**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Validação de metodologia para análise de procimidona em morango e
determinação de seus resíduos na fruta “in natura” e produtos
processados**

Fabiana Cerri

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciência. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2008**

Fabiana Cerri
Bacharel em Ciências dos Alimentos

**Validação de metodologia para análise de procimidona em morango e
determinação de seus resíduos na fruta “in natura” e produtos
processados**

Orientadora:
Prof^a. Dra. **MARTA HELENA FILLET SPOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciência. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia dos Alimentos

**Piracicaba
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Cerri, Fabiana

Validação de metodologia para análise de procimidona em morango e determinação de seus resíduos na fruta "in natura" e produtos processados / Fabiana Cerri. - - Piracicaba, 2008.

83 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Geléias 2. Morango 3. Polpa 4. Processamento de alimentos 5. Resíduos de pesticidas em planta I. Título

CDD 664.80475
C417v

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A Pedro José Cerri (em memória)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

A meus pais, Waldir e Neusa, pela educação e exemplos de vida.

A meus irmãos, Adriana e Fernando, pelo apoio e carinho.

A Thiago pela paciência, dedicação e companheirismo em todos os momentos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ por mais uma oportunidade concedida para minha formação profissional.

À Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz” - FEALQ, pelo suporte financeiro às análises.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão de bolsa de estudos.

À Profa. Dra. Marta Spoto pela amizade, confiança e orientação.

Ao Prof. Dr. Gilberto Casadei pelo apoio, inestimáveis ensinamentos e orientação.

Ao Dr. Luiz Roberto Pimentel pela oportunidade de trabalho e ensinamento transmitido.

À amiga Aline Caetano pela dedicação e apoio durante todo o trabalho.

A Carlos Longatti, Amanda Castanha, Juliana Sabadin, André Franco, Marcelo Passos e Tatiana Ibelli pela amizade e auxílio durante o trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Resíduos de Pesticidas e Análises Cromatográficas pela experiência e convívio.

A Renato Agnelo pela concessão da área para montagem do campo experimental.

Aos professores do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição pela formação acadêmica.

À bibliotecária Beatriz pelo auxílio na correção deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, manifesto meus mais sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 O morango	16
2.2 Depósito, penetração e persistência de pesticidas	18
2.3 Uso de pesticidas	20
2.4 Procimidona	21
2.5 Resíduos de pesticidas em morango	23
2.6 Resíduos de pesticidas em produtos de morango	26
2.7 Produtos processados de morango	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Local de realização dos processamentos e análises	31
3.2 Caracterização e condução do experimento no campo	31
3.3 Amostragens	33
3.4 Obtenção de morango minimamente processado	34
3.5 Obtenção de geléia de morango	34
3.6 Obtenção de polpa de morango	35
3.7 Descrição do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.	35
3.7.1 Solventes / Reagentes	36
3.7.2 Aparelhos / Equipamentos	36
3.7.3 Marcha analítica	37
3.7.3.1 Preparação das soluções padrão	37
3.7.3.2 Fortificações	37
3.7.3.3 Extração	37

3.8	Exatidão do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.	39
3.9	Curva de calibração, limites de quantificação e de detecção do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.	40
3.10	Repetibilidade, reprodutibilidade e robustez do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia de morango.	42
3.11	Análise dos dados.	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.	45
4.1	Curva de calibração, limite de quantificação e limite de detecção do método analítico.	45
4.2	Eficiência do método analítico.	47
4.3	Repetibilidade e reprodutibilidade do método analítico – Precisão.	51
4.4	Robustez do método analítico.	52
4.5	Resíduos de procimidona em morango “in natura”.	53
4.6	Resíduos de procimidona em amostras de morango minimamente processado, polpa e geléia.	60
4.7	Comparação dos resíduos de procimidona em amostra de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.	66
4.8	Índice de concentração de resíduos de procimidona em amostra de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia de morango.	70
5	CONCLUSÕES.	77
	REFERÊNCIAS.	78

RESUMO

Validação de metodologia para análise de procimidona em morango e determinação de seus resíduos na fruta “in natura” e produtos processados

O morango utilizado pela indústria alimentícia tem seu sabor e aroma bastante valorizados e apreciados, quando comparado com outras frutas. Entretanto, é um produto muito delicado e altamente perecível, exigindo, assim, o uso de técnicas adequadas de colheita e pós-colheita. Para manter sua qualidade e quantidade de produção, observa-se um aumento do uso de agrotóxicos para minimizar prejuízos causados por pragas e doenças do campo. Porém, os pesticidas podem deixar resíduos persistentes nos alimentos e o seu consumo “in natura” ou industrializado pode ficar comprometido, colocando em risco a saúde do consumidor. Assim, este trabalho teve por objetivo estudar a influência do processamento de morangos, como, minimamente processado, geléia e polpa frente aos resíduos do fungicida procimidona. Em experimento de campo foi aplicado o produto Sumilex 500 WP nos seguintes tratamentos: A – testemunha (sem aplicação); B – uma única aplicação de 300 g p.c. 100 L⁻¹ água (150 g i.a. 100 L⁻¹ água) e C – 3 aplicações sucessivas de 300 g p.c. 100 L⁻¹ água (150 g i.a. 100 L⁻¹ água), com intervalos de 7 dias entre elas. As amostragens foram iniciadas no dia anterior a aplicação do tratamento B (-1 dia) e aos 0, 1, 3, 5, 10 e 15 dias, sendo amostrados frutos “in natura”, para posterior processamento, como minimamente processado, geléia e polpa. O método de análise consistiu na extração dos resíduos de procimidona com acetato de etila, limpeza do extrato (clean up) feita por cromatografia de exclusão por tamanho molecular de alta eficiência - GPC e determinação quantitativa feita por técnica de cromatografia em fase gasosa acoplado a detector de captura de elétrons - CG/ECD. O método analítico apresentou recuperação em torno de 85,5% com desvio padrão de 7% e limites de quantificação de 0,00076 mg.kg⁻¹ e detecção de 0,00023 mg.kg⁻¹. Os valores de procimidona encontrados em morango não excederam o LMR (3 mg.kg⁻¹) estabelecido pela legislação brasileira, em qualquer um dos períodos de coleta das amostras. Nos tratamentos que receberam aplicações no campo (B e C) os níveis de procimidona decresceram no decorrer do tempo, tanto para o morango “in natura” como para os produtos processados de morango. Os valores de meia vida de degradação foram de 7-8 dias para ambos os tratamentos. Não houve redução significativa nos níveis de resíduos encontrados no morango “in natura”, assim como para os obtidos na polpa e minimamente processado. Porém, uma considerável degradação de procimidona foi observada no processo de cozimento, apresentado pela baixa concentração de resíduos na geléia. De maneira geral, a procimidona apresentou maiores níveis no morango “in natura” e menores na geléia de morango (produto final).

Palavras-chave: Morango; Procimidona; Minimamente processado; Geléia; Polpa; Resíduos de pesticidas; Cromatografia gasosa

ABSTRACT

Validation of methodology for procymidone analysis in strawberry and determination of respective residues in the fresh fruit and processed products

The strawberry used by the food industry has flavor and aroma very valued and appreciated when compared to the other fruits. However, it is a very delicate and highly perishable product, demanding, therefore, the use of appropriate techniques of harvesting and post-harvest. To keep quality and quantity of production, there is an increase of pesticides utilization in order to minimize damages caused by pests and field diseases on the field. However, the pesticides can leave persistent residues in the foods and their consumer fresh or industrialized may be impaired, putting the consumer health at risk. Thus, this work aimed to investigate the influence of the strawberries processing, as, minimally process, jam and pulp front of the waste of fungicide procymidone. In the field experiment, was applied the Sumilex 500 WP product according the treatments: A – control (without application); B - a single application for 300 g c.p. 100 L⁻¹ water (150 g a.i. 100 L⁻¹ water) and C - 3 successive applications for 300 g c.p. 100 L⁻¹ water (150 g a.i. 100 L⁻¹ water), with intervals of 7 days between them. The sampling started in the previous day of the last treatment application B (- 1 day). Other sampling were carried through 0, 1, 3, 5, 10 and 15 days, and sampled fresh fruit, for further processing, such as minimally process, jam and pulp. The analysis method consisted in extraction with ethyl acetate, cleaning of the extract by gel permeation chromatography (GPC) and quantitative determination by gas chromatograph with specific detector of electron capture (GC/ECD). The analytical method presented recovery around 85,5% with errors of 7% and the quantification limits of 0,000076 mg.kg⁻¹ and detection limits of 0,00023 mg.kg⁻¹. The procymidone values found in strawberry did not exceed the maximum residues limits (3 mg.kg⁻¹) fixed by brazilian legislation, in any periods of harvest. In the treatments that received application on the field (B and C) the procymidone levels decreased in the course of the study, as fresh strawberry as for process product of strawberry. The half-life values of degradation were of 7-8 days to the both treatments. There was no significant reduction in the residue levels found in strawberry fresh, pulp and minimally process. But, a considerable degradation of procymidone was observed in the cooking process, showing by low residues concentrations in the jam. Overall, the procymidone showed higher residues in fresh strawberry and lower on strawberry jam (final product).

Keywords: Strawberry; Procymidone; Minimally process; Jam; Pulp; Pesticide residue; Gas chromatography

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curvas de degradação (A) e persistência (B) de malationa sobre e no interior de cascas de laranja “Valência” (GUNTHER; WESTLAKE, 1968; citados por GUNTHER, 1969)	19
Figura 2 - Fórmula estrutural do composto procimidona	21
Figura 3 - Curva de calibração do padrão de procimidona.....	45
Figura 4 - Curva de calibração do padrão procimidona “com efeito matriz”	46
Figura 5 - Cromatograma da amostra de morango “in natura” fortificada com 0,05 mg.kg ⁻¹ de procimidona	49
Figura 6 - Cromatograma da amostra de morango “in natura” testemunha (sem procimidona).....	49
Figura 7 - Cromatograma da amostra de geléia de morango fortificada com 0,05 mg.kg ⁻¹ de procimidona	50
Figura 8 - Cromatograma da amostra de geléia de morango testemunha (sem procimidona).....	50
Figura 9 - Valores médios dos resíduos de procimidona na concentração de 150 g i.a. 100 L ⁻¹ água (tratamento B – uma única aplicação), após a transformação logarítmica, e reta ajustada em função do tempo, após o tratamento do morango “in natura”	54
Figura 10 - Valores médios dos resíduos de procimidona na concentração de 150 g i.a. 100 L ⁻¹ água (tratamento C – três aplicações sucessivas), após a transformação logarítmica, e reta ajustada em função do tempo, após o tratamento do morango “in natura”	54
Figura 11 - Representação gráfica dos resíduos de procimidona no morango “in natura” e seus produtos processados, no tratamento B e no tratamento C.....	65
Figura 12 - Representação gráfica dos resíduos de procimidona no morango “in natura” e seus produtos processados comparados com dos diversos DAA, no tratamento B e no tratamento C	66

Figura 13 - Representação gráfica dos índices de concentração de resíduos de procimidona no morango “in natura” e seus produtos processados, nos tratamentos B e C	76
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes ativos registrados para morango pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)	17
Tabela 2 - Parâmetros físicos químicos do procimidona	22
Tabela 3 – Determinação do LQ e LD do método analítico.....	47
Tabela 4 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia de morango	47
Tabela 5 - Média das porcentagens (%) de recuperação e desvio padrão relativo de procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia de morango	51
Tabela 6 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura” determinado por CG/MS	52
Tabela 7 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura”	53
Tabela 8 - Resíduo inicial de procimidona no substrato morango “in natura” para cada tratamento, estimativa do parâmetro β da reta de degradação e meia vida do princípio ativo com base nesses parâmetros	55
Tabela 9 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” em diferentes intervalos, nos tratamentos B e C do fungicida procimidona e a testemunha.....	57
Tabela 10 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango minimamente processado, polpa e geléia de morango após uma única aplicação (tratamento B) do fungicida procimidona	61
Tabela 11 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango minimamente processado, polpa e geléia de morango após múltiplas aplicações (tratamento C) do fungicida procimidona	62
Tabela 12 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após uma única aplicação de 150 g i.a. 100 L^{-1} água (tratamento B) do fungicida procimidona.....	71

Tabela 13 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após uma única aplicação de 150 g i.a. 100 L ⁻¹ água (tratamento B) do fungicida procimidona.....	72
Tabela 14 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após três sucessivas aplicações de 150 g i.a. 100 L ⁻¹ água (tratamento C) do fungicida procimidona	73
Tabela 15 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após três sucessivas aplicações de 150 g i.a. 100 L ⁻¹ água (tratamento C) do fungicida procimidona	74

1 INTRODUÇÃO

O morango apresenta como parte comestível carnosa o pseudofruto originário do receptáculo floral, diferenciando-se de outras frutas por seu aspecto atraente, sabor e aroma agradáveis e textura suculenta, constituindo um importante produto de consumo “in natura”. Quando utilizado pela indústria alimentícia, seu sabor e aroma são bastante valorizados e apreciados pelo consumidor.

O maior produtor mundial de morango são os Estados Unidos, com produção anual de mais de um milhão de toneladas da fruta fresca e 240 mil toneladas na produção congelada, seguidos da China com 646 mil toneladas da fruta fresca e a Espanha com 295 mil toneladas (FNP, 2007).

O Brasil não está entre os maiores países produtores de morango, sua produção anual é estimada em 90 mil toneladas em uma área de aproximadamente 3.600 ha. Os principais produtores são os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, que juntos são responsáveis por mais de 50% da produção nacional (REICHERT; MADAIL, 2003).

Em São Paulo, a exploração comercial se iniciou nos municípios de Suzano e Itaquera, expandindo-se para Jundiaí e, mais tarde, para Piedade e Atibaia (SATO; ASSUMPÇÃO, 2002). A safra se estende de março a maio, com concentração nos meses de junho a novembro (CAMARGO et al., 1994).

A alta perecibilidade do morango, aliada aos danos mecânicos causados na produção e comercialização, o torna susceptível ao ataque de agentes patogênicos causadores de podridões, assim, é necessário o uso de técnicas agrícolas de produção adequadas.

Na busca por alta produtividade e para garantir um produto classificado como “livre de defeito agropecuário”, observa-se o aumento do uso de agrotóxicos em morango para minimizar os prejuízos causados por pragas e doenças do campo.

Entretanto, muitas vezes não se mede o risco de intoxicações causadas aos consumidores e trabalhadores expostos aos produtos químicos aplicados.

Os resíduos de pesticidas presentes na produção de cereais, frutas e vegetais têm sido tópicos de várias publicações, devido principalmente às propriedades tóxicas apresentadas por estes compostos. Pesticidas são aplicados em todo o mundo e em larga escala, diretamente nas plantações ou na proteção de colheitas. Diferentes setores sociais estão interessados no controle dos níveis de pesticidas contidos nos alimentos, para avaliação de risco ou tomada de decisões regulatórias ou econômicas. Assim, a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos tornou-se um importante campo de investigação para garantir a segurança deles.

Os pesticidas podem deixar resíduos persistentes nos alimentos e o seu consumo “in natura” ou industrializado pode ficar comprometido, colocando em risco a saúde do consumidor, se esse nível estiver acima dos limites legalmente aceitos, estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Isto também pode significar barreira à exportação, caso estejam acima do limite estabelecido internacionalmente, via *Codex Alimentarius* ou legislações específicas de cada país.

