser extrapolada para uma concentração infinitamente baixa. Então, teoricamente, nenhuma planta ou animal tratado se torna livre dos resíduos e por isso, sempre que se for apresentar resultados de análises, deve-se evitar o emprego do termo "sem resíduos". Nesses casos, deve-se usar o

termo "não detectável" (N.D.) , e indicar o nível de concentração dos resíduos, acima do qual uma dada amostra pode ser considerada, com segurança, como contendo o pesticida. Prosseguindo, SUTHERLAND explica que quando os resultados indicam um nível menor do que o limite de detecção , eles devem ser registrados simplesmente pelos termos "menos que" ou "menor que" , seguidos do valor do limite de detecção representado em ppm ou outra unidade.

STOBWASSER *et alii* (1968), afirmam que no processo de secagem de frutos a redução dos resíduos é considerável mas, essa redução pode às vezes ser compensada pela perda de água o que pode tornar a concentração dos resíduos maior no fruto seco, muito embora sua quantidade total seja menor.

As informações a respeito da diminuição dos níveis de resíduos pelas operações de processamento podem ser muito úteis no estabelecimento de tolerâncias em alimentos processados e não processados, além de servirem na avaliação das possibilidades do aproveitamento de alimentos contaminados com níveis de resíduos acima da tolerância, mas que podem ser reduzidos a níveis aceitáveis pelo processamento (LISKA e STADELMAN, 1969).

KDIVISTOINEM *et alii* (1964), verificaram que a eliminação de resíduos de inseticidas fosforados e carbamatos variou de 0 a 79% por ação de simples lavagens de frutas e vegetais com água. Concluíram que essa grande variação deveu-se ao tipo de pesticida e de fruta ou vegetal usados. ANDERSON *et alii* (1963), verificaram que 30% dos resíduos

de azinphosmethyl eram removidos por lavagem da casca de laranjas.

LICHTENSTEIN *et alii* (1965), observaram que resíduos de heptachlor absorvidos do solo, por cenouras, eram totalmente eliminados após trinta minutos de fervura. Resíduos de aldrin não foram afetados pelo mesmo processo.

FARROW *et alii* (1969), estudando a remoção de resíduos de DDT, carbaryl e malathion, durante as operações necessárias para o enlatamento de produtos agrícolas, verificaram que lavagem com água, fervura rápida (branqueamento) e remoção das cascas, eliminaram de 83 a 99% dos resíduos de DDT, 73 a 99% de carbaryl e 94 a 99% de malathion. Concluíram que quanto maior o nível de resíduos maior é a porcentagem de remoção e essa porcentagem de remoção varia de acordo com o produto agricola, com o pesticida e sua formulação e o histórico dos tratamentos realizados no campo.

CROSBY in CHICHESTER (1965), cita que diversos pesquisadores observaram diminuição de resíduos de DDT e BHC durante o preparo de pão a partir do grão de trigo. Quando o pão é assado uma grande proporção dos resíduos remanescentes é eliminada devido, principalmente, à volatilização e as cascas apresentam um nível de resíduos menor do que as partes internas, tendo sido constatado que 50% do DDT e metho-xychlor presente na farinha foram eliminados nessa fase.

### 3.3 - CROMATOGRAFIA A GÁS EM ANÁLISES DE RESÍDUOS DE INSETICIDAS

#### 3.3.1 - Definição, princípios e nomenclatura

De acordo com SCHUPP III (1968) ; MACNAIR e BONELLI (1969) ; CIOLA (1969) ; TRANCHANT (1969) ; GUDZINOWICZ (1967) e BREITNER (1972) , cromatografia a gás pode ser definida como um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária e de grande superfície e a outra fase, um fluido que percola através da primeira. É uma técnica usada para separar substâncias voláteis, pela percolação de uma corrente de gás através da fase estacionária, suportada por uma coluna de vidro, metal ou teflon mantida ou não sob aquecimento. Se a fase estacionária é um sólido, temos a cromatografia gás-sólido e os sólidos normalmente usados nesse tipo de cromatografia são silicagel, peneira molecular ou carvão, todos de alta superfície. Se a fase estacionária é um líquido, temos a cromatografia gás-líquido, onde um líquido pouco volátil é distribuído como uma película muito fina sobre um sólido poroso e inerte. Como exemplos de sólidos inertes (suportes sólidos) mais comumente usados em cromatografia a gás-líquido para análise de resíduos, temos Chromosorb , Gás Chrom Q , Anakron , etc. e grande variedade de líquidos (fases líquidas), sendo que em análises de resíduos de pesticidas os mais usados são: DC-200 , Apiezion , QF-1 , Carbowax , SE-30 , DEGS , OV-17 , etc. Em análises de resíduos de pesticidas, a cromatografia a gás-líquido é a mais usada.

A base para a separação de uma mistura de compostos na cromatografia a gás-líquido é a partição das moléculas desses compostos entre a fase móvel (gás) e a fase estacionária (líquido sobre o suporte sólido). A substância cujas moléculas permanecem por mais tempo na fase móvel que na fase estacionária é arrastada para fora da coluna mais prontamente. A separação relaciona-se, portanto, à volatilidade relativa e aos fatores que a afetam, ou seja: pressão de vapor, efeitos de absorção, efeitos soluto-solvente e algumas vezes o peso molecular.

O gás que percola através da fase estacionária, contida no interior da coluna, é denominado gás de arraste ou gás carregador, devendo ser esse gás um gás inerte como é o nitrogênio, muito usado em cromatografia a gás-líquido.

Na parte inicial da coluna está localizado o sistema de injeção, servindo à introdução da amostra a ser cronatografada. No caso mais simples o sistema consiste de um septo de silicone, através do qual a agulha de uma seringa pode ser introduzida.

Na saída da coluna está localizado o detector o qual revela a presença das substâncias eluidas no gás de arraste, quando ele deixa a coluna. Em análises de resíduos de pesticidas, os detectores mais comumente usados são o de captura de eletrons, fotometria de chama, chama alcalina e micro-coulométrico.

A presença de uma substância que tenha sensibilizado o detector causará a emissão de um estímulo que, após ser amplificado, irá ter a um registrador, que representará, graficamente, esse estímulo através do cromatograma (Figura 5).

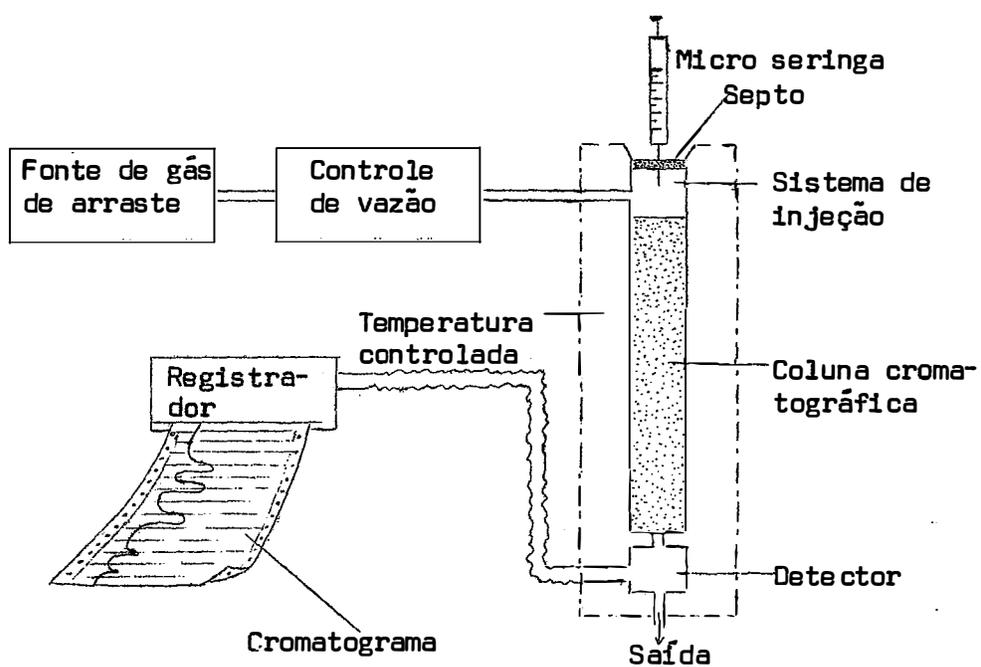


Fig. 5 - Diagrama esquemático de cromatógrafo a gás.

### 3.3.2 - Histórico

De acordo com GUDZINOWICZ (1967) e McNAIR e BONELLI (1969) , cromatografia foi usada pela primeira vez em 1905 por W. Ramsey para separar mistura de gases e vapores, através da absorção seletiva em absorventes sólidos como o carvão ativo. No ano seguinte, M. Tswett obteve faixas coloridas quando passou extratos de plantas através de uma coluna cromatográfica e foi o primeiro a usar o termo cromatografia. Esse termo continua sendo usado para definir o processo, se bem que impropriamente, pois atualmente são separados por esse processo materiais incolores e também gases. (CIOLA, 1969).

GUDZINOWICZ (1967), cita que após Ramsey e Tswett vários outros autores estudaram diferentes combinações de fases móveis e estacionárias e esses estudos acarretaram o aparecimento da cromatografia a gás-líquido, que foi descrita primeiramente por JAMES e MARTIN (1952) , que, devido a sua sensibilidade, velocidade, precisão e simplicidade na separação, identificação e determinação de compostos voláteis, teve um crescimento rápido e fenomenal.

ETTRE (1969), afirma que, de fato, o número de cromatôgrafos a gás presentemente em uso no mundo todo, supera o número de instrumentos de qualquer outro método analítico singular. CHOVIN in TRANCHANT (1969), cita que embora a cromatografia a gás não seja uma técnica universal que possa substituir todas as outras, ela ocupa um lugar muito especial entre os métodos físico-químicos de análises e o autor salienta também o baixo custo de seu emprego.

FREHSE (1964), estudando os problemas relacionados com as análises de pesticidas em alimentos, chegou à conclusão que a cromatografia, era o método de uso mais adequado por permitir, simultaneamente, a separação e a identificação de qualquer resíduo presente, vantagens essas não apresentadas pelas análises de grupos funcionais químicos e físicos ou por testes biológicos.

Segundo CASSIL (1962), a necessidade de um processo analítico para a avaliação de resíduos foi sentida desde o primeiro uso do inseticida clorado DDT. Esse tipo de análise, entretanto, era muito difícil de ser realizado devido a concentração extremamente baixa do pesticida e também devido a interferência de outros materiais co-extraídos, das amostras analisadas juntamente com os resíduos dos pesticidas.

LOVELOCK e LIPSKY, citados por DIMICK e HARTMANN (1963), foram os primeiros a sugerirem as potencialidades do uso do detector de captura de eletrons para análises de resíduos de inseticidas clorados, através de cromatografia a gás sendo que JOHNS e BRAITHWAITE Jr. (1964), citam ADLARD e WHITHAM como os primeiros a usarem cromatografia a gás em análises de misturas de pesticidas os quais verificaram também que a sensibilidade do detector de condutividade térmica usado por eles era muito limitada para o emprego em análises de resíduos.

Um dos primeiros relatos a respeito da análise de resíduos de inseticidas clorados por cromatografia a gás foi apresentado por GOODWIN *et alii* (1961). Nesse trabalho os autores discutiram as técnicas usadas para a separação e identificação de sete inseticidas clorados, aplicados sobre quinze diferentes culturas.

Em 1962 , REYNOLDS, citado por DIMICK e HARTMANN (1963), propôs a associação do uso de cromatografia a gás convencional, com o detector de captura de elétrons, para a identificação de pesticidas em plantas, solos e tecidos animais.

WATTS e KLEIN (1962), estudaram as possibilidades da aplicação de cromatografia a gás com detector de captura de elétrons em análises de resíduos de inseticidas clorados, sem a necessidade do processamento de uma purificação muito rigorosa do extrato da amostra.

