RESÍDUOS DE CLOROTALONIL EM FRUTOS E FOLHAS DE
TOMATE DE CULTURA ESTAQUEADA (*Lycopersicon esculentum* Mill).

DANIELA BRIOSCHI
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Janeiro - 2001

Errata

<i>p.</i>	<i>item</i>	<i>linha</i>	<i>onde se lê</i>	<i>leia-se</i>
39	Figura 5	última	Tratamento A (300mL p.c./100L água - uma aplicação)	Tratamento C (300mL p.c./100L água - quatro aplicações)
41	Figura 7	última	Tratamento C (300mL p.c./100L água - quatro aplicações)	Tratamento A (300mL p.c./100L água - uma aplicação)
42	4.2	última	C foram: 10,7; 11,7 e 10,8 dias....	C foram: 12,0; 9,9 e 12,9 dias

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Brioschi, Daniela

Resíduos de clorotalonil nos frutos e folhas de tomate de cultura estaqueada
(*Lycopersicon esculentum* Mill) / Daniela Brioschi. -- Piracicaba, 2001.
57 p.

Dissertação (mestrado) -- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.
Bibliografia.

1. Entomologia agrícola 2. Estaqueamento 3. Resíduo de fungicida 4. Tolerância ao
fungicida 6. Tomate I. Título

CDD 635.642

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

Aos meus pais, Enedina e José,

Ofereço

Luís Antonio B. Bassetti,

Dedico

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Gilberto Casadei de Baptista, pela orientação e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho;
- Ao colega Luiz Roberto Pimentel Trevizan pelo apoio durante todo o desenvolvimento do projeto;
- Ao Prof. Dr. Marcos Aparecido Pizano, pelo apoio na instalação do projeto;
- À Prof^a. Dra. Sônia Maria S. Piedade, pela orientação estatística;
- Ao Sr. Antônio Poleti, pela concessão de área para a instalação do campo experimental;
- À Usina São José pelo fornecimento dos dados climáticos da região.
- Aos funcionários do Laboratório Análises de Resíduos de Pesticidas do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola - ESALQ/USP, pela colaboração na execução das análises;
- Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola - ESALQ/USP, pelos ensinamentos e consideração;
- À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior - CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.
- Às pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito desta jornada.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
SUMMARY.....	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 CONTROLE QUÍMICO NA AGRICULTURA.....	4
2.2 TOXICIDADE DOS PESTICIDAS.....	5
2.3 DEPÓSITO, PENETRAÇÃO E PERSISTÊNCIA DE PESTICIDAS	7
2.4 AMOSTRAGENS	12
2.5 CLOROTALONIL.....	13
2.6 RESÍDUOS DE CLOROTALONIL EM SUBSTRATOS VEGETAIS.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO, PORCENTAGENS DE RECUPERAÇÃO E DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE RESÍDUOS EM FRUTOS DE TOMATEIRO.	21
3.1.1 Reagentes.....	22
3.1.2 Aparelhos/Equipamentos	22
3.1.3 Vidrarias e outros materiais	23
3.1.4 Marcha analítica.....	24

3.1.4.1 Preparação da solução padrão	24
3.1.4.2 Fortificações.....	24
3.1.4.3 Extração	25
3.1.4.4 Limpeza.....	25
3.1.4.5 Determinação quantitativa	26
3.1.4.6 Cálculo dos resíduos.....	27
3.2 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO, PORCENTAGENS DE RECUPERAÇÃO E DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE RESÍDUOS EM FOLHAS DE TOMATEIRO.....	28
3.2.1 Reagentes.....	28
3.2.2 Aparelhos/Equipamentos	28
3.2.3 Vidrarias e outros materiais	28
3.2.4 Marcha analítica.....	29
3.3 CARACTERIZAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO DE CAMPO	29
3.4 AMOSTRAGENS	30
3.5 ANÁLISE DOS DADOS.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO E PORCENTAGENS DE RECUPERAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.	33
4.2 RESÍDUOS DE CLOROTALONIL EM FRUTOS.....	37
4.3 RESÍDUOS DE CLOROTALONIL EM FOLHAS.....	43
5. CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Curvas de degradação e persistência do malation sobre e no interior de cascas de laranja “valência” (Gunther & Westlake, citado por Gunther, 1969).....	10
Figura 2 - Fórmula plana do clorotalonil	13
Figura 3 - Cromatogramas de extratos de frutos	35
Figura 4 - Cromatogramas de extratos de folhas.....	36
Figura 5 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro. Tratamento A (300 mL p.c./100 L água - uma aplicação).....	39
Figura 6 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro. Tratamento B (600 mL p.c./100 L água - uma aplicação)	40
Figura 7 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro. Tratamento C (300 mL p.c./100 L água - quatro aplicações).....	41

- Figura 8 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro. Tratamento A (300 mL p.c./100 L água - uma aplicação)..... 47
- Figura 9 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro. Tratamento B (600 mL p.c./100 L água - uma aplicação) 48
- Figura 10 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro. Tratamento C (300 mL p.c./100 L água - quatro aplicações).....49

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Classificação dos inseticidas quanto à toxicidade.....	6
Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas do clorotalonil	15
Tabela 3 - Porcentagens (%) de recuperação de clorotalonil em frutos e folhas de tomateiro, em diferentes níveis de fortificação.....	34
Tabela 4 - Resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro	38
Tabela 5 - Equações de regressão obtidas para os frutos, seus respectivos coeficientes de explicação (R^2) e pontos de interseção das retas (PIR) ...	42
Tabela 6 - Análise de variância dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro	42
Tabela 7 - Resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro.....	45
Tabela 8 - Equações de regressão obtidas para as folhas, seus respectivos coeficientes de explicação (R^2) e os pontos de interseção das retas (PIR)	46
Tabela 9 - Análise de variância dos resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro	46

RESÍDUOS DE CLOROTALONIL EM FRUTOS E FOLHAS DE TOMATE DE CULTURA ESTAQUEADA (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Autora: DANIELA BRIOSCHI

Orientador: Prof. Dr. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a degradação e persistência dos resíduos de clorotalonil em frutos e folhas de tomate de uma cultura estaqueada.

O experimento foi instalado no município de Mombuca - SP, e constou de quatro tratamentos (com três repetições): A - uma aplicação de clorotalonil em dosagem simples de 150 g i.a./100 L água; B - uma aplicação em dosagem dobrada de 300 g i.a./100 L água; C - 4 aplicações na dosagem simples de 150 g i.a./100 L água e o último tratamento D - testemunha. A aplicação nos tratamentos com apenas uma pulverização foi realizada no mesmo dia da última aplicação do tratamento C.

As amostras de frutos e folhas foram colhidas um dia antes da aplicação conjunta (-1) e aos zero, 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias após.

Os valores médios de meia-vida de degradação dos resíduos de clorotalonil em frutos e folhas, foram: 1,6 e 2,0 dias, respectivamente, mostrando redução mais lenta dos resíduos em folhas. As meias-vida de persistência para os dois substratos foram: 11,6 e 11,1 dias, respectivamente.

Os resíduos encontrados nos frutos após cinco dias da aplicação foram menores que a tolerância oficial (1 mg/kg) para o tratamento A, que consistiu de uma aplicação na dosagem simples de 150 g i.a./100 L água (dosagem recomendada). Já para os tratamentos B (300 g i.a./100 L água) e C (4 x 150 g i.a./100 L água) após sete dias de aplicação (intervalo de segurança) se encontravam em níveis acima da tolerância oficial.

CHLOROTHALONIL RESIDUES IN FRUITS AND LEAVES IN A STAKED TOMATO CROP (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Author: DANIELA BRIOSCHI

Advisor: Prof. Dr. GILBERTO CASADEI DE BAPTISTA

SUMMARY

The objective of this work was to study the chlorothalonil residues behaviour in fruits and leaves in a staked tomato crop.

The experiment was carried out in Mombuca - SP township, and consisted of four treatments (with three replications each): A - one application of chlorothalonil in single dosage of 150 g i.a./100 L of water; B - one application of chlorothalonil in double dosage of 300 g i.a./100 L of water; C - four applications of chlorothalonil in single dosage of 150 g i.a./100 L of water and D - the control. The spray of treatments A and B was in the same day of the last application of treatment C.

Sample of fruits and leaves were collected one day before the concomitant application -1, zero, 1, 2, 3, 5, 7 and 14 days after.

The average half-lives degradation values of chlorothalonil residues in fruits and leaves, were: 1,6 and 2,0 days, respectively, showing a slower residual decrease in leaves. The persistence half-lives for both substracts were: 11,6 and 11,1 days, respectively.

The residues found in fruits five days after application were lower than the adopted legal tolerance (1 mg/kg) for the treatment which utilized 150 g i.a./100 L water in a single application. One application of 300 g i.a./100 L water (treatment B) and four applications of 150 g i.a./100 L water (treatment C), seven days (security interval) after application were above of tolerance oficial level.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de técnicas agrícolas, capazes de garantir a produção em quantidade e qualidade, é sem dúvida uma das mais antigas e importantes preocupações do homem. Embora, historicamente as áreas de terras férteis destinadas à agricultura tenham aumentado significativamente, o aumento da população mundial tem exigido respostas rápidas para os problemas que envolvem todo o ciclo da produção de alimentos.