Em virtude do alto consumo de morango na forma “in natura”, seu grande uso pela indústria alimentícia e o risco potencial como agente de intoxicação ao consumidor pelo uso de pesticidas no campo, este trabalho teve por objetivo estudar a influência do processamento de morango, como minimamente processado, geléia e polpa congelada frente aos resíduos do fungicida procimidona. Assim como, validar o método analítico utilizado para a análise deste fungicida em morango.

Os objetivos específicos foram:

- Determinar resíduos do fungicida procimidona em morango recém-colhido, tratado com sanificante, pela ação de calor e congelamento imediato;
- Estudar a degradação e a persistência dos resíduos de procimidona do morango “in natura”;
- Comparar os níveis residuais encontrados no morango “in natura” com o limite máximo de resíduo estabelecido pela legislação brasileira, na vigência do intervalo de segurança;
- Determinar exatidão, precisão, robustez, limite de quantificação e limite de detecção do método analítico para o fungicida procimidona.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O morango

A espécie cultivada, *Fragaria ananassa* Duch., é um híbrido entre as espécies originárias da América do Norte *Fragaria virginiana* e do Chile, *Fragaria chiloensis*. O morangueiro é uma planta herbácea com hábito rasteiro, sendo a única hortaliça pertencente à Família Rosaceae (RESENDE; MASCARENHAS; PAIVA, 1999).

Nos dias de hoje, os brasileiros têm buscado, por bons hábitos de saúde, maior consumo diário de frutas e hortaliças “in natura”, pois estas apresentam alto valor nutricional e baixo nível calórico. Assim, o morango torna-se um alimento interessante, pois nove unidades (aproximadamente 100 g) da fruta “in natura” apresentam 58,8 mg de vitamina C, 12 mg de vitamina A, minerais, como fósforo (24 mg), magnésio (13 mg) e potássio (53 mg) e 2,0 mg de fibras, além de baixo valor calórico, apenas 30 kcal (ESTADOS UNIDOS, 2007).

Cerca de 70% da produção nacional de morango é voltada para a comercialização “in natura” e 30% para o processamento industrial na forma de polpa, geléia, calda, suco reconstituído ou concentrado ou preparado da fruta, que são usados na indústria de laticínios como ingredientes para iogurtes, coalhadas, leite batido e sorvetes ou na indústria de doces (AMARO, 2002).

O morango é um produto muito delicado e altamente perecível, com vida pós-colheita curta, principalmente devido a sua alta atividade metabólica. O morango faz parte do grupo de frutas não climatéricas, por apresentar um contínuo declínio na taxa de respiração em função do tempo quando está na planta (BIALE, 1960). Depois de colhidos, os morangos não podem ser abastecidos de nutrientes e água, assim, ocorre um aumento gradual da taxa respiratória, não ocorre amadurecimento nem melhoram as características organolépticas, entrando em estado de senescência após a colheita (CANTILLANO, 2005).

Nos estudos de Riccio et al. (2006) foi determinada a penetração de clorpirifós-metil em uva, morango e maçã. Altas concentrações do inseticida foram encontradas na parte superficial das frutas, porém nas polpas de maçã e uva não foram encontrados pesticidas. No morango foram detectados resíduos em todas as frações (polpa e superfície). Isso ocorre, segundo o autor, graças à alta perecibilidade da superfície do morango.

O uso de mudas sadias é fundamental para o controle de doenças, sendo as principais doenças do morangueiro são o mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), a podridão de fitofitora (*Phytophthora cactorum*), o rizoctoniose (*Rhizoctonia*), a antracnose (*Colletotrichum sp*), a murcha de verticillium (*Verticillium dahliae*), a mancha de micosfarela (*Mycosphaerella fragariae*), a mancha de dendrofoma (*Dendrophoma obscurans*), a mancha de diplocarpon (*Diplocarpon earliana*), oídio (*Sphaerotheca macularis*) e a mancha angular (*Xanthomona fragariae*) (Dias, 1999).

Os ingredientes ativos, registrados para morango pela legislação brasileira, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Ingredientes ativos registrados para morango pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)

inseticidas	abamectina, fenpropatina, malationa, mevinfós e tiametoxam
fungicidas	azoxistrobina, , difenoconazole, dodina, enxofre, fluazinam, dióxido de enxofre, imibenconazole, iprodiona, meticonazole, oxiclureto de cobre, óxido cuproso, pirimetamil, procimidona, sulfato de cobre, tebuconazole, tiofanato-metílico e triforina
acaricidas	abamectina, cihexatina, clofentrezina enxofre, fenpiroximato, fenpropatina, fluazinam, malationa, mevinfós e propargito
outros	brometo de metila, clortal dimetílico e metam-sódico

Fonte: BRASIL, 2007a.

2.2 Depósito, penetração e persistência de pesticidas

Os pesticidas, quando aplicados nas plantas, para o controle de doenças e pragas, sofrem diferentes processos de transformação e remoção. Gunther (1969) diferencia os termos depósito e resíduo, sendo **depósito** a quantidade do composto químico, inicialmente colocado na superfície da planta ou animal, por ocasião do tratamento, enquanto que **resíduo** é a quantidade remanescente do composto químico, após sofrer dissipação por ações climáticas, degradação, penetração e metabolismo.

Diversos fatores influenciam na grandeza dos depósitos iniciais e, conseqüentemente, nos níveis de resíduos finais nas culturas, como morfologia e fisiologia da planta e fruto tratado; o tipo e uniformidade da aplicação e o tempo decorrido dessa aplicação; condições tais como chuvas, ventos, umidade e luminosidade, a formulação do pesticida e a natureza do produto, incluindo volatilização e deposição química, sendo que esse pode penetrar nos tecidos das plantas e ser metabolizado ou quimicamente alterado, afetando sua quantidade e persistência (EBELING, 1963; GUNTHER, 1969; DUPUIS, 1975).

Os depósitos superficiais podem ser facilmente removidos por lavagem. Outros resíduos, como os cuticulares podem ser removidos por lavagem e raspagem. Os resíduos sub-cuticulares não podem ser removidos, exceto por descascamento, como de bananas e laranjas, onde a penetração é restrita à casca da fruta (FRANCO, 2000).

Após a deposição do pesticida na superfície do vegetal, parte se perde rapidamente, podendo uma porção remanescente penetrar no substrato. Gunther (1969) ilustrou este comportamento na Figura 1, onde o segmento A, denominado curva de degradação do malationa, representa o desaparecimento do produto aplicado inicialmente, pela ação de fatores atmosféricos e ataque metabólico. O segmento B é denominado curva de persistência, que representa o produto persistente, que ainda se degrada vagarosamente, através do ataque metabólico por agentes do interior dos tecidos, no caso, a casca da laranja.

O valor da meia-vida no estudo de resíduos de pesticidas determina o tempo necessário para que metade de uma dada quantidade do material depositado (meia-vida de degradação) ou resíduo (meia-vida de persistência) se perca ou se dissipe (GUNTHER; BLINN, 1955).

Figura 1 - Curvas de degradação (A) e persistência (B) do malationa sobre e no interior de cascas de laranja “Valência” (GUNTHER; WESTLAKE, 1968; citados por GUNTHER, 1969)

2.3 Uso de pesticidas

O sistema de produção adotado pelo produtor deve minimizar o uso de produtos químicos no controle de pragas e doenças no campo. Porém, sendo necessário o seu uso deve ser feito segundo as Boas Práticas Agrícolas, no contexto do Manejo Integrado de Pragas. Para tratamentos com agrotóxicos devem ser utilizados somente produtos registrados no MAPA e as instruções do rótulo e prazo de carência dos produtos devem ser seguidos corretamente. A aplicação dos produtos fitossanitários deve ser feita na época correta, com o operador devidamente treinado e usando todos os equipamentos de proteção individual (MATTOS, 2005).

A exposição de pessoas aos agrotóxicos pode ser atribuída tanto ao consumo de alimentos oriundos da produção agropecuária, onde estes produtos são aplicados, quanto ao contato direto, no caso dos aplicadores rurais ou manipuladores, ou ainda ao contato indireto, como em populações para controle de vetores das endemias (BRASIL, 2002).

O interesse público pelos possíveis riscos à saúde do consumidor pelos resíduos de pesticida na dieta é crescente. Assim, a estratégia para a proteção da colheita, com ênfase na qualidade e na segurança do alimento, conduziu ao estabelecimento de limite máximo de resíduos (LMR) e ingestão total na dieta de resíduos de pesticida através de produtos alimentícios (FAO, 1993).

O LMR é a concentração máxima permitida de um resíduo de pesticida em um produto alimentício específico, em decorrência da aplicação adequada, no estágio estabelecido, da produção ao consumo, expressa em miligramas de pesticida por quilo de alimento (mg.kg^{-1} ou ppm). O período de carência ou tolerância é o intervalo de tempo que deve ser obedecido entre a última aplicação do pesticida e a colheita (BRASIL, 2002).

2.4 Procimidona

O procimidona é um fungicida sistêmico, empregado no controle de várias doenças fúngicas, em diversas culturas frutíferas e hortaliças, pertencente ao grupo das dicarboximidas; esse grupo de fungicida tem ação protetiva e curativa que inibem o crescimento das micelas. Procimidona é usado em frutas como morangos e uvas e flores ornamentais no combate aos fungos do gênero *Monilia*, *Botrytis*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Gloesporium*, e *Colletotrichum*. É quimicamente conhecido como *N*-(3,5-dichlorophenyl)-1,2-dimethyl-cyclopropano-1,2-dicarboximida, com fórmula estrutural apresentada na Figura 2 (BRASIL, 2006).

Figura 2 - Fórmula estrutural do composto procimidona

No Brasil, o produto com ingrediente ativo procimidona é comercializado com o nome de Sialex 500 e Sumilex 500WP, produtos altamente tóxicos (classe toxicológica II, faixa amarela), registrados para 16 culturas, como alface, alho, batata, cebola, cenoura, feijão, maçã, melancia, melão, morango, pêsseso, tomate e uva. O LMR para morango é de 3 mg.kg⁻¹ e intervalo de segurança (período de carência) de 1 dia (BRASIL, 2006). Para a Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO), o LMR do fungicida procimidona para a cultura de morango é de 10 mg.kg⁻¹. A avaliação toxicológica, realizada ao nível da FAO/WHO e JMPR, estabeleceu a ingestão diária aceitável 0,1 mg.kg⁻¹ de peso corpóreo, baseado nos efeitos sub-crônicos em ratos, camundongos e cães, e efeitos crônicos em ratos. A classificação de perigo do procimidona pela FAO é “um produto técnico improvável da presença de perigos agudo no uso normal” (FAO, 2006).

A Tabela 2 apresenta os parâmetros físicos-químicos do procimidona.

Tabela 2 - Parâmetros físicos químicos do procimidona

Parâmetros físico-químicos	Parâmetros
Fórmula química	$C_{13}H_{11}Cl_2NO_2$
Peso molecular	284,1
Coeficiente de partição octanol/água (kow)	1380 (26°C)
Ponto de fusão*	163-164,5°C
Ponto de decomposição*	360°C
Solubilidade em água	4,5 mg.L ⁻¹ (25°C)
Solubilidade em acetona	180 g.L ⁻¹ (25°C)
Solubilidade em xileno	43 g.L ⁻¹ (25°C)
Solubilidade em clorofórmio	210 g.L ⁻¹ (25°C)
Solubilidade em metanol	16 g.L ⁻¹ (25°C)
Pressão de vapor (25°C) *	2,3 . 10 ⁻⁵ Pa

Fonte: TOMLIN (1994) e *FAO (2006)

O produto Sumilex 500 é uma formulação de procimidona como pó molhável, com a concentração do ingrediente ativo de 50% p/p, sendo 500 g de ingrediente ativo (i.a.) procimidona por quilograma de produto comercial. Para a cultura de morango, recomenda-se o volume de até 1000 litros de calda por hectare, numa dose de produto comercial de 0,5-1,0 kg.ha⁻¹ (BRASIL, 2007a).

A norma geral adotada internacionalmente não contempla a realização de estudos sobre os mecanismos de ação, absorção e excreção do produto em seres humanos. Todavia, estudos efetuados com animais de laboratório demonstraram que a ação do produto foi bastante reduzida, a sua absorção pelo trato gastrointestinal e a excreção é rápida, principalmente pela urina (89,8%), fezes (10,3%) e CO₂ (0,2%) em 7 dias (¹⁴C-Sumilex) (BRASIL, 2002).

Em estudos do efeito agudo em animais de laboratório foi observada prostração, alteração do tônus muscular por 72 horas, com retorno à normalidade em 96 horas, sem irritação da pele e olhos. Em estudos de efeitos crônicos, também com animais de

laboratório, não foram encontradas evidências que representem risco significativo, quando relacionados ao homem (BRASIL, 2002).

Segundo a FAO (1981), a procimidona tem baixa toxicidade para pássaros e peixes das espécies *Lepomis macrochirus* e *Oryzias latipes* e moderada toxicidade para pulga d'água e trutas.

Em estudo de bioconcentração, peixes, minhocas e abelhas mostraram baixa bioconcentração de procimidona, em algas houve moderada bioconcentração, enquanto que em pássaros e mamíferos não foi detectada. Não há evidências de genotoxicidade para nenhuma das espécies. Em altas doses, o procimidona dada para ratos oralmente provocou a formação de tumores testiculares em estudo a longo prazo mas estes foram explicados pelo efeito de procimidona no sistema endócrino e não há reflexos da carcinogenicidade genotóxica (FAO, 1981).

Entretanto, existem estudos em populações de animais, afetadas por substâncias que têm o potencial de serem desreguladoras endócrinas. Entre as repercussões, figuram a disfunção da tireóide em aves e peixes; a diminuição da fertilidade em aves, peixes, crustáceos e mamíferos; a diminuição do sucesso da incubação e graves deformidades de nascimento em aves, peixes e tartarugas; anormalidades metabólicas em aves, peixes e mamíferos, entre outras (CANTARUTTI, 2005).

2.5 Resíduos de pesticidas em morango

O Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA), coordenado pela ANVISA com participação de instituições governamentais, tem avaliado continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos “in natura” que chegam à mesa do consumidor, visando atender à segurança alimentar e evitar, assim, possíveis agravos à saúde da população. Dentre as culturas analisadas, no período de junho de 2001 a junho de 2006, a cultura do morango se destacou devido ao alto índice de contaminação detectada em amostras vindas dos estados integrantes do programa (Acre, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas

Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Sergipe e Tocantins), muito dos quais se apresentaram contaminados com resíduos de até cinco ingredientes ativos distintos (MATTOS; FACHINELLO, 2002; BRASIL, 2007b, 2007c).

O Sistema de Informação de Resíduos de Agrotóxicos em Horticultura (SIRAH) constitui um banco de dados de resíduos de agrotóxicos em frutas e hortaliças. Patrocinado pela Associação Nacional de Defesa Vegetal (ANDEF) e gerenciado pela Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). O SIRAH contém informações sobre a ocorrência de resíduos por origem do produto e produtor. Para a criação do sistema foram computadas as informações de 3.082 amostras de frutas e hortaliças frescas, coletadas na CEAGESP, no período de janeiro de 1994 e abril de 2005, referentes a 52 produtos hortifrutícolas. O morango, mais uma vez, se destaca pela contaminação por resíduos de agrotóxicos e por produtos fitossanitários não recomendados (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA, 2007a, 2007b).

