

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

**Efeito da radiação gama na degradação de pesticidas (azoxistrobin  
e carbendazim) em morango**

**Isabella Rocha Ciarrocchi**

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

**Piracicaba  
2021**

**Isabella Rocha Ciarrocchi  
Engenheira de Alimentos**

**Efeito da radiação gama na degradação de pesticidas (azoxistrobin e carbendazim) em morango**

versão revisada de acordo com a CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:

Profa. Dra. **MARTA HELENA FILLET SPOTO**

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

**Piracicaba  
2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**  
**DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Ciarrocchi, Isabella Rocha

Efeito da radiação gama na degradação de pesticidas (azoxistrobin e carbendazim) em morango / Isabella Rocha Ciarrocchi – versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - Piracicaba, 2021.

106 p.

Dissertação (Mestrado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Resíduos de fungicidas 2. Irradiação 3. Cromatografia 4. Fruta I.  
Título

## DEDICATÓRIA

Toda jornada de minha vida foi, é e sempre será dedicada a Deus.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades e pela sabedoria.

Às pessoas as quais sem elas eu nada seria, por todo apoio, paciência e amor que concederam durante minha jornada, minha mais sincera gratidão: meu noivo Affonso, meus pais Marilú e Alexandre e meus irmãos Júlia e Higor.

Às crianças da minha vida, que trouxeram alegria e leveza quando necessário: meu sobrinho Thor, meu primo Enzo e meu afilhado Benício.

À toda minha família, que sempre acreditou e me incentivou, vocês foram fundamentais.

Às minhas colegas de jornada de pós-graduação que muito me ensinaram e apoiaram: Gabriela, Marcella e Raquel.

À minha admirável orientadora, a qual foi uma mãe e amiga Professora Doutora Marta Spoto, obrigada por todo conhecimento profissional e pessoal transmitido ao longo desses anos.

Aos docentes e colaboradores do laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP (Centro de Energia Nuclear de Agricultura da USP) que cederam todo laboratório, estrutura, conhecimento e apoio durante o desenvolvimento da minha pesquisa: Professor Doutor Kássio Mendes, Professor Doutor Valdemar Tornisielo e Técnico Rodrigo Pimpinato.

Aos estagiários e pós-graduandos do Grupo de Pesquisa de Frutas e Hortaliças (GEFH) pelo companheirismo de sempre.

À colaboradora da USP Davilmar, por toda paciência e disposição em ajudar durante todos esses anos.

À CAPES e CNEN pelo auxílio financeiro.

São infinitas as pessoas que passam por nós e nos ajudam a nos tornamos alguém melhor, que colaboram com nosso desenvolvimento, com isso gostaria de agradecer a todos que já passaram por mim.

## EPÍGRAFE

*“Aqueles que se sentem satisfeitos sentam-se e nada fazem. Os insatisfeitos são os  
únicos benfeitores do mundo.”*

Walter S. Landor

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE TABELAS .....	11
LISTA DE ABREVIATURAS .....	12
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. OBJETIVOS .....	15
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	17
3.1. MORANGO .....	17
3.1.1. ORIGEM DO MORANGO .....	19
3.1.2. MERCADO NACIONAL E MUNDIAL .....	19
3.1.3. MORFOLOGIA DA PLANTA .....	21
3.1.4. PRODUÇÃO AGRÍCOLA DO MORANGO .....	26
3.1.5. QUALIDADE DO FRUTO .....	27
3.2. PESTICIDAS .....	31
3.3. PESTICIDAS SISTÊMICOS E NÃO SISTÊMICOS .....	32
3.2.2 CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS PESTICIDAS .....	33
3.2.3 CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA .....	37
3.2.4 PERICULOSIDADE AMBIENTAL .....	39
3.2.5 USO GLOBAL DE PESTICIDAS .....	40
3.2.6 IMPACTOS ASSOCIADOS AO USO DE PESTICIDAS .....	41
3.2.7 PROGRAMAS DE CONTROLE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS .....	47
3.2.8 REMOÇÃO DE PESTICIDAS EM PRODUTOS DE ORIGEM VEGETAL .....	55
3.8 IRRADIAÇÃO .....	58
3.8.2 RADIAÇÃO IONIZANTE E INTERAÇÃO COM ALIMENTOS .....	58
3.8.3 APLICAÇÃO DA IRRADIAÇÃO EM ALIMENTOS .....	63
3.8.4 DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS POR IRRADIAÇÃO .....	64
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	67
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	67
4.2 FUNGICIDAS E REAGENTES QUÍMICOS .....	67

4.3	AMOSTRAS.....	67
4.4	PREPARO DAS SOLUÇÕES .....	68
4.5	IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	68
4.6	EXTRAÇÃO .....	69
4.7	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS.....	70
4.8	QUANTIFICAÇÃO DOS FUNGICIDAS.....	71
4.9	RENDIMENTO DE RADIAÇÃO (VALOR G) .....	71
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA E RD50 .....	72
4.11	VALIDAÇÃO METODOLÓGICA .....	72
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
5.1.	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO .....	77
5.2.	DEGRADAÇÃO DOS FUNGICIDAS POR RADIAÇÃO GAMA.....	83
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	89
	REFERÊNCIAS .....	91



## RESUMO

### **Efeito da radiação gama na degradação de pesticidas (azoxistrobin e carbendazim) em morango**

O excesso de fungicidas pode causar muitos problemas à saúde humana. Portanto, são necessárias medidas para a degradação de resíduos desses fungicidas. No presente estudo, a eficiência da radiação gama (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 4,0 kGy) na decomposição dos níveis de carbendazim e azoxistrobina em morangos foi monitorada. Amostras de morango irradiadas foram submetidas à extração e quantificação de fungicidas usando o protocolo QuEChERS. A quantificação de carbendazim e azoxistrobina foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. As doses de radiação de 1,5, 2,0 e 4,0 kGy degradaram 13,17; 15,95 e 27,99% do carbendazim e 25,53; 32,32 e 56,70% da azoxistrobina, respectivamente. A determinação da dose de radiação necessária para diminuir os fungicidas em 50% (RD50) revelou que o carbendazim foi mais resistente do que a azoxistrobina à radiação gama.

Palavras-chave: Irradiação, Fungicidas, Descontaminação, Cromatografia, Fruta

## ABSTRACT

### **The effect of radiation gamma in degradation of pesticides (azoxystrobin and carbendazim) in strawberry**

Excess fungicides can trigger many human health problems. Hence, measures for the degradation of fungicide residues are needed. In the present study, the efficiency of gamma radiation (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 4.0 kGy) in the decomposition of carbendazim and azoxystrobin levels in strawberries was monitored. Irradiated strawberry samples were subjected to extraction and quantification using the QuEChERS protocol. Quantification of carbendazim and azoxystrobin was performed using high-performance liquid chromatography. The radiation doses of 1.5, 2.0, and 4.0 kGy resulted in 13.17, 15.95, and 27.99% of degradation of carbendazim and 25.53, 32.32, and 56.70% of azoxystrobin, respectively. Determination of the radiation dose required to decrease the fungicides by 50% (RD50) revealed that carbendazim was more resistant to gamma radiation than azoxystrobin.

Keywords: Irradiation, Fungicides, Decontamination, Chromatography, Fruit

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema radicular do morangueiro .....	22
Figura 2. Coroa do morangueiro .....	23
Figura 3. Folhas de morangueiro .....	23
Figura 4. Emissão de estolões.....	24
Figura 5. Flor do morangueiro e inflorescência do tipo cimeira .....	25
Figura 6. Infrutescência .....	26
Figura 7. Diferentes aparências de morango.....	28
Figura 8. Estruturas químicas de alguns compostos organoclorados.....	33
Figura 9. Estrutura química de alguns compostos organofosforados .....	35
Figura 10. Estruturas químicas de alguns piretróides sintéticos .....	37
Figura 11. Etapas para reclassificação toxicológica dos agrotóxicos (Resolução da diretoria colegiada da Anvisa).....	38
Figura 12. Classificação toxicológica dos agrotóxicos .....	39
Figura 13. Consumo de pesticidas por continentes .....	40
Figura 14. Crescente número de registros de pesticidas no Brasil em 15 anos .....	41
Figura 15. Interação de raios gama com a matéria .....	60
Figura 16. Componentes de um irradiador gama $^{60}\text{Co}$ típico.....	62
Figura 17. Extração dos analitos de interesse das amostras de morango .....	70
Figura 18. Curva de calibração de azoxistrobin e carbendazim .....	77
Figura 19. Injeção dos solventes .....	78
Figura 20. Injeção dos solventes diluídos na matriz de morango sem a fortificação .....	78
Figura 21. Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção.....	80
Figura 22. Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção.....	81
Figura 23. Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção.....	81
Figura 24. Degradação de carbendazim e azoxistrobin em morango após cinco doses de irradiação gama, além do controle. Os valores são representados pela média ( $n = 3$ ) e, em seguida, por +DP da média .....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional do morango .....	18
Tabela 2. Produção mundial de morangos em 2018.....	20
Tabela 3. Patógenos fúngicos em morango.....	30
Tabela 4. Classificação dos agrotóxicos segundo o organismo que controlam .....	32
Tabela 5. Classificação de periculosidade ambiental de pesticidas.....	40
Tabela 6. Características do fungicida azoxistrobin .....	51
Tabela 7. Características do fungicida carbendazim.....	53
Tabela 8. Tempo de exposição das amostras aos raios gamas.....	68
Tabela 9. Gradiente de proporção de fase.....	71
Tabela 10. Determinação de LQ e LQ dos fungicidas.....	79
Tabela 11. Porcentagem (%) de recuperação de azoxistrobin e carbendazim em morango .....	79
Tabela 12. Análise da reprodutibilidade do método analítico .....	82
Tabela 13. Análise da robustez do método analítico.....	82
Tabela 14. Valores G de acordo com a dosagem (kGy) usado para irradiar morangos contaminados com fungicidas .....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABRAS – Associação Brasileira de Supermercados  
ANVISA – Agência nacional de vigilância sanitária  
APS - The American Phytopathological  
AOP – Advanced oxidation processes  
CDC - Centros de Controle de Doenças  
EFSA – European Food Safety Authority  
EPA – Environmental Protection Agency  
FAO – Food and Agricultural Organization  
FDA - Food and Drug Administration  
BPA – Boas Práticas Agrícolas  
GHS - Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals  
IAEA - International Atomic Energy Agency  
IAIA - International Association for Impact Assessment  
IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis  
INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia  
MAPA - Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development  
OMS – Organização mundial da saúde  
PARA – Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos  
PNCRC - Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes  
PPDB – Pesticides Properties DataBase  
RAMA - programa de rastreabilidade e monitoramento de alimentos  
RDC – Resolução da diretoria colegiada  
USEPA - United States Environmental Protection Agency  
SNVS - Serviço Nacional de Vigilância Sanitária

## 1. INTRODUÇÃO

Órgão de saúde de todo mundo ressaltam a importância de aumentar a ingestão de frutas e hortaliças. No entanto, há preocupações com o aumento da exposição a resíduos de pesticidas, resultantes do aumento da ingestão desses alimentos (BHANTI; TANEJA, 2007; BOOBIS et al., 2008). Em frutas e hortaliças, os pesticidas são aplicados repetidamente durante o período de crescimento da planta e frutificação para melhorar o rendimento e a qualidade mercadológica do produto (SHARMA et al., 2010).

Os morangos têm uma vida útil muito curta após a colheita, principalmente por causa da rápida deterioração causada por fungos. Uma das formas de controlar esses problemas é a aplicação de fungicidas (OSHITA; JARDIM, 2012), como azoxistrobin e carbendazim. O azoxistrobin é um fungicida do grupo e estrobilurina (PPDB, 2020), e é amplamente utilizado para controlar a antracnose, a principal doença que ocorre durante o cultivo de morango (OSHITA; JARDIM, 2012).

O limiar toxicológico para preocupação com o azoxistrobin é alto (Classe III) de acordo com a classificação Cramer, que fornece uma indicação geral da toxicidade humana. O azoxistrobin é considerado um fungicida genotóxico, que pode causar mutações ou induzir alterações na sequência de nucleotídeos ou estrutura das fitas do DNA de um organismo vivo, além da toxicidade hepática (PPDB, 2020). Outro fungicida amplamente utilizado no Brasil é o carbendazim, metabólito da molécula de tiofanato metílico, que faz parte do grupo benzimidazol. A classificação toxicológica do carbendazim é alta (Classe III) de acordo com Cramer. Este fungicida é um possível cancerígeno devido ao aumento da produção de estrogênio e atividade de aromatase, além da toxicidade no fígado, onde a indução de enzimas hepáticas é evidenciada. Também é genotóxico e pode causar problemas reprodutivos e de desenvolvimento (PPDB 2020).

Devido à eficácia do carbendazim e da azoxistrobin no cultivo de morango, esses fungicidas são utilizados em abundância, resultando em culturas com resíduos acima dos limites máximos de resíduos permitidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil, onde as concentrações de agrotóxicos em alimentos são monitoradas por meio do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos Alimentares (PARA). Desde o início do PARA, resíduos de fungicidas em morangos têm sido detectados em nível muito elevado, atraindo a atenção dos

consumidores. Em 2014, um relatório publicado pelo PARA citou 157 amostras de morango analisadas, das quais apenas 43 amostras foram consideradas satisfatórias. Carbendazim e azoxistrobin foram os principais fungicidas, estando presentes em 80% das amostras. Dessas, 80 amostras continham carbendazim e 88 amostras continham azoxistrobina acima do limite máximo permitido (ANVISA, 2016). Das amostras contendo carbendazim ou azoxistrobina, 51% e 56%, respectivamente, foram insatisfatórias devido à concentração de resíduos de fungicidas presentes na fruta (ANVISA, 2016).

Estudos realizados para avaliar a operação de lavagem mostraram que esse procedimento não contribui totalmente para a redução da ingestão de resíduos de pesticidas contidos nos alimentos, consistindo principalmente de pesticidas sistêmicos (ABOU-ARAB, 1999; KROL et al., 2000). Conseqüentemente, novas técnicas de degradação foram estudadas, incluindo radiação gama (CHOWDHURY et al., 2014). Estudos realizados para medir a degradação de pesticidas em frutas (SHARMA et al., 2010; BASFAR et al., 2012; CHOWDHURY et al., 2014), grãos (LUCCHINI, 1995; ARMELIM et al., 2018), soluções aquosas (MOHAMED et al., 2009) e soluções orgânicas (CARP; LISKA; ZIEMER, 1972) por irradiação apresentaram resultados variando de zero à degradação total de agrotóxicos nesses produtos.

Atualmente, não há estudos publicados sobre irradiação para promover a degradação de agrotóxicos em morangos, justificando novas investigações para verificar a eficiência dessa técnica no fornecimento de alimentos adequados para o consumo humano. Em vista disso, o presente estudo avaliou a eficácia da radiação gama na degradação do carbendazim e do azoxistrobin em morangos.

## **2. OBJETIVOS**

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar a eficiência da radiação gama na degradação dos fungicidas azoxistrobin e carbendazim em morangos.

### **2.1. Objetivos específicos**

- Desenvolver metodologia de extração de azoxistrobin e carbendazim em morangos;
- Desenvolver metodologia de análise de extratos de azoxistrobin e carbendazim por cromatografia líquida;
- Validar metodologias desenvolvidas para extrair e quantificar azoxistrobin e carbendazim em morangos;
- Analisar o efeito da radiação gama na degradação de azoxistrobin e carbendazim em morangos fortificados com estes fungicidas;
- Determinar a dosagem de radiação necessária para que 50% (RD50) dos fungicidas sejam degradados.





### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Morango

As frutas são alimentos considerados essenciais para manutenção de uma dieta equilibrada e balanceada, pois, são as principais fontes de vitaminas e minerais (OPAS; OMS, 2003). Dentre as frutas que mais agradam os consumidores o morango se destaca, devido as suas características organolépticas atrativas, como sabor e aroma característicos e cor intensa avermelhada (REICHERT; MADAIL, 2003).

Apesar do morango ser comumente chamado de fruto, ele é na realidade um pseudofruto, pois os verdadeiros frutos dos morangueiros são os aquênios, conhecidos popularmente como semente, a polpa comestível é na realidade o receptáculo desses frutos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Seu padrão de respiração é classificado como não-climatérico, decorrente da diminuição gradativa da respiração, no qual não ocorre produção de etileno endógeno, por consequência não há o amadurecimento nem alterações das características sensoriais após a sua colheita (CANTILLANO, 2006; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Apesar disso, mesmo com a diminuição da taxa de respiração pós-colheita, a deterioração do fruto é rápida, devido ao seu alto teor de água e alto metabolismo (SANTOS et al., 2007; DIAS, 2007).

Além de suas características organolépticas atrativas, o morango também se destaca pela sua composição nutricional e química. É considerado uma fruta de baixo teor calórico, o qual contém 2,0% de fibras (pectina e outras fibras solúveis), 90,9% de água e 32 calorias em cada 100 g, além disso possui vitaminas, minerais e é também rico em frutose e sacarose e pobre em carboidratos (GIAMPIERI et al., 2012). Sua composição completa pode ser verificada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição nutricional do morango

<b>Componente</b>	<b>100g</b>
Água (g)	90,95
Valor energético (kcal)	32
Proteína (g)	0,67
Gordura total (g)	0,3
Carboidrato (g)	7,68
Fibra alimentar (g)	2
Monossacarídeos (g)	4,89
Cálcio (mg)	16
Ferro (mg)	0,41
Magnésio (mg)	13
Fósforo (mg)	24
Potássio (mg)	153
Sódio (mg)	1
Zinco (mg)	0,14
Vitamina C (mg)	58,8
Tiamina (mg)	0,024
Riboflavina (mg)	0,022
Niacina (mg)	0,386
Vitamina B6 (mg)	0,047
Ácido fólico (ug)	24
Vitamina A, retinol (ug)	1
Vitamina E, a-tocoferol (mg)	0,29
Vitamina k, fitoquinona (ug)	2,2

Fonte: Adaptado United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, 2017.

O pseudofruto possui grande poder antioxidante, associado aos seus compostos fenólicos e pigmentos, que são representados pelas antocianinas, metabólitos pertencentes à classe dos flavonoides (BORDIGNON et al., 2009). O morango também contém uma quantidade elevada de ácido elágico, um constituinte com propriedades anticancerígenas e antimutagênicas. Estudos relatam que por conta da variedade desses componentes naturais, o morango tem poder de atuar na prevenção de várias doenças e é considerado antioxidante, antineurodegenerativo, anticarcinogênico, antiinflamatório, laxativo, diurético e previne doenças coronarianas (HAKKINEN, 2000; SEERAM et al., 2006; ROCHA et al., 2008).

### 3.1.1. Origem do morango

Os primeiros registros de sementes de morango são do período Neolítico (10.000 a 6.000 a.C.) e da Idade dos Metais (5.000 a 4.000 a.C.), de acordo com sítios arqueológicos, existem indícios de que morangos silvestres foram consumidos na Pré-História pelos povos do centro e do norte da Europa. Outros registros são do século 13, do uso medicinal das suas folhas e no século 16 já era uma planta comum em jardins e hortas, utilizada como planta ornamental ou também para o consumo das frutas (GALLETA; BRINGHURST, 1990).