A rapidez de ação, facilidade de uso, economicidade e eficiência dos produtos químicos aparentemente constituíram-se na solução de inúmeros problemas agrícolas, fazendo com que houvesse um incremento substancial na produção e consumo de pesticidas nas últimas décadas, tornando o Brasil o terceiro mercado mundial desses insumos com valor estimado de US\$ 2.346 bilhões, em 1999. Entretanto, essa grande utilização, muitas vezes de forma inadequada, pode eventualmente trazer problemas de saúde pública, com grande número de intoxicações.

Os pesticidas podem permanecer nos alimentos por via direta, como resultado da aplicação numa das fases de sua produção, armazenamento ou transporte, ou indireta, como no caso dos animais tratados com ração composta de vegetais contaminados, na rotação de culturas, quando o solo conserva resíduos de aplicações anteriores e os transmite as novas culturas, em águas contaminadas, etc. (Lara, 1986).

Esses compostos químicos podem deixar resíduos persistentes nos alimentos e no ambiente. Desta maneira, podem representar risco potencial a saúde dos consumidores e/ou constituírem-se em obstáculos às exportações de produtos "in natura" ou industrializados, uma vez que podem apresentar níveis superiores aos limites internacionalmente aceitos, como aconteceu, a alguns anos atrás, com nossas frutas tropicais exportadas à Suécia e Holanda contaminadas com resíduos de fungicidas, principalmente.

Das culturas olerícolas, o tomate é uma das principais hortaliças em importância econômica, graças à ampla flexibilidade no seu uso culinário e aos expressivos teores de vitaminas e minerais presentes nos frutos (Filgueira, 1982).

O Brasil é um dos principais produtores mundiais e o Estado de São Paulo contribui com cerca de 30% desta produção. De acordo com as estimativas de safra do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, em 1996 o Estado de São Paulo produziu 370.000 toneladas (IBGE, 2000).

De todo o total da produção brasileira, 68% se destinam ao mercado de tomate de mesa e 32% são utilizados como matéria prima pela indústria (FNP Consultoria & Comércio, 1998).

Por ser uma hortaliça muito exigente em tratamentos fitossanitários, pelo fato de estar sujeita ao ataque de grande número de pragas e doenças e, mais de um terço da produção nacional dessa solanácea destinar-se à industrialização, sendo grande parcela exportada em forma de suco, purê ou extrato, é fundamental que os níveis de resíduos de pesticidas encontrados nesses produtos obedeçam aos limites de tolerância estabelecidos pela legislação e aos internacionalmente aceitos.

Devido à carência de informações relativas ao comportamento de pesticidas utilizados na cultura de tomate foi realizada a presente pesquisa, que teve como objetivos:

- a) determinar os resíduos do fungicida clorotalonil, um dos mais usados na proteção da cultura no campo, presente nas folhas e frutos de tomate de cultura estaqueada;
- b) estudar a degradação e a persistência dos resíduos de clorotalonil em frutos e folhas do tomateiro;
- c) estabelecer curvas de degradação e de persistência do fungicida nestes substratos;
- d) correlacionar os níveis residuais encontrados com o limite máximo de resíduos - LMR (tolerância) e o intervalo de segurança (período de carência) estabelecidos pela legislação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Controle químico na agricultura

O controle químico tem por objetivo eliminar ou minimizar os problemas de prejuízos diretos ou indiretos que possam ser eventualmente causados às culturas por toda e qualquer forma de organismos potencialmente nocivos tais como: insetos, fungos, bactérias, ervas daninhas, nematóides, etc.

O consumo cada vez maior de defensivos agrícolas, encontra justificativa não apenas no aumento das área agricultáveis, mas principalmente na falta de rotatividade nas lavouras. Em determinadas épocas, o surgimento de pragas e/ou doenças causou grandes desastres em certas regiões. A requeima da batata, na Irlanda, por exemplo, destruiu a maior parte das lavouras de batata em dois anos sucessivos (1845 e 1846) e causou fome, responsável pela morte de um terço da população deste país.

Geralmente, a perda de uma grande produção de um tipo específico de alimento, gera uma crise internacional de preços de alimentos. Além das perdas econômicas, das deficiências nutritivas e da fome, que podem resultar da diminuição da produtividade agrícola por pragas e doenças, alguns agentes patogênicos podem causar intoxicação alimentares, quando ingeridos pelo homens ou por animais. Um exemplo é o fungo *Aspergillus flavus*. Este fungo se desenvolve em produtos agrícolas e alimentos, sintetizando a aflatoxina, que é uma substância altamente nociva para os animais e também para o

homem, onde, dependendo da dose e da frequência que é ingerida, pode apresentar efeito crônico ou letal.

Sendo assim, a indústria desenvolve e comercializa produtos de ação específica, como por exemplo: acaricidas, algicidas, bactericidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, nematicidas, etc.

Com relação a composição química, os pesticidas podem ser divididos em três grupos principais: compostos inorgânicos, compostos de origem vegetal, bacteriana e fúngica e compostos orgânicos sintéticos.

As principais classes de compostos sintéticos são: compostos organoclorados, compostos organosfosforados, carbamatos e nitroderivados de fenóis (Ferreira, 1995).

2.2 Toxicidade dos pesticidas

Os pesticidas são, em geral, agentes tóxicos que podem causar uma série de efeitos no homem e nos animais, mesmo quando introduzidos no organismo em quantidades pequenas, alterando o metabolismo e comprometendo, assim, as atividades vitais.

A toxicidade de um pesticida depende de uma série de fatores, como quantidade, exposição, tempo de ação, tipo do organismo, condições climáticas, etc.

As contaminações por pesticidas ocorrem, geralmente, de duas formas: exposição do trabalhador rural, que em geral, não está acostumado a utilizar equipamentos de proteção, ou então ingestão de produtos contaminados.

As medidas de toxicidade de um pesticida utilizam organismos vivos nos biotestes. A relação dose-resposta ou seja, o grau de resposta biológica em função da quantidade do agente tóxico administrado, continua sendo um dos mais importantes dados neste campo, que permitiu a Trevan, citado por

Ferreira (1995), estabelecer um dos índices mais utilizados para expressar a toxicidade aguda, que é a dose letal média ou dose letal 50 (DL₅₀). Este parâmetro representa a quantidade do tóxico por unidade de peso capaz de matar 50% da população da espécie utilizada no teste (Gallo et al., 1988).

Sendo a letalidade uma das medidas mais expressivas da toxicidade, esta serve para a previsão de riscos para o homem, desde que devidamente interpretada.

Tabela 1 - Classificação dos inseticidas quanto à toxicidade.

Classe toxicológica	Categoria	Cor da faixa no rótulo	DL 50 (mg/kg) (aguda oral)	Dose letal para homem adulto
I	extremamente tóxicos	vermelha	< 5	1 pitada
II	muito tóxicos	amarela	5 a 50	1 colher de chá
III	moderadamente tóxicos	azul	50 a 500	até 2 colheres de sopa
IV	pouco tóxicos	verde	500 a 5000	até 2 copos

Fonte: Gallo et al. (1988)

O problema de intoxicação por produtos fitossanitários preocupa as autoridades de saúde, especialmente, devido ao consumo diário de pequenas doses destes compostos que contaminam toda a variedade de alimentos.

Devido aos riscos que os resíduos de pesticidas em alimentos trazem à saúde, há necessidade de um monitoramento constante dos níveis de ocorrência dos mesmos nos mais variados produtos agrícolas.

Outros conceitos toxicológicos muito importantes são: tolerância ou limite máximo de resíduos (LMR) e intervalo de segurança. O limite máximo de resíduos se refere à quantidade máxima de resíduo de agrotóxico legalmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (peso) do agrotóxico ou seus derivados por um milhão de partes de alimento (peso) (ppm ou mg/kg). Como intervalo de segurança ou período de carência, entende-se o intervalo de tempo entre a última aplicação do agrotóxico e a colheita ou comercialização. Para os casos de tratamento de pós-colheita será o intervalo de tempo entre a última aplicação e a comercialização. Para as pastagens será o intervalo de tempo entre a última aplicação e a reentrada dos animais no pasto (Brasil, 1998).

2.3 Depósito, penetração e persistência de pesticidas

O controle de pragas, doenças e ervas daninhas, sozinho ou associado com outros métodos, continuará a desempenhar papel importante nos programas de controle nas próximas décadas (Freedman, 1989). Assim, é inevitável a ocorrência de resíduos nas superfícies que recebem a aplicação de um pesticida, por ocasião do tratamento fitossanitário.

Apesar de haver tendência em se designar o termo resíduo para a porção depositada de um produto fitossanitário aplicado sobre uma determinada superfície, é necessário diferenciar os termos “depósito” e “resíduo”.

Segundo Gunther (1969), depósito e resíduos de pesticidas não são termos sinônimos. O termo depósito deve referir-se ao pesticida inicialmente depositado na superfície de uma planta ou animal por ocasião do tratamento, enquanto que o termo resíduo deve referir-se ao pesticida sobre ou dentro do

substrato, com implicações de tempo e/ou alteração. O depósito torna-se resíduo tão logo ele seja afetado por lavagem, conversões metabólicas ou outros processos de alteração que causem atenuação e degradação (Gallo et al., 1988).

A grandeza dos depósitos iniciais e consequentemente os níveis de resíduos finais são influenciados por muitos fatores. Ebeling (1963) divide-os naqueles envolvidos no desaparecimento dos resíduos em dois grupos. No primeiro, encontram-se aqueles comuns a todos os produtos: à planta tratada, à formulação do pesticida e aos fatores que causam desaparecimento rápido dos depósitos superficiais como chuva, umidade, vento, temperatura, luminosidade, etc. No segundo grupo estão os fatores que dependem da natureza do produto, incluindo-se volatilização e decomposição química, sendo que muitos pesticidas podem penetrar nos tecidos da planta e serem metabolizados ou quimicamente alterados, afetando a quantidade e persistência de seus resíduos.