A podridão de frutas, causada por *Botrytis cinerea*, é a doença pré-colheita mais importante da cultura do morango, uma doença de grande interesse na pós-colheita, onde a fruta, aparentemente saudável, desenvolve lesões durante o transporte e armazenamento, causando perdas severas (ALMENAR et al., 2006; LEGARD et al., 2001; MERTELY et al., 2000; MAZUR; WAKSMUNDZKA, 2001, LEGARD et al., 2002; VAN LAER et al., 2005). Assim, para se cultivar morango, com rendimentos razoáveis e com condições reais de mercado, é necessária a aplicação de pesticidas (BLACHARSKI et al., 2001; WILL; KRÜGER, 1999). A infecção por *Botrytis cinerea* ocorre durante o estágio de florescimento, quando os tratamentos com fungicida devem se iniciados (BRASIL, 2002).

Washington et al. (1999) mostrou a importância de aplicação de fungicidas para o controle do *Botrytis cinerea* em morango, onde sete fungicidas foram comparados. De modo geral, os fungicidas reduziram a incidência de podridão da fruta em 27-72%. A aplicação da iprodiona reduziu em 60-94% o mofo cinzento. No experimento com fluazinam a redução de mofo cinzento foi de 85% e a podridão na superfície de 100%.

Os frutos pulverizados com clorotalonil, diclofluanida, tiram e iprodiona aumentaram significativamente o rendimento (peso) da fruta saudável comparado com o aquele das plantas sem tratamento.

O objetivo dos estudos de Blacharski et al. (2001) foi determinar o efeito de tratamentos pré-colheita em morangos com os fungicidas captana e tiram, com ou sem aplicações de iprodiona. Para avaliações pós-colheita, a fruta foi selecionada e armazenada a 4°C, onde a incidência de podridão da fruta por *Botrytis cinerea* foi registrada ao 14º dia de armazenamento. Os tratamentos com fungicidas reduziram a incidência de podridão pré-colheita por *Botrytis cinerea* e aumentaram os rendimentos de comercialização. Os autores concluíram que os tratamentos com fungicidas em morangos são necessários para o controle da podridão e para favorecer o longo período de armazenamento até a chegada aos consumidores mais distantes.

O uso de fungicida é vital para um efetivo controle de doenças em plantas que causam reduções no rendimento das colheitas em quase 20%, em todo mundo (GULLINO; LEROUX; SMITH, 2000). As frutas e vegetais sofrem diversos tratamentos com substâncias químicas durante seu crescimento, porém com aplicações corretas, dentro dos limites legais, não devem produzir índices residuais elevados. Os resíduos encontrados nas colheitas são consequência do uso incorreto e demasiado de produtos fitossanitários.

Stensvand e Christiansen (2000) estudaram os níveis de resíduos de oito diferentes fungicidas nas doses recomendadas e metade dessas doses em morangos nos períodos de 4, 7 e 14 dias após a aplicação (DAA). Entre os produtos estudados encontram-se o iprodiona e vinclozolina. O iprodiona no tratamento com dose recomendada mostrou resíduos na ordem de 3,7 a 6,9 mg.kg⁻¹ no período de 4 a 14 DAA, respectivamente, e para o tratamento com metade da dose recomendada apresentou valores entre 2,7 a 3,4 mg.kg⁻¹, no mesmo período. O vinclozolina teve valores entre 2,2 a 7,5 para o primeiro tratamento e 2,4 a 4,1 para o segundo tratamento, no período de 4 a 14 DAA, respectivamente.

Ahmed e Ismail (1995) estudaram a taxa de degradação de metomil em morangos, tomates e pepinos, onde os resíduos alcançaram níveis de 0,2, 0,55 e 0,6 mg.kg⁻¹, respectivamente, aos 7 DAA do metomil. Os resultados mostraram que a lavagem com água corrente reduziu quantidade considerável de metomil. Em amostras coletadas em supermercados foram encontrados resíduos acima de 0,2 mg.kg⁻¹ em 12,5% das amostras de tomate e em 25% das amostras de morango.

Em 1996, Ahmed e Ismail estudaram os resíduos de dicofol e pirimifós-metílico onde aplicaram diferentes doses em cultura de morango e feijão. Os morangos foram colhidos para análises a 1, 2 e 3 semanas após a aplicação dos produtos. A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE foi aplicada para a detecção de ambos os resíduos e a confirmação foi feita por cromatografia gasosa com espectrômetro de massa – CG/MS. Todos os níveis de resíduos ficaram abaixo dos LMR estabelecidos. Os resíduos de dicofol na cultura de morango foram de 0,105 e 0,230 mg.kg⁻¹, na primeira e segunda semanas, respectivamente, após a aplicação da alta dose e o pirimifós-metílico produziu resíduos de 0,399 mg.kg⁻¹, uma semana após a aplicação.

2.6 Resíduos de pesticidas em produtos de morango

Looser et al. (2006) avaliaram os níveis de resíduos de pesticidas em 593 amostras de morango originárias da Alemanha, Espanha, Itália e Marrocos, entre 2002 e 2005. Os resíduos de pesticidas foram encontrados em 98% das amostras, sendo que 9% excediam o LMR estabelecido pela legislação europeia. A média de concentração dos pesticidas foi de 0,41 mg.kg⁻¹. Os pesticidas mais freqüentemente detectados foram ciprodinil, fludioxonil, fenhexamida, tolifluanida e azoxistrobina.

Nos estudos de Will e Krüger (1999), três fungicidas diclofluanida, procimidona e iprodiona aplicados em morango em condições de campo foram estudados durante o processamento de suco, vinho e geléia. O tratamento controle sem aplicação (A) foi comparado com os tratamentos com fungicidas de acordo com as doses recomendadas (B) e 6 vezes as doses recomendadas (C). A determinação foi feita por

CG/MS. As recuperações médias foram 87 e 110%. Os valores mais elevados de resíduos foram encontrados no bagaço, após prensagem do morango, 0,08 a 1,88 mg.kg⁻¹. Os resíduos nos produtos finais do suco e vinho foram muito baixos, com 0,02 mg.kg⁻¹ para iprodiona e 0,05 mg.kg⁻¹ para procimidona. Isso se deve ao processo de clareamento e pasteurização na obtenção de suco e a fermentação na obtenção do vinho. Na amostra tratada com padrão procimidona foi encontrado 0,08 mg.kg⁻¹; esses valores foram considerados altos em relação aos demais processos. Geralmente, etapas de processamento, tais como clareamento e fermentação, reduzem resíduos de fungicida de 50 a 100%. E se a fruta sofrer apenas cozimento, como na geléia, os níveis dos resíduos esperados são mais elevados. Os valores de nenhum dos processos excederam os LMR estabelecidos legalmente na Alemanha.

Schattenberg et al. (1996) realizaram análise de resíduos em amostras de morango obtidas em supermercado e após processamentos secundários. Constataram redução nos níveis de captana em morangos e uvas submetidos a lavagem com detergente neutro. Os autores sugerem que os resíduos decrescem com o tratamento.

Krol et al. (2000) estudaram o efeito da lavagem com água corrente na redução de 20 pesticidas em produtos como morango, alface, espinafre, pêra, framboesa, beterraba, tomate, pêssego, ervilha, cenoura, pepino, maçã, aspargo e nectarina. As amostras foram obtidas em supermercados e em experimento no campo. As amostras foram tratadas, colhidas e divididas em sub-amostras iguais. Uma das sub-amostras foi processada sem lavagem, enquanto que outra foi lavada com água corrente. O método de análise de multirresíduos foi utilizado para determinação dos pesticidas, entre eles quatro fungicidas: captana, clorotalonil, iprodiona e vinclozolina. A lavagem não removeu somente os resíduos de vinclozolina, bifentrina e clorpirifós. Este estudo confirma que a solubilidade em água dos pesticidas não tem papel significativo na diminuição observada. Somente os resíduos dos pesticidas na superfície do produto foram removidos pelo enxágüe.

Os estudos de Lentza-Rizos et al. (2000), pelo método de análise de multirresíduos com determinação por cromatografia gasosa de captura de elétrons – CG/ECD, demonstrou que a lavagem remove uma quantidade substancial (até 80%) de

clozolate em uvas. Assim, conclui-se que o clozolate tem uma capacidade limitada de penetração nos tecidos dos frutos. Porém, Lentza-Rizos cita o estudo de Santi et al. (1981), no qual em estudo similar mostra que morangos tratados com clozolate apresentaram resultados contraditórios, com baixa redução, sugerindo que ocorreu uma penetração rápida das moléculas de pesticidas pela superfície permeável do morango.

Christensen et al. (2003) estudaram a influência das etapas de processamento, como lavagem e cozimento, em resíduos de três fungicidas (tolifluanida, fenhexamida e pirimetanil) aplicados em morangos, em condição de campo. A lavagem reduziu, em média, 37% de tolifluanida, 34% de fenhexamida e 19% de pirimetanil. Para tolifluanida e fenhexamida, a alta concentração inicial afetou significativamente essa redução. Na produção de geléia houve redução significativa de tolifluanida, em média 91%. Para o fenhexamida e pirimetanil, foram observadas reduções de 25% e 33%, respectivamente.

Angioni et al. (2004) estudaram os efeitos da lavagem doméstica de morangos com água corrente e com detergentes comerciais para vegetais, nos níveis de resíduos de azoxistrobina, fenhexamida e pirimetanil. Após o tratamento, resíduos de azoxistrobina e pirimetanil apresentaram em média 0,55 a 2,98 mg.kg⁻¹, respectivamente, valores abaixo do LMR permitido pela legislação européia. Entretanto, foram encontrados resíduos de fenhexamida de 2,99 mg.kg⁻¹, que está muito próximo do LMR de 3,0 mg.kg⁻¹. Os resíduos dos três fungicidas diminuíram no decorrer do tempo, apresentando uma meia-vida de 8 dias para azoxistrobina e fenhexamida e 4,8 dias para pirimetanil. A lavagem das frutas com água de torneira reduziu os resíduos de azoxistrobina e fenhexamida, mas não afetou os de pirimetanil. Finalmente, quando os frutos foram lavados com detergente comercial, maior quantidade de resíduos foram removidos, 45% de azoxistrobina e pirimetanil e 60% de fenhexamida.

2.7 Produtos processados de morango

Segundo Cantwell (1995), o termo minimamente processado pode ser definido como produtos "frescos", que são comercializados limpos e higienizados. Esta é uma atividade que está em expansão, devido à necessidade que os consumidores têm de adquirir produtos com qualidade e praticidade. O processamento mínimo inclui operações de seleção, lavagem, corte, sanitização, centrifugação e embalagem, de modo a obter um produto comestível fresco e saudável que não necessite de preparo subsequente (MORETTI, 1999).

Os produtos minimamente processados de frutas e hortaliças facilitam a manipulação pelo consumidor, diminuindo desperdícios, pois as partes não utilizadas são deixadas na planta de processamento e reaproveitadas como rações e adubos. Além de reduzir as perdas pós-colheita, onde os produtos que possuem qualidade nutricional e sanitária e não são adequados para venda "in natura" podem ser processados, contribuindo para a expansão da agroindústria no país.

A Resolução Alimentar Brasileira nº 12, de 1978, estabelece como geléia, "um produto obtido pela cocção da fruta, inteira ou em pedaços, polpa ou suco de frutas, com açúcar e concentrado até a consistência gelatinosa". Para se fazer geléia do tipo extra, a legislação estabelece que tenha 50% de morango, 50% de açúcar e teor de sólidos solúveis de no mínimo 65% p/p. A geléia comum deve ter 40% de morango, 60% de açúcar e teor de sólidos solúveis de no mínimo 65% p/p. Devendo estar isenta de pedúnculos e cascas, mas pode conter fragmentos da fruta, e é tolerada a adição de pectina de no máximo 2% p/p e acidulante, para compensar qualquer deficiência no conteúdo natural de pectina ou de acidez da fruta (BRASIL, 1978a).

A mesma resolução define que: "polpa de fruta é o produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por processos tecnológicos adequados, podendo ser adicionada sacarose" sem adição de ingredientes que descaracterize o produto (BRASIL, 1978b).

Cabe indicar que a Resolução nº 12, de 1978, foi revogada pela resolução nº 272, de 22 de setembro de 2005, que estabelece o “Regulamento Técnico para Produtos Vegetais, Produtos de Frutas e Cogumelos Comestíveis”, definindo de forma geral que “produtos de frutas são produtos elaborados a partir de frutas inteiras ou em partes ou sementes, obtidos pelos métodos de secagem ou desidratação, laminação, cocção, fermentação, concentração, congelamento ou processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos. Podem ser apresentados com ou sem líquido de cobertura e adicionados de açúcar, sal, temperos, especiarias ou outros ingredientes, desde que não descaracterize o produto” (BRASIL, 2005).

A grande vantagem da polpa de morango congelada consiste na flexibilidade para a comercialização. Desta forma o processador pode suprir os tipos, tamanhos e graus de qualidade que atendam as especificações de fabricantes de iogurtes, sorvetes, geléias, recheios e coberturas para a indústria de panificação, além dos fabricantes de sucos e néctares. É vastamente utilizado em lanchonetes e restaurantes para se fazer suco natural da fruta. Como desvantagem tem o custo do congelamento, estocagem e transporte congelado (Vendruscolo, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de realização dos processamentos e análises

As etapas de preparo dos produtos de morango, minimamente processado, geléia e polpa foram realizadas na Planta Piloto do Departamento de Agroindústria Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, no período de 24/setembro/2006 a 10/outubro/2006. A validação do método analítico para análise de resíduos de procimidona nas amostras de campo e dos produtos de morango, bem como todas as determinações dos resíduos em todas as amostras analíticas foram realizadas no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas e Análises Cromatográficas (LARP) do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, no período de novembro/2006 a novembro/2007, também da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba.

3.2 Caracterização e condução do experimento no campo

O experimento de campo foi instalado na região produtora de morango do município de Piedade (coordenadas geográficas: latitude 23° 42' 43" S, longitude 47° 25' 40" W), Estado de São Paulo, na data de 08 de abril de 2006, na propriedade do Senhor Juvenil Soares da Silva. Foi utilizada a cultivar comercial Oso Grande, em bom estado de desenvolvimento vegetativo. Os tratos culturais seguiram normalmente utilizados pelo produtor e a irrigação foi realizada via aspersão.

Os dados climáticos do período foram obtidos do Sítio Marum - Piedade / SP. As temperaturas variaram de 14,9 a 26,4°C, entre a mínima e a máxima, durante a condução do experimento. A precipitação durante o período (setembro e outubro) foi de 10,0 mm (INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS, 2006).

O experimento teve delineamento estatístico em blocos ao acaso com 3 tratamentos e 3 repetições. Cada parcela constou de 6 linhas de 15 m de comprimento

x 3 m de largura cada uma, totalizando 45 m², separadas entre si por linha dupla. A linha central da parcela foi útil para efeito das amostragens. O experimento foi alocado de forma que as parcelas com tratamento se situaram uma ao lado da outra, no sentido da declividade do terreno.

O produto aplicado foi o Sumilex 500 WP que contém 500 g de i.a. procimidona por quilo de produto comercial.

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

A – testemunha (sem aplicação).

B – 1 (uma) única aplicação na dosagem de 300 g p.c. 100 L⁻¹ água (150 g i.a. 100 L⁻¹ água).

C – 3 (três) aplicações na dosagem de 300 g p.c. 100 L⁻¹ água (150 g i.a. 100 L⁻¹ água), com intervalos de 7 dias entre elas.