Atualmente, o morango cultivado (*Fragaria x ananassa*) formou-se da hibridização entre espécies americanas (*F. chiloensis* Mill. e *F. virginiana* Duch) na Europa. Devido ao isolamento geográfico por volta de 1750, a hibridização entre essas duas espécies não ocorreu nas Américas e sim na França, pois, eram cultivadas lado a lado (VAUGHAN; GEISSLER, 1997). As plantas ativas desse cruzamento davam frutos com polpa vermelha e de notável tamanho (JONES, 1995).

Sua origem no Brasil, não possui registros oficiais, mas informações extraoficiais sugerem que a introdução ocorreu aproximadamente em 1950, no sul do país, na cidade de Estiva que fica no Estado de Minas Gerais (EMBRAPA, 2016). Apesar de grandes incentivos para o cultivo se disseminar no Rio Grande do Sul (RS), a cultura de morando alcançou melhor desenvolvimento, a princípio, no estado de São Paulo, a partir dos anos 60 (DIAS et al., 2007). Já em meados dos anos 70, no Vale do Caí e na Serra Gaúcha, ambos no RS, a cultura recebeu grande impulso, fazendo com que no século XXI fosse uma das frutas de maior valor econômico da região (SANHUEZA et al., 2005). Um marco para expansão do cultivo no país, se deu por volta de 1980, a partir da inserção de novos cultivares e tecnologias (EMBRAPA, 2016).

### 3.1.2. Mercado nacional e mundial

De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations/Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2018), a produção mundial de morango é liderada pela China com uma expressiva produção de 2.955.453 toneladas, conforme ilustrado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Produção mundial de morangos em 2018

<b>País</b>	<b>Produção (Toneladas)</b>
China	2.955.453
Estados Unidos da América	1.296.272
México	653.639
Turquia	440.968
Egito	362.639
Espanha	344.679
Coréia do Sul	213.054
Rússia	199.000
Polônia	195.578
Japão	163.486
Marrocos	143.440
Alemanha	141.693
Brasil	3.481

Fonte: Adaptado de FAO (2018)

Os dados da Tabela 2 são divulgados pela FAO anualmente e relatam informações baseadas em dados oficiais, com exceção do Brasil, cujos dados são estimados (FAO, 2018). Uma possível justificativa, é que o último censo do IBGE divulgado foi no ano de 2006. O *site* eletrônico do IBGE não disponibiliza dados mais recentes sobre a produção nacional de morangos. Entretanto, de acordo com Musa (2016) a agência do IBGE de Lajeado/RS, repassou os dados contidos na Intranet local e relataram um número bem diferente do contido no último censo geral divulgado, cuja produção esperada para o ano de 2016 apenas em Lajeado seriam 12.263 toneladas e mais 545 toneladas para o município de Bom Princípio. Um estudo realizado em 2007 também aponta uma discrepância quanto aos dados de produção do Brasil, relatando que a produção nacional gira em torno de 100.000 toneladas ao ano (ANTUNES et al. 2007).

Em território nacional, a produção de morango encontra-se difundida em regiões de clima temperado e subtropical. A produção é quase toda voltada para o mercado interno, sendo cerca de 70% destinada ao consumo “in natura” e o restante é destinado para o processamento industrial, dividido entre polpa, geleia, calda, sucos, iogurtes, sorvetes e para indústria de doces em geral (AMARO, 2002).

De acordo com Oshita e Jardim (2012), devido ao alto consumo de morango em todo mundo a produção tem tendência de alta, porém, existem alguns fatores que dificultam o setor como a aquisição de mudas (24%), a incidência de pragas e

doenças (28%), o custo de embalagens (24%), o alto custo de produção (5%) e a necessidade de mão de obra (19%).

### **3.1.3. Morfologia da planta**

#### **3.1.3.1. Planta**

O morangueiro faz parte de uma grande e diversificada família, Rosaceae, e é considerado uma angiosperma. Dentro de sua família existem espécies produtoras de frutos como maçãs, pêssegos, amoras e framboesas (GALLETTA; BRINGHRUST, 1990; JONES, 1995).

A subfamília do morangueiro é a Rosoideae (DARROW, 1966; ESTADOS UNIDOS, 2006). As plantas do gênero *Fragaria* possuem uma grande variação funcional e de estrutura (QUEIROZ-VOLTAN et al., 1996). Por conta de suas variações, as espécies são caracterizadas de acordo com as diferenças morfológicas da folha, da planta e do fruto (CONTI; MINAMI; TAVARES, 2002).

#### **3.1.3.2. Sistema radicular**

As raízes do morangueiro são renovadas constantemente e podem atingir 60 cm de profundidade (PIRES; PASSOS; TANAKA, 1999). Entretanto, 95% delas se localizam nos primeiros 22 cm do solo (RONQUE, 1998).

O sistema radicular se divide em raízes primárias e secundárias. A primária tem a função de armazenar reservas, colaborando com a absorção de água e nutrientes. Elas são grandes e perenes. A secundária se divide em camadas superpostas (Figura 1). Estas são produzidas pelas raízes principais ou suas ramificações e têm curta duração (PIRES; PASSOS; TANAKA, 1999).

**Figura 1.** Sistema radicular do morangueiro



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

O processo de reposição radicular é muito importante para a sobrevivência da planta e ocorre graças a renovação constante das raízes durante o seu ciclo. Entretanto, a efetividade do processo depende da disponibilidade de água, patógenos nas raízes, translocação de fotoassimilados e aeração. Além da raiz servir como suporte, transportar água e nutrientes, ela tem como papel armazenar amido para o período de inverno ou período de dormência, sendo o amido estocado essencial para o florescimento e crescimento na primavera (RONQUE, 1998).

### **3.1.3.3. Caule**

A parte conhecida como coroa é que proporciona ao morangueiro adulto o seu aspecto tufoso, sendo o caule do morangueiro (Figura 2) um rizoma estolhoso, cilíndrico e retorcido (EMBRAPA, 2016).

**Figura 2.** Coroa do morangueiro



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

A coroa tem sua parte interna formada por células do parênquima que são vulneráveis ao frio intenso e danos físicos. Estudos evidenciam que plantas com uma quantidade razoável de coroas laterais são mais produtivas, portanto, é importante que todas as plantas desenvolvam (RONQUE, 1998).

#### **3.1.3.4. Folhas**

As folhas do morangueiro duram de 1 a 3 meses, podendo morrer antes em caso de doenças. Elas variam de textura, forma, pilosidade e espessura de acordo com a espécie (RONQUE, 1998). Geralmente são constituídas de pecíolo longo e de três folíolos (Figura 3) e sua coloração varia de verde clara a verde escura (QUEIROZ-VOLTAN et al., 1996).

**Figura 3.** Folhas de morangueiro



**Fonte:** EMBRAPA, 2016



Os folíolos das folhas do morangueiro são dentados e possuem muitos estômatos (de 300 a 400 estômatos por metro quadrado de folha). De acordo com Brazanti (1989) uma planta com dez folhas pode transpirar até meio litro de água por dia no verão. Quando uma folha murcha, os estômatos são fechados automaticamente (RONQUE, 1998).

As folhas estão diretamente ligadas a produção de frutos, uma vez que, quanto maior a área total de folhas das plantas do morangueiro, maior será sua produtividade (RONQUE, 1998).

### 3.1.3.5. Estolões

Na fase vegetativa, a multiplicação das plantas ocorre por meio dos estolões. Estolões são estruturas que se desenvolvem em contato com o solo, são longilíneas, flexíveis e possuem meristemas de crescimento nas extremidades, que concedem vida às novas plantas independentes, que se formam em séries (Figura 4). Durante o verão a produção de estolões é reduzida, pois, para seu desenvolvimento é desejável uma temperatura entre 22° e 24°C (RONQUE, 1998).

**Figura 4.** Emissão de estolões



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

### 3.1.3.6. Flores

Para que haja o florescimento é necessário que no processo de transformação da planta, ocorra a diferenciação do meristema vegetativo para o floral, dessa forma, aparecerão os componentes da flor (pétalas, estames, pistilos etc.) e não os órgãos vegetativos (caules, estolhos e folhas) (DUARTE FILHO et al., 1999).

A flor do morangueiro é na maioria das vezes hermafrodita, apenas em alguns raros casos as flores podem ser unissexuais masculinas ou femininas (BRANZANTI, 1989; RONQUE, 1998). Sua agrupação ocorre em inflorescência, ou seja, abre-se uma flor primeiro e depois os botões laterais vão se abrindo um de cada vez, acompanhando o desenvolvimento da inflorescência (Figura 5).

**Figura 5.** Flor do morangueiro e inflorescência do tipo cimeira



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

O primeiro fruto origina-se normalmente da primeira flor, o mais vigoroso de cada inflorescência (SILVA et al., 2011).

Aproximadamente 80% da polinização ocorre por insetos como vespas, moscas e abelhas, o pólen dura apenas 48 horas, sendo necessário uma temperatura perto de 15°C. Muitas vezes a polinização é ineficiente devido a alguns fatores como insuficiência ou ausência de agentes polinizadores (muitas vezes causadas pelo uso de pesticidas), esterilidade feminina das flores, insuficiência ou falta de pólen e prejuízos causados por insetos (DUARTE FILHO et al., 1999).

### 3.1.3.7. Frutos

Os frutos geralmente são confundidos com sementes, pois, são do tipo aquênio, diminutos, avermelhados ou amarelados, superficiais e duros (SILVA et al., 2011). Eles são originários dos óvulos, que estimulam o espessamento do receptáculo, o qual, uma vez tornado carnoso, constitui um pseudofruto ou infrutescência (Figura 6) (BRANZANTI, 1989). O tempo da polinização até a obtenção do fruto maduro, pode variar entre 20 e 50 dias, período que depende da temperatura ambiental e da viabilidade do pólen (EMBRAPA, 2016).

**Figura 6.** Infrutescência



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

De acordo com Ronque (1998), as interrupções do balanço hormonal durante a maturação do aquênio, assim como a fertilização incompleta ou até mesmo a morte dos aquênios podem acarretar problemas de má formação do pseudofruto.

### 3.1.4. Produção agrícola do morango

A escolha do sistema produtivo depende do perfil do agricultor e das exigências que mercado pretende alcançar (LIMA; CALEGARIO, 2011). Na implantação da cultura do morangueiro, o produtor deve levar em conta, entre outros aspectos, o nível tecnológico a ser adotado (SANTOS; MEDEIROS, 2005). O sistema de cultivo do morangueiro era tradicionalmente produzido no campo, porém, com o desenvolvimento do setor, passou a ser produzido também em

ambiente protegido especialmente em túneis, conhecidos também como estufas plásticas (ANTUNES et al., 2007).

Os túneis proporcionam vantagens em comparação com o cultivo sem proteção, como: colheita antecipada, maior produção e frutos de qualidade superior. Esses benefícios podem ser atribuídos a uma eficiente proteção da planta contra os fenômenos climáticos e do solo contra a lixiviação. Como principais desvantagens, tem-se: o elevado custo do plástico e o aumento da mão de obra ocupada com o manejo constante dos túneis (STRASSBURGER et al., 2009).

Na escolha do local para o plantio, devem ser considerados fatores edafoclimáticos, como tipo de solo, temperatura média do ar e fotoperíodo. De acordo com Figueira (2003), o morangueiro adapta-se a solos com alta fertilidade e com bom teor de matéria orgânica.

Para um adequado cultivo, o local deverá dispor de água para suprir a necessidade hídrica nos períodos mais críticos da cultura, em quantidade e qualidade adequadas. De acordo com Pires, Passos e Tanaka (1999), o excesso ou o déficit hídrico na produção de morango influencia diretamente a qualidade da fruta na pós-colheita.

Além disso, Ronque (1998) recomenda o plantio de morangueiro em áreas onde as culturas anteriores não tenham apresentado problemas fitossanitários comuns, principalmente as solanáceas, espécies hospedeiras de doenças, como a rizoctoniose, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani*, e a murcha das plantas, causada pelo fungo *Verticillium dahliae*. Também é recomendado esperar três anos para que se volte a plantar morangueiro na mesma área onde foi cultivado (RONQUE, 1998).

### **3.1.5 Qualidade do fruto**

A qualidade de frutas é um atributo de difícil definição, pois depende do objetivo de sua utilização, ou seja, é relacionada com o mercado de destino, se o consumo será *in natura* ou processado.

No morango, os pontos de qualidade a serem avaliados são: aparência (tamanho, forma e defeitos) (Figura 7), sabor e odor, relação açúcar/acidez, cor, textura e valor nutritivo. A maior parte desses atributos sofrem alterações em fase pós-colheita (CHITARRA, 1999).

**Figura 7.** Diferentes aparências de morango



**Fonte:** EMBRAPA, 2016

O sabor do morango, depende da relação ácidos orgânicos e teor de açúcares. Os ácidos são responsáveis pela regulação do pH celular, tendo uma influência direta na formação dos pigmentos, entre eles as antocianinas, responsáveis pela intensa coloração vermelha das frutas. Contudo, o teor de açúcares nas frutas está relacionado com a intensidade de luz incidente na planta e não depende nem da temperatura nem do fotoperíodo (EMBRAPA, 2016).

#### **3.1.4.1. Incidência de patógenos na produção de morango**

As plantas do morango, assim como, todas as frutas comerciais, podem ser danificadas por fatores biológicos, genéticos e ambientais, seja diretamente ou por interações entre esses fatores. Os morangueiros podem ser afetados por artrópodes, nematoides, fungos, bactérias e vírus (GARRIDO et al., 2011).

Esses patógenos causam danos nas folhas, raízes, coroas e frutas. A suscetibilidade do hospedeiro, o patógeno e condições ambientais favoráveis (temperatura, umidade) são os três principais fatores para o início e desenvolvimento de doença de planta (MAAS, 1998).

De acordo com Maas (1998), cada cultivar tem uma suscetibilidade a diferentes patógenos, portanto, as perdas geradas, econômicas ou não, são de diferentes escalas para cada região.

A The American Phytopathological Society (APS), organização mundial dedicada à pesquisa de controle e doenças, publicou uma lista dos tipos de danos mais comuns em morangueiros. De acordo com a publicação algumas espécies de fungos são capazes de causar danos na folha, raiz e fruta, enquanto outras espécies afetam apenas a fruta, como por exemplo o *Colletotrichum acutatum* responsável pela antracnose em folhas e frutos, podridão da coroa e mancha preta, enquanto *Botrytis cinerea* causa danos apenas à fruta (MAAS, 1998). As principais doenças causadas por fungos em morangueiros, pode ser visualizada na Tabela 3.

**Tabela 3.** Patógenos fúngicos em morango

<b>Gênero</b>	<b>Espécies</b>	<b>Doença</b>	<b>Referência</b>
<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	Mancha preta da folha	Ishii et al. (2009)
	<i>A. tenuissima</i>	Podridão de alternaria	Shafique et al. (2009)
<i>Armillaria</i>	<i>A. melea</i>	Podridão da coroa e da raiz	Produritti et al. (2009)
<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger</i>	Podridão de frutos	Chiotta et al. (2009)
<i>Botrytis</i>	<i>B. cinerea</i>	Molde cinza	Vallejo et al. (2022)
<i>Cladosporium</i>	ssp.	Podridão de frutos	Ruiz-Moyano et al. (2009)
<i>Cercospora</i>	<i>C. fragariae</i>	Mancha foliar	Maas (1998)
	<i>C. vexans</i>	Mancha foliar	Maas (1998)
<i>Coniotryium</i>	<i>C. fragariae</i>	Podridão da raiz negra	Douglas Gubler e Converse (1993)
	<i>C. fuckelli</i>	Podridão da raiz negra	Pertot et al. (2012)
<i>Fusarium</i>	<i>F. axysporum</i>	<i>Fusarium</i> murcha	Avis et al. (2009)
	<i>F. sambucinum</i>	Mancha de fruta	Hunter et al. (1974)
<i>Hainesia</i>	<i>H. ivhri</i>	Podridão da raiz negra	Converse (1973)
<i>Idriella</i>	<i>I. lunata</i>	Podridão da raiz de <i>Idriella</i>	Maas (1998)
<i>Mucor</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>Mucor</i> podridão da fruta	Hauke et al. (2004)
	<i>M. mucedo</i>	<i>Mucor</i> podridão da fruta	Hauke et al. (2004)
	<i>M. piriforme</i>	<i>Mucor</i> podridão da fruta	Hauke et al. (2004)
<i>Olpidium</i>	<i>O. louisinae</i>	Mancha roxa da folha	Maas (1998)
	<i>O. brassicae</i>	Infecção da raiz de <i>Olpidium</i>	Converse (1973)
<i>Penicillium</i>	<i>P. ciclópico</i>	Podridão da fruta <i>Penicillium</i>	Gutierrez et al. (2009)
	<i>P. expansum</i>	Podridão da fruta <i>Penicillium</i>	Liu et al. (2009)
	<i>P. frequentanos</i>	Podridão da fruta <i>Penicillium</i>	Redondo et al. (2009)
	<i>P. purprogenum</i>	mancha da fruta	Redondo et al. (2009)
<i>Phoma</i>	<i>P. lycopersici</i>	Podridão do caule da folha	Maas (1998)
	<i>P. terrestris</i>	Podridão da raiz de fungo cinza estéril	Converse (1973)
<i>Pichia</i>	<i>P. membranefaciens</i>	Podridão pós-colheita	Converse (1973)
	<i>P. subpelliculosa</i>	Podridão pós-colheita	Converse (1973)
<i>Rhizopus</i>	<i>R. stolonifer</i>	Podridão de <i>Rhizopus</i>	Maas (1998)

Vários fungos invadem as raízes primárias e atacam as raízes secundárias, impossibilitando a absorção de água e nutrientes. Já os patógenos foliares causam ferimentos nas folhas e pecíolos, e formam esporos, os quais podem ser disseminados pelo vento, chuva ou água de irrigação. Já as frutas podem ser afetadas por muitos gêneros de fungos, como *B. cinerea*, *Phytophthora cactorum* e *Colletotrichum* spp., o maior causador de deterioração em frutos do mundo. Estes também são responsáveis pelas grandes quantidades de fungicidas, utilizados para proteção de frutas de morango (NER, 2016). Como forma de combater as doenças, melhorar a produtividade e qualidade dos frutos, os pesticidas são mundialmente aplicados nas culturas.

### 3.2. Pesticidas

A Lei Federal nº 7.802, de 11/07/89, regulamentada pelo Decreto nº 98.816, no seu artigo 2, inciso I, define o termo “agrotóxicos” da seguinte forma:

Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento (BRASIL, 1989).

A palavra “agrotóxico” ao invés de “defensivo agrícola ou pesticida” é utilizada apenas no Brasil, sendo assim denominada com intuito de evidenciar a toxicidade desses produtos ao meio ambiente e à saúde humana.

Segundo a OMS (2005) e o Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos (OPAS/OMS, 1996) os pesticidas podem ser classificados de acordo com o propósito que são aplicados, sua natureza química e a toxicidade.

No contexto de produção agrária, pode-se dizer que três grupos são os mais utilizados, sendo eles: herbicidas, inseticidas e fungicidas. A classificação completa quanto ao organismo que controlam, pode ser verificada na Tabela 4.