Gunther (1969) relata que, além desses fatores citados anteriormente, o método e uniformidade de aplicação, diferenças ambientais e sazonais podem também influenciar as grandezas dos depósitos iniciais.

Dupuis (1975) cita ainda que a presença de resíduos em uma determinada amostra depende do número de aplicações, do tempo entre a última aplicação e a colheita, da estrutura e propriedades físico-químicas do produto, formulação usada, condições climáticas, morfologia e fisiologia da planta. Este mesmo autor afirma que a formulação pode afetar a taxa e o grau de penetração do produto ou a tenacidade do depósito superficial, sendo que a penetração pode aumentar se o composto atingir o tecido sub-cuticular com alta atividade metabólica. Porém, se o mesmo permanece na cutícula mais ou menos inerte da folha ou fruto, pode persistir por um longo período, protegido de influências externas.

De acordo com Mulla et al. (1981), as propriedades físico-químicas dos pesticidas como hidro ou lipossolubilidade, coeficiente de partição, adsorção ou químio-sorção, pressão de vapor e volatilização determinam o destino final dos resíduos nas porções vivas e não vivas dos sistemas.

Embora existam inúmeros fatores envolvidos com a grandeza dos depósitos iniciais, pouco se conhece sobre a ação conjunta desses fatores sobre eles em produtos vegetais, principalmente em hortaliças. Certamente a temperatura e a umidade interagem entre si, uma influenciando a outra e, em conjunto, ambas atuando na degradação mais ou menos rápida dos depósitos, afetando a sua volatilização.

Após a deposição do pesticida na superfície vegetal, parte deste material perde-se rapidamente, podendo a porção remanescente penetrar no substrato. A Figura 1 ilustra este comportamento de acordo com Gunther (1969). O segmento **B**, denominado curva de degradação, representa o desaparecimento do produto inicialmente aplicado, ainda presente parcialmente na superfície, pela ação de fatores atmosféricos e ataque metabólico, e caracteriza uma fase de degradação.

Decorrido este período, o pesticida penetrado e refratário à significativa redução quantitativa, caracteriza uma fase de persistência, representado pelo segmento **C**, onde o produto persistente é vagarosamente degradado através de ataque metabólico por agentes no interior dos tecidos. Ainda, o autor considera que os processos de degradação e de persistência, geralmente, seguem uma reação cinética de primeira ordem permitindo, assim, que as citadas fases sejam representadas através de curvas de degradação e de persistência, respectivamente plotadas semi-logaritmicamente, como segmentos retilíneos do logaritmo do valor do resíduo ou do depósito em mg/kg contra intervalos de tempo decorridos desde o tratamento, como exemplificado na Figura 1.

Desse modo, é possível no estudo de degradação e persistência de pesticidas em produtos agrícolas, a determinação de certos parâmetros como valor de meia vida de degradação (depósito) ou de persistência (resíduo) (RL_{50}), definidos por Matsumura (1985), como sendo o tempo necessário para que metade de uma dada quantidade do material (depósito ou resíduo) se perca ou dissipe-se. Para um determinado composto em uma dada cultura, o valor de meia vida representa uma característica constante e utilizada em comparações de persistência de vários pesticidas em uma cultura particular.

Quanto a penetração nas partes vegetais, Gallo et al. (1988) citam que os resíduos nas partes das plantas podem ser classificados em extra cuticulares, cuticulares e sub-cuticulares; se o pesticida está ainda aderente à cutícula cerosa, dissolvido nela ou penetrou na parte da planta abaixo das camadas cuticulares, respectivamente. Os depósitos podem ser facilmente removidos por lavagem, já os resíduos cuticulares podem ser removidos por lavagem e raspagem. Resíduos sub-cuticulares não podem ser eliminados por meios mecânicos, exceto em poucos casos como descascar bananas e laranjas, onde a penetração é restrita à casca das frutas.

Figura 1 - Curvas de degradação e persistência do malation sobre e no interior de cascas de laranja "valência" (Gunther & Westlake, citado por Gunther, 1969).

2.4 Amostragens

Com base na literatura, conclui-se que embora a maioria dos pesquisadores seja unânime em afirmar que uma amostra destinada à determinação de resíduos deva ser casual e representativa, existe ainda variações quanto ao tamanho da amostra a ser colhida para a determinação de resíduos nos diversos produtos agrícolas.

Segundo Lykken (1963), a relativa escassez ou abundância de uma determinada cultura, o tamanho da unidade a ser colhida, assim como o número de plantas existentes em uma parcela são fatores importantes a serem levados em consideração na determinação do tamanho de uma amostra.

Rigitano (1982), verificando a persistência de resíduos de metil paration e quinalfós em frutos de tomate, coletou para a amostragem cerca de 20 frutos ao acaso por parcela.

Cabras et alii. (1985) relataram que na operação de amostragem foram colhidos 0,5 kg de frutos de cada parcela.

Navarro Garcia et alii. (1988), verificando os níveis residuais de pesticidas organofosforados em produtos agrícolas na região de Murcia, na Espanha, consideraram que, para frutos e hortaliças, quantidades de 1 kg foram suficientes para a formação de uma amostra homogênea.

Tsukano, citado por Raetano (1991), relata que no Japão as amostras de campo para hortaliças, usadas na determinação de resíduos de pesticidas, são usualmente de 2 kg, exceção feita para culturas onde a unidade a ser colhida é de maior peso, como por exemplo, a melancia.

Evaristo (1994), realizando um estudo sobre a persistência de resíduos deslocáveis de metamidofós em frutos de tomate, relatou que durante a amostragem foram coletados 10 frutos ao acaso por parcela.

Pizano (1997), verificando a persistência de resíduos de fenitrothion em frutos e folhas de tomate, relatou que na operação de amostragem foram

coletados 10 a 15 frutos e cerca de 1 kg de folhas ao acaso por parcela, respectivamente, para ambos os substratos.

2.5 Clorotalonil

O clorotalonil é um fungicida de contato, não sistêmico, pertencente ao grupo das ftalonitrilas, cujo nome químico é tetracloroisoftalonitrila (Figura 2).

Figura 2 - Fórmula plana do clorotalonil.

O produto técnico apresenta-se na forma de cristais brancos, sem odor, insolúvel em água e solúvel em xileno, acetona e ciclohexanona. É estável a temperatura ambiente (decompõe-se a 250 - 251 °C), em níveis de umidade ambiente, em soluções aquosas ácidas e neutras e sob luz ultra violeta. Entretanto, se hidrolisa, lentamente em condições alcalinas. Não é inflamável e

está sujeito a decomposição microbiana. As propriedades físicas e químicas são sumarizadas na Tabela 2.

No mercado brasileiro é encontrado com nomes comerciais de Daconil 500, Daconil BR, Dacostar 500, Dacostar 750, Isotalonil, além de outros. É usado para controle de certas doenças da cultura do tomate, tais como: mancha de estenfilum (*Stemphylium solani*), pinta preta (*Alternaria solani*), requeima (*Phytophthora infestans*) e septoriose (*Septoria lycopersici*). Também é recomendado para controle de doenças em outras culturas como: arroz, trigo, feijão, soja, amendoim, café, citros, uva, melão, melancia, papaia, banana, maçã, gramados, plantas ornamentais, batata, berinjela, cenoura, cebola, pepino, pimentão e fumo.

Está registrado para uso em lavoura de tomate, com tolerância (limite máximo de resíduo) de 1mg/kg e intervalo de segurança (período de carência) de 7 dias (Anvisa, 2000). Para a FAO - Food and Agriculture Organization of United Nations - o limite máximo de resíduo, na cultura do tomate é de 5mg/kg (FAO, 1998).

O clorotalonil foi produzido comercialmente pela primeira vez nos Estados Unidos em 1969. Os maiores produtores desta substância são: Estados Unidos, Japão, Itália e Tailândia (Caux et alii., 1996).

Este fungicida não é prontamente absorvido ou translocado do local de aplicação para outras partes da planta. Seu modo de ação sobre os fungos é atribuído a sua habilidade de ligar e quebrar a glutatona celular (GSH) (Vicent & Sisler, 1968). É também capaz de se ligar e inibir a gliceraldeído 3-fosfato deidrogenase (GAPDH), que é uma enzima necessária para a glicólise (Long & Siegel, 1975).

Resíduos de clorotalonil não são prontamente removidos por chuva ou irrigação. Aproximadamente 98% do fungicida que chega até a planta permanece nela, apenas 2% é convertido a 4-hidroxi-2,5,6-tricloroisoftalonitrilo (ISK Biotech, citado por Caux, et alii. 1996).

Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas do clorotalonil.

Parâmetros	Valores
Fórmula química	$C_3CL_4N_2$
Peso molecular	265,89
Temperatura de ebulição	350 °C
Temperatura de decomposição	250 - 251 °C
Coeficiente de partição octanol/água (K_{ow})	2,88
Solubilidade em água	900 ug/kg (25 °C)
Solubilidade acetona	20 g/kg
Solubilidade xileno	80 g/kg
Solubilidade benzeno	prontamente solúvel
Pressão de vapor (25 °C)	$5,72 \times 10^{-7}$ mm Hg
Pressão de vapor (35 °C)	$2,65 \times 10^{-4}$ mm Hg
Corrosividade	não corrosivo

Fonte: Caux et alii. (1996).