As aplicações foram realizadas por meio de um pulverizador costal pressurizado com CO₂, dotado com bico hidráulico de jato duplo, modelo XR Teejet 110.04, fabricante Spraying Systems, em condições de trabalho de pressão de 2 bar e altura de 50 cm. O volume de calda foi de 1000 L.ha⁻¹ da mistura, como recomendado.

A primeira aplicação do tratamento C ocorreu no período de frutificação e estágio inicial de maturação das frutas, em 04/setembro/2006 e as demais em intervalos subsequentes de 7 dias, sendo a última pulverização do tratamento C em 18/setembro/2006. Nesta mesma data foi, também, realizada a aplicação única do tratamento B.

3.3 Amostragens

As amostras de morango foram colhidas ao acaso em ambos os lados da linha útil da parcela, sendo sua retirada da planta realizada através do pedúnculo, para evitar contato com as mãos, constando de 100 unidades cada uma (aproximadamente 2 kg), buscando-se respeitar sua distribuição espacial nas plantas, de modo a tornar a amostragem mais representativa possível. As frutas foram coletadas, acondicionadas em sacos de polietileno e colocadas em isopor com gelo para o transporte ao LARP e a Planta Piloto.

A primeira época de amostragem foi no dia anterior à única aplicação do tratamento B (-1 dia). Na primeira amostragem, foram coletadas apenas amostras para análise do produto “in natura”, que teve por objetivo verificar a ocorrência de resíduos nas frutas e, em especial, na parcela do tratamento C que até a data recebera duas aplicações, bem como eventuais contaminações nas parcelas do tratamento A e B, até aquele momento sem nenhuma aplicação. Assim, foram coletadas e analisadas 9 amostras, a saber: 3 tratamentos x 3 repetições x 1 época de colheita x 1 substrato.

As demais épocas de amostragens foram realizadas aos zero (mesmo dia da última aplicação), 1, 3, 5, 10 e 15 DAA (dias após a aplicação) e divididas em quatro grupos de produtos: “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia. Uma parte das amostras de morango “in natura” seguiu diretamente para a sala de preparação de amostras para análise no LARP, e a outra parte das amostras para a Planta Piloto para os devidos processamentos. Posteriormente, encaminhadas ao LARP para as análises de resíduos. Assim, foram coletadas e analisadas 216 amostras, a saber: 3 tratamentos x 3 repetições x 6 épocas de colheita x 4 substratos. Somando-se as 9 amostras referentes ao tratamento -1 dia, tem-se um total de 225 determinações.

As amostras do grupo “in natura” levadas diretamente ao LARP foram trituradas e homogeneizadas com gelo seco, em multi-processador industrial de alimentos Sire Cutter, retirada uma sub-amostra de aproximadamente 100 g, que foi acondicionada em pote plástico e guardada em câmara fria a aproximadamente -20°C até o momento da análise.

Das amostras destinadas ao processamento, foram tomadas sub-amostras de aproximadamente 100 g, acondicionadas em potes plásticos e mantidas em câmara fria a aproximadamente -20°C até o momento das análises. No caso do morango minimamente processado, a retirada de sub-amostras foi realizada após trituração e homogeneização com gelo seco, em multi-processador industrial de alimentos Sire Cutter.

3.4 Obtenção de morango minimamente processado

Para o processamento do morango minimamente processado, as frutas foram, inicialmente, colocadas em peneiras e lavadas com água corrente, seguiram para a retirada manual dos pedicelos e sépalas com auxílio de faca, sendo posteriormente realizada a sanificação, que consistiu em submersão dos morangos em solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm por 10 minutos à temperatura ambiente. Fez-se a drenagem em escurredores de inox para retirada do excesso de água. Os morangos foram acondicionados em potes plásticos e acondicionados em freezer, até serem encaminhados ao LARP.

3.5 Obtenção de geléia de morango

O processamento da geléia de morango foi baseado na metodologia de Vendruscolo e Vendruscolo (2001). Assim, foi produzida geléia do tipo comum, utilizando-se aproximadamente 200 g de morango e 300 g de sacarose. Iniciou-se o processamento com a lavagem das frutas em água corrente e a retirada manual do pedicelo e sépalas com faca e seleção das mesmas, retirando-se as deterioradas e verdes. Os morangos foram cortados e colocados em tacho aberto, onde começou o cozimento com a adição do açúcar. Quando o produto atingiu o teor de sólidos solúveis de 65° Brix, o fogo foi desligado. A geléia foi acondicionada em potes plásticos e colocada em freezer, até o momento de seguirem para o LARP.

3.6 Obtenção de polpa de morango

O processamento da polpa de morango foi baseada, também, na metodologia descrita por Vendruscolo e Vendruscolo (2001). Foi feita a lavagem dos morangos em água corrente e retirada dos pedicelos e sépalas manualmente com faca, sendo realizada a seleção das frutas em bom estado, retirando-se as deterioradas. Os morangos selecionados foram triturados/homogeneizados, em multi-processador próprio para alimentos, até formação de uma massa homogênea, sendo, posteriormente, acondicionados em potes plásticos e colocados em freezer, aguardando serem levados ao LARP.

3.7 Descrição do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.

A determinação da porcentagem de recuperação de procimidona foi realizada em amostras de morango “in natura”, com resultados equivalentes para o minimante processado e a polpa, e em amostras de geléia de morango, pois este processamento modificou as características fisiológicas da fruta “in natura”. As amostras foram fortificadas com o padrão do fungicida procimidona, nos níveis de 0,01; 0,05; 0,5 e 5,0 mg.kg⁻¹. As fortificações foram feitas em quintuplicata, totalizando 40 determinações, sendo: 4 níveis de fortificação x 2 substratos x 5 repetições.

O método de análise foi adaptado ao desenvolvido por Andersson e Palsheden (1998), que consiste na extração dos resíduos de procimidona com acetato de etila em presença de sulfato de sódio (Na₂SO₄). Uma alíquota do extrato é concentrada por evaporação total do solvente e os resíduos ressuspensos em uma mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1). A limpeza do extrato (*clean up*) é feita por cromatografia de exclusão por tamanho molecular de alta eficiência (gel permeation chromatography – GPC), sendo a eluição procedida com a mesma mistura de ciclohexano e acetato de etila. A determinação quantitativa foi feita por técnica de cromatografia em fase gasosa, usando cromatógrafo equipado com detector de captura

de elétrons (CG/ECD, Ni^{63}) que apresenta a vantagem de ser bastante sensível a compostos que contenham halogênio na molécula, como é o caso do procimidona.

3.7.1 Solventes / Reagentes

Os solventes e reagentes utilizados no processo de extração foram: acetato de etila, Synth, destilado em destilador de vidro; ciclohexano, Synth, destilado em destilador de vidro; acetona, PA-ACS, destilado em destilador de vidro; Na_2SO_4 , anidro granulado, QM; dodecano, PA-Acros; padrão analítico de procimidona; água Milli-q.

3.7.2 Aparelhos / Equipamentos

Os cromatógrafos utilizados durante a análise das amostras foram:

- cromatógrafo gasoso, ThermoQuest, modelo Trace GC, equipado com detector de captura de elétrons ($\mu\text{-ECD-Ni}^{63}$), injetor AS2000 – GC; software ChromQuest, versão 4.1, ThermoQuest; coluna cromatográfica capilar OV-17, 30 m comprimento, diâmetro 0,25 mm e 0,25 μm de espessura do filme.
- cromatógrafo HP (Hewlett Packard), série 6890 - GC System Plus, equipado com detector HP 5973 - Mass Selective Detector, injetor HP 7683 Series Injector; software HP ChemStation B.02.05 - 1997 Hewlett Packard Co.
- cromatógrafo líquido Gilson, modelo 231XL, acoplado a injetor/coletor de frações e conectado a três colunas para cromatografia de permeação em gel de alta eficiência ligadas em série, no arranjo, coluna de 100 Å seguida de duas de 50 Å, 300 x 7,5 mm de diâmetro; bomba binária, Gilson, modelo 321; injetor/coletor de frações Gilson, modelo 206 para GPC;

Também foram utilizados: triturador/homogeneizador Sire Cutter; triturador Ultraturrax, Heidolph, modelo DIA.900; mesa agitadora, Marconi; centrífuga, Revan, modelo Ciclo C-I; evaporador TurboVap LV, Zymark, modelo LV; agitador/homogeneizador

Vortex, modelo MS1; ultra-som, Mini-som; balança analítica, Mettler, modelo H10; balança analítica, Sartorius, modelo Basic.

3.7.3 Marcha analítica

3.7.3.1 Preparação das soluções padrão

Inicialmente foram preparadas soluções estoque de padrão procimidona em acetona. O padrão analítico foi pesado em balança analítica de precisão e o material solubilizado no citado solvente, de modo a fornecer concentração exata de 1 mg.mL^{-1} (solução estoque). As soluções padrão, para estudos de fortificações e injeções no sistema cromatográfico CG/ECD, foram preparadas a partir da solução estoque com as diluições feitas, igualmente, em mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1).

3.7.3.2 Fortificações

Para os estudos de fortificação/recuperação foram preparadas inicialmente soluções padrão de procimidona, nas concentrações de 0,1; 0,5; 5,0; e 50,0 mg.kg^{-1} , obtidas a partir da solução estoque, descrita anteriormente, com diluições feitas na mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1). Na pesagem inicial das amostras para extração foi adicionado 1 mL da solução padrão em 10 g de amostras de morango “in natura” e geléia não contaminada anteriormente (testemunha), de acordo com as concentrações desejadas. Desta maneira, foram obtidos os níveis de fortificação de 0,01; 0,05; 0,5 e 5,0 mg.kg^{-1} , respectivamente.

3.7.3.3 Extração

Na extração dos resíduos de procimidona, nos diversos substratos, exceto na geléia, 10 g das amostras homogeneizadas foram pesadas em tubo Duran-Schott e

receberam a adição de 50 mL de acetato de etila e 10 g de Na_2SO_4 . Posteriormente, o material triturado em aparelho Ultra-turrax, durante 2 minutos a 26.000 rpm.

No substrato geléia, a extração de procimidona deu-se pela adição ao tubo Duran-Schott de 10 g de amostras homogeneizadas e 5 mL de água Milli-q. O tubo permaneceu sob agitação, em mesa agitadora, por 1 hora a 300 ciclos/minuto, visando à melhor homogeneização da amostra e evitando perdas do analito na extração. Em seguida, adicionaram-se, como anteriormente, 50 mL de acetato de etila, 20 g de Na_2SO_4 , sendo o conjunto triturado no aparelho Ultra-turrax, durante 2 minutos a 26.000 rpm.

Após a etapa de homogeneização, os extratos, tanto de morango como de geléia, foram centrifugados a 70 gravidade, por 5 minutos, para melhor separação da fase líquida do material em suspensão. Alíquotas de 10 mL do sobrenadante (equivalente a 2 g das amostras originais) foram transferidas para tubo de ensaio de 12 mL. Foram adicionados 50 μL de dodecano, para evitar perda do analito por evaporação. Os tubos de ensaio foram levados ao evaporador TurboVap, em banho-maria, a 34°C com auxílio de corrente de ar para evaporação/concentração dos extratos.

A limpeza dos extratos foi procedida pela ressuspensão dos resíduos em 5 mL de uma mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1), lavando a parede interna dos tubos de ensaio de 12 mL; seguida de agitação em Vórtex por cerca de 15 segundos e em ultra-som por cerca de 1 minuto. Os extratos foram filtrados em membrana de PVDF estéril e descartável de poro de 0,20 μm com auxílio de uma seringa hipodérmica de 5 mL, sendo, em seguida, transferidos para vials próprios de uso no injetor/coletor de frações automático Gilson, ajustado para injeção de exatos 500 μL do extrato (equivalente a 200 mg da amostra). Os extratos foram injetados em aparelho GPC, que operou com fase móvel da mesma mistura de ciclohexano e acetato de etila, com fluxo de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Foram descartados os eluatos dos primeiros 25 minutos e coletadas as frações em eluição nos 4 minutos subseqüentes, em tubos de ensaio de 12 mL.

Para a determinação quantitativa dos extratos contidos nos tubos de ensaio foram adicionados de 50 µL de dodecano e evaporados em TurboVap sob corrente de ar e banho-maria a 34°C, até evaporação total do solvente. Os resíduos foram ressuspensos com volume exato de 450 µL de mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1), agitados em Vórtex por cerca de 15 segundos e em ultra-som por aproximadamente 1 minuto. As alíquotas colocadas em vials próprios foram injetadas em cromatógrafo gasoso, equipado com detector ECD-Ni⁶³, ajustado para injeção de exatos 2 µL dos extratos (equivalente a 0,8 mg da amostra), no modo “splitless”. As condições de operação do cromatógrafo foram: temperaturas do injetor, 230°C; temperatura da coluna, 100°C (partida); em seguida 300°C (rampa de 25°C.min⁻¹), onde permaneceu por 4 minutos; temperatura do detector, 320°C; fluxo de gases: hidrogênio (arraste), 1,5 mL.min⁻¹; nitrogênio (make up), 15 mL.min⁻¹. Nessas condições o tempo de retenção foi de 7 minutos e 45 segundos, aproximadamente.

3.8 Exatidão do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.

Os resíduos foram calculados pela relação das massas de cada analito, em nanograma (ng), obtidos da relação curva de calibração e altura dos picos cromatográficos das amostras, com as massas injetadas em miligramas (mg). Assim, para o cálculo de resíduo, segundo a fórmula:

$$\text{mg.kg}^{-1}(\text{ppm}) = \frac{\text{ng}}{\text{mg}} = \frac{\text{ma}}{\text{Ma}}$$

Onde,

ma = massa do analito na amostra, em ng, obtida diretamente da curva de calibração por processamento do Workstation;

Ma = massa injetada da amostra, em mg.

As porcentagens de recuperação foram calculadas pela relação das massas de cada analito, em ng, obtidas da relação curva de calibração e altura dos picos cromatográficos das fortificações com a massa teórica injetada do analito, em ng. A faixa de aceitabilidade dos valores individuais de recuperações foi considerada entre 70-120%. As amostras da testemunha não apresentaram interferentes nas regiões cromatográficas superiores ao equivalente a 30% do LMR estabelecido (0,01 mg.kg⁻¹). Assim, para o cálculo da porcentagem de recuperação, tem-se:

$$\% \text{recuperação} = \frac{m_a}{m_{ta}} \times 100$$

Onde,

m_a = massa do analito na amostra, em ng, obtida diretamente da curva de calibração por processamento do Workstation;

m_{ta} = massa teórica injetada do analito, em ng.

3.9 Curva de calibração, limites de quantificação e de detecção do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia.

A curva de calibração (modelo matemático) foi obtida e avaliada com 5 níveis de concentrações de padrões, nos valores de 4; 10; 20; 40 e 100 pg, com 3 repetições de cada concentração. As soluções padrão para injeções no sistema cromatográfico GC/ECD foram preparadas a partir da solução estoque, descrita no item 3.7.3.1., com diluições feitas em mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1). O coeficiente de correlação (R^2) aceitável foi $\geq 0,99$.

O efeito matriz ocorre quando os componentes presentes no extrato de uma matriz, no caso o morango, causam uma alteração significativa no sinal do analito, em comparação aos resultados obtidos com os padrões em solvente. Assim, a curva de calibração, utilizando a matriz morango, foi feita com adição dos padrões

correspondentes aos cinco níveis de concentração de padrões da curva de calibração, nos valores de 4; 10; 20; 40 e 100, expressos em pg, com três repetições de cada uma. Assim, foram extraídas cinco amostras não contaminada com padrão de procimidona (testemunha), segundo o método analítico. Depois de coletados os eluatos no GPC, os resíduos foram ressuspensos com as respectivas soluções padrão, preparadas a partir da solução estoque com a mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1) no volume de 950 µL, nas concentrações estabelecidas.