**Tabela 4.** Classificação dos agrotóxicos segundo o organismo que controlam

<b>Grupo de pesticida</b>	<b>Peste controlada</b>
Acaricidas	Ácaros
Avicidas	Aves
Bactericidas	Bactérias
Carrapaticidas	Carrapatos
Columbicidas	Pombos
Cupinidas	Cupins
Formicidas	Formigas
Fungicidas	Fungos
Herbicidas	Ervas daninhas
Inseticidas	Insetos
Larvicidas	Larvas
Molusquicidas	Moluscos
Nematicidas	Vermes
Piolhidas	Piolhos
Pesticidas	Peixe
Predacidas	Vertebrados
Pulguicidas	Pulgas
Raticidas	Roedores

Fonte: MAAS (1998)

No quesito químico, a classificação pode ser quanto à origem: orgânico e inorgânicos; e quanto à estrutura química dos compostos. Os pesticidas inorgânicos são em sua maioria, extremamente tóxicos ao meio ambiente, seres humanos e animais, levando em consideração a dosagem necessária para sua eficiência como pesticida. Já os orgânicos surgiram a pós a descoberta da toxicidade dos sais inorgânicos. Dentre eles existem duas categorias: os de origem vegetal (à base de nicotina, piretrina, sabadina e rotenona) e os sintéticos (à base de carbamatos, clorados, fosforados, clorofosforados, entre outros) que constituem a maior classe dos pesticidas atualmente utilizados (ANDRÉA, 2000).

### **3.3. Pesticidas sistêmicos e não sistêmicos**

O modo de ação dos pesticidas pode ser classificado como sistêmico ou não sistêmico. Os pesticidas de contato sistêmico necessitam ser absorvidos pelas plantas ou animais, para que ocorra uma translocação até o objeto alvo, ou seja, os herbicidas sistêmicos penetram na planta pelas raízes, atingindo os caules, folhas e

frutos, ou seja, ocorre a penetração efetiva nos tecidos da planta e passando pelo sistema vascular para matar as pragas alvo (ABUBAKAR et al., 2019).

Já os não sistêmicos, também são conhecidos como agrotóxicos de contato, produzem o efeito desejado ao entrarem em contato com a praga, não é necessário que ocorra uma penetração na planta. Os pesticidas não sistêmicos devem entrar em contato físico com a praga para que ela seja ativa. O pesticida é absorvido pelas pragas através de sua epiderme durante o contato, resultando em morte por envenenamento. De acordo com Abubakar (2019) esses pesticidas não devem necessariamente serem absorvidos pela planta e, conseqüentemente, não devem ser transportados através do sistema vascular da planta.

### **3.2.2 Classificação química dos pesticidas**

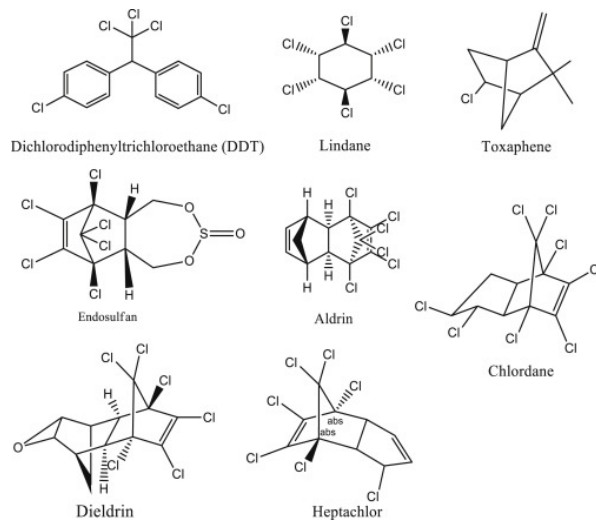
Quanto à estrutura química dos pesticidas, sua classificação fica subdividida em grupos, conforme descrito a seguir.

#### **Clorados**

Pesticidas organoclorados (também chamados de hidrocarbonetos clorados) são compostos orgânicos ligados a cinco ou mais átomos de cloro. Eles representam uma das primeiras categorias de pesticidas já sintetizados e são usados na agricultura. A maioria deles é geralmente usada como inseticida para o controle de uma ampla gama de insetos e têm efeito residual de longo prazo no meio ambiente (ABUBAKAR et al., 2019).

Esses inseticidas podem alterar o funcionamento adequado do sistema nervoso dos insetos levando a distúrbios, como convulsões e paralisia, seguidos de eventual morte. Exemplos comuns desses pesticidas incluem DDT, lindano, endosulfan, aldrin, dieldrin, heptacloro, toxafeno e clordano (Figura 8) Embora a produção e o uso de DDT tenham sido proibidos na maioria dos países desenvolvidos, incluindo os Estados Unidos, há muitos anos, ele ainda é produzido e usado na maioria dos países tropicais em desenvolvimento para o controle de vetores (TANO, 2011).

**Figura 8.** Estruturas químicas de alguns compostos organoclorados



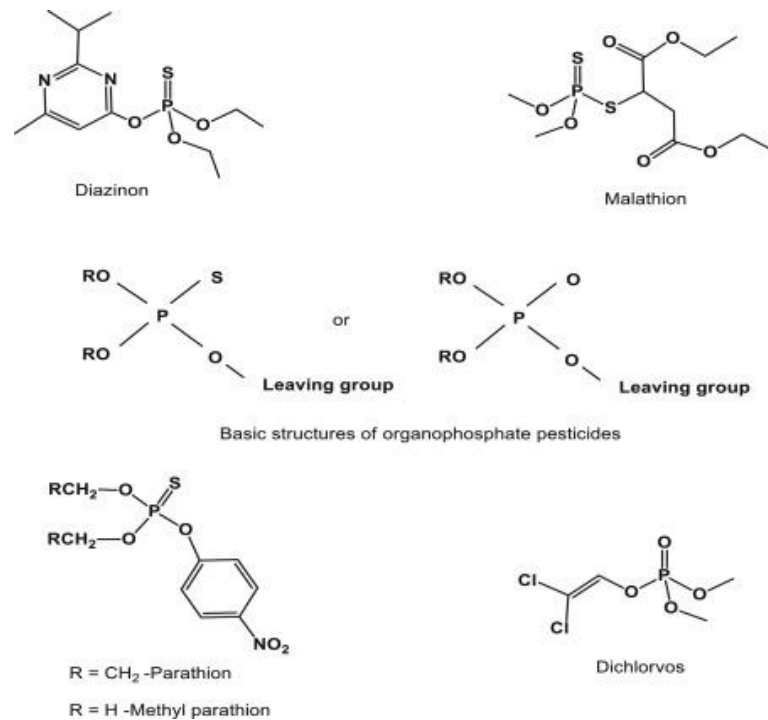
Fonte: PPDB, 2020.

## Fosforados

Os organofosforados são pesticidas derivados do ácido fosfórico (Figura 9), considerados um dos pesticidas de amplo espectro, consistindo de um grupo heterogêneo de produtos químicos, que controlam uma ampla gama de pragas, ervas daninhas ou doenças de plantas devido às suas múltiplas funções. Eles são inibidores da acetilcolina colinesterase, neurotransmissores perturbadores através de uma sinapse (GÁMIZ-GRACIA et al., 2005). Como resultado, os impulsos nervosos deixam de se mover através da sinapse, causando uma rápida contração dos músculos voluntários e, portanto, levando à paralisia, que está associada à morte.

Alguns dos inseticidas organofosforados amplamente usados incluem paration, malathion, diclorvos, diazinon e glifosato (Figura 9) Os compostos neste grupo são caracterizados por uma ligação covalente de carbono a ligação fosfato (C–P) substituída por uma de suas quatro ligações carbono a oxigênio a fósforo de éster de fosfato (WANNER; METCALF, 1992). A ligação direta C–P é descrita como química e termicamente inerte, tornando os compostos organofosforados resistentes a algumas condições drásticas, como hidrólise química, fotólise e decomposição térmica com compostos análogos caracterizados com N – P, S – P ou O mais reativo –P ligações.

**Figura 9.** Estrutura química de alguns compostos organofosforados



Fonte: PPDB, 2020.

## Fosfoclorados

Este grupo possui um éster de ácido fosfórico e outros ácidos a base de fósforo e em um dos radicais da molécula, além disso um ou mais átomo de cloro. Sua toxicidade é aguda, capaz de provocar morte imediata, atuando sobre a enzima fundamental do sistema nervoso (ANDRÉA, 2000).

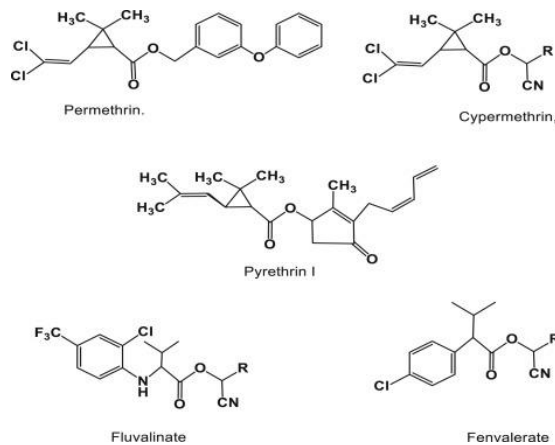
## Carbamatos

Carbamatos são pesticidas orgânicos derivados do ácido carbâmico. Isso inclui carbaril, carbofurano e aminocarbe (TANO, 2011). Eles são semelhantes em estrutura aos organofosforados. No entanto diferem de sua origem. Os organofosforados são derivados do ácido fosfórico, enquanto os carbamatos são derivados do ácido carbâmico. O princípio por trás do uso de pesticidas carbamatos é semelhante ao dos pesticidas organofosforados, afetando a transmissão de sinais nervosos, resultando na morte da praga por envenenamento (YADAV et al., 2015). Às vezes, eles também são usados como venenos estomacais e de contato, bem como fumigantes. Este pesticida pode ser facilmente degradado em ambiente

natural com poluição ambiental mínima, porém, ainda sim sua toxicidade pode ser alta.

### **Piretróides**

Os piretróides são compostos orgânicos isolados das flores naturais dos *piretros* (*Chrysanthemum coccineum* e *Chrysanthemum cinerariaefolium*). As propriedades inseticidas das piretrinas são devido aos ácidos piretróicos. Os piretróides afetam os canais de sódio e levam à paralisia do organismo. Os piretróides sintéticos mais amplamente usados incluem permetrina, cipermetrina, deltametrina, lettrina, furetrina, fenvalerato e alfaciperametrina. Os piretróides sintéticos também pertencem a este grupo de pesticidas, que podem ser sintetizados pela duplicação da estrutura das piretrinas de ocorrência natural. Relativamente, eles são mais estáveis e eficazes do que as piretrinas naturais. Os principais componentes ativos são a piretrina I e a piretrina II, além de pequenas quantidades das cinerinas e jasmolinas relacionadas. Os pesticidas piretróides sintéticos são altamente neurotóxicos para insetos e peixes, mas menos tóxicos para mamíferos e pássaros. A maioria dos inseticidas sintéticos não são persistentes e podem ser quebrados facilmente quando expostos à luz. Eles são considerados os inseticidas mais seguros para uso em alimentos. Os piretróides modernos se parecem ligeiramente com sua piretrina I (progenitor) e exercem um modo de ação diferente dos produtos naturais originais. Os pesticidas piretróides sintéticos comumente usados são cipermetrina, fenvalerato, fluvalinato, deltametrina, lettrina, furetrina e permetrina (Figura 10) (TANO, 2011).

**Figura 10.** Estruturas químicas de alguns piretróides sintéticos

Fonte: PPDB, 2020.

### Triazinas

São compostos utilizados amplamente no controle de ervas daninhas. As triazinas são altamente tóxicas e persistentes no meio ambiente. Principalmente na água, além disso são carcinogênicos para o homem segundo as pesquisas de Patussi e Bundchen (2012).

O Produto derivado da triazina mais utilizado mundialmente é a atrazina, sendo o herbicida mais utilizado no mundo. Seu mecanismo de ação é de amplo espectro (KUSSUMI, 2007).

#### 3.2.3 Classificação toxicológica

Em 2019, houve uma reclassificação toxicológica dos pesticidas no Brasil, isso ocorreu devido ao novo marco regulatório do setor mundial. O Brasil passou a adotar os parâmetros de classificação baseados nos padrões do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS). Com isso, o Brasil passou a ter regras harmonizadas com as de países da União Europeia e da Ásia, entre outros (ANVISA, 2018).

Com base na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 221, de 28 de março de 2018, as etapas para o processo de reavaliação toxicológica de ingredientes ativos de pesticidas com indícios de alteração dos riscos à saúde humana, de competência da Anvisa, estão descritas na figura 11.

**Figura 11.** Etapas para reclassificação toxicológica dos agrotóxicos (Resolução da diretoria colegiada da Anvisa)



**Fonte:** ANVISA, 2018

Seguido o fluxograma da Figura 11, o resultado da reavaliação é então submetido à apreciação da Diretoria Colegiada da Anvisa, que profere a decisão final sobre os riscos à saúde humana do agrotóxico reavaliado, que é publicada por meio de Resolução de Diretoria Colegiada – RDC (ANVISA, 2018).

De acordo com a nova classificação, os pesticidas poderão estar subdivididos em cinco classes, as quais estão demonstradas na Figura 12, junto aos níveis, os quais vão de extremamente tóxico a improvável de causar dano, as faixas são divididas por cores conforme a classificação.

**Figura 12.** Classificação toxicológica dos agrotóxicos

	CATEGORIA 1	CATEGORIA 2	CATEGORIA 3	CATEGORIA 4	CATEGORIA 5	NÃO CLASSIFICADO
	EXTREMAMENTE TÓXICO	ALTAMENTE TÓXICO	MODERAMENTE TÓXICO	POUCO TÓXICO	IMPROVÁVEL DE CAUSAR DANO AGUDO	NÃO CLASSIFICADO
<b>PICTOGRAMA</b>					Sem símbolo	Sem símbolo
<b>PALAVRA DE ADVERTÊNCIA</b>	PERIGO	PERIGO	PERIGO	CUIDADO	CUIDADO	Sem advertência
<b>CLASSE DE PERIGO</b>						
<b>Oral</b>	Fatal se ingerido	Fatal se ingerido	Tóxico se ingerido	Nocivo se ingerido	Pode ser perigoso se ingerido	-
<b>Dérmica</b>	Fatal em contato com a pele	Fatal em contato com a pele	Tóxico em contato com a pele	Nocivo em contato com a pele	Pode ser perigoso em contato com a pele	-
<b>Inalatória</b>	Fatal se inalado	Fatal se inalado	Tóxico se inalado	Nocivo se inalado	Pode ser perigoso se inalado	-
<b>COR DA FAIXA</b>	Vermelho PMS Red 199 C	Vermelho PMS Red 199 C	Amarelo PMS Yellow C	Azul PMS Blue 293 C	Azul PMS Blue 293 C	Verde PMS Green 347 C

Fonte: IBAMA, 2021

### 3.2.4 Periculosidade ambiental

No Brasil o órgão responsável pela classificação toxicológica dos pesticidas é o IBAMA (O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). De acordo com o IBAMA (2021) a avaliação ambiental se baseia em testes e estudos de escala laboratorial a campo e envolve áreas multidisciplinares: estatística, química, biologia, agronomia, pedologia, toxicologia, entre outras. Com base nas informações levantadas, são estabelecidas propriedades físico-químicas e eco toxicológicas da substância química, além de informações relativas à persistência, bioacumulação, transporte em solos nacionais e resíduos em matrizes ambientais, que subsidiarão o conhecimento do comportamento dos agrotóxicos nos diversos compartimentos do meio ambiente.

Essa regulação também envolve as atividades de reavaliação, controle e monitoramento, comercialização, fiscalização e comunicação de perigo e risco (IBAMA, 2021). Atualmente a classificação é dividida em quatro classes que vão de produto perigoso ao meio ambiente até produto altamente perigoso ao meio ambiente, conforme descrito na Tabela 5.



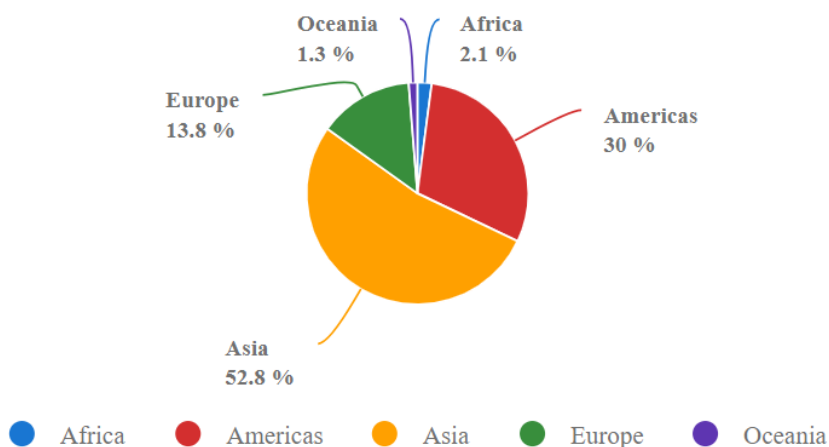
**Tabela 5.** Classificação de periculosidade ambiental de pesticidas

Classe	Descrição
I	Produto altamente perigoso ao meio ambiente
II	Produto muito perigoso ao meio ambiente
III	Produto perigoso ao meio ambiente
IV	Produto pouco perigoso ao meio ambiente

Fonte: IBAMA (2021)

### 3.2.5 Uso global de pesticidas

Desde o final da década de 1930, quando os pesticidas sintéticos orgânicos foram sintetizados, o consumo e as variedades de pesticidas em nível global aumentaram continuamente (PAN, 2012). De acordo com os dados mais recentes da Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO), a quantidade total de consumo de pesticidas no mundo aumentou de 2,3 milhões de toneladas em 1990 para 4,1 milhões de toneladas em 2018, sendo o maior consumo pelo continente europeu, como evidenciando na Figura 13 (FAO, 2019).

**Figura 13.** Consumo de pesticidas por continentes

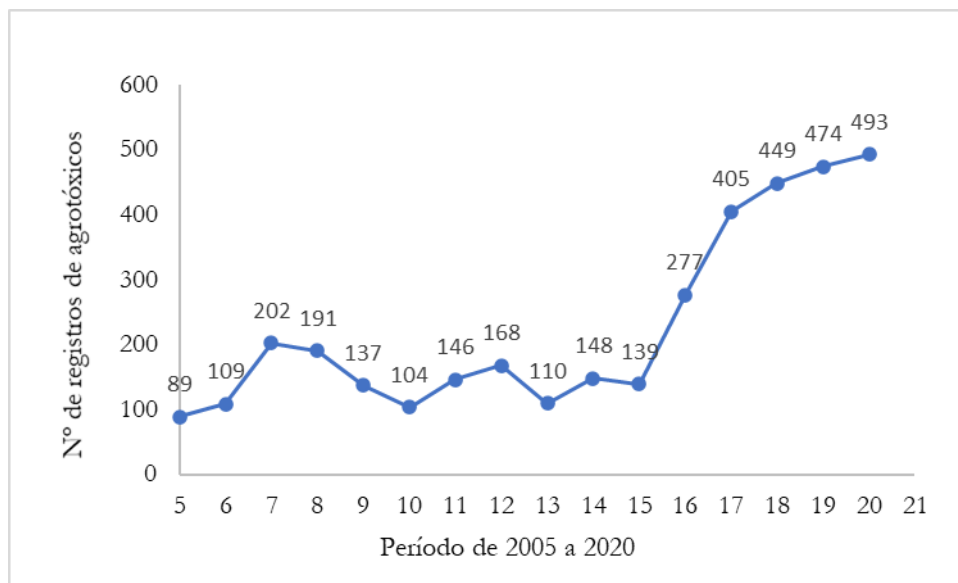
Fonte: FAO, 2019

Em termos de distribuição geográfica, a Ásia ocupa o primeiro lugar no consumo de pesticidas no mundo atualmente, seguida pela América do Norte. Quanto aos países, China, EUA, Brasil e Argentina são os maiores consumidores de

agrotóxicos do mundo, sendo o Brasil responsável pelo consumo de 377 mil toneladas de pesticidas em 2018 (FAO, 2019).