DIMICK e HARTMANN (1963), enfatizaram a utilidade do cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons nas análises de resíduos de inseticidas clorados devido a sua alta sensibilidade a esses compostos, o que tornaVa possível a realização de trabalhos ao nível de partes por bilhão (p.p.b.). Salientaram também que o processo de determinação não é muito influenciado pela presença de outros compostos orgânicos voláteis que invariavelmente estão presentes em extratos de materiais biológicos.

De acordo com McNAIR e BONELLI (1969) , o número de referências a respeito de cromatografia a gás naquela época era de 30.000 e o número de cromatógrafos a gás em uso era de aproximadamente 60.000 , a afirmação essa que indica a dificuldade da realização de uma revisão detalhada dos estudos referentes à determinação de resíduos de inseticidas clorados através de cromatografia a gas.

### 3.4 - RESÍDUOS DE INSETICIDAS EM CAFÉ

A broca do café, *Hypothenemus hampei* (FERR, 1867) constitui, sem dúvida, uma das mais importantes pragas do cafeeiro em nossas condições, atacando os frutos em diversos estágios de desenvolvimento, causando às vezes grande prejuízos.

A eficiência do uso de inseticidas clorados no combate químico à broca do café foi relatada já em 1947 por SEIXAS e por SAUER

. A partir desse ano, devido à síntese de novos produtos e ao aparecimento de novas formulações, um grande número de estudos a esse respeito foram realizados (DURVAL, 1949 ; LEPAGE e GIANNOTTI, 1949/50 ; FIGUEIREDO *et alii* , 1959 ; AMARAL *et alii*, 1959 ; HEINRICH, 1960 ; ALMEIDA e CAVALCANTE, 1964 ; ALMEIDA *et alii*, 1973 ; DIAS NETTO *et alii*, 1973 ; ALVARENGA e PAULINI, 1975).

A constatação que o uso de BHC interferia negativamente na qualidade da bebida do café, foi verificada entre outros, por SWAIN (1953). Estudando mais detalhadamente o assunto, AMARAL *et alii* (1965) e AMARAL *et alii* (1973) , verificaram que esse fato ocorria de maneira mais acentuada em determinadas condições, ou seja, quando a aplicação do inseticida era realizada com os frutos no estágio inicial de desenvolvimento.

O interesse na obtenção de dados a respeito de resíduos de inseticidas na cultura de café é relativamente antigo mas, devido a dificuldades principalmente de ordens instrumentais, dados concretos sobre o assunto não foram obtidos entre nós até que RIBAS *et alii* (1974) verificaram que dieldrin e endosulfan em solução oleosa aplicados a 100 e 130

dias antes da colheita, à razão de 0,6 g p.a./planta não determinaram a ocorrência de resíduos maiores que 0,01 ppm nos grãos beneficiados.

O uso generalizado de inseticidas clorados, aliados ao aumento da atenção para a segurança dos consumidores, e às restrições impostas por alguns países importadores de café, fez com que RIBAS (1974), desenvolvesse um método simples, preciso e econômico para a determinação de resíduos de inseticidas clorados em café.

Quando chlorfenvinphos, endrin e lindane foram pulverizados contra broca do café em três ocasiões, à razão de, aproximadamente, 500 g p.a./1.000 plantas por aplicação, as análises de resíduos nos grãos beneficiados não acusaram níveis de resíduos ao nível de 0,01 ppm para chlorfenvinphos, de 0,03 ppm para endrin e de 0,01 ppm para lindane. RIBAS *et alii* (1974).

Estudando o efeito residual de dicrotophos (cinco aplicações de 625 g/1.000 plantas), de chlorfenvinphos (cinco aplicações de 400 g/1.000 plantas) e de phorate (três aplicações de 3,3 g/tronco) usados no controle ao bicho mineiro do café, RIBAS *et alii* (1974), encontraram nos grãos beneficiados níveis de 0,07 ppm de phorate, sendo que os resíduos de dicrotophos e chlorfenvinphos estavam abaixo de 0,01 ppm.

ANGELI *et alii* (1974) estudando a persistência de resíduos de BHC, lindane e endosulfan em cascas e grãos de café após secagem e beneficiamento verificaram que somente BHC ocorreu nas cascas, sendo que nos grãos foram detectados resíduos de BHC e de lindane.

Foram efetuados duas aplicações de cada produto nas dosagens de 700 g p.a./1.000 plantas para endosulfan, de 400 g p.a./1.000 plantas para lindane e 600 g p.a./1.000 plantas para BHC , tendo sido observado um intervalo de aproximadamente 160 dias entre a última aplicação e a colheita.

RIBAS *et alii* (1974), determinando a persistência de diversos inseticidas sistêmicos em café, não constataram a presença de resíduos em qualquer dos tratamentos realizados, sendo que o período de carência observado foi de 60 dias. FIGATI *et alii* (1975), estudando a persistência de inseticidas sistêmicos aplicados no tronco de cafeeiros, verificaram que phorate (duas, três e quatro aplicações de 5,7 g p.a./planta) e disulfoton (duas, três e quatro aplicações de 5,0 g p.a./planta) persistiram em grãos beneficiados em níveis de até 0,49 ppm para phorate e 0,94 ppm para disulfoton. O intervalo entre a última aplicação e a colheita foi de 120 dias para duas aplicações, e de aproximadamente 60 dias para tratamentos com três e quatro aplicações.

FIGATI *et alii* (1975), concluíram que o inseticida ethion quando pulverizado por cinco vezes, em cafeeiros na dosagem de 750 g p.a./1.000 plantas, acarretou o aparecimento de níveis de resíduos da ordem de 0,03 ppm nos grãos beneficiados colhidos no estado "cereja" e de 0,04 ppm nos grãos beneficiados colhidos no estado "coco". O intervalo entre a última aplicação e a colheita foi de 70 dias.

FIGATI e ORLANDO (1975), submeteram café armazenado em sacas à ação de duas aplicações de fumigante à base de lindane e consta

taram níveis de resíduos de até 0,15 ppm daquele inseticida nos grãos próximos à anagem não tendo sido constatada a presença de resíduos nos grãos que se achavam no interior dos sacos.

RIBAS *et alii* (1975), pesquisando a persistência de aldicarb e fensulfothion aplicados no solo, a 220 e 120 dias antes da colheita, na dosagem de 5 kg p.a./ha, constataram a presença de 0,08 ppm de aldicarb em frutos de café no estado "cereja". Os resíduos de fensulfothion estavam abaixo de 0,01 ppm.

RODRIGUEZ *et alii* (1968) estudaram a influência do uso de phorate, disulfoton e dicrotophos no gosto da bebida de café e verificaram que não houve diferença significativa entre as amostras provenientes das plantas tratadas e a amostra testemunha. As análises realizadas por cromatografia de papel nos grãos beneficiados, não acusaram a presença de resíduos de disulfoton e seus metabólitos.

### 3.5 - ENDOSULFAN

Endosulfan ( $C_9H_6O_3Cl_6S$ ) é o nome comum do inseticida 6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5,6,9,9-hexahidro-6,9 metano-2,4,3-benzodioxatiepín-3-óxido. (Figura 6).

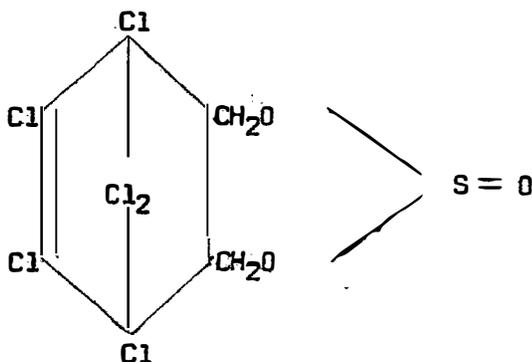


Fig. 6 - Fórmula plana de endosulfan

Esse produto é usualmente classificado como inseticida clgado pertencente ao grupo dos ciclodienos, mas ele difere tão marcadamente dos inseticidas desse grupo (por exemplo: aldrin, dieldrin, endrin), em propriedades químicas, efeitos fisiológicos e comportamento em organismos animais e em superfícies de plantas que ele não pode ser colocado entre eles (MAIER-BODE, 1967).

Endosulfan é formado pela mistura de dois isômeros que diferem em suas propriedades químicas, físicas e toxicológicas, e que pos-

suem, de acordo com FORMAN *et alii* (1965), a seguinte configuração:  
(Figura 7).

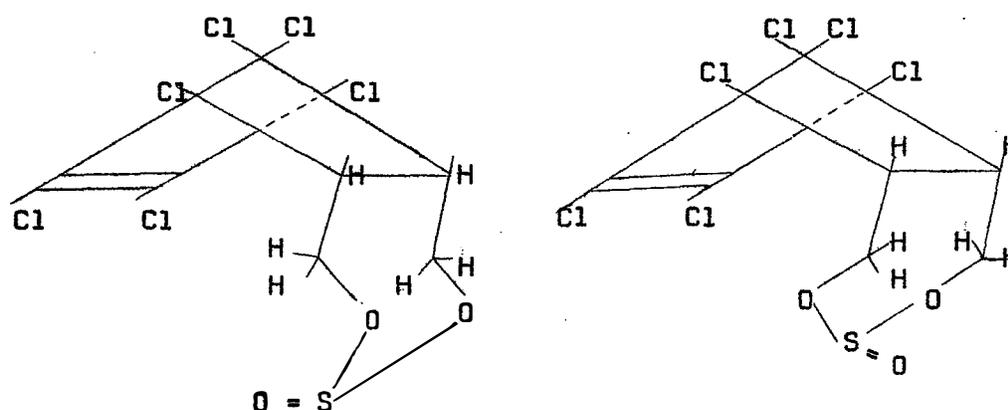


Fig. 7 - Fórmula espacial do Isômero I ou  $\alpha$  e do isômero II ou  $\beta$  de endosulfan.

O mais importante produto de degradação de endosulfan em organismos de animais e superfícies de plantas é a forma sulfato que, ao contrário do produto original, não possui os isômeros I e II .

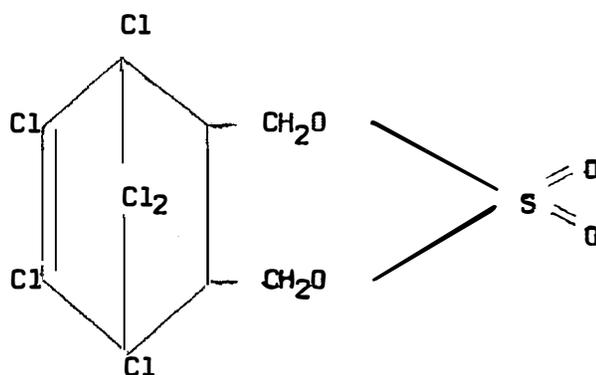


Fig. 8 - Fórmula plana de sulfato de endosulfan

Uma seleção de resultados de investigações a respeito de resíduos de endosulfan em diferentes tipos de frutas, vegetais e plantas forrageiras após aplicação do inseticida em diferentes formulações, é mostrada no QUADRO 1, extraída de MAIER-BODE (1968). Os resíduos incorporados na tabela até 1962, compreendem os isômeros I e II e aqueles relacionados após, compreendem a forma sulfato em adição aos resí - duos dos dois isômeros.

QUADRO 1 - Resíduos de endosulfan decorrentes de condições práticas de aplicação, em diversas culturas. (Adaptado de MAIER-BODE, 1968).

Cultura	Número de Aplicações	Dosagem lb/acre	Resíduos (ppm)						
			Semanas após a última aplicação						
			0	0,5	1	2	3	4	5
Maçã	2	3,0	2,7	-	1,3	0,3	0,3	-	-
	2	3,0	2,0	-	0,8	0,6	0,2	-	-
	3	2,2	1,7	-	1,2	0,8	0,7	0,5	0,4
	3	2,2	1,4	-	0,7	0,7	0,5	0,5	0,4
Pera	3	3,5	-	-	0,8	-	0,2	-	-
Pessego	1	0,5	6,0	-	3,0	1,0	0,4	-	-
	2	1,4 ; 2,2	3,9	-	1,7	1,2	0,5	0,3	0,2
Morango	1	4,0	9,0	1,3	1,2	0,8	0,4	-	-
	1	2,0	5,7	1,2	0,6	0,5	0,2	-	-
Uva	2	0,5	1,2	-	0,4	0,1	0,1	-	-
	1	1,05	0,8	-	0,05	0,05	-	-	-
Espinafre	1	1,0	21,0	-	4,7	0,7	0,23	-	-
Alface	2	1,0	69,0	-	8,0	1,6	-	-	-
	1	1,0	59,0	9,5	2,7	0,1	-	-	-
	1	3,0	133,0	-	14,0	0,3	-	-	-
	2	1,0	3,0	-	1,5	0,2	-	-	-
	1	1,0	11,0	-	2,3	0,2	-	-	-

continua ...