O cálculo do limite de quantificação (LQ) foi feito pela repetição de três injeções do padrão de menor concentração, 4 pg, da curva de calibração feita a partir da matriz morango, obtido pela fórmula, em µg.L⁻¹:

$$LQ = \frac{dp_{resp} \times 10}{fator_de_resposta \times concentração}$$

Onde:

dp - desvio padrão das 3 injeções do menor padrão, 4 pg

fator de resposta – valor *a* da curva de calibração

concentração – concentração nominal do menor padrão, 4 pg

O critério de conformidade é o $LQ \leq LMR$, e o LMR estabelecido para o presente estudo foi de 0,01 mg.kg⁻¹.

O cálculo do limite de detecção (LD) foi feito pela injeção do padrão de menor concentração (4 pg) da curva de calibração feita a partir da matriz morango, obtido pela fórmula, em µg.L⁻¹:

$$LD = \frac{dp_{resp} \times 3}{fator_de_resposta \times concentração}$$

Onde:

dp - desvio padrão das 3 injeções do menor padrão, 4 pg

fator de resposta – valor *a* da curva de calibração

concentração – concentração nominal do menor padrão, 4 pg

O critério de conformidade é o $LD \leq LMR$, e o LMR estabelecido para o presente estudo foi de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$.

3.10 Repetibilidade, reprodutibilidade e robustez do método de análise de resíduos de procimidona em amostras de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia de morango.

A **repetibilidade** do método foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), calculado a partir das determinações de amostras fortificadas em 4 diferentes níveis de fortificação (0,01; 0,05; 0,5 e $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$), com cinco repetições em cada nível. A quantificação foi calculada pela curva de calibração.

A porcentagem de desvio padrão das recuperações em relação à média dessas recuperações determina o DPR das fortificações, que apresenta como critério de conformidade $DPR \leq 20\%$. Assim, tem-se:

$$DPR = \frac{dp}{x} \leq 20\%$$

Para o estudo de **reprodutibilidade** a extração foi feita conforme método analítico apresentado no item 3.7.3.3 em amostras de morango “in natura”, com alterações do analista que executou a extração e do equipamento, de determinação quantitativa. As alíquotas foram injetadas em CG/MS, nas seguintes condições de operação: injetor modo split; temperaturas do injetor, 250°C ; a pressão de 10,52 psi; temperatura da coluna, 100°C (partida); fluxo de 1 mL.min^{-1} ; em seguida, 280°C (rampa de $25^{\circ}\text{C. min}^{-1}$), onde permaneceu por 1 minuto; temperatura do detector, 320°C . O

fragmento massa/carga monitorado foi 284 m/z. Nessas condições, o tempo de retenção foi de 9 minutos e 20 segundos, aproximadamente.

A **robustez** é medida quando à condição analítica é susceptível as variações do sistema analítico. Observa-se o comportamento do método frente a modificações induzidas nas variáveis do processo e se as porcentagens de recuperação mantiveram-se aceitáveis na faixa de 70-120%.

Neste estudo foram avaliadas 7 variações, combinadas em 10 determinações, sendo 5 repetições efetuadas com fortificação de 0,05 mg.kg⁻¹ e 5 repetições efetuadas com fortificação de 0,5 mg.kg⁻¹ de procimidona em morango “in natura”. O método de extração foi realizado conforme o descrito no item 3.7.3.3, com as variações efetuadas descritas em destaque: adicionou-se **48** mL de acetato de etila e o conjunto triturado no Ultra-turrax durante **3** minutos. A centrifugação dos extratos foi feita por **10** minutos. Na limpeza dos extratos, o GPC foi programado para coletar as frações por **4,5** minutos. Para a determinação quantitativa, o cromatógrafo gasoso operou com temperatura do injetor de **225°C**, temperatura de coluna na rampa até **305°C** e temperatura do detector para **325°C**.

3.11 Análise dos dados

Os dados obtidos do estudo de resíduos no morango e seus produtos processados foram analisados mediante a obtenção de parâmetros estatísticos, tais como: média, desvio padrão e variância, que forneceram subsídios para a elaboração das curvas de degradação e de persistência dos resíduos, o uso de regressão linear para cada substrato, seguindo o modelo:

$$y = \alpha + \beta x + e$$

Nesse modelo “y” é o valor observado do resíduo do fungicida transformado em logaritmo natural, “α” o logaritmo do valor inicial do fungicida, “β” a constante de degradação, “x” o tempo após a aplicação do fungicida e “e” o erro aleatório, suposto independente e identicamente distribuído.

Em consequência desse modelo, a meia vida do fungicida no morango “in natura” foi estimada pela fórmula:

$$\text{meia - vida} = -\frac{\text{Ln}(2)}{\hat{\beta}} = -\frac{0,693147}{\hat{\beta}}$$

A Análise de regressão linear foi realizada através do procedimento GLM do SAS INSTITUTE (1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Curva de calibração, limite de quantificação e limite de detecção do método analítico

A Figura 3 mostra uma das curvas de calibração utilizada para os cálculos de resíduos. Os cinco pontos da curva de calibração correspondem aos valores de 4; 10; 20; 40 e 100, expressos em pg, com médias de quatro repetições.

Figura 3 - Curva de calibração do padrão de procimidona

As curvas de calibração padrão foram construídas, tomando-se as médias das massas injetadas em relação à altura dos picos cromatográficos. A linearidade conseguida foi ótima, no intervalo citado, obtendo coeficientes de correlação (R^2) de 0,998.

A Figura 4 mostra uma curva de calibração “com efeito matriz”, onde os padrões correspondentes aos cinco pontos da curva de calibração padrão são adicionados às amostras de morango, nos valores de 4; 10; 20; 40 e 100, expressos em pg, com três repetições cada um.

Figura 4 - Curva de calibração do padrão procimidona “com efeito matriz”

Esta curva também foi construída, tomando-se as concentrações médias das massas injetadas em relação à altura dos picos cromatográficos. A linearidade conseguida foi ótima, no citado intervalo, obtendo R^2 de 0,999.

Pode-se observar na curva de calibração “com efeito matriz” da Figura 4 que o valor de a da equação ($y = ax + b$) é menor que o valor de a da equação da Figura 3, o que deixa a reta do gráfico mais na horizontal, isso significa maior sensibilidade dessa curva (Figura 4). Porém, esta diferença é pequena, demonstrando que a matriz morango não influencia na determinação do analito procimidona. Assim, serão utilizadas para o cálculo de determinação de resíduos de procimidona as curvas construídas a partir da injeção de padrões em solvente, curva de calibração padrão, semelhante ao gráfico da Figura 3.

Na Tabela 3, os limites de quantificação e detecção do método analítico foram determinados utilizando a menor concentração da curva de calibração padrão de procimidona, ou seja, o padrão de 4 pg.

Tabela 3 – Determinação do LQ e LD do método analítico

Resposta das repetições do padrão de 4pg (*)	Média (*)	dp (*)	LQ (mg.kg ⁻¹)	LD (mg.kg ⁻¹)
35529				
37305				
35143	36402	1248	0,00076	0,00023
37631				

dp - desvio padrão
(*) unidade do software

4.2 Eficiência do método analítico

Na Tabela 4 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de fortificação de procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia.

Tabela 4 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia de morango

	Níveis de fortificação (mg.kg ⁻¹)	% de recuperação					Média ± dp (%)
		I	II	III	IV	V	
“in natura”	5,0	76	73	75	75	76	75 ± 1
	0,5	71	79	87	78	78	78 ± 6
	0,05	91	99	93	88	93	93 ± 4
	0,01	117	100	91	92	85	97 ± 13
geléia	5,0	89	89	83	81	89	82 ± 7
	0,5	76	72	93	83	86	91 ± 8
	0,05	91	102	92	86	81	82 ± 8
	0,01	79	85	93	78	77	86 ± 4

dp - desvio padrão

Nas testemunhas não foram recuperadas porcentagens significativas de procimidona, indicando que os substratos estavam livres de contaminação por este fungicida, podendo assim, estas serem utilizadas na determinação das recuperações.

Verificou-se que as médias das porcentagens de recuperação para o morango “in natura” variaram de 75 a 97%, no intervalo de 0,01 a 0,5 mg.kg⁻¹. Estes valores foram aceitáveis (70-120%) para a determinação dos resíduos do procimidona na cultura de morango “in natura”, segundo o método analítico adaptado de Andersson e Palsheden (1998), bem como se mostra exequível para amostras de morango minimamente processado e polpa.

As médias das porcentagens de recuperação para a geléia variaram de 82 a 91%, no intervalo de 0,01 a 0,5 mg.kg⁻¹. Estes valores foram aceitáveis (70-120%) para a determinação dos resíduos de procimidona na geléia de morango, segundo método analítico adaptado de Andersson e Palsheden (1998), descrito para frutos e verduras, confirmando a validade do método analítico utilizado para geléia de morango.

Resultados similares foram obtidos por Nerín et al. (1998) que determinou resíduos de procimidona em morango com extração a base de acetona, limpeza em GPC e determinação quantitativa por CG/ECD, apresentou 90,9% de recuperação. Rodríguez et al. (2002) determinou resíduos de procimidona em morango por CG/MS e extração com metanol, apresentando recuperação de 75%. Stensvand e Christiansen (2000) determinou resíduos de iprodiona e vinclozolina em morango por CG/ECD. As amostras foram extraídas com mistura de acetona e éter de petróleo e a recuperação do método foi de 95% para iprodiona e 98% para vinclozolina, com desvios padrões de 2,4 e 4,0%, respectivamente. Martel e Porthault (2000) determinaram resíduos de iprodiona e vinclozolina em amora por CG/ECD, extração com acetona, partição líquido-líquido e purificação com sílica gel. As recuperações estiveram sempre acima de 70%. Nos estudos de Will e Krüger (1999), a determinação de resíduos de procimidona em morango e geléia de morango foi feita por extração com diclorometano, limpeza em coluna de vidro e determinação por CG/MS. Os valores de recuperação em média foram de 98 e 87%, respectivamente.

Cromatogramas típicos das amostras de morango “in natura” e geléia, fortificadas ao nível de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ e amostras testemunha de ambos os substratos são apresentados nas figuras 5 a 8.

Figura 5 - Cromatograma da amostra de morango “in natura” fortificada com $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ de procimidona

Figura 6 - Cromatograma da amostra de morango “in natura” testemunha (sem procimidona)

Figura 7 - Cromatograma da amostra de geléia de morango fortificada com $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ de procimidona

Figura 8 - Cromatograma da amostra de geléia de morango testemunha (sem procimidona)

4.3 Repetibilidade e reprodutibilidade do método analítico – Precisão

Na Tabela 5 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de repetibilidade da fortificação de procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia de morango.

Tabela 5 - Média das porcentagens (%) de recuperação e desvio padrão relativo de procimidona em amostras de morango “in natura” e geléia de morango

	Níveis de fortificação (mg.kg ⁻¹)	Média ± dp (%)	DPR (%)
“in natura”	5,0	75 ± 1	1,3
	0,5	78 ± 6	7,7
	0,05	93 ± 4	4,3
	0,01	97 ± 13	13,4
geléia	5,0	82 ± 7	8,5
	0,5	91 ± 8	8,8
	0,05	82 ± 8	9,7
	0,01	86 ± 4	4,6

dp - desvio padrão

DPR – Desvio Padrão Relativo

O desvio padrão relativo da recuperação para morango “in natura” e geléia variaram de 1,3 a 13,4% e 4,6 a 9,7%, respectivamente, no intervalo de 0,01 a 0,5 mg.kg⁻¹. Estes valores foram aceitáveis (DPR ≤ 20%) para a determinação dos resíduos de procimidona, pelo método analítico de Andersson e Palsheden (1998), garantindo a repetibilidade do método analítico.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de fortificação de procimidona em amostras de morango “in natura” com alteração do analista que executou a extração e a determinação quantitativa feita por CG/MS, para verificação da reprodutibilidade do método.

Tabela 6 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura” determinado por CG/MS

	Níveis de fortificação (mg.kg ⁻¹)	% de recuperação					Média ± dp (%)
		I	II	III	IV	V	
“in natura”	5,0	98	82	71	70	99	84 ± 14
	0,5	71	93	98	84	75	84 ± 11
	0,05	114	81	98	64	70	86 ± 21
	0,01	104	86	87	72	96	86 ± 13

dp - desvio padrão

Verificou-se que as médias das porcentagens de recuperação para o morango “in natura”, no mesmo método analítico executado anteriormente variaram de 84 a 86%, no intervalo de 0,01 a 0,5 mg.kg⁻¹. Estes valores foram aceitáveis (70-120%) para a determinação dos resíduos de procimidona, pelo método adotado de Andersson e Palsheden (1998), garantindo a reprodutibilidade do método analítico.

4.4 Robustez do método analítico

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos nos estudos de robustez do método analítico para determinação de procimidona em amostras de morango “in natura”.

Tabela 7 - Porcentagem (%) de recuperação do procimidona em amostras de morango “in natura”

	Níveis de fortificação	% de recuperação					Média ± dp
	(mg.kg ⁻¹)	I	II	III	IV	V	(%)
“in natura”	0,5	84	75	79	84	75	79 ± 4
	0,05	72	72	71	73	71	72 ± 1

dp - desvio padrão

Verificou-se que as médias das porcentagens de recuperação para o morango “in natura” variaram de 72 a 79%, no intervalo de 0,05 a 0,5 mg.kg⁻¹. O método analítico adaptado de Andersson e Palsheden (1998), apresentou-se robusto às variações a que foi submetido.

4.5 Resíduos de procimidona em morango “in natura”

Nas Figuras 9 e 10 estão apresentados os valores observados e as retas ajustadas de cada tratamento realizado no morango “in natura”. Observa-se de forma geral, que os resultados indicam uma dissipação relativamente rápida dos resíduos do fungicida no morango “in natura”. Quando os resultados dos tratamentos foram plotados logaritmicamente, houve uma razoável correlação linear entre o logaritmo da concentração de resíduos e o tempo desde a aplicação, indicando que a decomposição dos resíduos seguiu um modelo de cinética de primeira ordem.

Figura 9 - Valores médios dos resíduos de procimidona na concentração de 150 g i.a. 100 L⁻¹ água (tratamento B – uma única aplicação), após a transformação logarítmica, e reta ajustada em função do tempo, após o tratamento do morango “in natura”

Figura 10 - Valores médios dos resíduos de procimidona na concentração de 150 g i.a. 100 L⁻¹ água (tratamento C – três aplicações sucessivas), após a transformação logarítmica, e reta ajustada em função do tempo, após o tratamento do morango “in natura”

Na Tabela 8 estão apresentados os valores residuais iniciais, a estimativa do parâmetro β , o nível descritivo de probabilidade do teste F da análise de regressão e o tempo estimado da meia vida do fungicida. O valor do resíduo inicial foi calculado como sendo o exponencial de $\hat{\alpha}$. Observa-se que houve efeito significativo ($p < 0,0001$) de regressão linear para ambos os tratamentos (B e C) no morango “in natura”, com coeficientes de determinação razoáveis, sendo que a meia vida do fungicida foi de 8 dias para o tratamento com uma única aplicação (B) e 7 dias para o tratamento com três aplicações sucessivas (C) do fungicida procimidona.