Um levantamento realizado por Ciarrocchi et al. (2020) evidenciou que o Brasil apresentou um aumento eminente no número de registros de agrotóxicos nos últimos 15 anos. Foi possível observar que houve um aumento de 554% no número total de registros de 2005 a 2020, conforme demonstrado na Figura 14.

**Figura 14.** Crescente número de registros de pesticidas no Brasil em 15 anos



**Fonte:** CIARROCHI, 2021

### 3.2.6 Impactos associados ao uso de pesticidas

Diversos problemas e consequências, sejam elas ambientais, sociais, biotecnológicas e de saúde pública são atreladas ao uso de pesticidas. O uso excessivo e descontrolado de pesticidas pode contaminar o solo, a água e a vegetação, eles ainda podem ser tóxicos para outros animais, como pássaros, peixes, abelhas, insetos benéficos, bem como plantas e animais não alvos, além de trazerem sérios problemas de saúde a trabalhadores rurais e à segurança dos alimentos.

### 3.2.6.1 Tipos de Impactos

Com base nas características dos impactos, sua natureza pode cair dentro de três classificações amplas, ou seja, direta, indireta e cumulativa. A avaliação de impactos diretos, indiretos e cumulativos não deve ser considerada isoladamente ou em fases separadas. Idealmente a avaliação de tais impactos deve ser parte integrante de todas as fases de avaliação de periculosidade (PARWEEN; JAN, 2020).

- **Impacto direto**

Os impactos diretos ocorrem por meio da interação direta de uma atividade com um componente ambiental, social ou econômico. Por exemplo, uma descarga da indústria de pesticidas ou efluente da Estação de Tratamento de Efluentes em um rio pode levar a um declínio na qualidade da água em termos de alta demanda bioquímica de oxigênio, oxigênio dissolvido ou aumento de toxinas da água (PARWEEN; JAN, 2020).

- **Impacto indireto**

De acordo com Parween e Jan (2020) os impactos indiretos são aqueles que não são um resultado imediato do ato da aplicação de pesticidas, mas sim aqueles gerados de acordo com o seu ciclo no meio ambiente. Os impactos indiretos também são conhecidos como secundários ou mesmo terciários. Por exemplo, o consumo de resíduos de pesticidas em alimentos de origem vegetal ou não é classificado como um impacto indireto.

- **Impacto cumulativo**

O impacto cumulativo consiste em um impacto que é criado como resultado da combinação de duas vertentes. Esses impactos ocorrem quando o impacto incremental do projeto é combinado com os efeitos do passado, presente ou futuro (PARWEEN; JAN, 2020). Por exemplo, ao aplicar um pesticida em determinada cultura e seguir as boas práticas agrícolas, assim como a instrução de dosagem do fabricante, o resíduo deste pesticida presente no produto, estará dentro do permitido, porém, se ao irrigar essa cultura com água que esteja contaminada com o

mesmo pesticida, a quantidade final de resíduo permitido no produto, não estará dentro das especificações, levando o consumidor a consumir uma quantidade além da permitida de resíduos.

### **3.2.6.2 Contaminação de águas superficiais e subterrâneas**

Os pesticidas podem atingir as fontes de água através do escoamento e lixiviação dos campos agrícolas. A contaminação dos mananciais é encontrada em todos os lugares do mundo. Um estudo feito pelo US Geological Survey (USGS) nas principais bacias hidrográficas dos EUA a meados dos anos 90 relataram vários resíduos de pesticidas em mais de 90% das amostras de água e peixes (KOLE; BANERJEE; BHATTACHARYYA, 2001). De acordo com o USGS, córregos urbanos continham mais pesticidas em comparação com riachos agrícolas (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009). Um estudo feito pelo governo do Reino Unido mostrou que as concentrações de pesticidas excederam ao admissível para água potável em algumas amostras de água de rio e lençol freático. Existem quatro rotas principais através das quais os pesticidas podem chegar a fontes de água; deriva para fora da área pretendida durante a pulverização, percolação ou lixiviação através do escoamento do solo e derramamento acidental (STATES OF JERSEY, 2007).

### **3.2.6.3 Contaminação do solo**

Os pesticidas têm muitos produtos de transformação e a persistência e movimento desses pesticidas e seus produtos é determinada por parâmetros como solubilidade em água, constante de absorção do solo ( $K_{oc}$ ), coeficiente de partição octano/água ( $K_{ow}$ ) e meia-vida no solo ( $DT_{50}$ ) (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009). A característica mais importante do solo, relacionada à absorção de pesticidas é o conteúdo de matéria orgânica (PARWEEN; JAN, 2020).

O conteúdo de matéria orgânica é diretamente proporcional à absorção de pesticidas e seus produtos. Pesticidas como Endrin, Endosulfan, Heptacloro, Lindano, Organoclorado e seus produtos são proibidos na agricultura, mas seus

resíduos ainda são encontrados no solo até os dias atuais (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009).

A aplicação de pesticidas no solo diminui a população microorganismos benéficos. O uso indiscriminado de produtos químicos pode aumentar o rendimento por alguns anos, mas depois de um tempo, será prejudicial aos microorganismos, os quais, ajudam a transformar o nitrogênio da atmosfera em nitratos que as plantas podem usar de forma benéfica, mas alguns herbicidas perturbam este processo. Por exemplo, o Triclopyr inibe a transformação de amônia em nitrito ao matar as bactérias do solo, o glifosato impede o crescimento e a atividade de bactérias fixadoras de nitrogênio no solo e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) reduz a fixação de nitrogênio (PELL; STENBERG; TORSTENSSON, 1998; SANTOS; FLORES, 1995).

#### **3.2.6.4 Contaminação do ar e impactos na vegetação não alvo**

Os pesticidas podem derivar ou volatilizar da área pulverizada e podem contaminar a atmosfera, solo, fontes de água e vegetação que não são alvos. Um estudo relatou que 80-90% dos pesticidas aplicados podem ser volatilizados dentro de alguns dias de aplicação e podem se espalhar por até cem milhas (MAJEWSKI, 2019).

Savonen (1997) demonstrou em sua pesquisa que pesticidas foram detectados na atmosfera em todas as áreas amostradas dos EUA. O glifosato por exemplo, quando disseminado para pontos não-alvos, pode reduzir severamente a qualidade de sementes e aumentar a suscetibilidade da planta a doenças (LOCKE; LANDIVAR; MOSELEY, 1995; BRAMMALL; HIGGINS, 1988).

#### **3.2.6.5 Impactos em organismos não-alvo**

A aplicação acidental de pesticidas também pode prejudicar plantas e animais variando de microrganismos benéficos do solo, insetos, plantas, peixes, pássaros e outros animais selvagens. Descobriu-se que cloropirifos mata peixes em cursos

d'água próximos a campos tratados nos EUA (US EPA, 2000). A trifluralina é considerada altamente tóxica para peixes de água fria e quente. Os herbicidas 2, 4-D causaram respostas fisiológicas ao estresse no salmão e reduziu a capacidade de coleta de alimentos da truta arco-íris (LITTLE et al., 1990).

Pesticidas podem matar abelhas e causar declínio na polinização por causa da colônia, causando uma desordem em que as abelhas operárias abruptamente desaparecem da colmeia (WELLS, 2007). Polinizadores como abelhas, pássaros e morcegos afetam 35 por cento da produção agrícola mundial, aumentando a produção de 87 principais safras de alimentos do mundo (UC, 2006).

Alguns pesticidas podem bioacumular no corpo de organismos que o consomem ao longo do tempo e são transferidos para níveis tróficos na cadeia alimentar. A exposição de ovos a herbicidas 2, 4-D reduziu a capacidade de incubação de ovos de galinha e causou esterilidade em filhotes de faisão (DUFFARD; TRAINI, 1981; LUTZ; LUTZ-OSTERTAG, 1972). Exposição de girinos a pesticidas causou metamorfose comportamental e anormalidades de crescimento, com diminuição da capacidade de capturar presas e evitar predadores. Herbicidas atrazina podem transformar sapos machos em hermafrodita e reduzem a capacidade de reprodução (UC, 2006).

### **3.2.6.6 Impactos dos pesticidas na saúde humana**

A exposição a pesticidas pode ocorrer diretamente do uso ocupacional, agrícola e doméstico, eles também podem ser transferidos indiretamente através da alimentação. As principais rotas de exposição humana a pesticidas são através da cadeia alimentar, ar, água, solo, flora e fauna (KIM; KABIR; JAHAN, 2017).

A corrente sanguínea é a forma como os pesticidas são distribuídos por todo corpo, mas podem ser excretados pela urina, pela pele e pelo ar exalado. Existem quatro maneiras comuns pelas quais os pesticidas podem entrar no corpo humano: via dérmica, oral, ocular e respiratória (DAMALAS; ELEFTHEROHORINOS, 2011).

A toxicidade dos produtos químicos e a duração da exposição determinam os efeitos dos pesticidas na saúde humana (LORENZ, 2009). De acordo com a OMS, a

cada ano cerca de 3.000.000 de casos de envenenamento por pesticidas e 220.000 mortes são relatados em países em desenvolvimento (LAH, 2011). As crianças são mais suscetíveis aos pesticidas, pois têm sistema imunológico mais fraco do que os adultos, assim como idosos, gestantes e pessoas imunologicamente comprometidas (KIM; KABIR; JAHAN, 2017).

Os pesticidas podem causar diversos efeitos, como irritação leve na pele, defeitos congênitos, tumores, alteração genética, distúrbio nervoso, desregulação endócrina e finalmente coma ou morte (LORENZ, 2009). A exposição a pesticidas pode afetar o sistema nervoso, como perda de coordenação e memória, redução da capacidade visual, redução da sinalização motora; causar dano ao sistema imunológico; e hipersensibilidade, asma e alergias (LAH, 2011; CULLINEY et al., 1992). Além disso, a presença de pesticidas no corpo humano afeta a capacidade de reprodução, alterando os níveis de hormônios femininos e masculinos relacionados à reprodução (MAHMOOD et al., 2016).

Evidências científicas emergentes sugerem que o diabetes é afetado pela exposição a poluentes ambientais. A exposição a pesticidas, particularmente organoclorados e metabólitos, é suspeita de conferir um risco maior de desenvolver diabetes tipo 2 e suas comorbidades. Azandjeme (2013) observou associação positiva entre diabetes e concentrações séricas de vários poluentes e pesticidas organoclorados.

Estudos epidemiológicos sugerem que a exposição ocupacional a pesticidas pode aumentar o risco de doença de Parkinson (DP). Um estudo francês realizado em base populacional (133 casos e 298 controles) examinou aspectos quantitativos da exposição ocupacional a pesticidas em relação à doença. Foi evidenciado que a exposição a pesticidas estava diretamente associada à doença de Parkinson. Em outra pesquisa, foi relatada uma relação entre a DP e o uso de certos pesticidas (paraquat, rotenona e maneb), inseticidas (organofosforados e três piretróides) e fungicidas (tiofanato metílico, fenhexamida e ciprodinil). Foi também relatado que a exposição crônica a metais e pesticidas está associada ao desenvolvimento de DP em uma idade mais jovem em relação a pacientes sem histórico familiar da doença (MOISAN, 2015).

Ratner et al. (2015) demonstram que a maioria dos pesticidas, incluindo componentes organofosforados, afetam o sistema reprodutor masculino por mecanismos como redução de atividades, inibição da espermatogênese, redução dos pesos dos testículos, dano ao DNA espermático e aumento anormal do esperma.

Um grupo de pesquisadores constatou um aumento nos casos de incidências de anomalias congênitas, puberdade tardia, retardo mental, aborto e câncer nas áreas disseminadas com endosulfan na Índia (ADITHYA, 2009).

A maioria dos vegetais vendidos são cultivados por agricultores independentes que definem seu próprio protocolo para a dose de pesticida, sendo indiferente à recomendação padrão que coloca os consumidores em alto risco de comprar uma quantidade significativamente alta de resíduos de pesticidas. Em comparação com os cereais, a aplicação mais pesada de pesticidas é encontrada em frutas e hortaliças até 90% do total de pesticidas (ATREYA; SITAULA, 2011). Um grupo de pesquisadores descobriu que as medidas de segurança usadas pelos fazendeiros não eram satisfatórias; além disso, havia negligência nas medidas de segurança durante o armazenamento, manuseio e aplicação de agrotóxicos, por parte dos agricultores que estavam cientes dos efeitos negativos sobre os agrotóxicos (BHANDARI et al., 2020).

Com base nos impactos causados pelo consumo excessivo de agrotóxicos, países como Brasil, EUA, Dinamarca, Argentina, Irlanda, Nova Zelândia, Austrália, França e outros, criaram programas de controles de resíduos de pesticidas em alimentos.

### **3.2.7 Programas de controle de resíduos de pesticidas em alimentos**

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 diária aceitável (IDA) na dieta de resíduos de pesticida através de produtos alimentícios.



Três programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal estão em vigor no Brasil, visando avaliar o cumprimento dos LMR nacionais, são eles: o Programa de Análise de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (PARA), coordenado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), coordenado pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Programa de Rastreabilidade e Monitoramento de Alimentos (RAMA), coordenado pela ABRAS – Associação Brasileira de Supermercados (ANVISA, 2016; MAPA, 2020; ABRAS, 2018).

O Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA é uma ação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela Anvisa que opera junto com órgãos estaduais e municipais de vigilância sanitária e laboratórios estaduais de saúde pública, sendo o precursor da ocorrência de resíduos de pesticidas em alimentos. O PARA foi criado em 2001, com o objetivo de construir um serviço para avaliar e impulsionar a segurança dos alimentos em relação aos resíduos de agrotóxicos. O projeto transformou-se em programa em 2003, através da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 119 de 19 de maio de 2003, e passou a ser realizado anualmente no âmbito do Serviço Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) (ANVISA, 2016).

De acordo com a Anvisa (2014) o programa colabora com a segurança do alimento, orientando as cadeias produtivas sobre as inconformidades existentes em seu processo produtivo e incentivando a adoção das Boas Práticas Agrícolas (BPA). Os resultados do programa viabilizam a verificação dos alimentos comercializados no varejo, informando se os mesmos possuem níveis de resíduos de agrotóxicos dentro dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos pela Anvisa; confere se os agrotóxicos utilizados estão devidamente registrados no país e se foram aplicados somente nos alimentos para os quais estão autorizados; estima a exposição da população a resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal e, conseqüentemente, avalia o risco à saúde decorrente dessa exposição (ANVISA, 2016).

Os resultados visam também refinar a avaliação da exposição aos resíduos de agrotóxicos presentes nos alimentos e subsidiam as decisões do processo de

reavaliação de ingredientes ativos, quando é necessária a adoção de medidas restritivas a agrotóxicos que possam trazer risco para a saúde da população. Os resultados permitem ainda traçar um diagnóstico da utilização de agrotóxicos nos alimentos de origem vegetal abrangidos pelo programa. De modo consequente, são fornecidos subsídios ao Poder Público para a implementação de ações de natureza regulatória, fiscalizatória e educativa. Adicionalmente, os resultados têm impulsionado ações mitigatórias realizadas pelas Vigilâncias Sanitárias (Visa) Estaduais e Municipais, bem como fomentam parcerias locais para o controle do uso de agrotóxicos (ANVISA, 2014).

### **3.2.7.1 Resultado do Programa PARA em morango**

O principal programa de monitoramento de resíduos de agrotóxicos no Brasil o PARA, divulgou seus últimos resultados nos anos de 2016 e 2019, referente aos anos de 2013 a 2015 e 2016 a 2018, respectivamente. Dentre os resultados divulgados, o morango se destacou negativamente, porém, a fruta só foi analisada no período de 2013 a 2015

Os três anos em que houve coleta de amostras de morango (2013, 2014 e 2015), foram recolhidas 157 amostras de comércio varejistas nos 26 estados brasileiros, mais o distrito federal. Destas, apenas 27% foram consideradas satisfatórias, sendo que duas amostras não apresentaram resíduos dos agrotóxicos pesquisados e 41 apresentaram resíduos em concentrações iguais ou inferiores ao LMR. No total, foram detectados 48 agrotóxicos diferentes dentre os 165 pesquisados.

Carbendazim e azoxistrobina foram os principais fungicidas, estando presentes em 80% das amostras, destas 51% e 56%, respectivamente, foram insatisfatórias devido à concentração de resíduo de fungicida presente na fruta, ou seja, estavam acima do LMR (ANVISA, 2016).

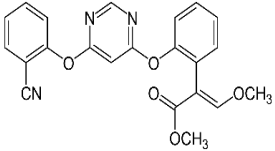
O alto uso dos fungicidas carbendazim e azoxistrobina é justificável pela alta eficácia no tratamento de fungos, que são recorrentes em morangueiros devido a suas características físico-químicas. Tais resultados evidenciam a necessidade de averiguar formas de neutralizar o consumo desses ingredientes ativos, uma vez que eles podem ser prejudiciais à saúde do consumidor.

### 3.7.2.1.1 Azoxistrobina

Azoxistrobin ou azoxistrobina é um fungicida de largo espectro que é aprovado para utilização a nível da União Europeia. Ele é um fungicida sistêmico, utilizado em pulverizações preferencialmente preventivas, para o controle das doenças da parte aérea das culturas. Como a maioria das estrobilurinas, o mecanismo de ação do azoxistrobina ocorre por meio da inibição da respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, no sítio de oxidação do ubiquinol (Qo) do complexo III, interferindo na produção de adenosina trifosfato, energia vital para as células (RODRIGUES, 2009).

O fungicida possui uma baixa solubilidade aquosa, não volátil e pode ser lixiviado para as águas subterrâneas sob certas condições. Pode ser persistente no solo e em sistemas de água se as condições forem adequadas. É extremamente irritante para a pele e os olhos. É moderadamente tóxico para aves, vida aquática, abelhas e minhocas (PPDB, 2020). Informações adicionais referentes à molécula, podem ser observadas na Tabela 6.

**Tabela 6.** Características do fungicida azoxistrobin

Atributo	Azoxistrobina
Estrutura molecular	 <p>The chemical structure of Azoxistrobin consists of a central pyrimidopyrimidinone ring system. It is substituted with a 4-cyanophenyl group at the 2-position, a 4-(2-methoxy-3-(2-methoxyvinyl)phenyl)oxy group at the 4-position, and a 4-methoxyphenyl group at the 6-position.</p>
Fórmula molecular	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>
Classe	Fungicida
Grupo químico	Estrobilurina
Massa molecular (g/mol)	403,4
Solubilidade em água (20°C e pH 7)	6,7 mg/L
Coeficiente de partição octanol-água - Log P (20°C e pH 7)	2,5 (baixo)
Constante de dissociação (pKa) at 25°C	Não dissociado (neutro)
Pressão de vapor a 25°C (mPa)	1,10 X 10 <sup>-07</sup>

Fonte: PPDB (2020).