QUADRO 1 - Continuação

Cultura	Número de Aplicações	Dosagem lb/acre	Resíduos (ppm)						
			Semanas após a última aplicação						
			0	0,5	1	2	3	4	5
Tomate	6	0,5	0,07	0,0	-	-	-	-	-
	1	0,8	1,2	0,5	-	-	-	-	-
Alcachofra	1	1,2	0,6	0,4	0,1	0,02	-	-	-
	4	0,75	1,7	-	0,3	-	-	-	-
	4	0,75	3,0	-	0,8	-	-	-	-
Alfafa	1	0,25	14,5	-	2,4	0,2	0,05	0,01	-
	1	0,25	2,7	-	1,0	0,1	0,1	0,09	-

Métodos de análise de resíduos de endosulfan em tecidos vegetais foram estudados por vários pesquisadores: ZWEIG *et alii* (1960), ZWEIG e ARCHER (1960) ; LISK (1960) ; BUTLER e MAITLEN (1962) ; MAITLEN (1963).

A ocorrência de um produto desconhecido em plantas tratadas com endosulfan, foi verificada por CASSIL e DRUMOND (1965) que constataram ser esse produto a forma sulfato de endosulfan. Observaram que os resíduos da forma sulfato de endosulfan atingiram um nível máximo ao redor do 12º dia depois da aplicação de endosulfan e após isso, começavam a diminuir em um ritmo mais lento que o dos dois isômeros do produto original. Mostraram também que os resíduos do isômero I desaparecem mais rapidamente que os do isômero II.

HARRISON *et alii* (1967), estudando o comportamento de endosulfan aplicado sobre folhas de macieira, através da cromatografia a gás, verificaram que os resíduos do isômero I decresceram para 30% do valor original uma semana após aplicação e para 2% três semanas após aplicação. Os resíduos do isômero II eram de 47% do valor inicial após uma semana e levaram sete semanas para que atingissem 2% . Verificaram que uma substância mais persistente apareceu em todos os extratos de folhas e essa substância foi identificada como sendo sulfato de endosulfan. Uma semana após a pulverização, os resíduos de endosulfan I, II e sulfato estavam presentes em quantidades aproximadamente iguais, mas três semanas após, 75% dos resíduos estavam na forma sulfato e após sete e onze semanas 90% dos resíduos correspondiam à forma sulfato.

A persistência dos dois isômeros de endosulfan foi estudada por BEARD e WARE (1969) em beterraba, feijão e em uma superfície de vidro tendo sido verificado que altas temperaturas favoreceram a volatilização do isômero I ; o metabolismo foi maior com flutuação dos valores de umidade e temperatura ; o único metabólito detectado foi a forma sulfato.

A irradiação com luz ultravioleta de um fino depósito de endosulfan I e II não produziu sulfato de endosulfan mas deu formação a outros produtos, principalmente o endosulfandiol. A irradiação de sulfato de endosulfan não deu origem a nenhum produto e endosulfan I e II, mantidos no escuro, também não apresentaram qualquer produto de decomposição (ARCHER *et alii*, 1972).

HARRISON *et alii* (1967), examinando folhas e frutos de groselha que haviam sido tratados com endosulfan, verificaram que após um período de carência entre 51 e 69 dias os resíduos variaram de 0,15 a 0,71 ppm. Sulfato de endosulfan estava presente em proporções que variavam entre 16 e 49% do total dos resíduos.

Ao estudar a ocorrência de resíduos de endosulfan em sementes de girassol, RANDOLPH *et alii* (1969) verificaram que plantas que receberam duas e três pulverizações de 1 lb p.a./acre apresentaram 0,03 ppm de resíduos nas sementes. Sementes de plantas que receberam quatro tratamentos continham 0,13 ppm de resíduos.

HUGHES e WILSON (1972) investigaram a persistência de endosulfan I , II e sulfato em tomate, batata, repolho e couve-flor, por cromatografia a gás e mostraram que os resíduos eram menores que 2,0 ppm

imediatamente após a aplicação para batata, dois dias para tomate e quatro semanas para repolho e couve-flor.

Folhas de fumo tratadas no campo com endosulfan, continham após secagem, 16% dos resíduos determinados nas folhas verdes. A fumaça dos cigarros feitos com essas folhas continham ainda 3% dos resíduos originais (FUTHRIE e BOWERY, 1962).

O problema da persistência de resíduos de endosulfan em folhas de fumo foi estudado por TAPPAN *et alii* (1967) que verificaram ser inevitável a ocorrência de um alto nível de resíduos se um controle efetivo das pragas for mantido através do uso desse composto. Entretanto, KEIL *et alii* (1972) observaram que dez dias após o tratamento (0,5 lb p.a./acre), os níveis de resíduos de endosulfan caíram a um nível não detectável.

Fumo colhido imediatamente após a aplicação de endosulfan (0,5 lb p.a./acre) e "curado" por quatro meses continha 23,2 ppm de resíduos desse produto e, fumo colhido 28 dias após o tratamento, depois de "curado" por quatro meses, continha 2,2 ppm de resíduos (DOROUGH *et alii* 1973).

TERRANOVA e WARE (1963) cultivaram plantas de feijão em substratos de areia contendo de 0 a 500 ppm de endosulfan e verificaram que esse produto foi absorvido e translocado para as partes aéreas em quantidades proporcionais às concentrações no solo.

Tubérculos de batata cultivados em solo tratado com endosulfan por STWART e CAIRNS (1974), depois de colhidos, continham resíduos

de endosulfan I , II e sulfato. Quando o defensivo foi pulverizado nas partes aéreas com dosagens equivalentes a 0,6 Kg p.a./ha , as análises de resíduos acusaram a presença de 0,01 ppm de sulfato de endosulfan na casca e polpa.

### 3.6 - LINDANE

Lindane ( $C_6H_6Cl_6$ ) é o nome comum do estereoisômero gama do BHC ou HCH , cujo nome químico é 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano. Entre os isômeros componentes do BHC técnico, é o único considerado inseticida ativo. (FIGURA 9),

Diversos métodos para a detecção e determinação de resíduos de lindane e outros inseticidas clorados tem sido desenvolvidos. O método do Food and Drug Administration - U.S.D.H.E.W. (1971) no qual se utiliza cromatografia a gás para a determinação e cromatografia de camada delgada caso seja necessária uma confirmação, é um dos mais conhecidos. Esses métodos em geral são sensíveis para a determinação de níveis de resíduos até 0,01 ppm embora, sob condições adequadas, maiores sensibilidades podem ser obtidas, quando necessário. De acordo com ULMANN (1972), a maneira mais simples, sensível e rápida de se detectar e determinar resíduos de lindane atualmente, é através do uso de cromatografia a gás.

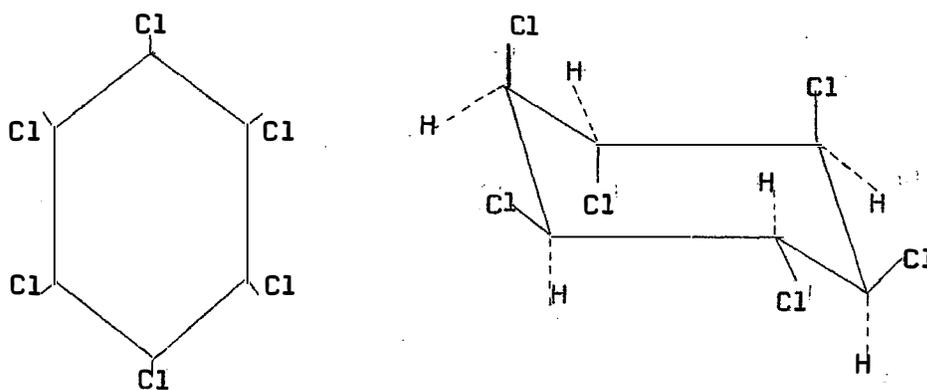


Fig. 9 - Fórmula plana de BHC e fórmula espacial de  $\gamma$ -BHC ou lindane

Os produtos de degradação de lindane em plantas não são ainda bem conhecidos. SAN ANTONIO (1959) descreveu a ocorrência de um produto desconhecido em cenouras cultivadas em solo tratado com lindane, e, esse produto foi identificado como sendo  $\gamma$ -pentaclorociclohexano.

YULE *et alii* (1967) verificaram a ocorrência de  $\gamma$ -pentaclorociclohexano em solos tratados com lindane e constataram que a decomposição do pesticida estava associada à microorganismos de solo.

TIEL (1968) apresentou dados sobre a ocorrência de metabólitos de lindane em farinha de trigo assada, trigo, cenoura, milho, solos, microorganismos, insetos, e animais superiores.

Extensivos resultados a respeito de resíduos de lindane tem sido coletado em diversos lugares do mundo. Nos Estados Unidos e Grã Bretanha, seguindo um programa monitor sistemático, a ocorrência de resíduos de lindane foi pesquisada em alimentos de origem vegetal e alguns desses resultados estão resumidos no QUADRO 2 .

Um dos primeiros relatos a respeito de resíduos de lindane foi realizado por STARNES (1950), que verificou a ocorrência desse inseticida em tubérculos de batata. As culturas de cenoura, batata e ervilha forneceram material para diversos estudos a respeito da absorção de inseticidas clorados presentes no solo, com especial ênfase para BHC e lindane (TERRIERE e INGALSBE, 1953 ; LICHTENSTEIN, 1959 ; SAN ANTONIO, 1959 ; LICHTENSTEIN e SCHULZ, 1960 ; PIGATTI e GARRUTI, 1961 ; POLIZU *et alii* , 1969 ; TALEKAR e LICHTENSTEIN, 1971 e 1972 ; OLOFS *et alii* , 1971).

REYNOLDS *et alii* (1953) detectaram resíduos de lindane em amendoim cultivado em solo tratado com o pesticida no ano anterior. BRASS e WARE (1960), realizando estudos com a cultura de trevo verificaram que resíduos de lindane presentes no solo eram absorvidos e translocados para as partes aéreas.

BRETT e BOWERY (1958) trataram feijão, tomate e couve próximos à colheita com lindane em pó (1%) , à razão de 30 lb/acre e

QUADRO 2 - Resíduos de lindane em alimentos de origem vegetal  
(EDWARDS, 1970).

Local - Autor - Data	Alimentos	Resíduos (ppm)
U.S.A.	Frutas grandes	traço
	Frutas pequenas	traço
DUGGAN, R. E.,	Cereais	0,008
	Hortalças folhosas	traço
1968	Hortalças não folhosas	0,002
	Feijões e ervilhas	traço
U.S.A.	Frutas	0,005
	Frutas de pomar	0,001
CORNELIUSEN, P. E.,	Cereais	0,0048
	Hortalças folhosas	0,0014
1969	Hortalças não folhosas	0,001
	Raízes e tubérculos	0,001
	Feijões e ervilhas	0,001
	Óleos e gorduras	0,0037
INGLATERRA	Frutas	0,005
ABBOTT, D. C.	Cereais	0,0085
	Hortalças verdes	0,0055
<i>et alii</i> , 1969	Raízes e tubérculos	0,0035

constatarem a presença de resíduos em tomate, até o terceiro dia após o tratamento, em feijão até o quarto dia, e em couve até o décimo terceiro dia, sendo que o limite mínimo de detecção foi de 0,1 ppm.