Tabela 8 - Resíduo inicial de procimidona no substrato morango “in natura” para cada tratamento, estimativa do parâmetro β da reta de degradação e meia vida do princípio ativo com base nesses parâmetros

Tratamento	Resíduo inicial (ppm)	$-\hat{\beta} \times 10^3$	Regressão linear (Pr>F)	Meia vida (dias)	Intervalo de confiança (95%) da meia vida
B (uma aplicação)	0,245	85,5	<0,0001	8	6 – 12
C (três aplicações)	0,525	100,0	<0,0001	7	6 – 8

Finalmente, salienta-se que foi realizado teste para detecção de desvio de regressão e não houve efeito significativo ($p > 0,05$) nas duas situações.

Considerando que a meia vida de procimidona em morango “in natura” foi de 8 e 7 dias, respectivamente, para o tratamento B e C, e que as três aplicações sucessivas do tratamento C foram realizadas a cada 7 dias, conforme legislação, pode-se observar uma relação proporcional dos valores residuais iniciais do tratamento B e C.

Os valores de resíduos iniciais apresentaram níveis bem abaixo do LMR ($3,0 \text{ mg.kg}^{-1}$) e período de carência (1 dia) estabelecido pela legislação brasileira, mesmo no tratamento C, de múltiplas aplicações. Assim, pode-se dizer que para morango “in natura”, estes parâmetros estão determinados pela legislação brasileira coerentemente.

No trabalho de Abdel-Megeed et al. (2000) verificaram os valores de meia vida para procimidona em tomate (7,4 dias) e pepino (8,3 dias). Em estudo de fotodegradação, o procimidona exposto à luz do sol em condição de estufa teve valores de meia-vida semelhantes aos encontrados em água destilada, água fluvial e marítima de mar de 10, 1 e 0,6 dias, respectivamente (Sumitomo, 1981). Em estudo de ingredientes ativos similares aplicados em morango o valor de meia vida foi compatível com o presente estudo, como o estudo de Angioni et al. (2004) que verificaram meia-vida de 8 dias nos resíduos de fenhexamida e azoxistrobina em morango.

Os resultados obtidos das análises de resíduos de procimidona em morango “in natura” estão apresentados na Tabela 9. Nas amostras do tratamento A (testemunha) não foram recuperadas porcentagens significativas de procimidona, indicando que todos os substratos estavam livres de contaminação.

Tabela 9 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” em diferentes intervalos, nos tratamentos B e C do fungicida procimidona e a testemunha

Tratamento	DAT	Repetições			Média $\pm$ dp	IDR
		1	2	3		
A (testemunha)	-1	< 0,01	< 0,01	0,02	< 0,01	-
	0	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
	1	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
	3	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
	5	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
	10	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
	15	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	-
B (150 g i.a. 100L ⁻¹ água)	-1	0,02	0,02	0,02	0,02 $\pm$ 0,00	-
	0	0,18	0,21	0,25	0,22 $\pm$ 0,03	1,00
	1	0,22	0,18	0,22	0,20 $\pm$ 0,02	1,07
	3	0,19	0,27	0,15	0,20 $\pm$ 0,06	1,07
	5	0,21	0,23	0,13	0,19 $\pm$ 0,05	1,12
	10	0,18	0,13	0,12	0,15 $\pm$ 0,03	1,49
	15	0,03	0,06	0,07	0,06 $\pm$ 0,02	3,87
C (150 g i.a. 100L ⁻¹ água)	-1	0,27	0,13	0,15	0,18 $\pm$ 0,08	-
	0	0,47	0,69	0,48	0,55 $\pm$ 0,12	1,00
	1	0,52	0,39	0,51	0,48 $\pm$ 0,07	1,15
	3	0,44	0,36	0,37	0,39 $\pm$ 0,05	1,41
	5	0,27	0,35	0,34	0,32 $\pm$ 0,04	1,72
	10	0,22	0,15	0,19	0,19 $\pm$ 0,03	2,94
	15	0,11	0,12	0,12	0,12 $\pm$ 0,01	4,61

dp - desvio padrão

IDR – Índice de Degradação de Resíduos

Após uma única aplicação do fungicida procimidona (tratamento B), os níveis decresceram de 0,22 a 0,06 mg.kg⁻¹, no período de 0 a 15 DAA, respectivamente. A dissipação do fungicida no tratamento B permaneceu praticamente estável, durante os 5 primeiros DAA, e diminuiu notavelmente na amostra aos 15 dias. Estes valores diferem dos apresentados no estudo da FAO (1981), onde os resíduos de procimidona, aplicados em morango na dose de 100 g i.a. 100L⁻¹ água, tiveram valores de 14,3 mg.kg⁻¹ ao 1 DAA, decresceram para 6,5 mg.kg⁻¹ após 6 a 8 dias e foram de aproximadamente 2 mg.kg⁻¹ aos 15 DAA.

Com respeito ao tratamento C (3 aplicações sucessivas), os dados revelam um efeito de sobreposição das aplicações, pois na amostragem de -1 dia apresentava 0,18 mg.kg⁻¹, com acréscimo no zero DAA, como era de se esperar. O tratamento C mostrou níveis de resíduo da ordem de 0,55 a 0,12 mg.kg⁻¹ para as amostras de morango “in natura”, no período de 0 a 15 DAA, respectivamente. A concentração de procimidona reduziu notavelmente em 15 dias. A degradação ocorreu mais rapidamente, quando comparado com o tratamento B, apresentado anteriormente. Porém, mantém os níveis de resíduos proporcionalmente mais altos ao 15º DAA em relação ao tratamento B, com 0,06 mg.kg⁻¹ e 0,12 mg.kg⁻¹ no tratamento C.

Proporções similares foram observados nos estudos de Will e Krüger (1999) que realizou aplicações distintas (B - dose recomendada e C - 6 vezes a dose recomendada) de procimidona e iprodiona em morango e observaram valores proporcionalmente mais altos para os tratamentos com múltiplas aplicações. Para procimidona obteve-se 0,15 e 1,40 mg.kg⁻¹ e para iprodiona 0,08 e 1,27 mg.kg⁻¹ nos tratamentos B e C, respectivamente. Assim como nos estudos de Stensvand e Christiansen (2000) que determinou resíduos de iprodiona e vinclozolina em cultura de morango nos tratamentos: 1 – dose recomendada e 2 – metade da dose recomendada. O tratamento 1 mostrou resíduos na ordem de 7,5 a 3,8 mg.kg⁻¹, no período de 4 a 14 DAA, e para o tratamento 2 apresentou valores de 4,1 a 2,3 mg.kg⁻¹, no mesmo período.

Pode-se observar, no presente trabalho, que os níveis de resíduos de procimidona no morango estiveram sempre abaixo do LMR (3,0 mg.kg⁻¹) estabelecido

pela legislação brasileira, em qualquer dosagem ou época de amostragem, inclusive no período de carência (1 dia). A princípio, o consumo da fruta pode ser feito logo após o tratamento na dose recomendada. Entretanto, isso pode indicar que esses valores de LMR e período de carência estabelecidos pela legislação necessitem ser reavaliados por meio de novos/outros estudos, pois esses parâmetros, como estão, parecem ser de estudos antigos.

Deve-se ressaltar que os frutos foram colhidos com padrão de tamanho e amadurecimento (padrão de comercialização), nos dias determinados, após a última aplicação, para assim evitar o efeito de diluição por aumento de peso ou quantidade de água da fruta, garantindo que a dissipação dos resíduos deu-se devido a sua decomposição.

O índice de degradação apresentado na Tabela 9 representa os valores de redução dos resíduos de procimidona de um período em relação ao zero DAA. Assim, pode-se observar a degradação do produto nos diferentes intervalos de tempo no morango “in natura”. Quando o morango “in natura” foi tratado com uma única aplicação, o índice de degradação do fungicida foi similar ao tratamento com 3 aplicações sucessivas até o 1 DAA. A partir deste DAA, o índice de degradação foi superior no tratamento com 3 aplicações sucessivas, com maior aumento aos 10 DAA.

4.6 Resíduos de procimidona em amostras de morango minimamente processado, polpa e geléia

Os resultados obtidos nas análises de resíduos de procimidona em morango minimamente processado, polpa e geléia estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Os níveis de resíduos de procimidona nos produtos de morango minimamente processado, polpa e geléia (produto final) foram determinados pela análise das amostras em laboratório. Para a determinação dos níveis de resíduos somente na parte de morango contido na geléia foi feito o cálculo de um índice para determiná-los. Considerando que para o preparo da geléia, inicialmente foram adicionados 300 g de açúcar em 210 g de morango e a quantidade média de geléia (produto final) foi de 315g, obteve-se o índice de 1,5 para a determinação da geléia (morango). Desse modo, pode-se comparar os resíduos de procimidona no produto final da geléia e na parte de morango da geléia.

Tabela 10 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango minimamente processado, polpa e geléia de morango após uma única aplicação (tratamento B) do fungicida procimidona

Tratamento B	DAT	Repetições			Média $\pm$ dp
		1	2	3	
minimamente processado	0	0,24	0,26	0,24	0,25 $\pm$ 0,01
	1	AMOSTRAS SE PERDERAM			
	3	0,20	0,25	0,23	0,23 $\pm$ 0,03
	5	0,29	0,23	0,25	0,25 $\pm$ 0,03
	10	0,05	0,09	0,12	0,09 $\pm$ 0,03
	15	0,04	0,04	0,04	0,04 $\pm$ 0,00
polpa	0	0,21	0,19	0,22	0,21 $\pm$ 0,02
	1	0,29	0,19	0,22	0,23 $\pm$ 0,05
	3	0,18	0,12	0,26	0,19 $\pm$ 0,07
	5	0,17	0,22	0,18	0,19 $\pm$ 0,02
	10	0,11	0,13	0,05	0,10 $\pm$ 0,04
	15	0,03	0,03	0,04	0,04 $\pm$ 0,00
geléia (produto final)	0	0,05	0,04	0,11	0,06 $\pm$ 0,04
	1	0,10	0,06	0,05	0,07 $\pm$ 0,03
	3	0,08	0,07	0,09	0,08 $\pm$ 0,01
	5	0,06	0,07	0,03	0,05 $\pm$ 0,02
	10	0,02	0,03	0,03	0,03 $\pm$ 0,01
	15	0,02	0,02	0,02	0,02 $\pm$ 0,00
geléia (morango)	0	0,07	0,06	0,16	0,09 $\pm$ 0,06
	1	0,15	0,09	0,08	0,11 $\pm$ 0,04
	3	0,12	0,10	0,13	0,12 $\pm$ 0,02
	5	0,09	0,10	0,05	0,08 $\pm$ 0,03
	10	0,03	0,04	0,05	0,04 $\pm$ 0,01
	15	0,03	0,04	0,02	0,03 $\pm$ 0,01

dp – desvio padrão

Tabela 11 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango minimamente processado, polpa e geléia de morango após múltiplas aplicações (tratamento C) do fungicida procimidona

Tratamento C	DAT	Repetições			Média $\pm$ dp
		1	2	3	
minimamente processado	0	0,47	0,51	0,58	0,52 $\pm$ 0,05
	1	AMOSTRAS SE PERDERAM			
	3	0,30	0,41	0,25	0,32 $\pm$ 0,08
	5	0,39	0,25	0,25	0,30 $\pm$ 0,08
	10	0,22	0,11	0,11	0,15 $\pm$ 0,06
	15	0,11	0,06	0,08	0,08 $\pm$ 0,02
polpa	0	0,47	0,30	0,38	0,38 $\pm$ 0,09
	1	0,28	0,28	0,40	0,32 $\pm$ 0,07
	3	0,30	0,24	0,27	0,27 $\pm$ 0,03
	5	0,28	0,29	0,30	0,29 $\pm$ 0,01
	10	0,13	0,15	0,20	0,16 $\pm$ 0,03
	15	0,11	0,07	0,06	0,08 $\pm$ 0,03
geléia (produto final)	0	0,10	0,12	0,11	0,11 $\pm$ 0,01
	1	0,15	0,11	0,11	0,12 $\pm$ 0,02
	3	0,18	0,11	0,09	0,12 $\pm$ 0,04
	5	0,08	0,12	0,07	0,09 $\pm$ 0,02
	10	0,06	0,04	0,06	0,05 $\pm$ 0,01
	15	0,03	0,03	0,01	0,03 $\pm$ 0,01
geléia (morango)	0	0,15	0,17	0,17	0,16 $\pm$ 0,01
	1	0,22	0,17	0,17	0,19 $\pm$ 0,03
	3	0,26	0,16	0,14	0,19 $\pm$ 0,07
	5	0,12	0,17	0,11	0,13 $\pm$ 0,04
	10	0,09	0,06	0,08	0,08 $\pm$ 0,01
	15	0,05	0,05	0,02	0,04 $\pm$ 0,02

dp – desvio padrão

Nas amostras submetidas ao tratamento B (uma única aplicação), em todos os processamentos do morango, os níveis do fungicida decresceram no período estudado. No morango minimamente processado, eles decresceram de 0,25 a 0,04 mg.kg⁻¹, no período de zero a 15 DAA. Na polpa, decresceram de 0,21 a 0,04 mg.kg⁻¹ e a geléia (produto final), de 0,06 a 0,02 mg.kg⁻¹, no mesmo período e 0,09 a 0,03 mg.kg⁻¹ para a geléia (morango).

O tratamento referente a múltiplas aplicações (tratamento C) mostrou níveis de resíduo da ordem de 0,52 a 0,08 mg.kg⁻¹, no período de zero a 15 DAA, respectivamente, para o morango minimamente processado. Na polpa, eles foram de 0,38 a 0,08 mg.kg⁻¹. As amostras referentes a 1 DAA dos morangos minimamente processados se perderam no decorrer do experimento. As amostras de geléia (produto final) apresentaram níveis de resíduo decrescentes de 0,11 a 0,03 mg.kg⁻¹ de zero ao 15 DAA, respectivamente. E, na mesma proporção e período, os níveis de resíduo na geléia (morango) decresceram de 0,09 a 0,04 mg.kg⁻¹.

Para os produtos processados de morango não é estabelecido na legislação brasileira o LMR para cada caso, necessitando estudos para cada processamento. Porém, em todos os casos deste estudo, eles mostraram-se abaixo do LMR estabelecidos na legislação para o morango “in natura”. Assim, a princípio, os produtos processados podem ser consumidos no período de carência, de 1 dia, conforme estabelecido pela legislação brasileira para o morango “in natura”.

Os resultados observados no morango minimamente processado, na polpa e a geléia mostram uma dissipação relativamente rápida dos resíduos de procimidona, permanecendo muito estável, durante os 5 primeiros dias após a última aplicação, assim como ocorreu no morango “in natura”.

No tratamento C, os valores de resíduos encontrados nos produtos processados revelam um efeito de sobreposição das aplicações em relação ao tratamento B, assim como, uma degradação mais rápida no tratamento C que no tratamento B. Porém, no tratamento C, manteve a concentração de resíduos proporcionalmente mais alta aos 15 DAA que no tratamento B.

O morango minimamente processado, ao zero DAA, apresentou níveis de resíduos de 0,25 mg.kg⁻¹ no tratamento B e 0,52 mg.kg⁻¹ no tratamento C. E aos 15 DAA apresentou 0,04 e 0,08 mg.kg⁻¹ para os tratamentos B e C, respectivamente.

Porém, a polpa apresentou, ao zero DAA, níveis de resíduo de 0,21 e 0,38 mg.kg⁻¹ para os tratamentos B e C, respectivamente, e aos 15 DAA valores de 0,04 e 0,08 mg.kg⁻¹, para os mesmos tratamentos.