De acordo com a Anvisa (2008), o limite de resíduo máximo permitido de azoxistrobin é 0,30 mg/kg de morango, o intervalo de segurança é de um dia e sua ingestão diária aceitável é de 0,02 mg/kg de peso corpóreo. Sua classificação toxicológica está na classe III, ou seja, o ingrediente ativo é considerado moderadamente tóxico, estando na classificação amarela da Anvisa. Além disso é considerado um produto muito perigoso ao meio ambiente, sendo sua periculosidade classificada no nível II, de acordo com o Ibama. Seu tempo de meia via é considerado moderadamente persistente, possuindo um DT<sub>50</sub> de 78 dias (ANVISA, 2008; PPDB, 2020).

O azoxistrobina é considerado um fungicida genotóxico que pode causar mutações ou induzir alterações na sequência de nucleotídeos ou estrutura de fita dupla do DNA de um organismo vivo, além de apresentar uma toxicidade hepática

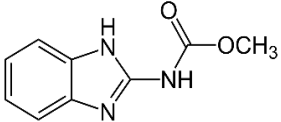
(PPDB, 2020). Estudos recentes têm mostrado que o fungicida contribui para a desregulação endócrina (JIANG et al., 2018), associada ao comprometimento da fertilidade e reprodução do peixe-zebra (CAO et al., 2019). Além disso, o azoxistrobin também demonstrou afetar o desenvolvimento embrionário (JIANG et al., 2018) induzindo disfunção mitocondrial e ativando vias de sinalização de apoptose por espécies reativas de oxigênio (ROS) (CAO et al., 2019; JIANG et al., 2018; KUMAR et al., 2020). Em geral, os resultados apontam para a apoptose induzida por estresse oxidativo como os possíveis mecanismos subjacentes à toxicidade da azoxistrobina, conforme observado em outros modelos aquáticos (OLSVIK et al., 2010, LIU et al., 2012).

#### **3.7.2.1.2 Carbendazim**

Carbendazim é um fungicida metabólito de tiofanato metílico, que não é aprovado para uso em diversos países, porém, aprovado para uso no Brasil. Além disso, no Brasil, o carbendazim foi o décimo ingrediente ativo de agrotóxicos mais vendido em 2009 (IBAMA, 2010) e de acordo com a Anvisa (2016) é o principal fungicida utilizado de forma irregular, ou seja, é detectado tanto em lavouras não autorizadas, quanto acima dos níveis máximos de resíduos permitidos. É um fungicida sistêmico de amplo espectro que controla uma gama de patógenos, possui atividade curativa e protetora, atua na formação de microtúbulos mitóticos durante a mitose, afetando o crescimento e a divisão dos esporos (PMRA, 2011). É também utilizado como conservante na indústria de tintas, têxteis, papel e couro.

O fungicida tem uma baixa solubilidade aquosa, é volátil e moderadamente móvel. É moderadamente persistente no solo e pode ser muito persistente em sistemas de água sob certas condições. O carbendazim tem baixa toxicidade em mamíferos e provavelmente não bioacumula. É, no entanto, relatado como tóxico para reprodução e desenvolvimento. É moderadamente tóxico para as abelhas e a maioria dos organismos aquáticos. As características físicas e químicas do carbendazim são apresentadas na Tabela 7 (PPDB 2020).

**Tabela 7.** Características do fungicida carbendazim

Atributo	Carbendazim
Estrutura molecular	
Fórmula molecular	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
Classe	Fungicida
Grupo químico	Benzimidazol
Massa molecular (g/mol)	191,21
Solubilidade em água (20°C e pH 7)	8,0 mg/L
Coeficiente de partição octanol-água - Log P (20°C and pH 7)	1,48 (baixa)
Constante de dissociação (pKa) at 25°C	4,2
Pressão de vapor a 25°C (mPa)	0,09

Fonte: PPDB (2020).

Apesar de liberado no Brasil, o carbendazim não é liberado para cultura de morango, mas foi detectado em todos os anos em que foi analisado pelo PARA. De acordo com a monografia do ingrediente ativo, ele é liberado apenas para região foliar de algodão, cevada, citros, feijão, maçã, milho, soja e trigo e para sementes de algodão, arroz, feijão, milho e soja. A concentração permitida varia de 0,1 a 5mg/kg, seu intervalo de segurança também varia de acordo com a cultura de 14 a 35 dias. Sua ingestão diária aceitável é de 0,02 mg/kg de peso corpóreo. Assim como o azoxistrobin sua classificação toxicológica está na classe III, ou seja, o ingrediente ativo é considerado moderadamente tóxico, estando na classificação amarela da Anvisa (ANVISA, 2002). Além disso é considerado um produto perigoso ao meio ambiente, sendo sua periculosidade classificada no nível III. Seu tempo de meia vida é considerado moderadamente persistente, possuindo um DT<sub>50</sub> de 40 dias (PPDB, 2020).

O carbendazim foi considerado mutagênico e tóxico para a reprodução e para desenvolvimento pelas principais autoridades regulatórias internacionais (PMRA,

2011; EFSA, 2010; APVMA, 2012; USEPA, 2014). Foi proibido na União Europeia (EFSA, 2010) ao ser classificado como 1B para toxicidade reprodutiva e mutagenicidade de acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Substância Químicas (GHS – Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals). Nos EUA, não há aprovação para uso agrícola, sendo autorizado apenas para uso em plantas ornamentais e como preservativo industrial (USEPA, 2014). No Canadá, o Carbendazim também é aprovado exclusivamente para uso não agrícola como preservativo industrial e para uso em espécies de olmo, representando risco mínimo para trabalhadores e meio ambiente (PMRA, 2011). Já na Austrália (APVMA, 2012), houve a manutenção do uso agrícola para várias culturas, mas com restrições após a reavaliação (proibição do uso em plantas ornamentais, gramados, uva, drupas, maçã e pera).

Um estudo relatou que o carbendazim foi capaz de alterar os níveis de vários hormônios, como testosterona, LH, FSH, GnRH e T3. Além das mudanças nos níveis hormonais, que nem sempre são detectados devido a *loops de feedback* compensatório, há um estudo que descreve que os efeitos reprodutivos (diminuição dos espermatozoides) e do desenvolvimento embrionário do carbendazim poderiam ser revertidos pela administração de um antagonista de andrógeno (LU et al., 2004).

Há também pesquisas *in vitro* sugerindo que o carbendazim poderia estimular a feminização inadequada *in vivo* pela indução da aromatase, que sintetiza o estrogênio a partir do androgênio por hidroxilação (MORINAGA et al., 2004). Além disso, foi evidenciado que o carbendazim causa efeitos adversos graves interagindo com a  $\beta$ -tubulina e interrompendo a polimerização apropriada dos microtúbulos, que é um evento essencial para muitas etapas da espermatogênese. Em primeiro lugar, durante a mitose e meiose, a interação de carbendazim com  $\beta$ -tubulina prejudica uma segregação adequada dos cromossomos. Como resultado, os estudos mostram espermatozoides ou células imaturas com aberrações cromossômicas numéricas. A inibição da espermatogênese, diminuição da fertilidade observada em muitos estudos pode ser uma consequência deste efeito primário. Além disso, as anormalidades e perdas de gravidez observadas em mulheres (GRAY et al., 1990) também podem ser uma consequência da poliploidia do esperma. O efeito na segregação cromossômica já é uma etapa crucial para a inibição da espermatogênese causada pelo carbendazim e, conseqüentemente, produz

espermatozoides com aberrações cromossômicas numéricas que podem levar tanto à embriofetalidade quanto a malformações embriofetais.

Um estudo apontou com base numa análise estatística de parâmetros eletrônicos obtidos por cálculos de química quântica, que o fungicida carbendazim e seus metabólitos são indicados como potencialmente carcinogênicos (RAMA et al., 2014), além disso ele já é considerado como carcinogênico pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA - United States Environmental Protection Agency) a qual detectou que o mesmo leva ao aumento de produção de estrogênio e atividade de aromatase (PPDB, 2020).

A USEPA (2014) classificou o Carbendazim como possível carcinogênico humano, com base nos tumores hepáticos observados em camundongos fêmeas e em seu potencial aneugênico e derivou uma dose de referência de 0,0116 mg/kg pc/dia. A PMRA (2011) também considera que o Carbendazim produz tumores hepáticos e nos ovários de camundongos fêmeas.

A EFSA (2010) concluiu que os estudos de toxicidade reprodutiva em ratos mostram que o Carbendazim provoca infertilidade em machos, pois reduz a quantidade de espermatozoides, provoca atrofia testicular e afeta a espermatogênese. Já a USEPA (2014) observou degeneração testicular em estudos crônicos e subcrônicos em ratos e, embora não exista estudo específico para reprodução considerado adequado e conduzido conforme Diretriz da OECD, concluiu-se que os estudos disponíveis indicaram efeitos sobre a reprodução como liberação prematura de células germinativas e atrofia dos túbulos seminíferos.

### **3.2.8 Remoção de pesticidas em produtos de origem vegetal**

Dentre as diferentes vias de exposição a agrotóxicos, a mais provável é por meio do consumo direto de alimentos *in natura*. As questões de segurança de alimentos associadas a resíduos de pesticidas incluem doenças, mortes, *recalls* de produtos, falências de indústrias, perdas de empregos, perdas econômicas gerais e tensão nas relações internacionais (AL-NASIR et al., 2020; LIU et al., 2020). Como tal, existe uma demanda significativa por métodos de limpeza eficazes que podem remover ou reduzir significativamente o pesticida residual a um nível seguro com impactos mínimos na qualidade do produto.



Atualmente, existem muitos relatos na literatura sobre o impacto da lavagem nos resíduos de pesticidas em produtos agrícolas. A eficiência de remoção de resíduos de pesticidas é afetada principalmente pelas propriedades físicas e químicas dos pesticidas, como a solubilidade dos pesticidas, pressão de vapor e a forma de lavagem, como a solução de lavagem, temperatura e tempo (YANG et al., 2017). Deltametrina, L-cialotrina, espirodioxifeno, indol, acetamiprida, imidacloprida e benzoato de emamectina foram positivamente correlacionados com a solubilidade em água, hidrólise e ponto de degradação, e foram negativamente correlacionados com o peso molecular e ponto de fusão dos pesticidas (YANG et al., 2017).

O efeito da lavagem com água sobre os resíduos de pesticidas também é afetado pela frequência da aplicação de pesticidas no processo de crescimento da própria planta. Wanwimolruk et al. (2017) coletaram 100 amostras de tomate do mercado e em todas as amostras foram detectados resíduos de pesticidas. A taxa de LMR excedendo o padrão foi de 82%. A lavagem com água não reduziu significativamente os resíduos de pesticidas nos tomates. Os pesticidas com um coeficiente de partição octanol-água mais alto têm maior probabilidade de serem adsorvidos no pericarpo dos frutos. A epiderme das folhas da planta é uma estrutura muito complexa. A cutícula está localizada na parte externa da parede das células epidérmicas. A composição química do revestimento cuticular é variada, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. Com o passar do tempo, alguns pesticidas de absorção interna penetram na camada cerosa da epiderme dos frutos, principalmente os pesticidas que agem de modo sistêmico (GUARDIA-RUBIO et al., 2007).

Alguns pesquisadores estudaram a limpeza da água eletrolítica oxidada em pesticidas. Por exemplo, os efeitos de remoção com ácido forte, álcali forte e água eletrolítica oxidante sobre os resíduos de pesticidas, são notavelmente melhores do que a remoção com água corrente e detergentes. Além disso, o uso de ácido forte, álcali ou água de oxidação eletrolítica não afeta o teor de vitaminas dos vegetais (HAO et al., 2011). Embora a água oxidada com ácido forte ou alcalino possa limpar os pesticidas da superfície das frutas e vegetais, a eletrólise da água oxidada requer o uso de quantidades consideráveis de eletricidade, resultando em aumento dos custos de produção.

A maioria dos pesticidas permanece principalmente na epiderme de produtos agrícolas, e o descascamento pode reduzir rapidamente seus resíduos. Os métodos

de peeling são usados principalmente na produção: peeling químico (principalmente peeling de soda cáustica), peeling mecânico, peeling a vapor e peeling por congelamento (CUCCURULLO; GIORDANO, 2017; WANG et al., 2018). A remoção de resíduos de agrotóxicos de produtos agrícolas por meio do descascamento está principalmente relacionada às propriedades dos agrotóxicos. A maioria dos inseticidas ou fungicidas lipofílicos aplicados diretamente a frutas e hortaliças tem movimento ou permeação mínima na camada cerosa da epiderme (HODAIFA et al., 2018). Como o resíduo de pesticida é absorvido pela camada cerosa, o descascamento pode removê-lo. Fernandez-Cruz et al. (2004) estudaram o efeito do descascamento sobre a fenitrotona em caquis e descobriram que o descascamento remove 92% dos pesticidas. Porém, para alguns produtos de origem vegetal não é viável o descascamento antes do consumo, primeiro pelo fato da maior parte de nutrientes se encontrar na casca de alguns frutos e outros por inviabilidade, como é o caso do morango, cuja casca se resume em uma película.

A extração é um procedimento fundamental na produção de suco de frutas em casa e na indústria. A remoção de resíduos de pesticidas no suco depende principalmente da distribuição de pesticidas, e os resíduos após a compressão contêm grandes quantidades de resíduos de pesticidas (HENDAWI et al., 2019). A principal razão é que a concentração de resíduos de pesticidas aumenta após a remoção com água. Para pesticidas com alta solubilidade em água, hidrofobicidade e polaridade, eles tendem a permanecer no suco, enquanto os pesticidas médios ou fortemente lipofílicos dificilmente se transferem para o suco. A taxa de remoção de resíduos de pesticidas após a compressão está relacionada às etapas e se contém pericarpo. Como o processo de suco comercial usa principalmente concentrados de suco, há mais resíduos no suco. Portanto, o conteúdo de resíduos de pesticidas em sucos concentrados de frutas pode ser maior do que em sucos clarificados (HENDAWI et al., 2019).

A esterilização pode ser eficaz ou não na remoção dos pesticidas. Como esses métodos de esterilização envolvem mudanças de temperatura, alguns pesticidas termo sensíveis podem ser facilmente hidrolisados e, portanto, o resíduo de pesticidas nos alimentos pode ser substancialmente reduzido, mas podem levar a uma certa quantidade de perda de água no processo de esterilização. Isso pode aumentar alguns resíduos de pesticidas termoestáveis (BALINOVA; MLADENOVA; SHTEREVA, 2006).

Diante no cenário de constante aumento da utilização de pesticidas e da não descoberta de métodos 100% eficazes na remoção de todas as suas classes em alimentos, a demanda por estudos de novas tecnologias para degradação dos compostos são necessários.

### **3.8 Irradiação**

A irradiação é um dos processos de oxidação avançada (AOPs) mais poderosos, onde emprega um feixe de elétrons acelerados ou radiação gama para diversas finalidades, sendo uma tecnologia de grande importância para indústria alimentícia. Atualmente alguns estudos vêm evidenciando seu potencial para degradação de compostos químicos em alimentos, embalagens e águas.

#### **3.8.2 Radiação ionizante e interação com alimentos**

A aplicação de radiação ionizante em alimentos, conhecida como irradiação de alimentos, é uma das várias tecnologias não térmicas amplamente utilizadas para tratar diversos tipos de alimentos.

A interação da radiação ionizante com os alimentos é complexa e o tratamento de um tipo de alimento não se aplica necessariamente a outros alimentos. O tipo, tamanho e estado físico do alimento ditam o tipo de processo usado para uma aplicação específica para garantir que os atributos físicos, químicos e organolépticos do produto alimentício sejam preservados (MOREIRA, 2004). Portanto, a irradiação de alimentos tem sido amplamente estudada desde a década de 1960 e é considerada segura pela Organização Mundial da Saúde (OMS), Organização para Alimentos e Agricultura (FAO) das Nações Unidas, Departamento de Agricultura dos EUA (USDA), Food and Drug Administration (FDA) e os Centros de Controle de Doenças (CDC), entre outras organizações relevantes. Em 1980, o Comitê Conjunto de Especialistas da FAO e OMS trataram sobre a Salubridade dos Alimentos Irrradiados e concluiu-se que, quando feito com tecnologia apropriada, o alimento irradiado com dose de até 10 kG não requer mais testes para sua segurança (MOLINS, 2001).

A radiação ionizante existe na forma de partículas com carga energética ou fótons. O termo “radiação ionizante” refere-se a toda radiação com energia suficiente para produzir ionização na matéria (AQUINO, 2012). À medida que a energia eletromagnética viaja pelo espaço, ela interage com a matéria e passa por ela. A irradiação de alimentos envolve o uso de quantidades controladas de radiação ionizante para ionizar os átomos ou moléculas dos alimentos para atingir a meta de processamento desejada.

Existem vários tipos de radiação ionizante: raios X, elétrons, nêutrons, partículas alfa e raios gama (MILLER, 2015). O tipo de radiação usado no processamento de alimentos é limitado a raios gama e elétrons de alta energia (elétrons acelerados), produzidos por aceleradores de elétrons na forma de feixes eletrônicos. Os raios x são pouco usados para alimentos devido à sua baixa produtividade, são mais usados para fins hospitalares, por isso não vão ser estudados nesse trabalho.

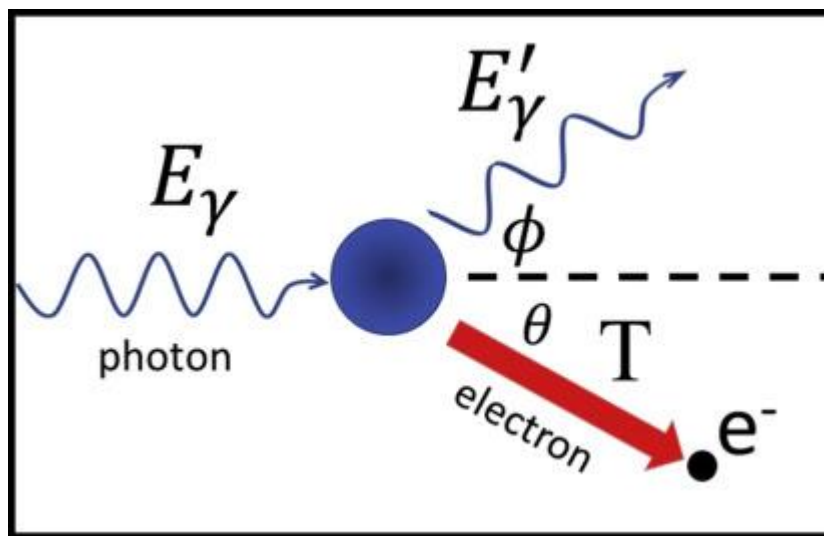
As propriedades e efeitos dos raios gama e dos elétrons acelerados nos materiais são os mesmos, mas suas origens são diferentes: os elétrons acelerados são gerados por máquinas, enquanto os raios gama vêm da desintegração espontânea de radionuclídeos como cobalto-60 ( $\text{Co}^{60}$ ), sendo o mais comumente utilizado em aplicações de processamento de alimentos. Os raios gama possuem comprimento de onda muito curto, alta frequência de radiação eletromagnética e elevada capacidade de penetração (1 m ou mais dependendo da densidade do produto), enquanto a profundidade de penetração dos feixes de elétrons acelerados é limitada (cerca de 8cm para feixes de alta energia a 10 MeV). A energia usada na irradiação de alimentos varia de 1000 elétron-volts (eV) a cerca de 30 MeV (MILLER, 2015)

As interações dos raios gama ou elétrons acelerados com a matéria consistem quase inteiramente em ionização gerando elétrons secundários e fótons de energias mais baixas (ATTIX, 1986). Esses fótons sofrem outras interações, produzindo assim o chamado efeito em cascata.