Segundo FRANCE *et alii* (1961) lindane pode ser considerado persistente somente em plantas ricas em lipídeos. Em plantas que não contêm ou contêm quantidades muito reduzidas de ceras, óleos ou gorduras, lindane é degradado com certa rapidez. Em amostras de alfafa provenientes de campo tratado com 500 g p.a./ha de lindane, o nível de resíduos que era de 221 ppm logo após o tratamento, declinou para 12 ppm após um dia, para 1,6 ppm após sete dias e para 0,03 ppm após 42 dias.

Sete espécies de plantas foram expostas a vapores de lindane em uma estufa, por períodos que variaram entre 7 e 46 dias e todas as plantas apresentaram níveis de resíduos significantes em seus tecidos, havendo inclusive correlação entre o período de exposição e a quantidade de lindane detectada (WHITACRE e WARE, 1967).

Após tratarem pastagens com grânulos contendo 20% de lindane (2 lb p.a./acre), COLLETT e HARRISON (1968) detectaram resíduos desse inseticida em gordura de ovelhas que se alimentaram na área tratada. Os níveis de resíduos constatados foram de 4, 1,8, 0,7 e 0,4 ppm para períodos de carência de 0, 9, 17 e 27 dias, respectivamente.

KAWAHARA e NAKAMURA (1971), verificaram a ocorrência de translocação dos isômeros de BHC do solo para as partes aéreas nas culturas de beringela, chá e fumo.

Um estudo cuidadoso conduzido pelo Codex Comitee on Pesticide Residues, citado por ULMANN (1972) mostra que em espinafre e alface, lindane é degradado tão rapidamente quanto parathion. A concentração dos resíduos caiu para 10% do valor inicial onze dias após o tratamento e para 1% , 21 dias após o tratamento.

FLORU e ALEXANDRI (1973) estudaram a persistência de lindane (20%) pulverizado sobre repolho, beringela, pimenta, tomate e maçã e obtiveram os seguintes resultados:

repolho:	inicial = 18,00 ppm ;	após 14 dias = 0,30 ppm
beringela:	inicial = 5,50 ppm ;	após 11 dias = 0,22 ppm
pimenta:	inicial = 0,47 ppm ;	após 14 dias = 0,12 ppm
tomate:	inicial = 0,93 ppm ;	após 14 dias = 0,12 ppm
maçã:	inicial = 4,54 ppm ;	após 4 dias = 0,54 ppm

#### 4 - MATERIAL E MÉTODOS

O método empregado para as análises de resíduos foi adaptado por RIBAS (1974) a partir de outro usado pelo FOOD and DRUG ADMINISTRATION - U.S.D.H.E.W. (1971). Esse método, utilizando cromatografia a gás, permitiu a obtenção de um limite de detecção da ordem de 0,001 ppm para lindane e 0,005 ppm para endosulfan. Utilizou-se nas análises um cromatógrafo a gás da marca Beckman, modelo GC-4, equipado com detector de captura de elétrons (tritium) e coluna de vidro contendo 10% de DC-200 em Chromosorb W, a qual foi mantida durante as análises, a 190°C. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio à vazão de 100 ml/min.

A água e todos os solventes empregados nas análises foram redestilados em equipamentos totalmente construídos de vidro. O flori-

sil e o sulfato de sódio foram mantidos em estufa a 130°C até o momento de serem utilizados. Toda a vidraria usada nas análises foi lavada com acetona.

#### 4.1 - DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE RESÍDUOS

##### 4.1.1 - Extração

Pesar 5 g de grãos de café previamente moídos e homogeneizados ; colocar em um liquidificador e adicionar 150 ml de uma mistura de acetonitrilo e água (65:35) ; agitar durante três minutos em alta rotação e após isso, filtrar através de papel de filtro, com auxílio de vácuo. Quando analisando frutos de café, o peso da amostra deverá ser de 10 g e a solução de acetonitrilo e água deverá obedecer a proporção de 70:30 .

##### 4.1.2 - Purificação

###### 4.1.2.1 - Partição em solventes

Transferir uma alíquota de 100 ml para um funil de separação, adicionar 40 ml de éter de petróleo ao funil e agitar fortemente du

rante trinta segundos ; adicionar 300 ml de uma solução a 2% de sulfato de sódio em água e agitar novamente durante trinta segundos ; esperar até que as fases se separem e eliminar a camada aquosa inferior ; adicionar 50 ml de água ao funil de separação, agitar fracamente, esperar as fases se separarem e eliminar a camada inferior ; repetir novamente essa última operação ; passar o extrato de éter de petróleo através de uma coluna contendo 5 g de sulfato de sódio anidro e anotar o volume recuperado.

#### 4.1.2.2 - Coluna de florisil

Tomar uma coluna cromatográfica de 1 cm de diâmetro interno e adicionar florisil suficiente para formar uma camada de 14 cm de altura (variável de acordo com o lote) e sobre o florisil colocar uma camada de 2 cm de sulfato de sódio anidro ; através dessa coluna, eluir 20 ml de éter de petróleo e, quando o nível do solvente atingir a camada de sulfato de sódio da coluna, adicionar o extrato a ser purificado, eliminando todo o eluente da coluna. Quando o extrato atingir o nível do sulfato de sódio, adicionar 35 ml de uma solução contendo 6% de éter etílico em éter de petróleo quando determinando resíduos de lindane ou, 35 ml de uma solução contendo 15% de éter etílico em éter de petróleo quando determinando resíduos de endosulfan e, coletar o eluente da coluna ; concentrar usando-se um concentrador tipo Kuderna-Danish em banho-maria.

---

#### 4.1.3 - Determinação

Através do uso de uma micro seringa, injetar uma alíquota do extrato no cromatógrafo a gás e calcular a quantidade de resíduos presente no extrato por comparação com soluções contendo quantidades conhecidas de inseticidas, através da fórmula:

$$\text{Resíduos em ppm} = \frac{S \times E \times F \times H_a \times C \times V_p}{P \times A \times R \times V_e \times H_p}$$

onde:

- P = peso da amostra (5 g ou 10 g)
- S = volume da solução de extração (150 ml)
- A = volume da alíquota do extrato (100 ml)
- E = volume de éter de petróleo adicionado ao funil de separação (40 ml)
- R = volume de éter de petróleo recuperado do funil de separação (ml)
- F = volume final do extrato
- V<sub>e</sub> = volume do extrato injetado no cromatógrafo (μl)
- H<sub>e</sub> = altura do pico do extrato no cromatograma (cm)
- H<sub>p</sub> = altura do pico do padrão no cromatograma (cm)
- C = concentração da solução padrão do inseticida (mg/μl)
- V<sub>p</sub> = volume da solução padrão injetado no cromatógrafo (μl)

## 4.2 - INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

### 4.2.1 - Experimento 1

Este experimento foi instalado em cafezal da variedade Mundo Novo, de quinze anos de idade, localizado na Fazenda Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP.

Tratamentos:

- A - lindane (Isolin 20 E) - 400 g p.a./ha
- B - endosulfan (Thiodan CE) - 700 g p.a./ha
- T - testemunha

Foram realizados duas aplicações dos produtos, nas dosagens indicadas, com um intervalo de trinta dias entre elas. Utilizou-se um pulverizador motorizado costal marca Hatsuta e procurou-se obter uma distribuição uniforme sobre todas as vinte plantas que constituíam cada parcela. Para cada tratamento observou-se um total de três repetições.

Amostras de frutos verdes e maduros de café foram colhidas, ao acaso, nas seguintes épocas:

- 1.<sup>a</sup> coleta: 2 horas após a segunda aplicação (0 dia)
- 2.<sup>a</sup> coleta: 7 dias após a segunda aplicação
- 3.<sup>a</sup> coleta: 21 dias após a segunda aplicação
- 4.<sup>a</sup> coleta: 42 dias após a segunda aplicação
- 5.<sup>a</sup> coleta: 84 dias após a segunda aplicação
- 6.<sup>a</sup> coleta: 120 dias após a segunda aplicação.

Tôdas as amostras coletadas nas diferentes épocas, foram trituradas, homogeneizadas e depois de acondicionadas em recipientes de vidro, foram colocadas em congelador a  $- 20^{\circ}\text{C}$ , até o momento de serem analisadas.

No 120º dia após a segunda aplicação os frutos restantes nas plantas de cada parcela, foram colhidos e colocados para secar em terreiro por 43 dias e após o beneficiamento os grãos foram analisados quanto à presença de resíduos. Todas as amostras foram analisadas em dupli-  
cata.

#### 4.2.2 - Experimento 2

Este experimento foi instalado em cafezal da variedade Mundo Novo de quinze anos de idade, localizado na Fazenda Experimental do Instituto Biológico, em Campinas, SP.

##### Tratamentos:

- C - lindane (Isolin 20 E) - 800 g p.a./ha
- D - endosulfan (Thiodan CE) - 1400 g p.a./ha
- T - testemunha

Foram realizadas quatro aplicações dos produtos, nas dosagens indicadas, com intervalo aproximado de trinta dias entre elas, sendo que a última aplicação foi efetuada trinta dias antes da colheita. Uti-  
lizou-se um pulverizador motorizado costal, marca Hatsuta e procurou-se obter uma distribuição uniforme sobre todas as vinte plantas de cada par-

cela. Para cada tratamento foram observadas um total de três repetições, cada uma contendo vinte plantas.

Após a colheita, os frutos no estado "cereja" foram colocados para secar em terreiro por um período de 57 dias, após o que foram beneficiados. Após o beneficiamento, uma parte das amostras foram moídas e acondicionada em recipientes de vidro que foram colocados em congelador a  $- 20^{\circ}\text{C}$  até o momento de serem analisadas.

A parte restante de cada amostra foi torrada em torrador a gás marca JABEZ BURNS & SONS, à temperatura de  $250^{\circ}\text{C}$ , até o ponto considerado como o de "torração comercial". Após a torração, os grãos foram moídos, acondicionados em recipientes de vidro e mantidos em congelador a  $- 20^{\circ}\text{C}$  até o momento de serem analisados. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

#### 4.2.3 - Experimento 3

Este experimento foi instalado em cafezal da variedade Mundo Novo 379/19 de dezesseis anos de idade, localizado na Fazenda Roseira, em Campinas, SP.

##### Tratamentos:

- A - lindane (Isolin 20 E) 400 g p.a./ha - uma única pulverização a 140 dias da colheita;
- B - lindane (Isolin 20 E) 400 g p.a./ha - uma única pulverização a 110 dias da colheita;

- C - lindane (Isolin 20 E) 400 g p.a./ha - uma única pulverização a 85 dias da colheita;
- D - lindane (Isolin 20 E) 400 g p.a./ha - uma única pulverização a 55 dias da colheita;
- T - testemunha.

Os tratamentos foram realizados com auxílio de um pulverizador motorizado costal da marca Hatsuta e procurou-se obter uma distribuição uniforme sobre as 40 plantas que constituíam cada parcela.

Os frutos foram colhidos no estado cereja e colocados em terreiro para secar durante 50 dias após o que, foram beneficiados, sendo que tanto as cascas como os grãos foram moídos, acondicionados em recipientes de vidro e mantidos em congelador a - 20°C até o momento de serem analisados. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de resíduos de lindane e endosulfan são expressos em partes por milhão (ppm), o que corresponde a mg do inseticida por kg de amostra. As amostras que continham menos que 0,001 ppm de lindane e as que continham menos que 0,005 ppm de endosulfan foram representadas por N.D. (não detectável), visto serem esses os valores mínimos possíveis de serem detectados pela metodologia empregada (limite de detecção).

Todos os experimentos incluíram um tratamento onde não se utilizou qualquer inseticida e, os resultados das análises de resíduos das amostras provenientes desses tratamentos, indicaram sempre níveis abaixo do limite de detecção, para resíduos de lindane e endosulfan.

Os resultados referentes a endosulfan mostram separadamente os níveis de endosulfan I , endosulfan II e sulfato de endosulfan. Em estudos de resíduos, esses valores devem ser assim apresentados sendo, po rém, considerado no total como resíduos de endosulfan.

As tolerâncias atualmente estabelecidas pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - C.N.N.P.A. do Ministério da Saúde, para resíduos de lindane e endosulfan para café em grão cru, são, respectivamente de 0,001 ppm com período de carência de 120 dias e, "sem resíduos" (0,01 ppm) com um período de carência de 120 dias para, no máximo, duas aplicações.