Na geléia (produto final) verificou-se níveis de resíduos de 0,06 e 0,11 mg.kg⁻¹, nos tratamentos B e C, respectivamente, ao zero DAA. Valores muito próximos dos mínimos foram encontrados aos 15 DAA, apresentando 0,02 mg.kg⁻¹, no tratamento B, e 0,03 mg.kg⁻¹, no tratamento C. Níveis de resíduos similares aos foram encontrados na geléia (morango), aos 15 DAA, com valores de 0,03 e 0,04 mg.kg⁻¹, nos tratamentos B e C, respectivamente. Enquanto ao zero DAA, apresentou níveis de resíduos de procimidona de 0,09 mg.kg⁻¹, no tratamento B, e 0,16 mg.kg⁻¹, no tratamento C, da geléia (morango).

Na Figura 11 é possível visualizar as médias de resíduos do fungicida procimidona, nos diversos substratos, comparando-se os tratamentos B e C no morango “in natura” e seus produtos processados.

Figura 11 - Representação gráfica dos resíduos de procimidona no morango "in natura" e seus produtos processados, no tratamento B e no tratamento C

4.7 Comparação dos resíduos de procimidona em amostra de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia

A Figura 12 apresenta as representações gráficas dos resíduos encontrados de cada tratamento (B e C), relacionando cada substrato com a média e desvio padrão obtido no estudo.

Figura 12 - Representação gráfica dos resíduos de procimidona no morango “in natura” e seus produtos processados comparados com dos diversos DAA, no tratamento B e no tratamento C

No tratamento B, se for considerado o desvio padrão, observa-se que a faixa de variação no nível de resíduo do morango “in natura”, minimamente processado, e a polpa não diferem entre si nos diversos DAA.

Na Figura 12, observa-se que a variação dos níveis de resíduo do morango “in natura” é de 0,19 a 0,25 mg.kg⁻¹, 0,14 a 0,26 mg.kg⁻¹, 0,14 a 0,24 mg.kg⁻¹ e 0,04 a 0,08 mg.kg⁻¹, respectivamente, para zero, 3, 5 e 15 DAA do morango “in natura”, no tratamento B. No 10 DAA, a faixa de variação do morango “in natura” ficou um pouco acima dos demais processamentos, mas sem diminuição considerável nos níveis de resíduos por lavagem com água corrente (polpa) ou com cloro ativo (minimamente processado).

Comparados o morango “in natura” com a geléia, no tratamento B, verifica-se considerável diminuição nos níveis de resíduos no intervalo de zero a 10 DAA. Porém, deve-se avaliar se a redução de procimidona se deu pela evaporação do ativo, na cocção, ou por degradação, pela alta temperatura a que foi submetido.

Considerando o desvio padrão nos níveis de resíduo de procimidona, no tratamento C, verifica-se uma maior diferença na faixa de variação do morango “in natura” em relação ao morango minimamente processado e a polpa. A faixa de variação do morango “in natura” varia de 0,42 a 0,67 mg.kg⁻¹, 0,34 a 0,44 mg.kg⁻¹, 0,27 a 0,36 mg.kg⁻¹ e 0,11 a 0,13 mg.kg⁻¹, respectivamente, para zero, 3, 5 e 15 DAA do morango “in natura”. Observa-se uma quantidade maior de resíduos que se desprende mais facilmente com a lavagem, mostrando aparentemente uma maior remoção de resíduos no minimamente processado e a polpa, mas deve-se considerar que as doses múltiplas aplicadas podem determinar acúmulo de resíduos, e estes são facilmente removidos. No caso da geléia, é possível verificar uma considerável diminuição nos níveis de resíduos, em todos os intervalos do estudo do tratamento C.

Observa-se, neste estudo, que o acúmulo de resíduo na superfície do morango provavelmente se deve à superfície irregular com pequenas profundidades causadas pelos aquênios, onde o procimidona fica aderido à superfície. Pode-se observar também que a lavagem dos morangos no processamento mínimo, assim como, o

tempo de imersão no cloro ativo, não foram suficientes para remover os resíduos que penetraram na superfície permeável do morango ou ficam “presos” na superfície rugosa, considerando principalmente, que não houve ação de esfregação.

Considerando que o K_{ow} determina a solubilidade do composto em água e, para procimidona, tem valor de 3,14, foi utilizado também ingrediente ativo com K_{ow} próximos como referencial (vinclozolina K_{ow} =3,02, iprodiona K_{ow} =3,10, clozolate K_{ow} =3,30, diclofluanida K_{ow} =3,51).

Krol et al. (2000) examinaram o efeito da lavagem com água corrente na redução de resíduos de vinclozolina e iprodiona em morangos. Este estudo mostra que o enxágüe com água de torneira reduz resíduos de pesticidas em muitos produtos, porém a solubilidade do pesticida em água não tem um papel significativo nessa redução, onde a maioria dos resíduos foi removida por ação mecânica do ato de enxágüe. Angioni et al. (2004) relataram redução de 60% dos resíduos de fenhexamida na lavagem de morangos com água corrente e com detergente neutro. Christensen et al. (2003) também relataram redução de 34% nos resíduos de fenhexamida em morangos após enxágüe com água corrente. Anderson et al. (1998), citado por Christensen et al. (2003), investigaram diversos tipos de processamento, como a lavagem, para verificar redução de pesticidas. Concluiu-se que a redução por enxágüe varia conforme o pesticida investigado. Riccio et al. (2006) demonstraram que o morango está sujeito a alto poder de penetração dos pesticidas, devido a sua alta perecibilidade. De acordo com Lentza-Rizos et al. (2000), a lavagem remove uma quantidade de até 80% de clozolate em uvas. Assim, conclui que o clozolate tem capacidade limitada da penetração nos tecidos de frutos. Porém, em estudo similar, de Santi, relatado por Lentza-Rizos et al. (2000), os morangos tratados com clozolate apresentaram baixa redução dos resíduos por lavagem, sugerindo que ocorre a penetração rápida das moléculas desses fungicida na fruta. Cabras et al. (1999) demonstraram que a lavagem simples não atinge os resíduos que penetraram na cutícula das frutas.

O processamento da polpa, no caso do morango, é a simples trituração e homogeneização da fruta para se obter um produto homogêneo em formato compacto.

Em processos industriais, a polpa congelada de morango é embalada a vácuo e destinada à fabricação de iogurtes, sorvetes, geléias, sucos e néctares, e é esterilizada, sofrendo a ação de altas temperaturas. Assim, não se pode comparar com o processo adotado neste estudo.

A diferença de valores da geléia (produto final) e da geléia (morango) mostra uma pequena redução causada pela “diluição” do analito no açúcar. Para a geléia (produto final) houve redução média de 70 e 74% para o tratamento B e C, respectivamente; e uma redução menor da geléia (morango) de 54 e 64% para o tratamento B e C, respectivamente.

Estes valores são compatíveis aos encontrados por Anderson et al. (1998), citado por Christensen et al. (2003), que verificaram redução de 62% de pesticidas na produção geléia de frutas cítricas (laranja, limão e grapefruit). Porém, bem maiores que os valores encontrados por Will e Krüger (1999), que obteve redução de procimidona em geléia de morango de 40% e Christensen et al.(2003) que estudaram a influência do cozimento em resíduos diclofluanida em morango, com redução de apenas 25%.

Segundo relatório da FAO de 2001, a temperatura de decomposição de procimidona é de 360°C e ponto de fusão é de 163-164,5°C. Assim, torna-se aparentemente impossível que o analito tenha se degradado pela temperatura de cozimento, que neste estudo foi de 100°C. A alta pressão de vapor pode ter contribuído para a redução dos resíduos de procimidona, que foi co-distilado com o vapor de água.

Entre as características físico-químicas mais importantes na estabilidade do fungicida procimidona pode-se mencionar a pressão de vapor de $2,3 \times 10^{-5}$ Pa, o coeficiente de partição n-octanol água (K_{ow}) com valor logaritmo de 3,14, pontos de fusão de 163-164,5°C e peso molecular de 284,1 (FAO, 2001; TOMLIN, 1995).

Alta pressão de vapor significa que a substância é bastante volátil. Em baixo valor de $\log K_{ow}$, a substância será mais hidrofílica e, quanto mais solúvel o pesticida em água mais facilmente penetrará na fruta, neste caso particular o morango,

aumentando-se, assim, a taxa de degradação. O tamanho da molécula também pode ser considerado, quando se estima a solubilidade do fungicida em água; a regra é que moléculas grandes são menos solúveis do que moléculas pequenas (SEIBER, 1999) e alto ponto de fusão pode também explicar a perda quase total de procimidona durante o cozimento do morango para a produção de geléia e a penetração do fungicida na fruta e, conseqüente, não remoção por lavagem.

4.8 Índice de concentração de resíduos de procimidona em amostra de morango “in natura”, minimamente processado, polpa e geléia de morango

Os resultados obtidos no cálculo do índice de concentração de resíduo em morango “in natura” e de seus produtos processados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após uma única aplicação de 150 g i.a. 100 L^{-1} água (tratamento B) do fungicida procimidona

(continua)

DAT	Substrato	Média $\pm$ dp	ICR
0	“in natura”	0,22 $\pm$ 0,03	1,00
	minimamente	0,25 $\pm$ 0,01	1,14
	polpa	0,21 $\pm$ 0,02	0,96
	geléia (produto final)	0,06 $\pm$ 0,04	0,29
	geléia (morango)	0,09 $\pm$ 0,06	0,44
1	“in natura”	0,20 $\pm$ 0,02	1,00
	minimamente	0,00 $\pm$ 0,00	0,00
	polpa	0,23 $\pm$ 0,05	1,14
	geléia (produto final)	0,07 $\pm$ 0,03	0,35
	geléia (morango)	0,11 $\pm$ 0,04	0,53
3	“in natura”	0,20 $\pm$ 0,06	1,00
	minimamente	0,23 $\pm$ 0,03	1,11
	polpa	0,19 $\pm$ 0,07	0,93
	geléia (produto final)	0,08 $\pm$ 0,01	0,38
	geléia (morango)	0,12 $\pm$ 0,02	0,57
5	“in natura”	0,19 $\pm$ 0,05	1,00
	minimamente	0,25 $\pm$ 0,03	1,32
	polpa	0,19 $\pm$ 0,02	0,99
	geléia (produto final)	0,05 $\pm$ 0,02	0,27
	geléia (morango)	0,08 $\pm$ 0,03	0,41

Tabela 13 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após uma única aplicação de 150 g i.a. 100 L^{-1} água (tratamento B) do fungicida procimidona

			(conclusão)
DAT	Substrato	Média $\pm$ dp	ICR
10	“in natura”	0,15 $\pm$ 0,03	1,00
	minimamente	0,09 $\pm$ 0,03	0,61
	polpa	0,10 $\pm$ 0,04	0,66
	geléia (produto final)	0,03 $\pm$ 0,01	0,18
	geléia (morango)	0,04 $\pm$ 0,01	0,27
15	“in natura”	0,06 $\pm$ 0,02	1,00
	minimamente	0,04 $\pm$ 0,00	0,72
	polpa	0,04 $\pm$ 0,00	0,63
	geléia (produto final)	0,02 $\pm$ 0,00	0,37
	geléia (morango)	0,03 $\pm$ 0,01	0,55

dp – desvio padrão

ICR – Índice de Concentração de Resíduo

O índice de concentração apresentado na Tabela 12 mostra que houve inicialmente uma maior concentração de resíduos no morango minimamente processado, seguido do morango “in natura”, a polpa e com baixa concentração, a geléia. Isso indica que a procimidona é mais persistente no minimamente processado do que no morango “in natura”. Após 10 DAA de procimidona, o morango “in natura” apresenta concentração maior que o minimamente processado, seguido pela polpa e geléia. Esse fato ocorreu somente no tratamento B.

No tratamento C (3 aplicações sucessivas) apresentado na Tabela 13, observa-se que houve, durante todo o período estudado (0 a 15 dias), uma maior concentração de resíduos no morango “in natura”, seguido pelo minimamente processado, polpa e geléia.

Tabela 14 - Resíduos (mg.kg^{-1}) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após três sucessivas aplicações de 150 g i.a. 100 L^{-1} água (tratamento C) do fungicida procimidona

(continua)

DAT	Substrato	Média $\pm$ dp	ICR
0	“in natura”	0,55 $\pm$ 0,12	1,00
	minimamente	0,52 $\pm$ 0,05	0,95
	polpa	0,38 $\pm$ 0,09	0,70
	geléia (produto final)	0,11 $\pm$ 0,01	0,20
	geléia (morango)	0,16 $\pm$ 0,01	0,30
1	“in natura”	0,48 $\pm$ 0,07	1,00
	minimamente	0,00 $\pm$ 0,00	0,00
	polpa	0,32 $\pm$ 0,07	0,67
	geléia (produto final)	0,12 $\pm$ 0,02	0,26
	geléia (morango)	0,19 $\pm$ 0,03	0,39
3	“in natura”	0,39 $\pm$ 0,05	1,00
	minimamente	0,32 $\pm$ 0,08	0,82
	polpa	0,27 $\pm$ 0,03	0,68
	geléia (produto final)	0,09 $\pm$ 0,02	0,23
	geléia (morango)	0,19 $\pm$ 0,07	0,48
5	“in natura”	0,32 $\pm$ 0,04	1,00
	minimamente	0,30 $\pm$ 0,08	0,93
	polpa	0,29 $\pm$ 0,01	0,91
	geléia (produto final)	0,09 $\pm$ 0,02	0,28
	geléia (morango)	0,13 $\pm$ 0,04	0,42

Tabela 15 - Resíduos (mg.kg⁻¹) de procimidona em morango “in natura” e produtos processados após três sucessivas aplicações de 150 g i.a. 100 L⁻¹ água (tratamento C) do fungicida procimidona

(conclusão)			
DAT	Substrato	Média ± dp	ICR
10	“in natura”	0,19 ± 0,03	1,00
	minimamente	0,15 ± 0,06	0,78
	polpa	0,16 ± 0,03	0,86
	geléia (produto final)	0,05 ± 0,01	0,29
	geléia (morango)	0,08 ± 0,01	0,43
15	“in natura”	0,12 ± 0,01	1,00
	minimamente	0,08 ± 0,02	0,71
	polpa	0,08 ± 0,03	0,68
	geléia (produto final)	0,03 ± 0,01	0,22
	geléia (morango)	0,04 ± 0,02	0,33

dp – desvio padrão

ICR – Índice de Concentração de Resíduo

De maneira geral, a procimidona apresentou maior concentração de resíduo no morango “in natura” e menor na geléia (produto final). O morango minimamente processado apresentou redução média bastante baixa de 2 e 16% no tratamento B e C, respectivamente, assim como a polpa, com redução média de 12% para o tratamento B e 25% para o tratamento C. A redução mais significativa foi observada na geléia, com médias de redução de 70 e 74% no produto final e de 54 e 61% na geléia (morango) para os tratamentos B e C, respectivamente.

No zero DAA do tratamento B, o morango “in natura”, o procimidona tendeu a se concentrar mais no morango minimamente processado e se concentrar em menor

escala na geléia (produto final), resultando em concentração do fungicida da ordem de 1,14 vezes no minimamente processado e redução média de 4% na polpa e 71% na geléia. Comparando-se com os resíduos contidos na geléia (morango) verifica-se uma redução de 56% nos níveis residuais.