Em relação à toxicidade para mamíferos, sua toxicidade aguda oral para ratos albinos é > 10.000 mg/kg e > 5000 mg/kg para cães; aguda dérmica > 10000 mg/kg para coelhos, sendo considerado irritante para a pele e para os olhos deste mamífero. Pode causar irritação respiratória e dermatites (EPA, 1998).

Paynter & Kudzin, citados por Caux, et alii. (1996), introduziram clorotalonil (93,6%) na alimentação de ratos durante 3 gerações na quantidade diária de 250 mg/kg/dia. Redução significativa no crescimento foi observada em ninhadas recém-nascidas de cada geração. A performance reprodutiva não foi afetada.

ISK Biotech (1990), citado por Caux, et alii. (1996), observou o desenvolvimento de duas gerações de ratos. Estes foram alimentados com clorotalonil em suas rações nas doses de 500, 1500, e 3000 mg/kg, equivalente a 25, 75, e 150 mg/kg/dia para ratos adultos e 50, 150, e 300 mg/kg/dia para ratos jovens. Não foi observado mortalidade ou toxicidade nas gerações F0 e F1. Todos os animais apresentaram lesões estomacais e renais em todos os tratamentos. Nenhum parâmetro reprodutivo foi afetado, apenas o peso dos ratos recém-nascidos foi menor, em todas as dosagens.

Legator, citado por Caux, et alii. (1996), administrou clorotalonil (99%) na dose de 6,5 mg/kg/dia durante 8 semanas para ratos machos e então acasalou-os com fêmeas não tratadas. Houve redução significativa na fertilidade, porém sem apresentar qualquer efeito mutagênico.

Clorotalonil é classificado como um agente carcinogênico potencial de acordo com diversos estudos. Tierney et al., citado por Caux, et alii. (1996), forneceram clorotalonil para ratos na dieta durante 2 anos em concentrações de 517 e 585 mg/kg/dia para machos e fêmeas, respectivamente. Concluíram que houve aumento na incidência de tumores gástricos em ambos os sexos e também aumento na ocorrência de complicações renais nos machos.

Wilson et al., citado por Caux, et alii. (1996), observaram o desenvolvimento de câncer quando alimentou ratos com doses de clorotalonil na dieta até 175 mg/kg/dia. Os machos foram tratados por 116 semanas e as fêmeas por 129 semanas. A incidência de câncer renal foi dependente da dose e aumentou em ambos os sexos nas doses acima de 40 mg/kg/dia.

Em contraste, um teste com grupos de 50 fêmeas e 50 machos de ratos que foram alimentados por 80 semanas com uma dieta contendo clorotalonil (98%), não mostrou qualquer efeito deletério aos mesmos. Os machos receberam doses de 2688 e 5375 mg/kg e fêmeas receberam 3000 e 6000 mg/kg. Embora tenham ocorrido variações na incidência de tumores, não houve diferença significativa entre ratos tratados e o controle não tratado. Conclui-se,

portanto, que nas condições do ensaio clorotalonil não foi cancerígeno (IARC, citado por Caux, et alii., 1996).

2.6 Resíduos de clorotalonil em substratos vegetais

Neely (1970), através de bioensaios de fungitoxicidade, observou a persistência de resíduos de clorotalonil em folhas de diversos arbustos ornamentais na região de Illinois, EUA. O produto utilizado foi o Daconil na dosagem comercial recomendada, quando as plantas tinham 1,5 m de altura. A persistência do produto variou de 2 a 5 semanas após a aplicação, dependendo da matriz. A persistência foi computada até quando o resíduo de fungicida presente nas folhas foi capaz de inibir 99% da germinação de conídios de *Monilinia fructicola*, abaixo deste valor de inibição era encerrado o bioensaio.

Northover & Ripley (1980) avaliaram a eficácia do fungicida clorotalonil contra *Plasmopara viticola* sobre uvas para vinho em Ontário, Canadá e também a persistência do produto. Foram aplicados 1,5 a 1,9 kg de i.a./ha em intervalos de 10 a 14 dias. Verificou-se que os resíduos da formulação líquida (suspensão concentrada) foram mais persistentes que os de formulação pó molhável. Os resíduos, após 46 dias da última aplicação do programa de três pulverizações sequenciais da formulação de pó molhável foram 0,6 mg/kg e 1,0 mg/kg para a formulação líquida. No programa de seis aplicações sequenciais, os resíduos da formulação pó molhável, 46 dias após a última aplicação, foram 0,8 mg/kg e os de formulação líquida, 3,3 mg/kg. As meias-vida do produto encontradas para folhas de uva foram de 10 a 15 dias.

Bedendo & Krügner (1987) verificaram a persistência de clorotalonil em folhas de *Eucalyptus cloeziana*. Foi utilizado o produto comercial Daconil 750 PM. A persistência do fungicida variou de 5 a 9 dias em folhas que foram

lavadas em água corrente durante dois minutos, logo após sua coleta. Para as folhas não lavadas foi verificado período de 9 dias.

Bruhn & Fry (1982) observaram que o valor médio da meia-vida de clorotalonil em folhas de batata foi de 6,6 dias, embora tenha ocorrido uma variação de 3,6 a 21, 31 dias, dependendo da posição das folhas na planta. O fungicida utilizado foi Bravo 500, na dose de 1,34 kg i.a./ha.

A avaliação de resíduos do fungicida clorotalonil em tomate e em tomate processado na forma de suco, foi relatada por Frank et alii. (1991). O produto comercial usado foi Bravo 500F, utilizando-se 2 kg de i.a./ha. Os resíduos encontrados no fruto colhido oito dias após a aplicação foram 0,44 mg/kg e abaixo de 0,01 mg/kg para o suco já no primeiro dia da aplicação.

Lee et alii. (1991) desenvolveram um novo método de análise múltipla envolvendo diversos pesticidas, entre eles o clorotalonil. A recuperação dos resíduos para todos os pesticidas testados foi consistente, com exceção do clorotalonil, para o qual a recuperação variou amplamente de acordo com o substrato: 0% para brócolos e 93,7% para laranja. Eles explicam que a variação da análise em cromatografia gasosa de clorotalonil deve ser causada pela instabilidade do composto.

Sances et alii. (1992), estudando diversos tipos de pesticidas na Califórnia encontraram resíduos de clorotalonil sobre frutos de tomate não lavados na ordem de 0,13 mg/kg, o qual foi eliminado após lavagem. Este resíduo foi encontrado após 5 aplicações, 61, 46, 35, 21 e 7 dias antes da colheita. O produto comercial aplicado foi Bravo 500 SC, na dosagem de 1,6 lb/ia/acre. Portanto, os autores concluem que, mesmo sem lavagem, ao final do período de carência, os resíduos químicos encontrados estavam abaixo do limite máximo de resíduos.

Valverde Garcia et alii. (1993) estudaram a ocorrência de resíduos de clorotalonil em tomate, pepino e pimentão cultivados em estufa, na Espanha.

Os autores obtiveram meias-vida de persistência de 11,5; 5,3 e 7,3 dias, respectivamente para essas hortaliças.

Mukherjee & Gopal (1995) descreveram um método simplificado para a determinação de clorotalonil e seu metabólito 4-hidroxi-2,5,6-tricloroisoftalonitrilo na cultura da mostarda. Para as amostras fortificadas a 0,5 e 1,0 mg/kg a recuperação dos resíduos de clorotalonil foi de 92,6 e 96,8%, respectivamente para folhas e de 90,4 e 88,6% para as vagens. Já a recuperação do seu metabólito teve índices ligeiramente inferiores, sendo que para as amostras fortificadas a 0,5 e 1,0 mg/kg a recuperação para folhas foi de 85,6 e 90,4% respectivamente e para as vagens foi 83,5 e 86,2%. O limite de detecção para o fungicida foi de 0,01 mg/kg e para seu metabólito de 0,005 mg/kg.

Zhao & Fan (1996) descrevem um novo método de cromatografia gasosa para a determinação de resíduos de clorotalonil, na planta medicinal *Scrophularia*. A recuperação do pesticida das amostras fortificadas a 0,05 e 2,0 mg/kg foi de 83,5% e 89,5% respectivamente para folhas, 88,4 e 91,4% para raízes e de 83,4 e 92,2% para o solo. Os limites de detecção registrados foram de 0,001 mg/kg para as folhas, 0,005 mg/kg para as raízes e 0,001 mg/kg para o solo. Os autores ainda concluem que a cromatografia gasosa é muito adequada para a determinação de clorotalonil devido ao baixo ponto de ebulição do composto e também à alta sensibilidade do detector de captura de elétrons.

Oliveira & Toledo (1996) avaliaram a degradação de clorotalonil em morangos "in natura" coletados na CEASA. Os resíduos foram quantificados após três e sete dias de estocagem em geladeira (5 °C), sendo que não foram detectadas reduções nos níveis residuais de clorotalonil, mesmo após o período de estocagem. Assim, concluiu-se que o clorotalonil não sofre degradação após decorrido este período. Acredita-se que sua estrutura molecular, com átomos de cloro ligados ao anel aromático, seja responsável

pela estabilidade observada. É importante salientar que clorotalonil até o momento não apresenta registro para utilização nesta fruta.