## 5.1 - EXPERIMENTO I

Os resultados obtidos estão contidos nos Quadros 3 , 4 , 5 e 6 , e nas Figuras 10 e 11 .

Os valores de resíduos de lindane e endosulfan constantes nas Figuras 10 e 11 , foram obtidos a partir da média aritmética dos resultados das três repetições, vistos nos Quadros 3 e 4 .

QUADRO 3 - Persistência de resíduos em lindane em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p. a./ha.

Dias após Aplicação	Repetição	Resultados (ppm)	Média (ppm)
0	A <sub>1</sub>	0,38 0,44	0,410
	A <sub>2</sub>	0,33 0,49	0,410
	A <sub>3</sub>	0,30 0,42	0,360
7	A <sub>1</sub>	0,16 0,19	0,175
	A <sub>2</sub>	0,17 0,18	0,175
	A <sub>3</sub>	0,18 0,18	0,180
21	A <sub>1</sub>	0,17 0,17	0,170
	A <sub>2</sub>	0,15 0,17	0,160
	A <sub>3</sub>	0,16 0,18	0,170

Continua...

QUADRO 3 - Continuação

Dias após Aplicação	Repetição	Resultados (ppm)	Média (ppm)
42	A <sub>1</sub>	0,11 0,14	0,125
	A <sub>2</sub>	0,08 0,13	0,105
	A <sub>3</sub>	0,11 0,14	0,125
84	A <sub>1</sub>	0,05 0,04	0,045
	A <sub>2</sub>	0,06 0,06	0,060
	A <sub>3</sub>	0,02 0,03	0,025
120	A <sub>1</sub>	0,03 0,04	0,035
	A <sub>2</sub>	0,03 0,02	0,025
	A <sub>3</sub>	0,02 0,02	0,020

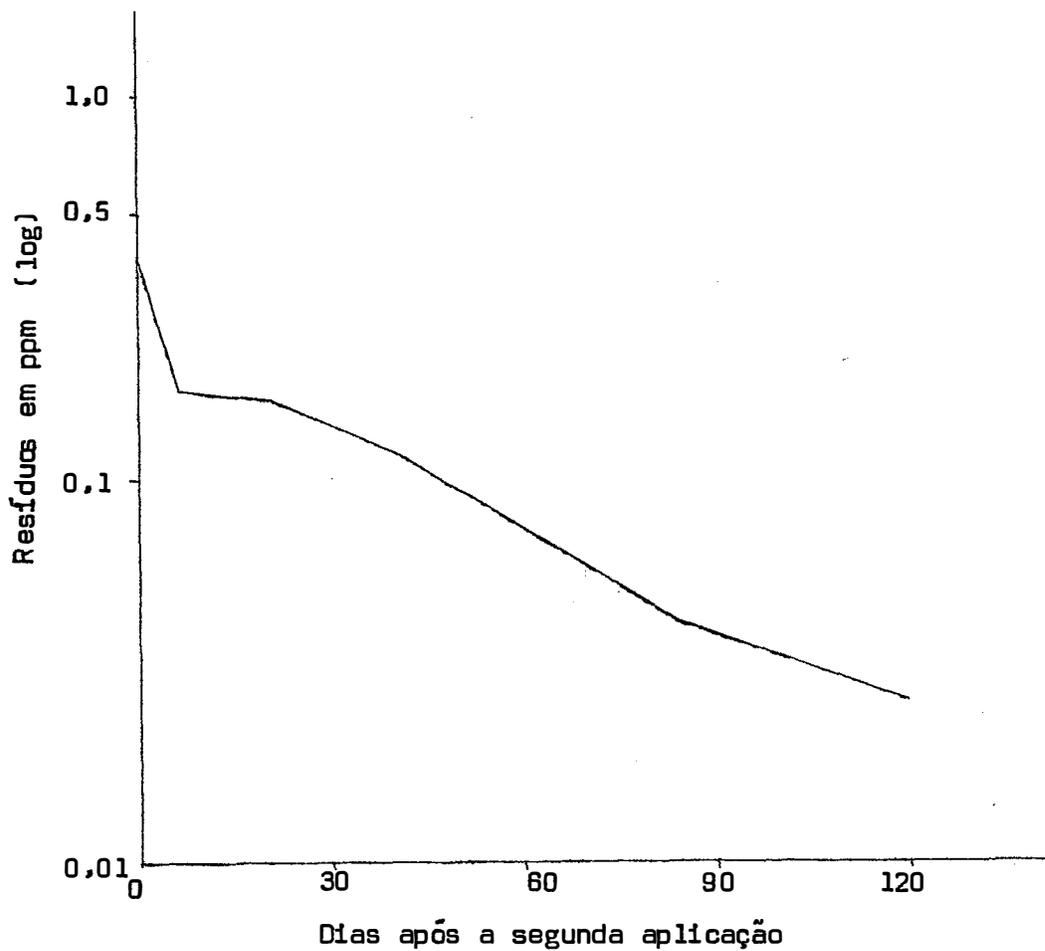


Fig. 10 - Persistência de resíduos de lindane em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p.a./ha (log resíduos - tempo).

QUADRO 4 - Persistência de resíduos de endosulfan em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha.

Dias após Aplicação	Repeti- ção	Resultado (ppm)				Média (ppm)
		END. I	END. II	END. SULF.	TOTAL	
0	B <sub>1</sub>	0,20	0,90	0,12	1,22	1,190
		0,19	0,86	0,11	1,16	
	B <sub>2</sub>	0,19	0,74	0,14	1,07	1,070
		0,16	0,78	0,13	1,07	
	B <sub>3</sub>	0,25	1,02	0,10	1,37	1,355
		0,27	0,97	0,10	1,34	
7	B <sub>1</sub>	0,05	0,22	0,09	0,36	0,365
		0,03	0,25	0,09	0,37	
	B <sub>2</sub>	0,02	0,19	0,11	0,32	0,335
		0,02	0,21	0,12	0,35	
	B <sub>3</sub>	0,03	0,21	0,08	0,32	0,330
		0,04	0,23	0,07	0,34	
21	B <sub>1</sub>	0,03	0,17	0,09	0,29	0,270
		0,02	0,15	0,08	0,25	
	B <sub>2</sub>	0,02	0,18	0,10	0,30	0,260
		0,02	0,13	0,07	0,22	
	B <sub>3</sub>	0,02	0,16	0,08	0,26	0,240
		0,03	0,13	0,06	0,22	

continua ...

QUADRO 4 - Continuação

Dias após Aplicação	Repeti- ção	Resultado (ppm)				Média (ppm)
		END. I	END. II	END. SULF.	TOTAL	
42	B <sub>1</sub>	0,01 0,008	0,05 0,07	0,08 0,05	0,14 0,13	0,135
	B <sub>2</sub>	0,009 0,007	0,07 0,04	0,07 0,06	0,15 0,11	0,130
	B <sub>3</sub>	0,01 0,01	0,05 0,04	0,06 0,03	0,12 0,08	0,100
84	B <sub>1</sub>	N.D. N.D.	0,01 0,02	0,03 0,05	0,04 0,07	0,055 0
	B <sub>2</sub>	N.D. N.D.	0,02 0,01	0,04 0,03	0,06 0,04	0,050
	B <sub>3</sub>	N.D. N.D.	0,03 0,03	0,05 0,02	0,08 0,05	0,065
120	B <sub>1</sub>	N.D. N.D.	0,007 0,009	0,03 0,01	0,04 0,02	0,030
	B <sub>2</sub>	N.D. N.D.	N.L. 0,007	0,01 0,01	0,01 0,02	0,015
	B <sub>3</sub>	N.D. N.D.	0,01 0,009	0,01 0,02	0,02 0,03	0,025

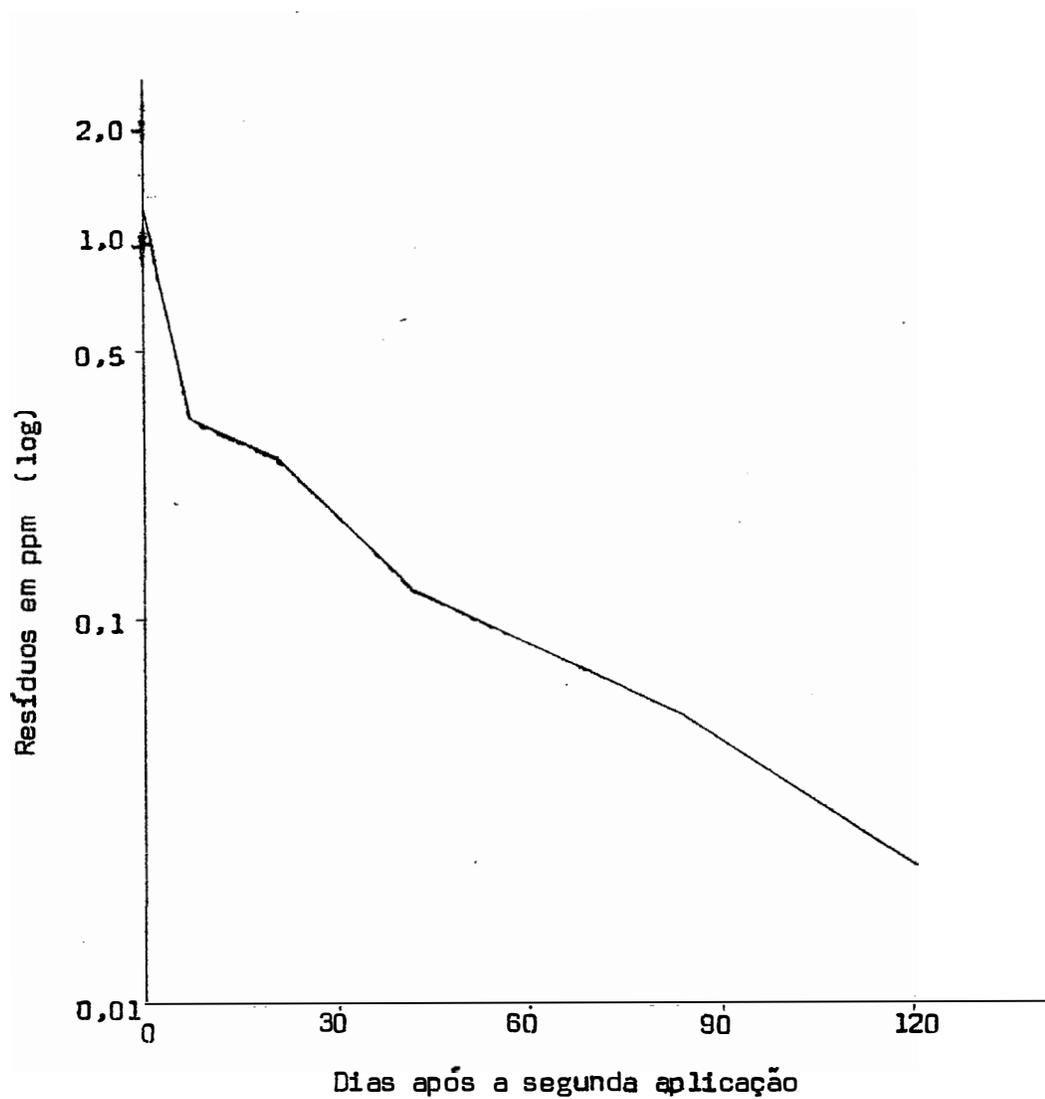


Fig. 11 - Persistência de resíduos de endossulfan em frutos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha (log resíduos - tempo).

QUADRO 5 - Resíduos de lindane em grãos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 400 g p.a./ha.

Material	Tratamento	Resultados (ppm)	Média (ppm)
Café Beneficiado	$A_1 + A_2 + A_3$	0,043 0,040	0,042
Café Torrado	$A_1 + A_2 + A_3$	N.D. N.D.	N.D.

QUADRO 6 - Resíduos de endosulfan em grãos de café provenientes de plantas pulverizadas duas vezes com 700 g p.a./ha.