As principais interações pelos os raios gama ( $\text{Co}^{60}$  ou  $\text{Cs}^{137}$ ) são devido ao efeito Compton, no qual os fótons são espalhados e os elétrons secundários são

expulsos dos átomos (Figura 15). Tanto o fóton espalhado quanto o elétron secundário emergem em vários ângulos, cada um com energia cinética inferior à do fóton incidente. Este processo predomina em energias de fótons entre 0,05 e 10 MeV em meios de baixo número atômico, como a água (ATTIX, 1986; IAEA, 2002). Outras interações são o efeito fotoelétrico e a produção de pares de íons (IAEA, 2002).

**Figura 15.** Interação de raios gama com a matéria



**Fonte:** AQUINO, 2012

Os raios gama transferem energia para os materiais alimentares irradiados em dois estágios: (a) na superfície do alimento via efeito Compton, que coloca elétrons secundários (de alta energia) em movimento; e (b) dentro do alimento, transferindo a energia desses elétrons secundários para o produto por meio da excitação e ionização dos átomos do meio (ATTIX, 1986).

Nos irradiadores de Cobalto-60 ( $^{60}\text{Co}$ ) os raios gama são formados da desintegração desse elemento, cujos isótopos radioativos são produzidos em um reator de energia nuclear pelo bombardeamento de  $^{59}\text{Co}$  (metal) com nêutrons rápidos em condições devidamente protegidas, geralmente subaquáticos. Nesse processo, o cobalto 59 recebe um nêutron e, conseqüentemente, aumenta o seu número de massa, se transformando em cobalto-60, produto instável que libera energia na forma de raios gama para se tornar um elemento estável. Essa energia é

que é utilizada para tratar o alimento ou produto, com os mais variados propósitos: descontaminação, desinfestação etc. (MCLAUGHLIN et al., 1989; AQUINO, 2012).

O Cobalto-60 é a fonte de radiação gama mais comumente usada hoje em dia para irradiação de alimentos, por diversos fatores: a) segurança – o radioisótopo é um metal, sólido, que pode ser armazenado tanto em ambiente seco, protegido por uma grossa camada de chumbo (8 cm de espessura) ou em uma piscina com 10 metros de profundidade de água, para barrar a irradiação quando essa fonte não está sendo usada; b) capacidade ou rendimento de irradiação - devido à elevada energia de seus raios gama (dois fótons de 1,33 MeV e 1,17 MeV) a radiação gama adquire uma alta penetrabilidade, podendo irradiar alimentos embalados de várias espessuras e densidades; c) meia-vida bastante longa (5,27 anos para  $^{60}\text{Co}$ ), ou seja, o cobalto-60 leva mais de 5 anos para reduzir sua capacidade de irradiação pela metade. O  $^{137}\text{Césio}$ , ao contrário do cobalto-60, é um sal, e como tal, não pode ser armazenado em ambiente aquoso, o que encarece o custo de sua blindagem. Portanto, é limitado laboratórios de pesquisa, que irradiam produtos em pequena escala, para experimentos (IAEA, 2002).

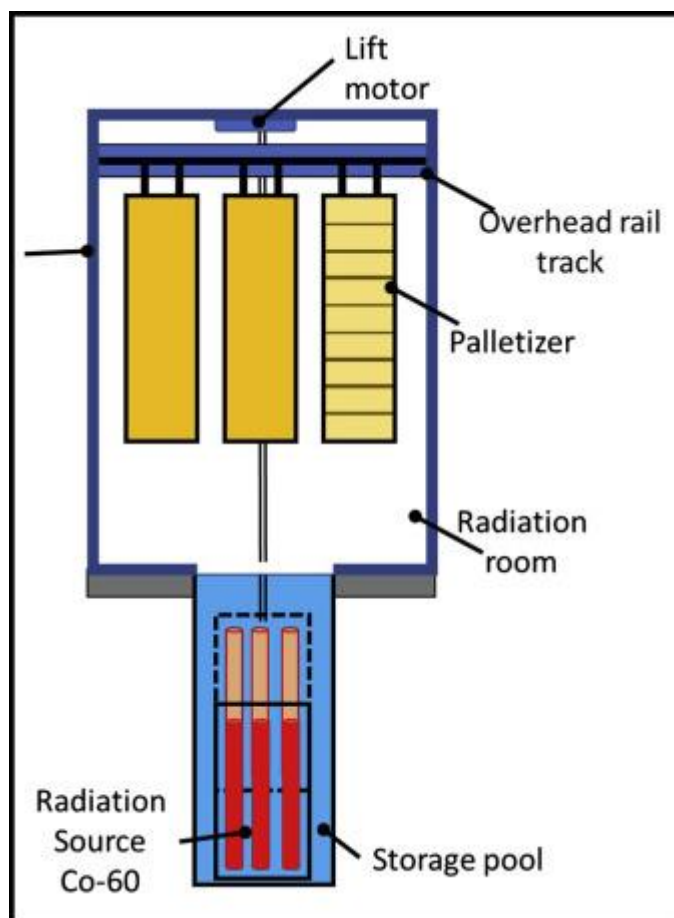
A instalação de um irradiador de cobalto-60 consiste em um *container* de armazenamento blindado (seco ou úmido) para o armazenamento da fonte de radiação, um mecanismo de içamento de fonte, uma blindagem de radiação em torno da sala de irradiação, uma sala de controle, recipientes de produto, um sistema de transporte do produto através do labirinto de blindagem, um sistema de intertravamento de segurança e controle, áreas para carga e descarga de produtos e equipamento de serviço de apoio (SZCZAWIŃSKA, 2017; CRAVEN et al., 2018).

A fonte radioativa de  $^{60}\text{Co}$  é composta de pequenas pastilhas de cobalto que são carregadas em tubos selados de aço inoxidável ou liga de zircônio (arranjos de tubos que contêm as pastilhas). Os tubos são colocados em uma matriz anular ao redor da câmara do irradiador, o que produz uma distribuição de dose relativamente uniforme (MCLAUGHLIN et al., 1989).

A fonte de radiação gama ( $^{60}\text{Co}$ ) pode ser armazenada na água, nesse caso, os tubos contendo as pastilhas de cobalto 60 são fixos em uma grade, a qual fica submersa em uma piscina de 6 metros de profundidade para barrar os raios gama

enquanto essa fonte não está operando. Quando o paletizador entra na sala por um trilho suspenso, a grade com as fontes de radiação é elevada acima da água para irradiar o produto. Uma vez que o produto foi irradiado, a fonte é baixada de volta para o fundo da piscina. Paredes espessas de concreto ou aço e tetos protegem os trabalhadores e o público quando as fontes são levantadas (Figura 16) (MOREIRA; CASTELL-PEREZ, 2021).

**Figura 16.** Componentes de um irradiador gama  $^{60}\text{Co}$  típico



**Fonte:** AQUINO, 2012

Quando expostos à radiação ionizante, os principais componentes dos alimentos são minimamente afetados em doses baixas e médias (LOAHARANU, 2003; MILLER, 2015). Carboidratos, como amido, açúcar e celulose, degradam-se em açúcares, ácidos de açúcar e cetonas, como acontece com a hidrólise comum, e apenas altas doses induzem perda de textura e amolecimento dos tecidos da parede celular da planta. Da mesma forma, apenas uma pequena fração de quebra de proteínas ocorre quando o alimento é irradiado. Na verdade, a degradação de

proteínas de alimentos musculares irradiados é consideravelmente menor do que quando tratados com vapor (LOAHARANU, 2003; CABO VERDE et al., 2018). O efeito da radiação ionizante sobre os lipídios tem sido relacionado à oxidação dos mesmos (DONNELLY; ROBINSON, 1995; SILVA et al., 2011), especialmente das gorduras insaturadas. No entanto, o processo pode ser atrasado, por exemplo, irradiando alimentos embalados em vácuo ou em atmosfera modificada (KILCAST, 1995).

Em relação aos micronutrientes, apenas a tiamina (vitamina B1) é altamente sensível à radiação ionizante, o que causa um problema ao irradiar alimentos com alto teor de tiamina como a carne de porco. Outras vitaminas como o ácido ascórbico (vitamina C) podem interagir com os radicais regenerados durante a irradiação e perder sua potência (MILLER, 2015). No entanto, irradiar o alimento em temperatura mais baixa na ausência de oxigênio mantém intacta a potência das vitaminas antioxidantes. Em resumo, a salubridade dos alimentos é mantida quando irradiados no nível de dose e temperatura apropriadas (MOREIRA; CASTELL-PEREZ, 2021).

### **3.8.3 Aplicação da irradiação em alimentos**

As aplicações de irradiação de alimentos são geralmente classificadas pelo nível de dose aplicada. Em geral, quando a dose é inferior a 1 kGy, é denominado processo de irradiação de baixa dose. Quando a dose varia entre 1 e 10 kGy, é um processo de dose média, e quando a dose é superior a 10 kGy, é considerado um processo de irradiação de alta dose (LOAHARANU, 2003; MILLER, 2015). Esses processos têm sido estudados e regulamentados de maneira bastante abrangente por organizações internacionais e regionais.

Exemplos de aplicações de baixa dosagem (<1 kGy) incluem a inibição de brotos em batatas, cebolas e outros tubérculos, atraso no amadurecimento de frutas e desinfestação de insetos, também conhecida como irradiação fitossanitária (HALLMAN; LOAHARANU, 2016; CABO VERDE, 2018). Nestes processos, a irradiação é utilizada como medida de controle e não para esterilização.



A germinação pode ser inibida pela aplicação de irradiação na faixa de dose de 20-150Gy. O amadurecimento dos frutos pode ser retardado quando irradiados com doses abaixo de 1 kGy. A desinfestação de insetos é alcançada na faixa de dose entre 0,2 e 0,4 kGy (HALLMAN, 2011; KALYANI; MANJULA, 2014). Para o tratamento de quarentena de frutas e vegetais contra moscas-das-frutas, uma dose mínima absorvida de 150 Gy é recomendada, enquanto uma dose mínima de 300 Gy poderia evitar que insetos de outras espécies se estabelecessem em áreas não infestadas (ICGFI, 1991). Outras espécies podem exigir doses mais altas de até 500 Gy (HALLMAN; LOAHARANU, 2016).

Outras aplicações de irradiação com baixa dose incluem saneamento de ovos (ALVAREZ; RIDENOUR; SABATINI, 2007 ; KIM; KABIR; JAHAN, 2017), tratamento de produtos frescos (PRAKASH et al., 2000; NIEMIRA; FAN, 2006) e inativação de parasitas (KALYANI; MANJULA, 2014).

Aplicações de dose média (1–10 kGy) visam o controle de patógenos e extensão da vida útil de carnes, aves, peixes, laticínios (1–7 kGy) e produtos frescos (1 kGy) e irradiação de especiarias e alimentos secos (HALLMAN, 2011; MILLER, 2015).

Por outro lado, apesar da irradiação de alimentos ter sido estudada por muitos cientistas, apenas alguns focaram no efeito da irradiação gama na remoção de resíduos de pesticidas de alimentos de origem vegetal, sendo a maioria dos estudos destinados à degradação dos pesticidas por radiação gama em água e embalagens (ARMELIM et al., 2018; CHOWDHURY et al., 2014; COSTA; TORNISIELO; WALDER, 2001; BASFAR; MOHAMED; AL-SAQER, 2012; MOHAMED et al., 2009; MORI et al., 2006).

#### **3.8.4 Degradação de compostos por irradiação**

Várias técnicas pertencentes ao grupo dos processos de oxidação avançados têm demonstrado possuir eficiência na remoção de uma ampla variedade de poluentes orgânicos recalcitrantes de matrizes contaminadas. O desenvolvimento de metodologias de tratamento de água e efluentes promissoras e eficazes, baseadas

na geração *in-situ* de espécies radicais altamente reativas e oxidantes (ROS), gerou grande atenção científica.

Os radicais produzidos (principalmente radicais hidroxila) interagem com as moléculas dos tóxicos orgânicos e resultam na degradação progressiva dos contaminantes. Conseqüentemente, muitos AOPs foram aplicados para a degradação oxidativa de um espectro diverso de poluentes que levou pelo menos à transformação de compostos originais em produtos intermediários mais inócuos e biodegradáveis (MOREIRA; CASTELL-PEREZ, 2021).

As modificações químicas induzidas pela radiação gama de compostos orgânicos em solução geralmente não são causadas pela ação direta dos fótons incidentes, mas principalmente por uma variedade de espécies reativas geradas no solvente por esses fótons. Na concentração de soluto menor de 0,1 M, a ação direta dos fótons incidentes no soluto é considerada sem importância (SPINKS; WOOD, 1991). Como os pesticidas estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos, a irradiação pode ser eficaz na redução ou remoção de seus resíduos, dependendo das características físicas e químicas dos pesticidas a serem degradados e da composição do alimento em questão.

Basfar, Mohamed e Al-Saqer (2012) verificaram diferenças na remoção de inseticidas pirimifos-metílico, malation e cipermetrina, organofosforado e piretróide, em soluções aquosas em comparação com uva irradiada, tâmara, cebola e batata em condições experimentais idênticas. A remoção ocorreu apenas em soluções aquosas e variou de 0,22% a 41,8% com as doses de 1 e 2 kGy aplicadas a 0,05; 0,1; 1; 2 e 8 ppm inicial. Já Chowdhury et al. (2014) confirmaram a influência da dose de irradiação na dissipação de inseticidas organofosforados, diazinon, clorpirifós e fosfamidon, presentes em *Capsicum*, pepinos e tomates irradiados com doses de 0,5 e 1 kGy, respectivamente, todos dissipados entre 30% e 48% a 0,5 kGy e 80 a 95% a 1 kGy.

Resíduos de malation (0,5 ppm em batatas; 8 ppm em cebolas e tâmaras), pirimifos-metila (1 ppm em cebolas e uvas) e cipermetrina (0,05 ppm em batatas e 0,1 ppm em cebolas) não foram reduzidos abaixo dos limites máximos de resíduos para doses de irradiação de até 1 kGy. A mesma tendência foi observada quando a

irradiação foi realizada para uvas fortificadas com malation (8 ppm) e cipermetrina (2 ppm) para doses absorvidas até 2 kGy. Porém, a radiação ionizante reduziu os resíduos de pirimifos-metila (0,05 ppm em batatas a 1 kGy; 1 ppm em uvas a 2 kGy e 0,1 ppm em tâmaras a 1 kGy), malation (8 ppm em uvas a 7 kGy) e cipermetrina (2 ppm em uvas a 7 kGy) até abaixo dos limites máximos de resíduos.

Em um estudo soluções aquosas de fenóxi diclofop-metil foram irradiadas com doses de 1 kGy a 8 kGy. A eficiência de remoção de carbono inorgânico total foi de 97% a 8 kGy. Vários subprodutos de degradação, como 4- (2,4-diclorofenoxi) fenol, éster metílico do ácido 2-hidroxi-propanóico, 2,4-diclorofenol, 1,4-hidroquinona, quinona, 2-cloro-1,4-hidroquinona e 1,2,4-benzenotriol foram identificados por cromatografia gasosa - espectrometria de massa (GC/MS) evidenciando que o processo de radiação começa com a fragmentação da molécula envolvendo o radical hidroxila, que é gerado pela radiólise da água (ZAOUAK; NOOMEN; JELASSI, 2020).

Armelim et al. (2018) irradiaram amostras de feijão moído fortificadas com imidaclopride e tiametoxam a 0,1 e 2 kGy. A radiação gama promoveu dissipação do tiametoxam nas doses de 1 e 2 kGy, sendo a maior dissipação verificada na dose de 2 kGy. Em geral, com essa dose mais alta de irradiação, a dissipação da redução do tiametoxam foi de 66% do valor médio encontrado no tratamento sem irradiação e 44% em relação à dose de 1 kGy. Por outro lado, o imidaclopride não apresentou efeito da irradiação na dissipação de resíduos.

Embora existam alguns estudos em relação ao efeito da radiação gama na degradação de pesticidas, nenhum foi encontrado utilizando como matriz alimentar o morango e nem mesmo com os fungicidas azoxistrobin e carbendazim em quaisquer outros tipos de matriz.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Delineamento experimental**

O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado arranjado em esquema fatorial 2x6, com três repetições. O primeiro fator foi representado pelos fungicidas (carbendazim e azoxistrobin) e o segundo fator foram as diferentes doses de irradiação: 0 (controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 4,0 kGy.

As amostras de morango foram fortificadas com os fungicidas e os resíduos absorvidos foram extraídos e quantificados em dois momentos, antes da irradiação e após as amostras serem irradiadas, para posteriormente, por diferença, obter a porcentagem dissipada.

### **4.2 Fungicidas e reagentes químicos**

O padrão analítico de carbendazim (99,5% de pureza química) foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA); a azoxystrobin (99,4% de pureza química) foi da Chem Service (West Chester, PA, EUA). Os solventes orgânicos para a dissolução, extração e limpeza dos fungicidas foram o metanol (PanReac AppliChem, Barcelona, Espanha) e o acetato etílico (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil). A água duplamente destilada (18 MΩ cm) foi obtida do sistema de água Millipore, Direct-Q UV3 (Molsheim, França) para a fase móvel do sistema cromatográfico. O sulfato de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) foi usado para remover as possíveis interferências cromatográficas da amostra de morango.

### **4.3 Amostras**

Morangos foram comprados em supermercados da cidade de Piracicaba/SP. As amostras adquiridas foram transportadas para o Laboratório de Frutas e Hortaliças da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), na cidade de Piracicaba, para serem trituradas em um liquidificador (OsterR, Modelo 6826-017, Tlalnepantla, Estado do México, México) e, em seguida, fracionadas em tubos Falcon, contendo 10 g de morango fresco em cada. Posteriormente, os frascos foram fortificados com carbendazim e azoxistrobin, obtendo-se a dose final

de aplicação de 6 mg kg<sup>-1</sup>, irradiados (exceto o controle), e os analitos foram extraídos, conforme detalhado a seguir.

#### 4.4 Preparo das soluções

Inicialmente foram preparadas soluções estoques de azoxistrobin e carbendazim em metanol. O padrão analítico foi pesado em balança analítica de precisão e o material solubilizado no citado solvente, de modo a fornecer concentração exata de 50 mg/mL (solução estoque). As soluções padrão, para estudos de fortificações e injeções no sistema cromatográfico, foram preparadas a partir da solução estoque com as diluições feitas em metanol.

#### 4.5 Irradiação das amostras

A irradiação das amostras foi realizada no Centro de Energia Nuclear de Agricultura (CENA/USP) no irradiador Gamma Cell 220 da MDS Nordion Canadá Limited (AECL) (Ottawa, Ontário, Canadá), com atividade de 2638,18 Ci (CENA/USP). Foram utilizadas para irradiação as amostras já fortificadas. O procedimento foi realizado à temperatura ambiente a uma taxa de dose de 0,156 kGy/h (Fonte nível de potência: 215,95 Ci). O tempo de exposição necessário aos raios gamas para obtenção das dosagens desejadas, são apresentadas na Tabela 8.