No zero DAA do tratamento C, a procimidona tendeu a se concentrar mais no morango “in natura” e se concentrar em menor escala na geléia (produto final), resultando uma concentração do fungicida da ordem de 1,05 vezes no morango “in natura”, pequena redução de 5% no minimamente processado e redução média de 30% na polpa e 80% na geléia. Comparando-se os resíduos contidos na geléia (morango) observa-se uma redução de apenas 70% nos níveis residuais.

Estes parâmetros podem ser visualizados na Figura 13, pela representação gráfica dos índices de concentração de resíduos de procimidona no morango “in natura” e seus produtos processados.

■ "in natura" ■ minimamente ■ polpa ■ geléia (produto final) ■ geléia (morango)

Figura 13 - Representação gráfica dos índices de concentração de resíduos de procimidona no morango "in natura" e seus produtos processados, nos tratamentos B e C

5 CONCLUSÕES

Com base na análise dos resultados obtidos nas condições experimentais, conclui-se que:

- O método analítico utilizado para a análise de resíduo de procimidona na cultura de morango e geléia de morango foi satisfatório, com eficiência na recuperação em torno de 85,5%, com limites de quantificação de $0,00076 \text{ mg.kg}^{-1}$ e de detecção de $0,00023 \text{ mg.kg}^{-1}$.
- A repetibilidade e reprodutibilidade do método analítico foram excelentes e apresentou-se robusto para os parâmetros modificados.
- Os resíduos de procimidona para morango estiveram sempre abaixo do LMR estabelecidos pela legislação, em todos os períodos de colheita das amostras, incluindo o período de carência.
- Em ambos os tratamentos (B e C), os níveis de procimidona decresceram no decorrer do estudo, tanto para o morango “in natura” como para os produtos processados de morango.
- Os resíduos de procimidona em morango “in natura” foram maiores no tratamento C em relação ao tratamento B, com valores de meia vida de degradação de 8 e 7 dias, respectivamente.
- Não houve redução significativa nos resíduo no morango “in natura”, polpa e minimamente processado.
- Uma considerável degradação de procimidona foi observada no processo de cozimento, ou seja, na geléia de morango.
- De maneira geral, a procimidona apresentou maior concentração no morango “in natura” e menor concentração na geléia de morango (produto final).

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MEGEED, M.I.; ZIDAN, Z.H.; AFIFI, F.A.; AL-NASER, Z.A. Residues of procymidone and thiophanate-methyl fungicides on tomatoes and cucumber under field and protected cultivations. **Annals of Agricultural Science**, Cairo, v. 4, p. 1695-1709, 2000.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA. **Biblioteca**: Da preocupação com a contaminação de frutas e hortaliças por resíduos de defensivos agrícolas, nasceu o SIRAH, sistema que permite monitorar a qualidade dos alimentos. Disponível em: <http://www.abhorticulturacom.br/Biblioteca/Default.asp?id=4998>. Acesso em: 25 out.2007.
- _____. **Informe**: SIRAH disponível para download. Disponível em: <http://www.Abhorticultura.com.br/Informa/Default.asp?id=4987>. Acesso em: 25 out. 2007.
- FNP – CONSULTORIA & COMÉRCIO. Morango In: _____. **Agrianual 2007**: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2007. p. 397.
- AHMED, M.T.; ISMAIL, S.M.M. Effect of reduced application rates of dicofol and pirimiphos-methyl on strawberries and common beans on their residue content and crop production. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Ismailia, v. 44, p. 3694-3697, 1996.
- _____. Residues of methomyl in strawberries, tomatoes and cucumbers. **Pesticide Science**, Ismailia, v. 44, p. 197-199, 1995.
- ALMENAR, E.; HERNANDEZ-MUNOZ, P.; LAGARON, J.M.; CATALA, R.; GAVARA, R. Controlled atmosphere storage of wild strawberry fruit (*Fragaria vesca* L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Valencia, v. 54, p. 86-91, 2006.
- ANDERSSON, A.; PALSHEDEN, H. **Multi-residue method for analysis of pesticides in fruit and vegetables using ethyl acetate extraction, GPC clean-up and CG determination**. Uppsala: National Food Administration. 1998, p. 9-41. (Rapport 17/98.)
- ANDERSSON, A.; BERGMAN, I.; ALBANUS, L.; BUSK, L. **Beräknat intag av bekämpningsmedel från vissa frukter och grönsaker**. Estocolmo: National Food Administration, 1998. (Report, 7)
- ANGIONI A.; SCHIRRA, M.; GARAU, V.L.; MELIS, M.; TUBEROSO, C.I.G.; CABRAS, P. Residues of azoxystrobin, fenhexamida and pyrimethamil in strawberry following field treatments and the effect of domestic washing. **Food Additives and Contaminants**, Cagliari, v. 21, n.11, p. 1065-1070, 2004.

AMARO, M. C. C. **A cadeia produtiva agro-industrial do morango nos municípios de Pelotas, Turuçu e São Lourenço**. 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Administração) - Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Consulta sobre produtos formulados. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 27 nov. 2007a.

_____. **Procimidona**: Relatório de ingrediente ativo. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/agrofit>. Acesso em: 20 mar. 2006.

BRASIL. Sistema integrado de informações sobre agrotóxicos - SIA. **Decreto 4.074, 2002**. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp>. Acesso em: 20 mar. 2005.

_____. Ministério da Saúde. **Monitoramento de resíduos de agrotóxicos nos alimentos: Relatório de atividades de 2001 – 2006**. Brasília, 2007b. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/index.htm>. Acesso em: 03 out. 2007.

_____. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA**. 2007c. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/index.htm>. Acesso em: 03 out. 2007.

_____. Normas técnicas especiais: geléia de frutas. **Resolução nº 12**. 1978a. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf. Acesso em: 20 mar. 2005.

_____. Normas técnicas especiais: polpa de frutas. **Resolução nº 12**. 1978b. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf. Acesso em: 20 mar. 2005.

_____. Regulamento técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. **Resolução nº 272**. 2005. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>. Acesso em: 20 mar. 2005.

BIALE, J.B. The post harvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. **Advances in Food Research**, New York, v. 10, p. 293-354, 1960.

BLACHARSKI, R.W.; BARTZ, J.A.; XIAO, C.L.; LEGARD, D.E. Control of post harvest Botrytis fruit rot with pre harvest fungicide applications in annual strawberry. **Plant Disease**, Dover, v. 85, p. 597-602, 2001.

CABRAS, P.; ANGIONI, A.; GARAU, V.L.; PIRISI, F.M.; FARRIS, G.A.; MADAU, G.; EMONTI, G. Pesticides in fermentative process of wine. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, Cagliari. v. 47, n. 9, p. 3854-3857, 1999.

CAMARGO F.W.P.; MAZZEI, A.R.; CAMARGO, A.M.P.; ANAPALOS, L.C. Estacionalidade dos preços e das quantidades de frutas olerícolas: melancia, melão e morango. **Horticultura Brasileira, Campinas**, v.12, n. 1, p. 75, 1994.

CANTARUTTI, T.F.P. **Risco tóxico de resíduos de pesticidas em alimentos e toxicidade reprodutiva em ratos Wistar**. 2005. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciência Biológica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

CANTILLANO, R.F.F. **Sistema de produção do morango**. 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProduçãoMorango/cap12.htm>. Acesso em: 23 out. 2007.

CANTWELL, M. Fresh-cut products. **Perishables Handling Newsletter**, Davis, n. 81, p. 2-3, 1995.

CHRISTENSEN, H. B.; GRANBY, K.; RABELLE, M. Processing factors and variability of pyrimethanil, fenhexamida and tolylfluanid in strawberries. **Food Additives and Contaminants**, Slagelse, v. 20, n. 8, p. 728-741, 2003.

DIAS, M.S.C. Doenças do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 192, p. 69-74, 1999.

DUPUIS, G. Pesticide residues in citrus. In: CIBA-GEIGY AGROCHEMICALS. **Citrus**, Berna, v.1, p. 91-98, 1975.

EBELING, W. Analysis of the basic process involved in the deposition, degradation, persistence, and effectiveness of pesticides. **Residue Reviews**. New York, v.3, p. 35-163, 1963.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Agricultural Research Science; **Nutrient database for standard reference**. Disponível em: <http://www.unifesp.br/dis/servicos/nutri/>. Acesso em: 25 set. 2007.

FAO. Codex alimentarius: **Pesticide residues in food**. 2nd ed. Roma, 1993. p15.

_____. **Pesticide residues in food: Maximum residue limits. Extraneous maximum residue limits**. Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-e.jsp. Acesso em: 15 mar. 2006

_____. **Pesticide residues in food: evaluations**. Rome, 1981. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v81pr27.htm>. Acesso em: 15 nov. 2007. (Plant Production and Protection - Paper 42).

_____. **Specifications and evaluations for plant protection products: procimidona**. 2001. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Specs/docs/Pdf/new/procymid.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2006.

FRANCO, A.A. **Dissipação do inseticida metamidofós em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.)**. 2000. 45p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

GULLINO, M.L.; LEROUX, P.; SMITH, C.M. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. **Crop Protection**, Versailles, v. 19, p. 1-11, 2000.

GUNTHER, F.A. Insecticides residues in California citrus fruits and products. **Residue Review**, New York, v.28, p.1-127, 1969.

GUNTHER, F. A.; BLINN, R. C. **Analysis of insecticide and acaricids**. New York: Interscience, 1955. 696p.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. **CIIAGRO**: dados meteorológicos. Disponível em: <http://www.ciiagro.sp.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2006

KROL, W.J.; ARSENAULT, T.L.; PYLYPIW, M.H.M.; MATTINA, M.J.I. Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, New Haven, v. 48, n. 10, p. 4666-4670, 2000.

LEGARD, D.E.; XIAO, C.L.; MERTELY, J.C.; CHANDLER, C.K. Management of *Botrytis* fruit rot in annual winter strawberry using captan, thiran, and iprodion. **Plant Disease**, Dover, v. 85, n. 1, p. 31-39, 2001.

LEGARD, D.E.; MERTELY, J.C.; XIAO, C.L.; CHANDLER, C.K.; DUVAL, J.R.; PRICE, J.P. Cultural and chemical control of botrytis fruit rot of strawberry in annual winter production systems. **Acta Horticulturae**, Dover, v. 567 p. 651-654, 2002.

LENTZA-RIZOS, C.; AVRAMIDES, E.J.; ARGYROPOULOU, A.; PAPADIMITRIOU, V.; KOKKINAKI, K. Field trials to determine residues of chlozolate in table grapes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Atenas, v.8, n.6, p. 2522-2527, 2000.

LOOSER, N.; KOSTELAC, D.; SCHERBAUM, E.; ANASTASSIADES, M.; ZIPPER, H. Pesticide residues in strawberries sampled from the market of the federal state of baden-württemberg in the period between 2002 and 2005. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, Basel, v. 1, p. 135-141, 2006.

MARTEL, A.C.; PORTHAULT, M. Residues in raspberries and lettuce: extraction and comparison of three chromatographic methods: CLAE, HPTLC and CG. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, Lyon, v. 23, n. 19, p. 3043-3058, 2000.

MATTOS, M.L.T. **Sistema de produção do morango**: meio ambiente e segurança alimentar. 2005. Disponível em: <[sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br / Fontes HTML/ Morango/ Sistema ProducaoMorango.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango.htm)>. Acesso em: 20.out.2006.

MATTOS, M.L.T.; FACHINELLO, J.C. Resíduos de pesticidas em pêssegos de produção integrada. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 4., 2002. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. p.73.

MAZUR, S.; WAKSMUNDZKA, A. Effect of some compounds on the decay of strawberry fruits caused by *Botrytis cinerea* Pers. **Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkde Toegep Biol Wet**, Kraków, v. 66, n.2a, p. 227-231, 2001.

MERTELY, J.C.; CHANDLER, C.K.; XIAO, C.L.; LEGARD, D.E. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, Dover, v. 84, n. 11, p. 1197-1202, 2000.

MORETTI, C.L. Processamento mínimo de hortaliças: alternativa viável para a redução de perdas pós-colheita e agregação de valor ao agronegócio brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 1, 1999.

NERÍN, C.; BATLLE, R.; CACHO, J. Determination of pesticides in high-water-content samples by off-line supercritical fluid extraction–gas chromatography– electron-capture detection. **Journal of Chromatography**, Zaragoza, v. 795, p. 117-124, 1998.

REICHERT, L.J.; MADAIL, J.C.M. Aspectos socio-econômicos. In: SANTOS, A.M.; MEDEIROS, A.R.M. (Ed.) **Morango**: produção. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 12-15.

RESENDE, L.M.A.; MASCARENHAS, M.H.T.; PAIVA, B.M. Panorama da produção e comercialização do morango. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 5-19, 1999.

RICCIO, R.; TREVISAN, M.; CAPRI, E. Effect of surface waxes on the persistence of chlorpyrifos-methyl in apples, strawberries and grapefruits. **Food Additives e Contaminants**, Piacenza, v. 23, n. 7, p. 683–692, 2006.

RODRÍGUEZ, R.; PICO, Y.; FONT, G.; MANES, J. Analysis of thiabendazol and procymidone in fruits and vegetables by capillary electrophoresis–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, Burjassot, v. 949, p. 359-366, 2002.

SANTI R. **Absorption and metabolism of 14 C-Serinal in strawberry**. Milão: ISAGRO, 1981.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's Guide 8.0**. Cary, 1999. (1 CD-ROM).

SATO, G.S.; ASSUMPÇÃO, R. The axes for the commercial production of cherries. **Informações Econômicas** - Instituto de Economia Agrícola, v. 32. n. 11, p. 41-49, 2002. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/seto1-1102.zip>. Acesso em: 15.dez.2006.

SCHATTENBERG, H.J.; GENO, P.W.; HSU, J.P.; FRY, W.G.; PARKER, R.P. Effect of household preparation on levels of pesticide residue in produce. **Journal of AOAC International**, San Antonio, v. 79, n. 6, p. 1447-1453, 1996.

STENSVAND, A.; CHRISTIANSEN, A. Investigation on Fungicide Residues in Greenhouse-Grown Strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Oslo, v. 48, n. 3, p. 917-920, 2000.

SUMITOMO. Reports submitted to FAO. Tokio, 1981.

TOMLIM, C. **The pesticide manual**. 10th ed. London: Crop Protection Publication and Royal Chemical Society, 1994. 1341 p. Incorporating the Agrochemicals Handbook.

VAN LAER, S.; HAUKE, K.; MEESTERS, P.; CREEMERS, P. Botrytis infection warnings in strawberry: reduced enhanced chemical control. **Commune Agriculture Apply Biology Science**, Sint Truiden, v. 70, n. 3, p. 61-71, 2005.

VENDRUSCOLO, J.L.S. Processamento de morangos e demais pequenas frutas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2., 2004. Pelotas, **Anais...** Pelotas: Embrapa, 2004. p. 134-145.

VENDRUSCOLO, J.L.S.; VENDRUSCOLO, C.T. **Processamento de geléias e doces em pasta**. Pelotas: Embrapa, 2001. 59p.

WASHINGTON, W.S.; ENGLEITNER, S.; BOONTJES, G.; SHANMUGANATHAN, N. Effect of fungicides, seaweed extracts, tea tree oil, and fungal agents on fruit rot and yield in strawberry. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Victoria, v. 39, n. 4, p. 487-494, 1999.

WILL, F.; KRÜGER, E. Fungicide residues in strawberry processing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Geisenheim, v. 47, n. 3, p. 858-861, 1999.