Material	Tratamento	Resultados (ppm)				Média (ppm)
		END. I	END. II	END. SULF.	TOTAL	
Café Beneficiado	$B_1 + B_2 + B_3$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
Café Torrado	$B_1 + B_2 + B_3$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

Da observação dos Quadros e Figuras depreende-se que os níveis de resíduos de endosulfan foram superiores aos de lindane na coleta realizada imediatamente após a segunda pulverização. Essa diferença, com toda certeza, deve-se ao fato de ter sido usada uma quantidade de princípio ativo de endosulfan maior do que a de lindane. Aos 42 dias, os níveis de resíduos dos dois pesticidas eram equivalentes e, ao final do ensaio, os resíduos de lindane eram ligeiramente superiores aos de endosulfan.

Observa-se para ambos os inseticidas uma diminuição dos resíduos de maneira mais acentuada na fase inicial do experimento, o que está em concordância com resultados obtidos por GUNTHER e JEPSON (1954), por GUNTHER e BLINN (1955) e por CRAFTS e FOY (1962).

Logo após a segunda pulverização nota-se que os resíduos de endosulfan total eram representados principalmente por endosulfan II pois esse é o isômero que ocorre em maior proporção na composição do produto técnico. Aos 120 dias, os resíduos de endosulfan eram em sua maior proporção representados pela forma sulfato que foi a mais persistente, seguida de endosulfan II, sendo que endosulfan I foi o menos persistente. Resultados idênticos foram obtidos por CASSIL e DRUMOND (1965).

Durante a fase de secagem dos frutos no terreiro e eliminação das cascas no beneficiamento, os resíduos de endosulfan presentes nos frutos por ocasião da colheita (0,023 ppm), foram reduzidos a níveis inferiores ao limite de detecção.

A forma sulfato de endosulfan presente nos frutos coletados imediatamente após a segunda pulverização é decorrente da remanescente de resíduos da pulverização anterior visto que esse produto não faz parte da composição de endosulfan técnico e é originado pela oxidação de endosulfan I e II .

Pode-se verificar que a quantidade de resíduos de endosulfan presente nos frutos sete dias após a segunda pulverização correspondia a 28,5% da quantidade inicial. Aos 21 dias era 21,3% ; aos 42 dias era 10,1% ; aos 84 dias era 4,7% e finalmente aos 120 dias era 1,9% , sendo que no café beneficiado não foi detectada a presença de resíduo de endosulfan.

A quantidade de resíduos de lindane nos frutos por ocasião da colheita (0,026 ppm) pode ter sofrido uma redução durante as fases de secagem e beneficiamento mas essa redução foi compensada pela perda de água, o que tornou a concentração dos resíduos maior nos grãos beneficiados (0,042 ppm). STOBWASSER *et alii* (1968) , estudando o assunto, verificaram que resultados desse tipo são obtidos também, quando frutas passam pelo processo de secagem.

Os resíduos de lindane presentes nos frutos sete dias após a segunda pulverização correspondiam a 44,9% dos resíduos determinados imediatamente após a mesma pulverização. Aos 21 dias eram 42,4% ; aos 42 dias eram 30,1% ; aos 84 dias eram 11% e aos 120 dias correspondiam a 6,8% , sendo que no café beneficiado, a quantidade presente era igual a 10,7% do valor inicial.

Da comparação entre os dados referentes a degradação de lindane e endosulfan, verifica-se que a persistência de lindane é maior do que a de endosulfan na cultura de café.

## 5.2 - EXPERIMENTO 2

Os resultados obtidos podem ser vistos nos Quadros 7 e 8 .

Da observação dos Quadros 7 e 8 , pode-se notar que os resíduos de endosulfan foram maiores do que os de lindane. Tal fato pode ser atribuído a maior quantidade de princípio ativo utilizado nas pulverizações. Nota-se também que nos grãos de café provenientes das plantas tratadas com endosulfan não foi verificada a presença de resíduos de endosulfan I sendo que sulfato de endosulfan foi responsável por até 80% do total de resíduos.

Pelo fato de se ter usado nesse experimento uma dosagem duas vezes maior do que aquela empregada no controle a broca do café e, de se ter realizado um total de quatro aplicações , quando o número usual é duas ou três, obteve-se no café beneficiado um nível de resíduos acima do normel. Entretanto, por ação da temperatura durante a torração, os resíduos de ambos os pesticidas ou foram completamente eliminados ou ficaram reduzidos a níveis inferiores ao limite de detecção do método empregado.

QUADRO 7 - Resíduos de lindane em grãos de café crú e torrado, provenientes de plantas tratadas quatro vezes com 800 g p.a./ha.

Material	Repetição	Resultado (ppm)	Média (ppm)
	C <sub>1</sub>	0,184 0,191	0,188
Café Crú	C <sub>2</sub>	0,172 0,177	0,175
	C <sub>3</sub>	0,195 0,208	0,202
Café Torrado	C <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> + C <sub>3</sub>	N.D. N.D.	N.D.

QUADRO 8 - Resíduos de endossulfan em grãos de café crú e torrado, provenientes de plantas tratadas quatro vezes com 1.400 g p. a./ha.

Material	Repetição	Resultado (ppm)				Média (ppm)
		END. I	END. II	END. SULF.	TOTAL	
Café Crú	D <sub>1</sub>	N.D.	0,007	0,021	0,028	0,029
		N.D.	0,010	0,020	0,030	
	D <sub>2</sub>	N.D.	0,006	0,027	0,033	0,035
		N.D.	0,007	0,029	0,036	
	D <sub>3</sub>	N.D.	0,005	0,022	0,027	0,027
		N.D.	0,008	0,018	0,026	
Café Torrado	D <sub>1</sub> +D <sub>2</sub> +D <sub>3</sub>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

### 5.3 - EXPERIMENTO 3

Os resultados verificados neste experimento constam do Quadro 9 .

Da observação do Quadro 9 , verifica-se que os níveis de resíduos presentes nas cascas e a quantidade total de resíduos foi maior quanto mais próximo da colheita foi realizado o tratamento. Os resíduos nos grãos, ao contrário, foram maiores quando o tratamento foi realizado na fase inicial do desenvolvimento dos frutos.

Pode ser depreendido também que com exceção do tratamento realizado a 140 dias da colheita, os resíduos presentes nas cascas foram sempre mais elevados do que os presentes nos grãos, podendo esse fato estar relacionado com a penetração do inseticida através das cascas que possuam menor espessura por ocasião daquele tratamento. Outra hipótese que pode ser considerada para explicar esse fato, é a da translocação, para os grãos, de resíduos absorvidos por outras partes da planta, translocação essa maior quanto mais tempo decorrer entre a aplicação e a colheita.

QUADRO 9 - Resíduos de lindane em grãos e cascas de café provenientes de plantas tratadas uma única vez com 400 g p.a./ha, em diferentes épocas.

Tratamentos	Resultados (ppm)			
	Cascas	Grãos	Total	Média
A	0,009	0,013	0,022	0,023
	0,010	0,014	0,024	
B	0,015	0,013	0,028	0,029
	0,017	0,012	0,029	
C	0,027	0,007	0,034	0,035
	0,030	0,005	0,035	
D	0,035	0,005	0,040	0,039
	0,033	0,004	0,037	

## 6 - CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos, pode-se concluir o seguinte:

- a - Os resíduos de lindane persistem mais que os de endosulfan, quando ambos são usados na cultura do café para o controle da broca. (Experimento 1).
- b - O nível dos resíduos de lindane nos grãos de café beneficiado é maior do que nos frutos de café colhidos no estado cereja. (Experimento 1).

- c - Os resíduos de endosulfan caem a níveis menores que 0,005 ppm (limite de detecção) durante os processos de secagem dos frutos e eliminação das cascas. (Experimento 1).
- d - Aumentando-se as dosagens e o número de aplicações há aumento nos níveis de resíduos de lindane e endosulfan em grãos de café beneficiado. (Experimentos 1 e 2).
- e - Observando-se a mesma dosagem e aumentando-se o número de aplicações, há um aumento nos níveis de resíduos de lindane em grãos de café beneficiado. (Experimentos 1 e 3).
- f - A torração de grãos de café que contenham resíduos em decorrência de tratamentos realizados no campo, com dosagens normais e dosagens acima das normais, reduz o nível de resíduos de lindane e endosulfan a quantidades menores que 0,001 e 0,005 ppm respectivamente. Esses valores estão abaixo das atuais tolerâncias estabelecidas pelo Grupo de Trabalho - GT<sub>2</sub>, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - C.N.N.P.A., do Ministério da Saúde, para café em grão cru. (Experimentos 1 e 2).
- g - O nível total de resíduos de lindane em frutos de café (grão + casca) é maior quanto mais próximo da colheita for realizada a aplicação do inseticida. (Experimento 3).
- h - O nível de resíduos de lindane em grãos de café beneficiado é menor quanto mais próximo da colheita for realizada a aplicação do inseticida. (Experimento 3).

- i - O nível de resíduos de lindane em cascas de café beneficiado é maior quanto mais próximo da colheita for realizada a aplicação do inseticida. (Experimento 3).
  
- j - Mesmo obedecendo o período de carência de 120 dias, duas aplicações de lindane na dosagem de 400 g p.a./ha determinam a ocorrência de resíduos acima da tolerância, em grãos de café crú. Os resíduos de endosulfan em grãos de café crú, submetidos a duas aplicações de 700 g p.a./ha, se obedecido um período de carência de 120 dias, serão inferiores a tolerância. (Experimento 1).

## 7 - SUMMARY

The persistence of lindane and endosulfan in/on coffee berries was studied starting with the application of the material to the crop for the control of the "coffee berry borer". *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) and continuing through harvesting, drying and roasting of the grains. The influence of the spraying time on the final level of residues was also studied.

The procedure used was adapted from U.S.D.H.E.W. (1971) by RIBAS (1974). The residues were extracted with acetonitrile and purified by solvent partition with petroleum ether plus florisil column chromatography. The purified extract was concentrated and injected in a Beckman gas chromatograph equipped with a 10% DC-200 column and

electron capture detector. Residues were calculated by comparison of the chromatograms obtained from the samples with chromatograms obtained from solutions containing known amounts of lindane and endosulfan.

Three experiments were conducted. Experiment 1: using a 15 years old coffee plantation of the variety Mundo Novo, at the Instituto Biológico Experimental Farm - Campinas, SP, the persistence of lindane and endosulfan residues on/in coffee berries sprayed twice at the rate of 400 g and 700 g a.i./ha respectively, was studied; residues were determined in samples collected just after the second application and thereafter on the 7<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, 42<sup>nd</sup>, 84<sup>th</sup> and 120<sup>th</sup> day after the second application; following the last collection, the berries were dried and the seeds were submitted to residues analysis; the seeds were roasted at 250°C and once more analysed. Experiment 2: using the same location as experiment 1, the behavior of lindane and endosulfan residues during the roasting phase of grains collected from plants sprayed 4 times with 800 g a.i./ha of lindane and 1.400 g a.i./ha of endosulfan was investigated. Experiment 3 was established in a 16 years old coffee plantation of the variety Mundo Novo 379/19 at Roseira Farm - Campinas, SP. The influence of spraying time on the amount of lindane residues in coffee grains was evaluated. Applications were made at 140, 110, 85 and 55 days before harvesting. Samples of grains and peels from each treatment were submitted to residue analysis.

The methodology used could detect residues of lindane as low as 0.001 ppm and residues of endosulfan as low as 0.005 ppm.

Lindane residue levels in the grains are higher than in/on the corresponding berries at harvest time. Endosulfan residues present in/on the berries decreased in the grains to values lower than 0.005 ppm, after drying and peeling.

The number and the rate of applications influenced the final levels of lindane and endosulfan residues in the grains.

The operation of roasting reduced the residues of lindane and endosulfan in the grains to levels lower than the detection limit of the method used. These values are in accordance with the tolerances established by C.N.N.P.A. - Ministério da Saúde, which are 0.001 ppm for residues of lindane and "no residue" with a detection limit of 0.001 ppm for residues of endosulfan.