Pylypiw et alii. (1997) desenvolveram um estudo sistemático para o desenvolvimento de um método de extração denominado “microwave-assisted extraction”, envolvendo diversos pesticidas para as culturas de alface, beterraba, pepino, pimentão e tomate. Para todos os pesticidas este método mostrou-se muito eficiente, a redução no tamanho da amostra e no volume de solvente não afetaram a reprodução dos dados obtidos. A exceção é feita para o clorotalonil onde foi observada uma grande variação de respostas, dependendo do substrato. Para alface o comportamento foi estável e consistente, já para as amostras de tomate ele foi degradado após o período de armazenagem em freezer por 4 meses. Os autores afirmam ainda que esta variação está ligada às características do composto, por ele ser instável termicamente e passar por hidrólise ao manter contato com a matriz.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados estudos dos métodos analíticos para clorotalonil em frutos e folhas de tomateiro. Todos os estudos e as análises das amostras de campo foram efetuados no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ - USP.

Realizadas as avaliações dos métodos de extração e análise dos resíduos de clorotalonil nos diferentes substratos, foi instalado o experimento em campo.

3.1 Limite de quantificação, porcentagens de recuperação e descrição do método de análise de resíduos em frutos de tomateiro

Visando determinar o limite de quantificação e a porcentagem de recuperação de clorotalonil em frutos, amostras de 5 g de tomate, preparadas de maneira idêntica às aquelas provenientes de plantas tratadas, foram fortificadas de modo a obter concentrações de 10; 1; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05 e 0,01 mg/kg do fungicida neste substrato. As fortificações foram realizadas em duplicata para cada nível.

O método de análise de resíduos foi adaptado daquele desenvolvido por Andersson & Palsheden (1998), que consiste na extração dos resíduos de

clorotalonil com acetato de etila em presença de sulfato de sódio (Na_2SO_4); a limpeza do extrato é feita por cromatografia de permeação em gel (GPC), sendo a eluição procedida com uma mistura de ciclohexano e acetato de etila. As modificações mais significativas no método analítico constaram do uso de colunas PLGel na fase de limpeza do extrato no aparelho de cromatografia de permeação em gel (GPC), e não coluna Bio Beads SX-3, que consta na descrição original e também na adição de ciclohexano durante a extração inicial.

A determinação quantitativa é feita por técnica de cromatografia em fase gasosa, utilizando-se cromatógrafo equipado com detector de captura de elétrons (μ - ECD, Ni^{63}). Este detector apresenta a vantagem de ser bastante sensível a compostos que contenham halogênio na molécula.

3.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados durante o processo de extração estão listados a seguir:

- * acetona - P.A., Merck, destilados em destilador de vidro;
- * acetato de etila - P.A., Merck, destilados em destilador de vidro;
- * ciclohexano - P.A., Merck, destilados em destilador de vidro;
- * sulfato de sódio (Na_2SO_4), anidro granulado QM;
- * etileno glicol, PA, Mallinckrodt;
- * padrão analítico de clorotalonil.

3.1.2 Aparelhos/Equipamentos

Os aparelhos e ou equipamentos utilizados durante o processo de extração e análise estão listados a seguir:

- * cromatógrafo de gás, HP, modelo 6890, equipado com detector de captura de elétrons (μ - ECD, Ni^{63})
- * workstation HP Kayak XA,
- * software HP ChemStation, versão A.06.03;
- * coluna cromatográfica, megabore, HP-608, 30 m comprimento, diâmetro 0,53 mm e 0,5 μm espessura do filme;
- * triturador Ultra-turrax, Heidolph, modelo DIA.600;
- * evaporador TurboVap LV, Zymark, modelo LV;
- * bomba binária Gilson, modelo 321;
- * coletor de frações Gilson, modelo 215;
- * colunas (duas, ligadas em série) PLGel, para cromatografia de permeação em gel, 300 x 7,5 mm de diâmetro e 5 μm de tamanho das partículas, sendo uma com 100 e outra de 50 Å de tamanho de poros;
- * multiprocessador de alimentos Wallita MegaMaster;
- * centrífuga, Revan, modelo Ciclo C-I;
- * balança analítica, Mettler, modelo H10;
- * balança analítica, Sartorius, modelo Basic;
- * dispenser EM, Hirschmann 5-30;
- * ultra-som, Mini-som.

3.1.3 Vidrarias e outros materiais

A lista de materiais diversos e vidrarias utilizados nas diversas fases das análises está apresentada abaixo:

- * micro-seringa, 10 μl , Hamilton;
- * seringa hipodérmica, 10mL, BD;
- * frascos de vidro com tampa rosqueável de 100 mL, Duran-Schott;

- * frascos de vidro com tampa rosqueável de 4 mL;
- * provetas graduadas, 25, 50 e 100 mL;
- * pipetas graduadas, 1, 2, 5 e 10 mL;
- * tubos de vidro transparente, 2mL, Hewlett Packard;
- * septos de borracha e teflon, T/RR, Hewlett Packard;
- * beakers, 150 mL, Corning/Pyrex 1000;
- * tubos de centrifuga, graduado, 15 mL, Corning/Pyrex 8080;
- * tubos de centrifuga, polipropileno, 50 mL, Corning 25330-50;
- * filtro de sílica-gel;
- * filtro para seringa com membrana de teflon de 0,2 μm de poro, Millex;
- * espátulas.

3.1.4 Marcha analítica

3.1.4.1 Preparação da solução padrão

Inicialmente foi preparada solução estoque de clorotalonil em acetona. Para tanto, o padrão analítico foi pesado em balança analítica de precisão, e solubilizado no solvente citado, de modo a fornecer concentração exata de 1 mg/mL (solução estoque). A solução padrão para estudos de fortificação e injeções no sistema cromatográfico, foram preparadas a partir da solução estoque com as diluições feitas em acetato de etila e ciclohexano.

3.1.4.2 Fortificações

Preparou-se inicialmente soluções de clorotalonil nas concentrações de 50; 5; 2,5; 1; 0,5; 0,25 e 0,05 $\mu\text{g/mL}$, a partir da solução estoque, descrita

anteriormente, com diluições feitas em acetato de etila e ciclohexano (1:1). Juntou-se então 1 mL de cada solução assim obtida em sub-amostras de 5 g cada, do substrato obtido de tomate (frutos e folhas) triturados/homogeneizados, sabidamente livres de contaminação. Desta maneira obteve-se os níveis de fortificação: 10; 1; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05 e 0,01 mg/kg, respectivamente.

3.1.4.3 Extração

- I. Pesar 5 g da amostra homogeneizada, colocar em tubo Duran-Schott, juntar 50 mL da mistura de acetato de etila e ciclohexano (1:1) e 5 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4) e triturar no aparelho Ultra-turrax durante 2 minutos a 26.000 rpm;
- II. Centrifugar a 2.500 rpm por 5 minutos para melhor separar a fase líquida do material em suspensão.

3.1.4.4 Limpeza

- I. Filtrar através do filtro de teflon Millex, com auxílio da seringa hipodérmica, cerca de 5 mL de cada amostra;
- II. Descartar os 2 mL primeiros e recolher o filtrado para frascos de vidro de 4mL;
- III. Encaminhar cada frasco de vidro para uso no injetor/coletor de frações automático Gilson, ajustado para injeção de exatos 500 μl do extrato;
- IV. Operar o equipamento com fase móvel de mistura de ciclohexano e acetato de etila (1:1), com fluxo de 1 mL/min., descartando os eluados durante os primeiros 16,5 minutos e coletando a fração em eluição nos 2,5 minutos subsequentes, em tubo de centrifuga de 15 mL.

3.1.4.5 Determinação quantitativa

- I. Evaporar o extrato contido no tubo de centrífuga em TurboVap LV sob leve corrente de N_2 a 35 °C, até a secura;
- II. Ressuspender os resíduos provenientes de I., em volume adequado da solução de ciclohexano e acetato de etila (1:1) e deixar em ultra-som por 1 minuto;
- III. Injetar alíquotas no cromatógrafo;
- IV. Condições de operação do cromatógrafo:

Forno:

Temperatura inicial: 150 °C

Tempo inicial: zero min.

Rampas	Taxa (°C/min.)	Temperatura final	Tempo final (min.)
1	10	200 °C	1
2	45	280 °C	3

Injetor:

Modo: Splitless

Temperatura: 200 °C

Fluxo de purga: 50 mL/min.

Tempo de purga: 0,45 min.

Gás de arraste: hidrogênio

Coluna:

Modelo: HP-608

Comprimento: 30 m

Diâmetro: 0,53 mm

Espessura do filme: 0,50 μ m

Modo: fluxo constante

Fluxo: 5,3 mL/min.

Detector:

Temperatura: 300 °C

Modo: fluxo do make up constante

Fluxo do make up: 30 mL/min.

Gás do make up: nitrogênio

3.1.4.6 Cálculo dos resíduos

Os resíduos são calculados por comparação direta com o padrão (padronização externa), baseados nas massas do padrão analítico e das amostras.

$$\text{ppm} = \text{mg/kg} = \frac{mp_1 \times mam}{mp_2 \times Mam}, \text{ onde:}$$

mp_1 = massa injetada do padrão em ng;

mam = massa da substância na amostra, em ng, obtida por processamento do cromatograma no workstation;

mp_2 = massa da substância no padrão, em ng, obtida igualmente, por processamento do cromatograma igualmente, pelo workstation;

Mam = massa da amostra injetada em mg.

3.2 Limite de quantificação, porcentagens de recuperação e descrição do método de análise de resíduos em folhas de tomateiro

A fim de se avaliar a eficiência do método analítico proposto, amostras de 5 g de folhas de tomate, preparadas de maneira idênticas às aquelas provenientes de plantas tratadas, foram fortificadas de modo a obter concentrações de 10; 1; 0,5; 0,2; 0,1 e 0,05 mg/kg do fungicida neste substrato. As determinações foram realizadas em duplicata para cada nível de fortificação.