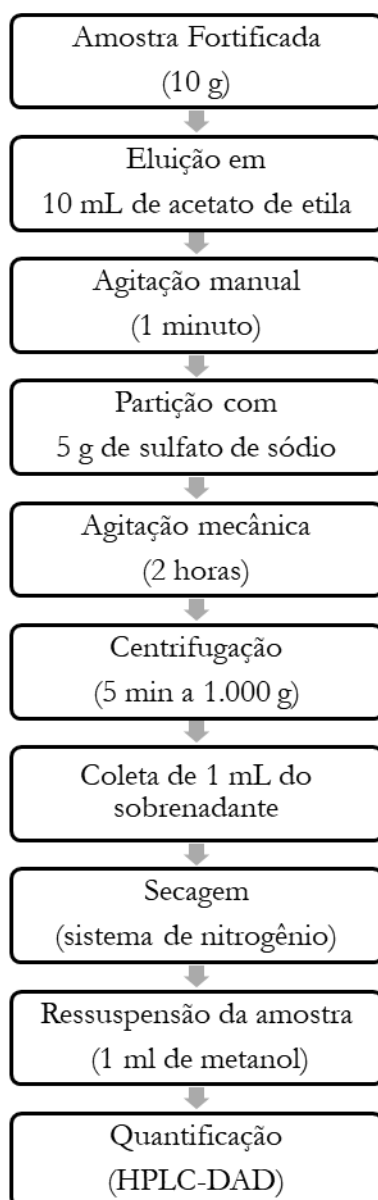
**Tabela 8.** Tempo de exposição das amostras aos raios gamas

<b>Amostra</b>	<b>Dosagem (kGy)</b>	<b>Tempo de exposição (minutos)</b>
	0	0
Morangos fortificados com azoxystrobin e carbendazim	0,05	192
	1	384
	1,5	576
	2	768
	4	1536

## 4.6 Extração

O método QuEChERS (do inglês - Quick, Easy, Cheap, Effetive, Rugged e Safe) foi adaptado de Kussumi (2007) para extração dos analitos de azoxystrobin e carbendazim das amostras de morango. Iniciou-se adicionando 10 mL de acetato de etila nas amostras já fortificadas e submeteu-se à agitação manual por 1 minuto. Posteriormente, para particionamento e limpeza da amostra, foram adicionados 5 g de sulfato de sódio, seguidos de agitação por 2 h em um agitador horizontal mecânico (Kahn-Q225H, Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil). Após a agitação as amostras foram centrifugas a 1000 g por 5 min (Hitachi, Modelo CF16RXII, Hitachinaka, Ibaraki, Japão). Uma alíquota (1 mL) do sobrenadante foi coletada e transferida para um vial de vidro. Depois, houve a troca de solvente, para posterior análise cromatografica, onde as amostras foram secas em uma corrente de nitrogênio (AT-EV-50, GenTech Scientific, Nova York, EUA) e ressuspensas em 1 mL de metanol.

Uma melhor visualização de todas as etapas de extração pode ser contemplada na Figura 17.

**Figura 17.** Extração dos analitos de interesse das amostras de morango

#### 4.7 Condições cromatográficas

Utilizou-se um cromatógrafo líquido acoplado a um detector por arranjo de diodos (HPLC-DAD) da Agilent Technologies 1260 Infinity II LC Systems (Santa Clara, Califórnia, EUA), equipado com o software ChemStation (Agilent Technologies), responsável pela integração dos resultados.

A separação cromatográfica foi realizada por uma coluna analítica da Kromasil C8, com 150 cm de comprimento por 4,6 mm e com diâmetro interno de 3,5  $\mu\text{m}$  (Kromasil Classic 100-A, 150 cm  $\times$  4,6 mm, 3,5  $\mu\text{m}$ , Kromasil, Bohus, Suécia). A vazão da fase móvel foi de 1,2 ml.min<sup>-1</sup>, com temperatura de 30 °C. O comprimento

de onda usado para a captura do sinal foi de 230 nm. O volume da amostra injetada foi de 5  $\mu\text{L}$  e o tempo de execução foi de 13 minutos mais 5 minutos após a estabilização do sistema, pois, foi utilizado um gradiente de proporção de fase móvel, conforme apresentado na Tabela 9.

**Tabela 9.** Gradiente de proporção de fase

<b>Tempo (minuto)</b>	<b>Metanol (%)</b>	<b>Água (%)</b>
0-4	70	30
4-6	80	20
6-13	85	15
Estabilização de 5 minutos	70	30

#### 4.8 Quantificação dos fungicidas

Para quantificar os analitos de interesse, duas curvas analíticas foram montadas diluindo soluções estoque de carbendazim e azoxistrobina em metanol a uma concentração de 50 mg mL<sup>-1</sup>. Os pontos da curva analítica foram 2, 4, 6, 8 e 10 mg.kg<sup>-1</sup>, de modo que a concentração da amostra estava no meio da curva. As concentrações de fungicidas foram obtidas antes e após a irradiação. As amostras foram analisadas em triplicata.

#### 4.9 Rendimento de radiação (valor G)

O valor G foi definido como o número de moléculas de um produto formado, ou a mudança de um reagente, por 100 eV de energia absorvida; pode ser calculado usando a equação 1 (SPINKS; WOODS, 1991; BUXTON et al., 1998).

$$G = ([R] \times NA) / [D \times (6.24 \times 10^{16})] \quad (1)$$

Onde, R é a diferença na concentração de pesticidas (mol L<sup>-1</sup>); D é a dose de radiação absorvida (Gy); NA é o número de Avogadro; e 6,24  $\times 10^{16}$  é um fator de



conversão de Gy para  $100 \text{ eV L}^{-1}$ . Para calcular o valor G na unidade SI (Sistema Internacional) ( $\mu\text{mol J}^{-1}$ ), o valor foi multiplicado por 0,1036.

#### **4.10 Análise estatística e RD50**

Todos os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) para verificar a interação entre os fatores (fungicidas e doses de irradiação). A dose de radiação gama necessária para a degradação de 50% dos fungicidas inicialmente aplicados (RD50) foi obtida por regressão linear dos valores médios dos fungicidas ( $\pm$  desvio padrão [DP]). As figuras foram plotadas usando Sigma Plot® (versão 12.0 para Windows, Systat Software, Inc., Point Richmond, CA, EUA).

#### **4.11 Validação metodológica**

Para efetivar a metodologia analítica desenvolvida, foram realizados todos os passos de uma validação, conforme recomendado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) e Anvisa. Apesar de existir mais de um documento regulamentador do procedimento, poucos itens se diferem entre os documentos, sendo mais comum as diferenças em relação aos termos utilizados. O Inmetro segue o documento DOQ-CGCRE-008, de agosto/2016 e a ANVISA a Resolução RE n 899, de 29/05/2003, (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016).

#### **Seletividade**

Na validação de um método analítico de quantificação a seletividade é a capacidade de avaliar, se erroneamente, outros ativos presentes na amostra, nos solventes e reagentes utilizados ou até mesmo impurezas de degradação podem interferir na separação dos componentes de interesse (VESSMAN, 2001). De modo sucinto, ela avalia o grau de interferências entre moléculas e garante que o pico de resposta seja exclusivamente do ativo que se quer quantificar.

A seletividade do método desenvolvido foi realizada através da comparação visual dos cromatogramas do branco dos reagentes, do padrão em solvente e da amostra controle (matriz isenta dos analitos), para avaliar se nenhum interferente eluiu no mesmo tempo de retenção dos ativos de interesse (azoxistrobin e carbendazim).

## Linearidade

A faixa de trabalho ou Linearidade de um procedimento analítico é a sua capacidade em obter resultados, os quais são diretamente proporcionais à concentração do analito de interesse na amostra (MARSON et al., 2020). Para avaliar esse item do processo de validação, foram elaboradas duas curvas padrões (azoxistrobin e carbendazim), com concentrações conhecidas (2, 4, 6, 8 e 10 mg.mL<sup>-1</sup>), cada ponto foi injetado em triplicata. A equação da reta foi obtida pela equação 2.

$$y = ax + b \quad (2)$$

Onde, y é resposta medida (sinal instrumental como absorbância, altura ou área do pico etc.); x a concentração; a é o coeficiente linear (interseção com o eixo y, quando x = 0); e b é o coeficiente angular (inclinação da curva analítica = sensibilidade).

Já o coeficiente de correlação aceitável ( $r^2$ ) foi  $\geq 0,99$ , sendo um indicativo do quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático.

## Limite de detecção (LD)

O LD de um procedimento analítico individual é a menor quantidade de analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas para o ensaio (EMA, 2005; NATA, 2013). O cálculo do limite de detecção (LD), foi feito pela injeção do padrão de menor concentração da curva de calibração feita a partir da matriz morango, obtido pela equação 3.

$$LD = \frac{3 \times dp}{Fr \times C} \quad (3)$$

Onde, dp é o desvio padrão da resposta das três injeções do menor valor; Fr é o fator de resposta do valor a da curva de calibração; e C a concentração nominal do menor ponto padrão.

O critério de conformidade é o  $LD \leq LMR$ , e o LMR estabelecido para o presente estudo foi de 2 mg.kg<sup>-1</sup>.

### Limite de quantificação (LQ)

O LQ de um procedimento analítico individual é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis (EMA, 2005). O cálculo do limite de quantificação (LQ) foi feito pela repetição de três injeções do padrão de menor concentração, 2 mg.kg<sup>-1</sup>, da curva de calibração feita a partir da matriz morango, obtido pela equação 4.

$$LQ = \frac{10 \times dp}{Fr \times C} \quad (4)$$

Onde, dp é o desvio padrão da resposta das três injeções do menor valor; Fr é o fator de resposta do valor a da curva de calibração; e C a concentração nominal do menor ponto padrão.

### Repetibilidade

A repetibilidade do método foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), a partir das determinações de amostras fortificadas em 3 diferentes níveis de fortificação (2, 4 e 6 mg.kg<sup>-1</sup>), com cinco repetições em cada nível. A quantificação foi calculada pela curva de calibração.

A porcentagem de desvio padrão em relação à média dessas recuperações determina o desvio padrão relativo (DPR) das fortificações, que apresenta como critério de conformidade DPR ≤ 20%.

### Reprodutibilidade

Para o estudo de reprodutibilidade, a extração do analito foi realizada conforme método analítico apresentado no item 4.6 em amostras de morango *in natura* com alterações do analista que executou a extração. As alíquotas foram injetadas nas mesmas condições citadas no item 4.7.

### Recuperação

As porcentagens de recuperação foram calculadas pela relação das massas de cada analito, obtidas da relação curva de calibração e altura dos picos cromatográficos das fortificações com a massa teórica injetada do analito. A faixa de

aceitabilidade dos valores individuais de recuperações foi considerada entre 70-120%. Na equação 5 é possível verificar o cálculo.

$$\text{Recuperação \%} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde, C1 é a concentração do analito na amostra fortificada; C2 é a concentração do analito na amostra não fortificada; e C3 é a concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

### **Robustez**

A robustez de um método analítico é a capacidade do método em não ser afetado por pequenas variações nos parâmetros de execução do método. A robustez fornece uma indicação da confiança do método durante uma aplicação rotineira (INMETRO, 2016).

Neste estudo foram avaliadas 5 variações, combinadas em 10 determinações para cada ingrediente ativo, sendo 5 repetições efetuadas com fortificação de 4 mg.kg<sup>-1</sup> e 5 repetições efetuadas com fortificação de 8 mg.kg<sup>-1</sup> de azoxistrobin e carbendazim em morango “in natura”. Houve as seguintes alterações: (a) o tempo de agitação mecânica no processo de extração foi de 3 horas, demais passos conforme descritos no item 4.6; (b) a coluna cromatográfica utilizada, foi de lote diferente, porém, com as mesmas especificações técnicas; (c) a vazão da fase móvel foi de 1 ml.min<sup>-1</sup>; (d) na primeira etapa do gradiente (0 a 4 min) foi alterada a proporção da fase móvel de metanol/água para 60:40; (e) a temperatura de injeção foi 40°C.

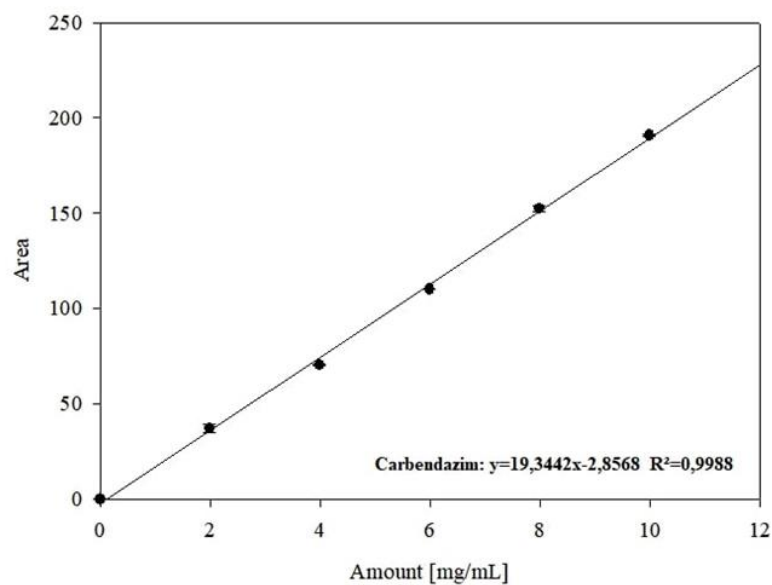
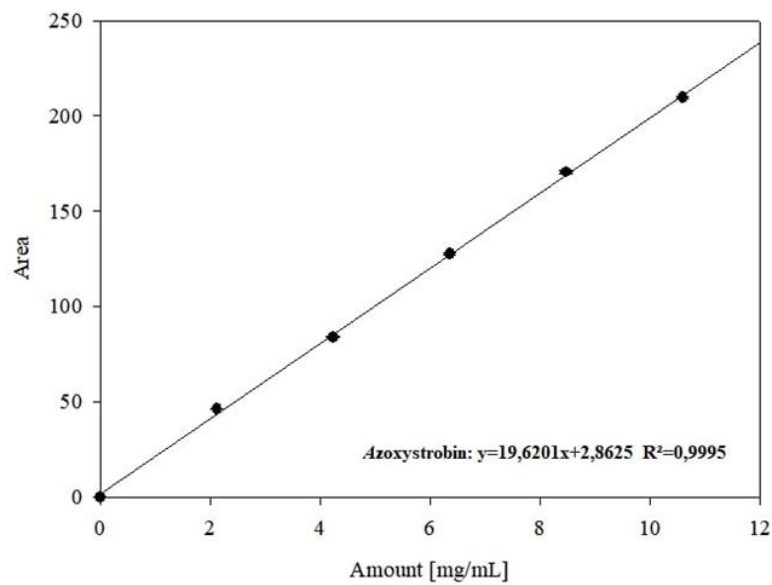


## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Validação do método analítico

A Figura 18 mostra as curvas de calibração utilizadas para os cálculos de resíduos. Os cinco pontos da curva de calibração correspondem aos valores de 2, 4, 6, 8 e 10 mg.kg<sup>-1</sup>, tanto de azoxistrobin quanto de carbendazim, com a média de três repetições.

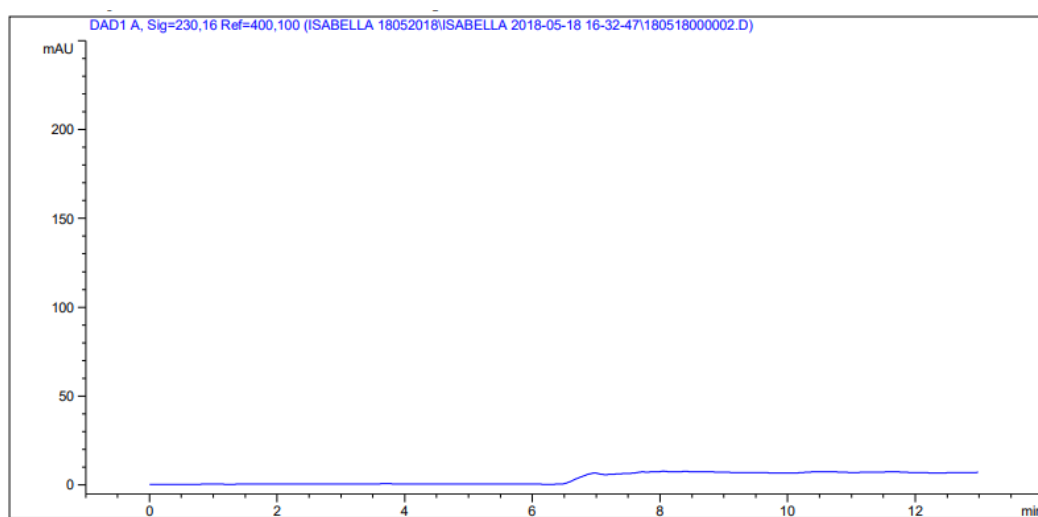
Figura 18. Curva de calibração de azoxistrobin e carbendazim



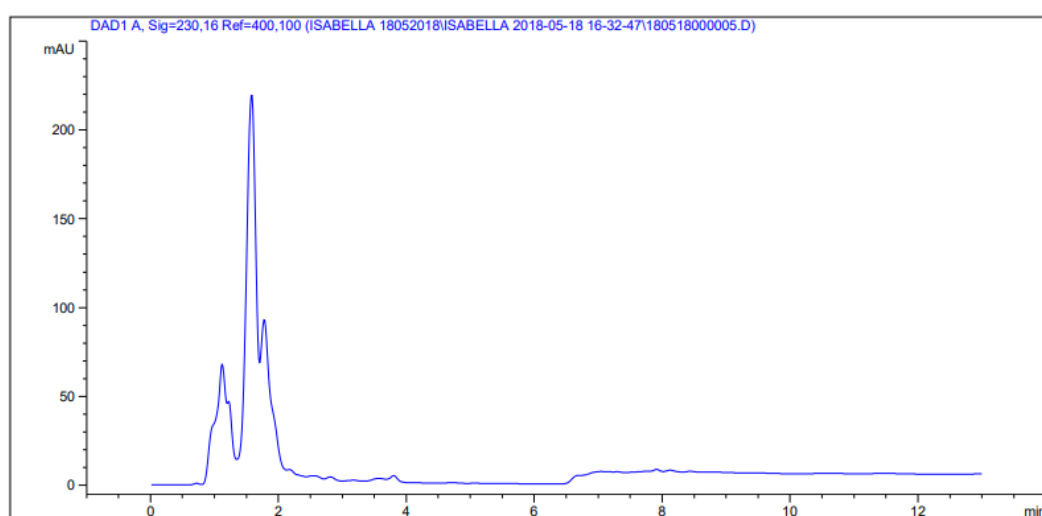
A metodologia desenvolvida se mostrou eficiente para o parâmetro de linearidade uma vez que os coeficientes de determinação de regressão linear ( $R^2$ ) de carbendazim e azoxistrobin foram de 0,99 para ambos os fungicidas. As equações para quantificação foram  $y = 19,32x - 2,85$  (carbendazim) e  $y = 19,62x + 2,86$  (azoxistrobin), conforme explícito na Figura 18.