Two applications of lindane at the rate of 400 g a.i./ha and observing a safety interval of 120 days between last application and the harvest gave a residue level of 0.042 ppm in the grains which is above the tolerance.

The residues in the grains, resulting from two applications of endosulfan at the rate of 700 g a.i./ha and observing a safety interval of 120 days between the last application and the harvest, were less than 0.005 ppm and are in accordance with the tolerance.

The closer applications of lindane at the rate of 400 g a.i./ha were made to the harvest, the higher were the residues in the whole dried berries (peels + grains) and in the peels. However residues were lower in the grains.

8 - LITERATURA CITADA

ALMEIDA, P. R. e R. D. CAVALCANTE, 1964. Ensaio de campo com novos inseticidas orgânicos no combate à broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867). Arq. Inst. Biológico. São Paulo, 31: 85-90.

ALMEIDA, P. R. ; I. BOGDAN e J. P. GALVÃO Jr., 1973. Combate químico à broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) com novos inseticidas. In: 1.<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Entomológica do Brasil. Viçosa, p. 25 .

ALVARENGA, G. e A. E. PAULINI, 1975. Comparação de inseticidas no controle à broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) (Col. Scolytidae). In: Resumos 3.<sup>o</sup> Congr. Bras. Pesq. Cafesiras, Curitiba, I.B.C.-EMBRAPA, p. 253.

AMARAL, S. F. do ; H. V. ARRUDA e A. ORLANDO, 1959. Polvilhamento do solo como método de combate à broca do café. Arq. Inst. Biológico. São Paulo, 26: 33-39.

AMARAL, S. F. do ; H. V. ARRUDA ; A. ORLANDO e A. PIGATTI, 1965. A interferência do BHC na bebida do café. Arq. Inst. Biológico. São Paulo, 32: 23-30.

AMARAL, S. F. do ; H. V. ARRUDA e A. ORLANDO; 1973. Alguns inseticidas e a bebida do café. Arq. Inst. Biológico. São Paulo, 40: 173-180.

ANDERSON, C. A. ; D. MAC DOUGALL ; J. E. KESTERSON ; T. HENDRICKSON e R. F. BROOKS, 1963. The effect of processing on Guthion residues in oranges and orange products. J. Agric. Food Chem., Washington, 11: 422-423.

ANGELI, C. M. ; C. RIBAS e P. PIGATTI, 1974. Determinação de resíduos de inseticidas clorados usados no controle do bicho mineiro do café. In: Resumos do 2º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras, Poços de Caldas. IBC-EMBRAPA, p. 366.

ARCHER, T. E. ; I. K. NAZER e D. G. CROSBY, 1972. Photodecomposition of endosulfan and related products in thin films by ultraviolet light irradiation. J. Agric. Food Chem. Washington, 20: 954-56.

BEARD, J. E. e G. W. WARE, 1969. Fate of endosulfan on plants and glass. J. Agric. Food Chem. Washington, 17: 216-220.

- BRASS, C. L. e G. W. WARE, 1960. BHC translocation from treated soils and the effect on growth of red clover. J. Econ. Entomol. College Park, 53: 110-113.
- BREITNER, H. J. O., 1972. Pesticide residue analysis. CIPA Conference, Brasilia, Inst. Biologico - F.A.O. - W.H.O., 14 p.
- BRETT, C. H. e T. G. BOWERY, 1958. Insecticide residues on vegetables. J. Econ. Entomol. College Park, 51: 818-21.
- BUTLER, L. I. e J. C. MAITLEN, 1962. Microdetermination of Thiodan residues. J. Agric. Food Chem. Washington, 10: 479-480.
- CARSON, R., 1962. Silent Spring. Boston, Houghton-Mifflin Co. 368 p.
- CASSIL, C.C., 1962. Pesticide residue analyses by microcoulometric gas chromatography. Residue Reviews. Berlin, 1: 37-65.
- CASSIL, C.C. e P. E. DRUMOND. 1965. A plant surface oxidation product of endosulfan. J. Econ. Entomol. College Park, 58: 356-357.
- CIOLA, R., 1969. Introdução a cromatografia em fase gasosa. Curitiba, Associação Brasileira de Química. 264 p.
- COLLETT, J. N. e D. L. HARRISON, 1968. Lindane residues on pasture and in the fat of sheep grazing pasture treated with lindane prills. New Zealand Journal of Agric. Research 11: 589-600. Original não consultado. Extraído de The Review of Applied Entomol., Série A, 1970, London, 58: 1091.

- COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS, 1974. Resolução nº 12. Diário Oficial da União. 8060-8061.
- CRAFTS, A. S. e C. L. FOY, 1962. The chemical and physical nature of plant surface in relation to the use of pesticides and to their residues. Residue Reviews. Berlin, 1: 112-139.
- CROSBY, D. G., 1965. The intentional removal of pesticide residues. In: CHICHESTER, C. O., ed. Research in Pesticide. New York, London, Academic Press, 380 p.
- De WITT, J. B., 1955. Effects of chlorinated hidrocarbons insecticides upon quail and pheasants. J. Agric. Food. Chem. Washington, 3: 672.
- DIAS NETTO, N. ; F. A. M. MARICONI e F. T. M. Van DERMEER, 1973. Ensaio de combate à broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867), em condições de campo. In: Resumos do 1º Congr. Bras. Pragas e Doenças Cafeeiro, Vitória, p. 9-10.
- DIMICK, K. P. e H. HARTMANN, 1963. Gas chromatography for the analysis of pesticides using Aerograph eletron capture detector. Residue Reviews. Berlin, 4: 150-172.
- DOROUGH, H. W. ; G. A. JONES e C. I. LUSK, 1973. Residual nature of endosulfan in Burley tobacco. Environmental Entomology 2: 845. Original não consultado. Extraído de The Review of Appl. Entom., Séries A, 1974. London, 62: 2950.
- DUVAL, G., 1949. Progressos no combate à broca do café com hexacloreto de benzeno. Biológico. São Paulo, 15: 85-102.

- EBELING, W., 1963. Analysis of the basic processes involved in the deposition, degradation, persistence and effectiveness of pesticides. Residue Reviews. Berlin, 3: 35-163.
- EDWARDS, C. A., 1970. Persistent pesticides in the environment. In: Critical Reviews in Environmental Control. Cleveland, Chemical Rubber Co. 1: 7-67.
- ETTRE, L. S. e W. H. MacFADDEN, ed., 1969. Ancillary techniques of gas chromatography. New York, Sydney, London, Toronto, Wiley-Interscience. 395 p.
- FARROW, R. P. ; E. R. ELKINS ; W. W. ROSE ; F. C. LAMB ; J. W. RALLS e W. A. MERCER, 1969. Canning operations that reduce insecticide levels in prepared foods in solid food wastes. Residue Reviews, N. York, 29: 73-87.
- FIGUEIREDO Jr., E. R. ; D. PUZZI e A. ORLANDO, 1959. Ensaio de laboratório para verificar a eventual resistência da broca do café ao BHC. Biológico, São Paulo, 25: 21-24.
- FINLAYSON, D. G. e H. R. Mac CARTHY, 1965. The movement and persistence of insecticides in plant tissue. Residue Reviews, Berlin, 9: 114-152.
- FLEMING, W. E. e W. W. MAINES, 1953. Persistence of DDT in soils of the area infested by the japanese beetle. J. Econ. Entomol., College Par, 46: 445-449.

- FLORU, S. e A. V. ALEXANDRI, 1973. Studies on the persistence of lindane in fruits and vegetables. Analele Institutului de Cercetari pentru Protectia Plantelor 9: 501-505. Original não consultado. Extraído de The Review of Appl. Entomol. Series A , London, 63: 2858.
- FORMAN, S. E. ; A. J. OUBERTAKI ; M. V. COHEN e R. A. OLOFSON, 1965. The configurations and confirmations of the two isomeric Thiodans. J. Org. Chem., Washington 30: 169-175.
- FRANCE, H. L. ; R. E. TREECE e G. W. WARE, 1961. Chemical and biological assays of lindane residuos on alfafa. J. Econ. Entomol., College Park, 54: 642-643.
- FRHESE, H., 1963. Special features in the analysis of pesticide residues: Residue analysis and food control. Residue Reviews, New York, 5: 1-20.
- GIANNOTTI, O., 1971. O problema do controle químico e os resíduos de inseticidas. Primer Congreso Latinoamericano de Entomologia, Cusco, 47-54.
- GINSBURG, J. M. e J. P. REED, 1954. A survey of ODT accumulation in soils in relation to different crops. J. Econ. Entomol., College Park, 47: 467-474.
- GOODWIN, E. S. ; R. GOULDEN e J. G. REYNOLDS, 1961. Gas chromatography with eletron capture ionization detection for rapid identification of pesticide residue in crops. Analyst, Cambridge, 86: 697.

- GUDZINOWICZ, B. J., 1967. Chromatographic Science Series, vol. 2. Gas chromatographic analysis of drugs and pesticides. New York, Marcel Dekker Inc., 605 p.
- GUNTHER, F. A. ; H. T. REYNOLDS e L. R. JEPSON, 1953. Field compatibility of aramite and sulfur in California. J. Econ. Entomol., College Park, 46: 674-677.
- GUNTHER, F. A. e L. R. JEPSON, 1954. Residues of p-chlorophenyl-p-chlorobenzene-sulfonate (Compound K-6451) on and in lemons and oranges. J. Econ. Entomol., College Park, 47: 1027-1032.
- GUNTHER, F. A. e R. C. BLINN, 1955. Analysis of insecticides and acaricides. New York , London. Interscience, 696 p.
- GUNTHER, F. A. e R. C. BLINN, 1956. Persisting residues in plant materials. Ann. Rev. Entomol. Stanford, 1: 167-180.
- GUTHRIE, F. E. e T. G. BOWERY, 1962. Thiodan and Telodrin residues on tobacco. J. Econ. Entomol. College Park, 55: 1017-1018.
- HARRISON, R. B. ; D. C. HOLMES ; J. ROBURN e J. O'G. TATTON, 1967. The fate of some organochlorine pesticides on leaves. J. Sci. Food Agric. 18: 10-15.
- HARRISON, R. B. ; J. H. A. RUZICKA e J. O'G. TATTON, 1967. Endosulfan residues on blackcurrants. J. Sci. Food. Agric. 18: 261-264.
- HEINRICH, W. O., 1960. Experiência de campo para comparação do efeito de inseticidas modernos no combate à broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) (Col. Ipidae). Arq. Inst. Biol., São Paulo, 27: 17-29.

- HUGHES, J. T. e P. D. WILSON, 1972. Endosulfan residues on tomatoes, potatoes, cabbages and cauliflower. New Zealand Journal of Agric. Research, 15: 495. Original não consultado. Extraído de The Rev. of Appl. Entomol., Séries A , 1973. 61: 562.
- HULL, H. M., 1970. Leaf structure as related to absorption of pesticides and others compounds. Residue Reviews. New York, 31: 1-151.
- HUNT, E. G., 1966. Biological magnification of pesticides. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - NATIONAL RESEARCH COUNCIL, organiz. Scientific Aspects of Pest Control. Washington, NAS/NRC p. 251-262.
- JAMES, A. T. e A. J. P. MARTIN, 1952. Analyst. Cambridge, 77: 915.
- JOHNS, T. e C. H. BRAITHWAITE Jr., 1964. Selective detection and identification of pesticide residues. Residue Reviews. New York , 5: 45-56.
- KAWAHARA, T. e H. NAKAMURA, 1971. Absorption of some chlorinated hydrocarbon insecticides from soil by eggplants. Bulletin Agric. Chem. Insp. Station. Tokio, 11: 51-54. Original não consultado. Extraído de The Rev. of Appl. Entomol., Séries A , 1973. London, 61: 254.
- KAWAHARA, T. e H. NAKAMURA, 1971. DDT and BHC residues in green tea. Bull. Agric. Chem. Insp. Station. Tokio, 11: 55-58. Original não consultado. Extraído de The Rev. of Appl. Entomol., Séries A , 1973. London, 61: 255.