O método de análise de resíduos foi em tudo muito semelhante ao método anteriormente descrito para frutos.

3.2.1 Reagentes

Como descrito no item 3.1.1.

3.2.2 Aparelhos/Equipamentos

Como descrito no item 3.1.2.

3.2.3 Vidrarias e outros materiais

Como descrito no item 3.1.3.

3.2.4 Marcha analítica

Como descrito no item 3.1.4.

3.3 Caracterização e Condução do Experimento de Campo

O experimento de campo foi instalado na região produtora de tomate de mesa do município de Mombuca, Estado de São Paulo, em cultura de tomate tutorado no período de agosto a outubro de 1999.

A instalação deu-se em cultura de tomate estaqueada, com 80 dias de idade do transplante de mudas, em propriedade pertencente ao produtor Sr. Antônio Poleti, em 26 de agosto de 1999, sendo utilizado o cultivar comercial Débora, no espaçamento de 1m entre linhas duplas tutoradas x 1 m entre linhas não tutoradas destinadas ao trânsito de pessoas x 0,70 m entre covas, com duas plantas por cova.

Os tratos culturais seguiram aqueles utilizados normalmente pelo produtor. A irrigação foi feita através de sulcos de infiltração.

Os dados climáticos do período, foram obtidos da Usina São João, localizada cerca de 10 km da propriedade em questão. As temperaturas variaram entre 35,7 e 6,4 °C, entre a máxima e a mínima, durante a condução do experimento. A precipitação durante o período (agosto - outubro) foi de 55 mm; a umidade relativa variou de 52 a 100%.

O experimento teve delineamento estatístico em blocos ao acaso com 4 tratamentos e 3 repetições. Cada parcela constou de 3 linhas duplas de 20 m de comprimento separadas entre si por uma linha dupla usada como bordadura. A linha central da parcela foi considerada como útil para efeito das amostragens. O experimento foi alocado de forma que as parcelas se situaram uma ao lado da outra no sentido da declividade do terreno.

O produto aplicado foi o Daconil 500 na formulação suspensão concentrada que contém 500 g de clorotalonil por litro de produto comercial .

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

A - uma única aplicação na dosagem de 300 mL p.c./100 L água (150 g i.a./100 L água);

B - uma única aplicação na dosagem de 600 mL p.c./100 L água (300 g i.a./100 L água);

C - 4 aplicações na dosagem de 300 mL p.c./100 L água (150 g i.a./100 L água), com intervalos de 3 dias entre elas;

D - testemunha (sem aplicação).

As aplicações foram realizadas com pulverizador tratorizado com tanque de 2000 litros e bomba estacionaria marca Jacto, modelo JP - 150, equipado com mangueira, em cujas extremidades foram acopladas hastes de pulverização contendo 2 bicos HV-3R Yamaho, gastando-se cerca de 1000 litros de calda de fungicida por hectare.

Os tratamentos com uma única aplicação (A e B) foram pulverizados por ocasião da última pulverização do tratamento C (quatro aplicações). A primeira aplicação do tratamento C foi realizada já no período de frutificação e estágio inicial de maturação dos frutos.

3.4 Amostragens

As amostragens foram iniciadas no dia anterior a quarta aplicação no tratamento C. Esta primeira amostragem teve como objetivo verificar a ocorrência de resíduos nos frutos e nas folhas, e em especial naquelas

parcelas que até a data tenham recebido as três aplicações anteriores, bem como eventuais contaminações nas outras parcelas.

As demais amostragens foram realizadas aos zero, 1, 2, 3, 5, 7 e 14 dias, sendo amostradas folhas e frutos. Foram, assim, colhidas e analisadas 192 amostras de campo a saber: 4 tratamentos x 3 repetições x 8 épocas de colheita x 2 substratos.

As amostras 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 aproximadamente de 15 frutos cada uma. Os frutos coletados estavam em início de maturação e foram acondicionados em sacos plásticos; estes por sua vez eram colocados em isopor contendo gelo para o transporte até o Laboratório. Neste, dentro de um período máximo de 3 horas foram retiradas fatias transversais de cada fruto, e após homogeneização através de um multiprocessador de alimentos da marca Walitta foram constituídas duas sub-amostras de 100 g cada uma. Estas foram acondicionadas em potes plásticos e mantidas em freezer a - 10 °C até o momento de preparação para as análises.

Para amostragem das folhas, foram colhidos aproximadamente 500 g da linha útil, sendo retiradas pelo pecíolo manualmente, acondicionadas em sacos plásticos, e estes em caixas de isopor com gelo e enviadas para o laboratório. No laboratório as folhas foram processadas de maneira semelhante a dos frutos. Foram tomadas duas sub-amostras de 50 g cada uma e de forma idêntica a dos frutos, foram armazenados em freezer - 10 °C até o momento do processamento para as análises.

3.5 Análise dos Dados

Os dados obtidos de estudos de resíduos nos frutos e folhas foram analisados mediante a obtenção de parâmetros estatísticos simples, tais como: média, desvio padrão da média, variância. Ainda, forneceram subsídios para a elaboração das curvas de degradação e de persistência dos resíduos, através do uso de regressão linear, com suas equações de regressão e coeficientes de correlação ou explicação.

Foi utilizado o programa SANEST - Sistema de análise estatística para o cálculo das tabelas de variância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Limites de quantificação e porcentagens de recuperação do método analítico

Na Tabela 3 são apresentados os dados das porcentagens de recuperação de clorotalonil em frutos e folhas de tomateiro. Nas figuras 3 e 4 são mostrados os cromatogramas obtidos nas fortificações de 0,05 mg/kg em frutos e 0,1 mg/kg em folhas.

Em fruto, verifica-se que as porcentagens médias de recuperação variaram de 75 a 112%, no intervalo de 0,05 a 10 mg/kg, sendo estes valores considerados satisfatórios para análise de resíduos de pesticidas.

Desta maneira, o limite de quantificação do método analítico empregado foi estabelecido em 0,01 mg/kg para frutos, o que representa um valor 100 vezes abaixo do limite máximo de resíduos do fungicida em tomate (1 mg/kg), de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (ANVISA, 2000).

As porcentagens de recuperação de clorotalonil em folhas variaram de 70,5 a 83% no intervalo de 0,1 a 10 mg/kg, o que também é satisfatório. A recuperação foi mais baixa para folhas do que para frutos, provavelmente devido a concentração de impurezas presentes neste substrato. Assim, o limite de quantificação do método analítico utilizado para folhas foi de 0,05 mg/kg.

Tabela 3 - Porcentagens (%) de recuperação de clorotalonil em frutos e folhas de tomateiro, em diferentes níveis de fortificação.

Substrato	Repetições	Níveis de Fortificação (mg/kg)						
		10,0	1,0	0,5	0,2	0,1	0,05 ⁽¹⁾	0,01 ⁽²⁾
Frutos	A	78	86	96	85	78	120	LQ*
	B	72	71	82	72	125	104	LQ
	Média	75	78,5	89	78,5	101,5	112	-
Folhas	A	75	70	74	75	95	LQ*	-
	B	73	71	70	68	71	LQ	-
	Média	74	70,5	72	71,5	83	-	-

LQ* = Limite de quantificação, quando o nível de fortificação apresenta recuperação fora do intervalo de 70 a 130%.

(1) = Limite de quantificação para folhas.

(2) = Limite de quantificação para frutos.

Figura 3 - Cromatogramas de extratos de frutos. a) padrão clorotalonil 2 μ l - 4 pg; b) testemunha 2 μ l - 100 mg; c) fortificação 0,05 mg/kg, 2 μ l - 100 mg - 5 pg (mt).

Figura 4 - Cromatogramas de extratos de folhas. a) padrão clorotalonil 2 μ l - 4 pg; b) testemunha 2 μ l - 100 mg; c) fortificação 0,1 mg/kg, 2 μ l - 100mg - 10 pg (mt).

4.2 Resíduos de clorotalonil em frutos

Os resultados obtidos nas análises de resíduos de clorotalonil em frutos provenientes de plantas tratadas à campo são apresentados na Tabela 4. Nas Figuras 5, 6 e 7 estão representados graficamente o comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos nos tratamentos que receberam aplicação. As equações de regressão são apresentadas na Tabela 5. Para o cálculo do ponto de interseção das retas (PIR), igualou-se as duas equações e obteve-se o valor X em que os valores Y são iguais. Assim, este valor representa o ponto em que termina a curva de degradação e começa a curva de persistência.

A Tabela 6 apresenta o modelo da análise de variância dos resíduos do fungicida em frutos. Pode-se observar também, a interação entre dias x tratamento, sendo significativa ao nível de 0,1%, implicando que pelo menos dois tratamentos são diferentes entre si, refutando assim, a hipótese da nulidade

Observando-se os dados da Tabela 4 verifica-se que no dia zero os resíduos presentes nas amostras dos tratamentos A, B, C, apresentaram uma situação esperada, pois o tratamento B apresentou média próxima ao dobro do tratamento A, e este, valor menor que o tratamento C, mostrando que os resíduos presentes nos frutos após quatro aplicações de 300 mL de p.c./100 L água, espaçadas de três dias entre si, foram maiores que aqueles, provenientes de apenas uma aplicação.

Nas Figuras 5, 6 e 7 verifica-se que após a pulverização, houve uma queda acentuada nos níveis residuais nos três tratamentos. Os valores determinados do ponto de interseção das retas (PIR) da Tabela 5 mostram que nos tratamentos B e C as curvas de degradação alcançaram 2,0 e 1,5 dias, respectivamente, enquanto que no tratamento A o valor foi superior a estes, alcançando 3,5 dias.