- KAWAHARA, T. e H. NAKAMURA, 1971. Absorption and translocation of chlorinated hydrocarbons in tobacco. Bull. Agric. Chem. Insp. Station. Tóquio, 11: 61-66. Original não consultado. Extraído de The Rev. Appl. Entomol., Séries A, 1973. London, 61: 256.
- KEIL, J. E. ; C. B. LOADHOLT ; B. L. BROWN ; S. H. SANDIFER e W. R. SITTERLY, 1972. Decay of parathion and endosulfan residues on field treated tobacco, South Carolina - 1971. Pesticide Mon. Journal, 6: 73-75.
- KOIVISTOINEM, P. ; M. KONONEM ; A. KARIMPAA e P. ROINE, 1964. Stability of malathion residues in food processing and storage. J. Agric. Food. Chem., Washington, 12: 557-560.
- LEPAGE, H. S. e O. GIANNOTTI, 1949/1950. Atividade de alguns inseticidas modernos sobre a broca do café. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 19: 299-308.
- LICHTENSTEIN, E. P., 1958. DDT accumulation in mid-western orchard and crop soils treated since 1945. J. Econ. Entomol. College Park, 50: 545-547.
- LICHTENSTEIN, E. P., 1959. Absorption of some chlorinated hydrocarbon insecticides from the soils into various crops. J. Agric. Food Chem., Washington, 7: 430-433.
- LICHTENSTEIN, E. P. e K. R. SCHULZ, 1960. Translocation of some chlorinated hydrocarbon insecticides into the aerial parts of pea plants. J. Agric. Food. Chem. Washington, 8: 452-454.

- LICHTENSTEIN, E. P. ; G. R. MYRDAL e K. R. SCHULA, 1965. Absorption of insecticidal residues from contaminated soils into five carrot varieties. J. Agric. Food. Chem., Washington, 13: 126-130.
- LISK, D. J., 1960. Rapid combustion and determination of residues of chlorinated pesticides using a modified schoniger method. J. Agric. Food. Chem., Washington, 8: 119-121.
- LISKA, B. J. e N. J. STADELMAN, 1969. Effects of processing on pesticides in food. Residue Reviews, New York, 29: 61-72.
- LOVELOCK; J. E. e S. R. LIPSKY, 1960. Eletron affinity spectroscopy - a new method for identification of functional groups in chemical compounds separated by gas chromatography. J. Amer. Soc. Easton, 82: 431-433.
- McNAIR, H. M. e E. J. BONELLI, 1969. Basic Gas Chromatography. Varian Aerograph, 306 p.
- MAIER-BODE, H., 1967. Versuche ube die persistenz des insektizides endosulfan in pflanzlinchen und tierischen organismus. Arch. fur Pflanzenschutz, Berlin, 3: 201-211.
- MAIER-BODE, H., 1968. Properties, effects, residues and analytias of the insecticide endosulfan. Residue Reviews. New York, 22: 1-44.
- MAITLEN, J. C. e K. C. WALKER, 1963. An improved colorimetric method for determining endosulfan (thiodan) residues in vegetables and beef fat. J. Agric. Food. Chem. Washington, 11: 416-417.

- MATSUMURA, F., 1960. Malathion residues on and in the leaves of *Phaseolus vulgaris*. J. Econ. Entomol. College Park, 53: 452-454.
- OLOFS, P. C. ; S. Y. SZETO e J. M. WEBSTER; 1971. Translocation of organochlorine pesticide residues from soil into carrots. Canadian J. Plant. Sci. 51: 547-550. Original não consultado. Extraído de The Rev. of Appl. Entomol., Series A , 1972. London, 60: 1.253.
- PIGATTI, A. e R. S. GARRUTI, 1961. Determinação de resíduos e eventuais alterações de gosto em tubérculos de batatinhas cultivadas em solos tratados com inseticidas. Arq. Inst. Biol. São Paulo, 28: 41-51.
- PIGATTI, A. e L. S. CAMARGO, 1967. Resíduos de mexinphos em couve-flor. O Biológico, São Paulo, 33: 200-203.
- PIGATTI, P. ; C. RIBAS ; C. M. A. GUINDANI e P. R. ALMEIDA, 1975. Resíduos de phorate e disulfoton em grãos de café beneficiado. In: Resumos 3º Congr. Bras. Pesq. Cafeeira. Curitiba, IBC-EMBRAPA, p. 27-28.
- PIGATTI, P. e A. ORLANDO; 1975. Determinação de resíduos de lindane em café armazenado. In: Resumos 3º Congr. Bras. Pesq. Cafeeira. Curitiba, IBC-EMBRAPA, p. 34-35.
- PIGATTI, P. ; C. RIBAS ; R. S. LONGO e L. ALVES, 1975. Resíduos em café beneficiado colhido de cultura tratada com o inseticida ethion. In: Resumos 3º Congr. Bras. Pesq. Cafeeira. Curitiba, IBC-EMBRAPA p. 41-42.

- POLIZU, A. ; M. ROMAN e G. BOGULEANU, 1969. Persistence of lindane and DDT in the soil and in potato tubers following soil treatments. Anal. Inst. Cerc. Protectia Plantelor, 5: 461-466. Original não consultado. Extraído de The Review of Appl. Entomol., Séries A , 1972. 60: 4.885.
- RANDOLPH, N. M. ; H. W. DOROUGH e G. L. TEETES, 1969. Malathion, methyl parathion, diazinon and endosulfan residues in sunflower seeds. J. Econ. Entomol. College Park, 62: 462-464.
- REYNOLDS, H. ; G. L. GILPIN e I. HORNSTEIN, 1953. Palatability and chemical studies on peanuts grown in rotation with cotton dusted with insecticides containing benzene hexachloride. J. Agric. Food. Chem. Washington, 1: 722-726.
- RIBAS, C. ; P. PIGATI e P. R. ALMEIDA, 1974. Resíduos de dieldrin e endosulfan em grãos de café. Biológico, São Paulo, 40: 120-122.
- RIBAS, C. ; M. S. FERREIRA e P. R. ALMEIDA, 1974. Resíduos de Birlane, endrin e lindane usados no controle à broca do café. In: Resumos 2º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras. Poços de Caldas, IBC-EMBRAPA, p. 361.
- RIBAS, C. ; M. S. FERREIRA e P. PIGATI, 1974. Resíduos de Bidrin, Birlane e Thimet usados no controle ao bicho mineiro do café. In: Resumos 2º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras. Poços de Caldas, IBC-EMBRAPA p. 362-63.
- RIBAS, C. ; P. PIGATI e A. E. PAULINI, 1974. Determinação de resíduos de inseticidas sistêmicos usados no controle do bicho mineiro do café. In: Resumo 2º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras. Poços de Caldas, IBC-EMBRAPA, p. 366-367.

- RIBAS, C., 1974. Método rápido para a determinação de resíduos de inseticidas clorados em café. In: Resumos 2º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras. Poços de Caldas, IBC-EMBRAPA, p. 368-69.
- RIBAS, C. ; P. PIGATI ; S. M. CURI e M. S. FERREIRA, 1975. Resíduos de aldicarb e fensulfotion usados na cultura do café, visando o controle do nematoide *M. coffeicola*. In: Resumos 3º Congr. Bras. Pesq. Cafeeiras. Curitiba, IBC-EMBRAPA, p. 31.
- RODRIGUEZ, J. G. ; J. E. FAHEY e C. E. FERNANDEZ, 1968. Effect of soil systemic insecticides on flavor and residue in coffee. J. Agric. Food. Chem., Washington, 6: 276-279.
- ROSEN, A. A. e F. M. MIDDLETON, 1959. Chlorinated insecticides in surface water. Anal. Chem. 31: 1.729-1.732.
- SAN ANTONIO, J. P., 1959. Demonstration of lindane and a lindane metabolite in plants by paper chromatography. J. Agric. Food. Chem., Washington, 7: 322-325.
- SAUER, H. F. ; G. DUVAL e O. FALANGHE, 1947. Combate à broca do café e possibilidade de emprego de inseticidas. Biológico, São Paulo, 13: 205-214.
- SEIXAS, C. A., 1947. Controle químico da broca do café. Biológico, São Paulo, 13: 215-228.
- SCHUPP III, O. E., 1968. Gas Chromatography. In: PERRY, E. S. e A. WEISSBERGER ed. Technique of Organic Chemistry, Vol. XIII. New York. Interscience Publishers, 437 p.

- STARNES, O., 1950. Absorption and translocation of insecticides through the root system of plants. J. Econ. Entomol. College Park, 50: 338-342.
- STOBWASSER, H. ; B. RADEMACHER e E. LANGE, 1968. Einfluss von nachern tefaktoren auf die ruckstande von pflanzenschutzmitteln in obst , gemuse und einigen souderkulturen. Residue Reviews, New York, 22: 45-112.
- STWART, D. K. R. e K. G. CAIRNS, 1974. Endosulfan persistence in soil and uptake by potato tubers. J. Agric. Food. Chem. Washington, 22: 984-986.
- SUTHERLAND, G. L., 1965. Residue analytical limit of detectability. Residue Reviews, New York, 10: 85-96.
- SWAIN, R. B., 1953. Effect of benzene hexachloride on coffee flavor in Nicaragua. J. Econ. Entomol. College Park, 46: 167.
- TALEKAR, N. S. e E. P. LICHTENSTEIN, 1971. Influence of plant nutrition on lindane penetration and its translocation within pea plants. J. Agric. Food. Chem., Washington, 19: 846-850.
- TALEKAR, N. S. e E. P. LICHTENSTEIN, 1972. Effects of metabolic inhibitors, aeration and other factors on penetration and translocation of lindane in pea plants. J. Agric. Food. Chem., Washington, 20: 1.260-1.263.
- TAPPAN, W. B. ; C. H. VAN MIDDELEM e H. A. MOYE, 1967. DDT, endosulfan and parathion residues on cigar-wrapper tobacco. J. Econ. Entomol. College Park, 60: 765-768.

- TERRANOVA, A. C. e G. W. WARE, 1963. Studies of endosulfan in bean plants by paper and gas chromatography. J. Econ. Entomol., College Park, 56: 596-599.
- TERRIERE, L. C. e D. W. INGALSBE, 1953. Translocation and residual action of soil insecticides. J. Econ. Entomol., College Park, 46: 751-753.
- TIEL, N. Van, 1968. The nature of terminal products arising from the use of gamma-BHC. Information Bull. - Intern. Union Pure Appl. Chem., 32: 91-98. Original não consultado. Extraído de The Review of Appl. Entomol., Séries A. London, 60: 173.
- TRANCHANT, J., 1969. Ed. Practical Manual of Gas Chromatography. Amsterdam. Elsevier Publishing Co., 387 p.
- ULMANN, E., 1972. Ed. Lindane - Monograph of an insecticide. Freiburg im Breisgau. Verlag K. Schillinger, 383 p.
- U. S. DEPT. HEALTH ED. WELFARE, 1969. Report of the Secretary's Commission on Pesticide and their relationship to Environmental Health. Parts I and II, Washington. 677 p.
- U. S. DEPT. HEALTH ED. WELFARE - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1971. Pesticide Analytical Manual. Washington, 1: 212.
- WATTS, J. O. e A. K. KLEIN, 1962. Determination of chlorinated pesticide residues by electron capture gas chromatography. J. Ass. Off. Anal. Chem., Washington, 45: 102-107.

- WHITACRE, D. M. e G. W. WARE, 1967. Retention of vaporized lindane by plants and animals. J. Agric. Food. Chem., Washington, 15: 492-496.
- YULE, W. N. ; M. CHIBA e H. V. MORLEY, 1967. Fate of insecticide residues. Decomposition of lindane in soil. J. Agric. Food. Chem., Washington, 15: 1.000-1.004.
- ZWEIG, G. e T. E. ARCHER, 1960. Quantitative determination of Thiodan by gas Chromatography. J. Agric. Food. Chem., Washington, 8: 190-192.
- ZWEIG, G. ; T. E. ARCHER e D. RUBENSTEIN, 1960. Residue analysis of a chlorinated insecticide (Thiodan) by combination of gas chromatography and infrared spectrofotometry. J. Agric. Food. Chem., Washington, 8: 403-405.