Tabela 4 - Resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro.

Dias após	Tratamentos	Repetições			Média	Desvio	Variância
Aplicação		R1	R2	R3	(mg/kg)	Padrão	
-1	Testemunha	< LQ*	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	600 mL p.c./ 100 L	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	4 x 300mL p.c./100 L	1,60	1,80	1,10	1,50	0,36	0,1300
0	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	4,80	5,10	4,20	4,70	0,46	0,2100
	600 mL p.c./ 100 L	8,30	7,90	7,20	7,80	0,56	0,3100
	4 x 300mL p.c./100 L	7,74	8,10	7,77	7,87	0,20	0,0399
1	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	3,60	3,50	3,60	3,57	0,06	0,0030
	600 mL p.c./ 100 L	5,50	5,40	5,00	5,30	0,27	0,0700
	4 x 300mL p.c./100 L	5,00	5,00	4,50	4,83	0,29	0,0833
2	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	2,50	2,18	2,30	2,33	0,16	0,0261
	600 mL p.c./ 100 L	3,30	3,10	3,50	3,30	0,20	0,0400
	4 x 300mL p.c./100 L	3,52	3,40	3,50	3,47	0,06	0,0041
3	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	1,30	1,20	1,40	1,30	0,10	0,0100
	600 mL p.c./ 100 L	3,20	2,42	2,70	2,77	0,40	0,1561
	4 x 300mL p.c./100 L	3,00	3,23	2,98	3,07	0,14	0,0193
5	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	0,66	0,62	0,75	0,68	0,07	0,0044
	600 mL p.c./ 100 L	1,57	1,53	1,60	1,57	0,04	0,0012
	4 x 300mL p.c./100 L	2,36	2,80	2,80	2,67	0,27	0,0727
7	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	0,55	0,48	0,42	0,48	0,07	0,0042
	600 mL p.c./ 100 L	0,80	1,50	1,25	1,18	0,36	0,1258
	4 x 300mL p.c./100 L	1,96	2,04	2,10	2,03	0,07	0,0049
14	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	0,35	0,28	0,22	0,28	0,07	0,0042
	600 mL p.c./ 100 L	1,20	0,80	1,10	1,03	0,21	0,0433
	4 x 300mL p.c./100 L	2,00	1,58	1,56	1,71	0,25	0,0617

LQ* = limite de quantificação < 0,05 mg/kg.

Figura 5 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos. Tratamento A (300 mL p.c./100 L água - uma aplicação).

Figura 6 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos. Tratamento **B** (600 mL p.c./100 L água - uma aplicação).

Figura 7 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em frutos. Tratamento **C** (300 mL p.c./100 L água - quatro aplicações).

Tabela 5 - Equações de regressão obtidas para frutos, seus respectivos coeficientes de explicação (R^2) e pontos de interseção das retas (PIR).

Substrato	Tratamento	Degradação	R^2	Persistência	R^2	PIR (dias)
frutos	A	$Y = 4,69 - 1,14X$	0,99	$Y = 0,83 - 0,04X$	0,91	3,5
	B	$Y = 7,80 - 2,50X$	1,00	$Y = 3,04 - 0,17X$	0,66	2,0
	C	$Y = 7,87 - 3,04X$	1,00	$Y = 3,47 - 0,14X$	0,83	1,5

Tabela 6 - Análise de variância dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomateiro.

FV	SQ	GL	MQ	F	P
Tratamentos	35,973	2	17,986	347,174	0,005
Resíduo (a)	0,310	6	0,051		
Parcelas	36,285	8			
Dias	235,100	6	39,183	618,953	0,001
Trat. x dias	8,868	12	0,739	11,6736	0,001
Resíduo (b)	2,279	36	0,063		
Total	282,532	62			

Através das equações de regressão, apresentadas na Tabela 5, foram calculados os valores de meia-vida dos resíduos de clorotalonil em frutos de tomate. Os valores encontrados para a meia-vida de degradação para os tratamentos A, B e C foram: 2,0; 1,6 e 1,3 dias, respectivamente e aqueles referentes aos valores de meia-vida de persistência para os tratamentos A, B e C foram: 10,7; 11,7 e 10,8 dias, respectivamente.

Os valores de meia-vida de persistência em frutos para os tratamentos A, B e C se aproximam daquele relatado por Valverde Garcia et alii. (1993) de 11,5 dias.

Quanto à tolerância e período de carência de clorotalonil em frutos de tomate no Brasil (1 mg/kg e 7 dias), os dados apresentados na Tabela 4 demonstram que o tratamento de aplicação única de 150 g i.a./100 L água, resultou em resíduos menores que 1 mg/kg, após 5 dias da aplicação. Para o tratamentos C os resíduos estavam acima do limite aceitável, mesmo após 14 dias da aplicação.

4.3 Resíduos de clorotalonil em folhas

Os resultados das análises de clorotalonil em folhas de cultura de tomate estaqueado são apresentados na Tabela 7 e nas Figuras 8, 9 e 10, nestas para os tratamentos que receberam o fungicida. Na Tabela 8 são apresentadas as equações de regressão obtidas para as fases de degradação e persistência. O cálculo do ponto de interseção das equações (PIR) foi realizado da mesma forma que para o fruto.

A Tabela 9 mostra os dados da análise de variância dos resíduos de clorotalonil em folhas. Observa-se a interação dias x tratamento, sendo significativa ao nível de 0,1%, novamente, como para os frutos, rejeitando a hipótese de nulidade.

De acordo com os dados da Tabela 7, verifica-se que os depósitos iniciais das folhas apresentam a mesma coerência dos depósitos nos frutos, ou seja, no tratamento B (uma única aplicação de 600 mL p.c./100 L água) foram praticamente o dobro daqueles no tratamento A (uma única aplicação de 300 mL p.c./100 L água). Pelos dados obtidos em C (quatro aplicações de 300 mL p.c./100 L água), verifica-se o maior acúmulo de produto neste tratamento em

relação aos demais, fato que pode ser comprovado pelo teste de Tukey, que indica diferenças significativas entre os tratamentos.

Comparando os resultados da Tabela 7 com aqueles referentes aos frutos (Tabela 4), observa-se que a quantidade de resíduos nas folhas foi muito superior aos frutos. Este fato está de acordo com Dupuis (1975), que relata a influência da morfologia e fisiologia da planta sobre os resíduos encontrados nas diversas partes da mesma. A maior exposição das folhas às pulverizações, bem como sua forma em relação aos frutos, foram determinantes para que as quantidades depositadas fossem diferentes nos dois substratos.

Evaristo (1994) menciona que a superfície lisa e cerosa dos frutos favorece o escoamento da calda de pulverização.

Em relação as Figuras 8, 9 e 10, verifica-se que os resíduos de clorotalonil nas folhas diminuíram mais lentamente do que nos frutos (Figuras 5, 6 e 7).

Através das equações de regressão, apresentadas na Tabela 8, foram calculados os valores de meia-vida de degradação em folhas de tomateiro. Os valores encontrados para os tratamentos A, B e C foram: 1,6; 1,7 e 2,6 dias, respectivamente. Os valores de meia-vida de persistência para os tratamentos A, B e C foram: 10,7; 11,7 e 10,8 dias, respectivamente.

Bruhn & Fry (1982) observaram que a meia-vida de degradação de clorotalonil em folhas de batata foi de 6,6 dias, valor este superior aos encontrados neste trabalho.

Tabela 7 - Resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro.

Dias após	Tratamentos	Repetições			Média	Desvio	Variância
Aplicação		R1	R2	R3	(mg/kg)	Padrão	
-1	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	600 mL p.c./ 100 L	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	4 x 300mL p.c./100 L	183,20	170,00	182,00	178,40	9,33	53,2800
0	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	126,00	129,60	136,80	130,80	2,55	30,2400
	600 mL p.c./ 100 L	306,90	305,80	308,00	306,90	0,78	1,2100
	4 x 300mL p.c./100 L	340,20	349,00	352,40	347,20	6,22	39,6400
1	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	85,90	91,20	88,70	89,80	1,20	1,6300
	600 mL p.c./ 100 L	216,50	218,30	216,20	217,00	1,27	1,2900
	4 x 300mL p.c./100 L	253,10	290,70	297,10	280,30	26,59	565,1200
2	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	54,90	59,60	61,20	58,57	3,32	10,7230
	600 mL p.c./ 100 L	144,50	194,80	190,10	176,47	35,57	771,9233
	4 x 300mL p.c./100 L	270,70	269,50	261,90	267,37	0,85	22,7733
3	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	54,10	53,50	52,0	53,20	0,42	1,1700
	600 mL p.c./ 100 L	169,70	170,50	168,90	169,70	0,577	0,6400
	4 x 300mL p.c./100 L	280,30	240,90	222,60	247,93	27,86	869,4233
5	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	48,50	47,60	49,20	48,43	0,64	0,6433
	600 mL p.c./ 100 L	164,30	160,20	166,10	163,53	2,90	9,1433
	4 x 300mL p.c./100 L	230,60	206,30	215,90	217,60	17,18	149,7900
7	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	32,20	31,20	33,60	32,33	0,71	1,4533
	600 mL p.c./ 100 L	86,70	88,60	86,50	87,27	1,34	1,3433
	4 x 300mL p.c./100 L	113,10	124,80	110,90	116,27	8,27	55,8233
14	Testemunha	< LQ	< LQ	< LQ	-	-	-
	300 mL p.c./ 100 L	22,50	18,20	20,50	20,40	3,04	4,6300
	600 mL p.c./ 100 L	82,50	79,50	78,90	80,30	2,12	3,7200
	4 x 300mL p.c./100 L	98,80	115,00	113,80	109,20	11,46	81,4800

LQ* = limite de quantificação < 0,1 mg/kg.

Tabela 8 - Equações de regressão obtidas para folhas, seus respectivos coeficientes de explicação (R^2) e pontos de interseção das retas (PIR).

Substrato	Tratamento	Degradação	R^2	Persistência	R^2	PIR (dias)
frutos	A	$Y = 130,8 - 41,00X$	1,0	$Y = 62,3 - 3,19X$	0,92	1,8
	B	$Y = 306,9 - 89,90X$	1,0	$Y = 189,0 - 8,64X$	0,75	1,5
	C	$Y = 347,2 - 66,90X$	1,0	$Y = 275,8 - 13,58X$	0,76	1,3

Tabela 9 - Análise de variância dos resíduos de clorotalonil em folhas de tomateiro.

FV	SQ	GL	MQ	F	P
Tratamentos	294999,9	2	147499,9	3623,9	0,001
Resíduo (a)	244,2	6	40,7		
Parcelas	295244,1	8			
Dias	237344,3	6	39557,3	284,5	0,001
Trat. x dias	32294,7	12	2691,2	19,3	0,001
Resíduo (b)	5003,9	36	138,9		
Total	569887,0	62

Figura 8 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas. Tratamento **A** (300 mL p.c./100 L água - uma aplicação).

Figura 9 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas. Tratamento **B** (600 mL p.c./100 L água - uma aplicação).

Figura 10 - Representação gráfica do comportamento dos resíduos de clorotalonil em folhas. Tratamento **C** (300 mL p.c./100 L água - quatro aplicações).

5. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos nas condições experimentais utilizadas, permitiu concluir que:

1- Os métodos de análises de resíduos empregados são viáveis para a determinação dos resíduos de clorotalonil em frutos e folhas de tomateiro, permitindo a quantificação de níveis residuais de até 0,05 e 0,1 mg/kg , respectivamente, nestes substratos;

2- Os resíduos de clorotalonil em frutos de tomate foram maiores nos tratamentos B (uma aplicação na dosagem de 600 mL p.c./100 L água). e C (quatro aplicações na dosagem de 300 mL p.c./100 L água), os quais não apresentaram diferenças estatísticas significativas até o 5º dia após aplicação. Os valores de meia-vida de degradação e persistência foram de 1,3 a 2,0 dias e de 9,9 a 12,9 dias, respectivamente;

3- Os resíduos de clorotalonil em frutos foram inferiores a tolerância oficial (1mg/kg), após o quinto dia de pulverização no tratamento A (uma aplicação na dosagem de 300 mL p.c./100 L água).

4- Os valores de meia-vida de degradação e de persistência de clorotalonil encontrados para as folhas de tomateiro são de 1,6 a 2,6 e de 10,7 a 11,7 dias, respectivamente. Sendo, portanto, de dissipação semelhante a dos frutos;

5- A ocorrência de resíduos de clorotalonil em folhas foi maior no tratamento C (quatro aplicações na dosagem de 300 mL p.c./100 L água).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSSON, A.; PALSHEDE, H. Multi-residue method for analysis of pesticides in fruit and vegetables using ethyl acetate extraction, GPC clean-up and GC determination. **Pesticide Analytical Methods in Sweden**. National Food Administration. Uppsala, v.17, p. 9-41, 1998.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/index.html> (12/12/2000)

BEDENDO, I.P.; KRÜGNER, T.L. Fungitoxicidade de Benomyl e Chlorothalonil a *Cylindrocladium pteridis* e a sua persistência após pulverização em folhas de *Eucalyptus cloeziana*. **Fitopatologia Brasileira**, v.12, n.3, p.236-239, Set. 1987.

BRASIL. **Legislação Federal de Agrotóxicos e Afins**. Brasília: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1998. 184 p.

BRUNHN, J. A. & FRY, W.E. A mathematical model of the spatial and temporal dynamics of chlorothalonil residues on potato foliage. **Phytopathology**, v.72, n.1306, p.189-195, 1982.

CABRAS, P.; CABITZA, F.; MELONI, M.; PARISI, F.M. Behaviour of some pesticide residues on greenhouse tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.33, p.935-937, 1985.

CAUX, P.Y.; KENT, R.A.; FAN, G.T.; STEPHENSON, G.L. Environmental fate and effects of chlorothalonil: a Canadian perspective. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.26, n.1, p.45-93, 1996.

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.

EPA - Environmental Protection Agency.

<http://www.epa.gov> (12/06/1998)

EVARISTO, A. Resíduos deslocáveis de metamidofós em cultura estaqueada de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Piracicaba, 1994. 55p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations.
<http://www.fao.org> (19/08/1998)

FERREIRA, L.H. Desenvolvimento de um novo sistema para extração com fluido supercrítico (SFE) e sua aplicação na análise de resíduos de

clorotalonil em alimentos. São Carlos, 1995. 92p. Dissertação (M.S.) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

FILGUEIRA, F.A.R. Tomate: a mais universal das hortaliças. **Manual de olericultura**, cultura e comercialização de hortaliças. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. cap.8, p.223-300.

FNP - CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual**, Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 1989, 441p.

FRANK, R.; BRAUN, H.E.; PITBLADO, R. Residues of nine insecticides and two fungicides in raw and processed tomatoes. **Journal of Food Protection**, Ontário, v.54, n.1, p.41-46, 1991.

FREEDMAN, B. **Environmental Ecology** :the impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. San Diego: Academic Press, 1989. 424p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649p.

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

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
<http://www.ibge.com.br> (20/02/2000)

LARA, W. A tolerância tem limites. **Ciência Hoje**, v.4, n.22, p.63-64, jan./fev. 1986.

LEE, S.M.; PAPATHAKIS, M.L.; FENG, H.M.C.; HUNTER, G.F.; CARR, J.E. Multipesticide residue method for fruits and vegetables: California Department of Food and Agriculture. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, n.339, p.376-383, 1991.

LONG, J.W.; SIEGEL, M.R. Mechanism of action and fate of the fungicide chlorothalonil (2,4,5,6-tetrachloroisophthalonitrile) in biological systems. **Chemical and Biological Interaction**, v.10, n.383, p. 145-155, 1975.

LYKKEN, L. Important considerations in collecting and preparing crop samples for residue analysis. **Residue Reviews**, New York, v.3, p.19-34, 1963.

MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. New York: Plenum Press, 1985. 598p.

MUKHERJEE, I.; GOPAL, M. Methodology for the estimation of chlorothalonil and its metabolite in mustard crop by gas liquid chromatography. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, n.351, p.590-591, 1995.

MULLA, M.S.; MIAN, L.S.; KAWECKI, J.A. Distribution, transport, and fate of the insecticides malathion and paration in the environment. **Residue Reviews**, v.81, p.1-48, 1981.

NAVARRO GARCIA, S.; CAMARA, M.A .; BARBA, A .; NAVARRO, S. Resíduos de inseticidas organofosforados en productos agrícolas de la

Región de Murcia destinados al mercado exterior. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v.28, n.2, p.211-220, 1988.

NEELY, D. Persistence of foliar protective fungicides. **Phytopathology**, v.60, p.1583-1586, 1970.

NORTHOVER, J.; RIPLEY, B.D. Persistence of chlorothalonil on grapes and its effect on disease control and fruit quality. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, vol.28, n.5, p.971-974, 1980.

OLIVEIRA, J.J.V.; TOLEDO, M.C.F. Degradação de clorotalonil e captan em morangos "in natura" estocados em geladeira (5°C). **Coletânea ITAL**, Campinas, v.26, n.1, p.103-110, jan./jun. 1996.

PIZANO, M.A. Resíduos de fenitrothion em frutos, folhas, solo e água de irrigação em cultura estaqueada de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Piracicaba, 1997. 115p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

PYLLYPIW, H.M.; ARSENAULT, T.L.; THETFORD, C.M.; MATTINA, M.J.I. Suitability of microwave-assisted extraction for multiresidue pesticide analysis of procedure. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, n.9, p.3522-3528, 1997.

RAETANO, C.G. Resíduos de fentoato e malation em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) determinados por cromatografia em fase gasosa. Piracicaba, 1991. 85p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

RIGITANO, R.L.O. Persistência de resíduos de methyl parathion e quinalphos em frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Ciência Prática**, v.6, n.1, p.63-70, 1982.

SANCES, F.V.; TOSCANO, N.C.; GASTON, L.K. Bush tomatoes show very low levels of pesticide residues. **California Agriculture**, v.46, n.5, p.17-20, Sep./Oct. 1992.

VALVERDE GARCIA, A.; GONZALES PRADAS, E.; AGUILERA DEL REAL, A.; URENA AMATE, M.D.; CAMACHO FERRE, F. Determination and degradation study of chlorothalonil residues in cucumbers, peppers and cherry tomatoes. **Acta Analytica Chimica**, Almeria, v.276, n.1, p.15-23, 1993.

VICENT, P.G.; SISLER, H.D. Mechanism of antifungal action of 2,4,5-tetrachloro-isophthalonitrile. **Physiology Plants**, v.21, n.1249, p.119-125, 1968.

ZHAO, L.; FAN, D.F. Gas chromatographic determination of chlorothalonil in leaves and roots of *Scrophularia* and in soil. **Journal of AOAC International**, v.79, n.2, p.587-588, 1996.