Na Figura 19 é possível observar a injeção dos solventes, sem interferentes da matriz, e na Figura 20 é possível verificar o efeito matriz, ou seja, a injeção da matriz, com os solventes, porém, sem a fortificação com os pesticidas.

**Figura 19.** Injeção dos solventes



**Figura 20.** Injeção dos solventes diluídos na matriz de morango sem a fortificação



Conforme é possível visualizar na Figura 20, no início da corrida, aproximadamente até os 4 primeiros minutos iniciais, saem todos os interferentes da

matriz, como o morango é uma fruta com grande quantidade de pigmentos o efeito já era esperado, por isso a necessidade de realizar um gradiente de eluição, para que os interferentes da matriz não eluissem ao mesmo tempo que os ingredientes ativos de interesse (azoxistrobin e carbendazim).

Na Tabela 10, os limites de quantificação e detecção do método analítico foram determinados utilizando a menor concentração da curva de calibração padrão de azoxistrobin e carbendazim, ou seja, o padrão de 2 mg.kg<sup>-1</sup>.

**Tabela 10.** Determinação de LQ e LD dos fungicidas

Fungicida	Resposta (*)	Média	DP	LQ (mg.kg <sup>-1</sup> )	LD (mg.kg <sup>-1</sup> )
Azostrobin (2 mg.kg <sup>-1</sup> )	46,25	46,35	0,09	0,01	0,16
	46,41				
	46,41				
Carbendazim (2 mg.kg <sup>-1</sup> )	38,49	40,96	4,72	0,58	0,18
	37,99				
	46,41				

(\*) Unidade do software.

Na Tabela 11 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de recuperação (exatidão) e repetibilidade de azoxistrobin e carbendazim em amostras de morango. Foram utilizados 3 pontos da curva de calibração e 5 injeções de cada um.

**Tabela 11.** Porcentagem (%) de recuperação de azoxistrobin e carbendazim em morango

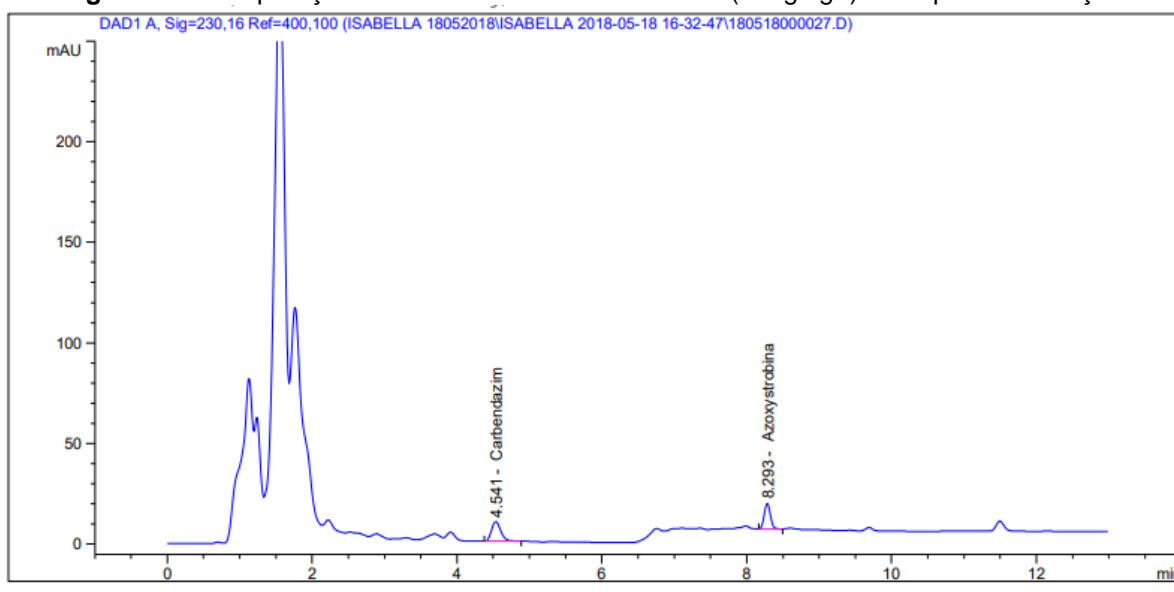
Fungicida	Níveis de fortificação (mg.kg <sup>-1</sup> )	% Recuperação					Média ± DP (%)
		I	II	III	IV	V	
Azoxistrobin	4	76	82	81	89	97	85 ± 8
	6	85	88	88	87	86	87 ± 1
	8	86	85	88	87	86	86 ± 1
Carbendazim	4	99	109	111	107	109	108 ± 5
	6	111	110	108	105	106	107 ± 3
	8	101	109	108	108	108	107 ± 3



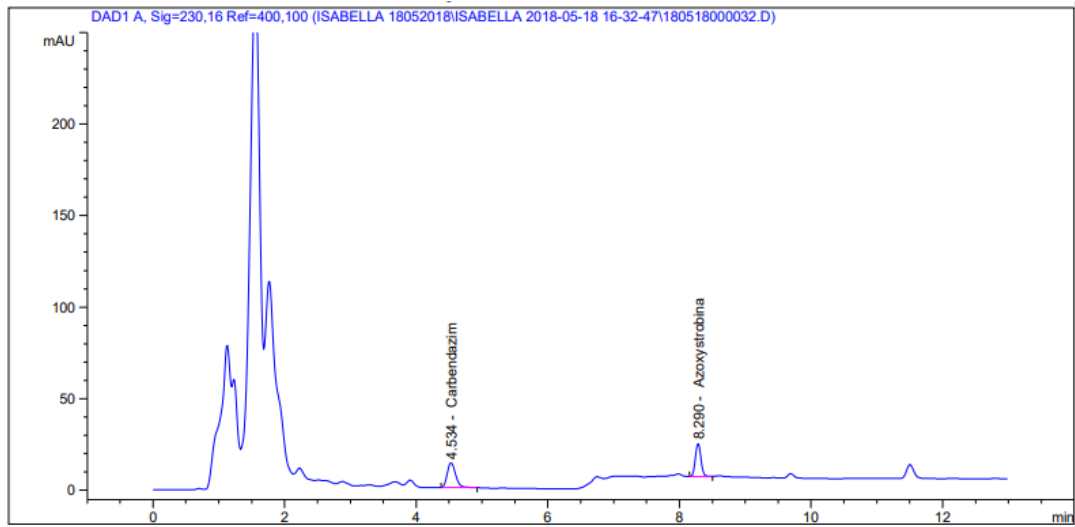
Carbendazim mostrou >100% de recuperação provavelmente porque seu tempo de retenção foi próximo aos interferentes da matriz, enquanto a recuperação relativamente menor do azoxistrobin foi causada por possíveis perdas durante o processo de extração do analito. O desvio padrão relativo variou de 1 a 8% (azoxistrobin) e 4% a 5% (carbendazim). No entanto, ambos os parâmetros estavam de acordo com os critérios estabelecidos de 70 -120% para recuperação e  $\leq 20\%$  para DPR (EUROPEAN COMMISSION, 2018).

Nas Figuras 21 a 23 é possível observar as injeções das amostras fortificadas com azoxistrobin e carbendazim, para estudo de recuperação, assim como seus respectivos tempos de retenção, 4,5 minutos para carbendazim e 8,2 para azoxistrobin, aproximadamente.

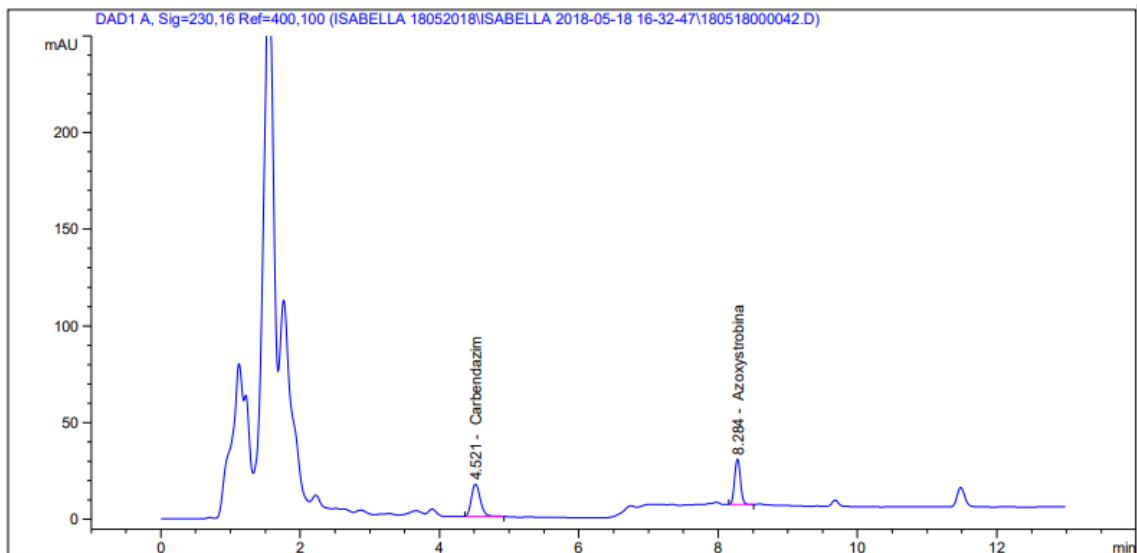
**Figura 21.** Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção



**Figura 22.** Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $6 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção



**Figura 23.** Recuperação de azoxistrobin e carbendazim ( $8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e tempos de retenção



Na Tabela 12 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de reprodutibilidade da fortificação de azoxistrobin e carbendazim em amostras de morango, o qual outro analista realizou, utilizando os mesmos procedimentos descritos na seção de materiais e métodos.

**Tabela 12.** Análise da reprodutibilidade do método analítico

Fungicida	Níveis de fortificação (mg.kg <sup>-1</sup> )	% Recuperação					Média ± DP (%)
		I	II	III	IV	V	
Azoxistrobin	4	91	82	81	77	85	83 ± 5
	6	86	86	86	92	79	86 ± 5
	8	86	88	95	84	86	88 ± 4
Carbendazim	4	101	106	104	95	109	103 ± 5
	6	103	110	102	102	107	105 ± 4
	8	100	109	103	108	108	106 ± 4

O desvio padrão relativo da recuperação azoxistrobin e carbendazim em morango variou de 4 a 5%. Estes valores foram aceitáveis (DPR ≤ 20%) para a determinação dos resíduos, garantindo a reprodutibilidade do método analítico. Já a recuperação média para esta etapa foi de 86% de azoxistrobin e 104% de carbendazim.

Na Tabela 13 são apresentados os resultados obtidos nos estudos de robustez do método desenvolvido, a extração e quantificação do analitos foram determinadas conforme descrito em materiais e métodos, com alterações de acordo com o item 4.11, subitem robustez.

**Tabela 13.** Análise da robustez do método analítico

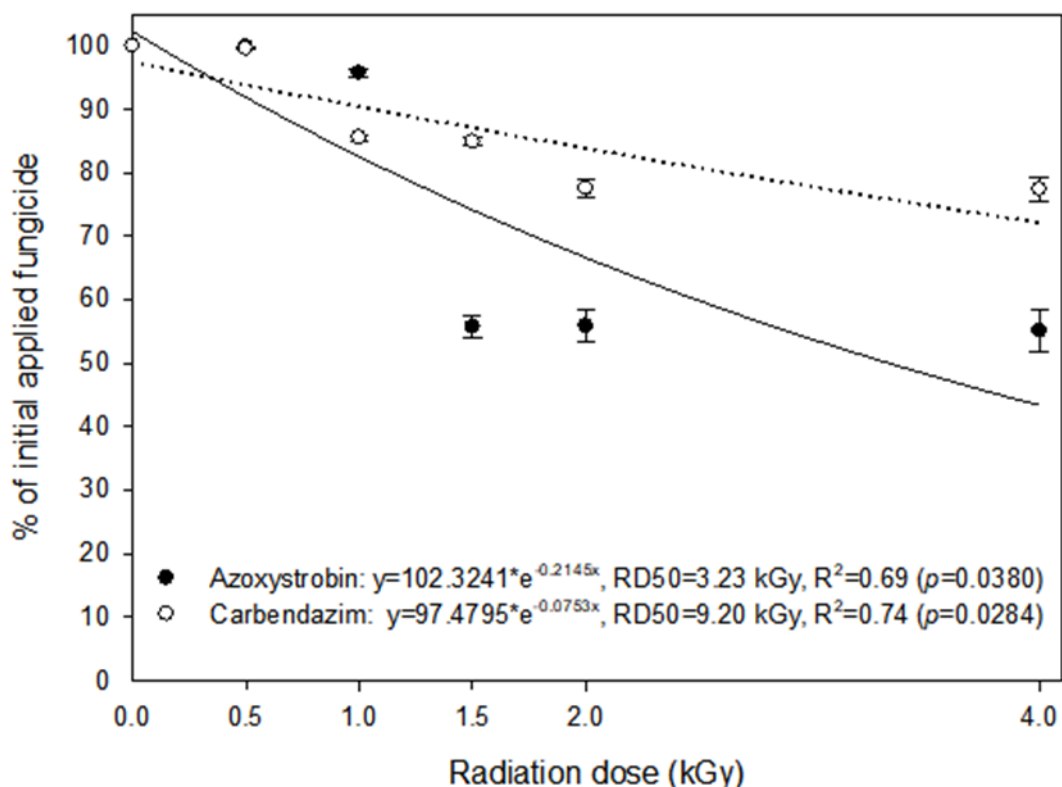
Fungicida	Níveis de fortificação (mg.kg <sup>-1</sup> )	% Recuperação					Média ± DP (%)
		I	II	III	IV	V	
Azoxistrobin	4	98	81	79	76	85	84 ± 9
	6	86	94	78	79	92	86 ± 7
	8	83	97	86	91	76	87 ± 8
Carbendazim	4	107	90	95	103	115	102 ± 10
	6	106	104	110	105	111	107 ± 3
	8	114	98	103	108	106	106 ± 6

O desvio padrão relativo da recuperação azoxistrobin e carbendazim em morango variou de 7 a 9% para azoxistrobin e de 3 a 10% para carbendazim. Estes valores foram aceitáveis (DPR ≤ 20%) para a determinação dos resíduos, garantindo a robustez do método analítico. Já a recuperação média para esta etapa foi de 85% de azoxistrobin e 105% de carbendazim.

## 5.2. Degradação dos fungicidas por radiação gama

Os efeitos da radiação gama na degradação da azoxistrobin e carbendazim em morangos são mostrados na Figura 24. Em uma dose de 0,5 kGy, ambos fungicidas apresentaram uma pequena redução de 7,63% (azoxistrobin) e 6,71% (carbendazim). Em uma dosagem de 1,5 kGy, houve um aumento na degradação de carbendazim (13,17%) e azoxistrobin (25,53%), quando comparados com a dosagem inicial de 0,5 kGy. Na dose intermediária (2,0 kGy), aproximadamente 15,95% do carbendazim foi reduzido em comparação com 32,30% de azoxistrobin, demonstrando que o carbendazim se comportou de forma mais resistente à radiação gama.

**Figura 24.** Degradação de carbendazim e azoxistrobin em morango após cinco doses de irradiação gama, além do controle. Os valores são representados pela média (n = 3) e, em seguida, por +DP da média

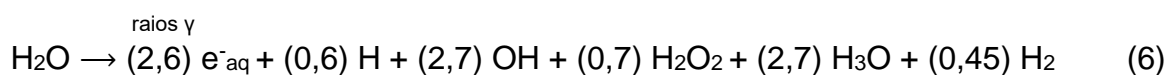


Essa maior resistência à radiação gama pode ser evidenciada pelo RD50, que foi de 9,20 e 3,23 kGy para carbendazim e azoxistrobin, respectivamente. Nas amostras de morango irradiadas com a dose mais alta examinada de 4,0 kGy,

ocorreu uma redução de aproximadamente 57% para azoxistrobin e 28% para carbendazim (Figura 24).

Todas as formas de radiação ionizante interagem com a matéria transferindo sua energia para os átomos e moléculas presentes. Na primeira fase da interação, ocorre um efeito físico, que consiste em ionização e excitação de átomos, resultando na troca de energia entre radiação e matéria. Este efeito ocorre em um intervalo de tempo muito curto de  $10^{-3}$  s a  $10^{-12}$  s. Na segunda fase da interação, ocorrem efeitos químicos, ou seja, ruptura de ligações em moléculas e formação de radicais livres. Esta ação química ocorre ao longo de um tempo estimado em  $10^{-9}$  s (KUBESH et al., 2005). Os efeitos químicos da interação da radiação com a matéria podem ocorrer através de dois mecanismos, que são diretos e indiretos. No direto, a radiação age diretamente nas moléculas em questão, e indiretamente, a radiação interage com as moléculas de água, gerando espécies químicas que são muito reativas e difusíveis, as quais posteriormente interagem com o material irradiado. A radiólise hídrica é o mecanismo mais importante no processo de irradiação de materiais em soluções aquosas. Íons carregados positivamente, elétrons e espécies animadas são os precursores das alterações químicas observadas no material irradiado (KUBESH et al., 2005).

Os morangos consistem em 93% de água; portanto, ocorre a reação descrita na equação 6, onde a irradiação de produtos com moléculas de água por raios gama produz uma série de espécies ativas, como elétrons solvatados  $e^-_{aq}$ , radicais H de hidrogênio e radicais hidroxil OH, além de outras espécies descritas na equação 6.



Os números entre parênteses representam o número de radicais produzidos por 100 eV de energia (SPINKS; WOODS, 1991).

Foi demonstrado que  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{H}_2$  têm uma contribuição limitada para a decomposição dos compostos alvo devido ao seu baixo rendimento e reatividade (LEE; LEE, 2005). Por outro lado, as espécies redutoras são os radicais de hidrogênio (H) e os elétrons hidratados ( $e^-_{aq}$ ) que são convertidos em espécies fracamente reativas,  $\text{HO}_2$  e  $\text{O}_2^-$ , através da interação com o ar que contribui para um papel insignificante no processo de oxidação (YU et al., 2010). Portanto, as únicas

espécies oxidantes formadas na radiólise hídrica que participam da reação de decomposição induzida são os radicais OH (PAN et al., 1993; ZONA; SOLAR, 2003).

A divergência entre os percentuais de decomposição de carbendazim e azoxistrobin é decorrente da complexidade de suas estruturas moleculares. Como mostrado nas Tabelas 6 e 7, o azoxistrobin tem 3 anéis aromáticos contra 2 anéis carbendazim, e os anéis aromáticos são conhecidos por serem o centro de ataque de radicais hidroxílicos (PAN et al., 1993; PPDB, 2020). Além disso, devido ao seu caráter eletrofílico, OH reage prontamente com ligações duplas, incluindo C = C e C = N, mas não C = O, que é deficiente em elétrons de átomos de carbono, a posição onde OH seria de preferência adicionado (VON-SONNTAG, 2006). Em sua estrutura molecular, o azoxistrobin tem 10 dessas preferências heterogêneas (C = C e C = N), enquanto o carbendazim tem apenas quatro. Conseqüentemente, isso poderia resultar em uma taxa de decomposição mais lenta para carbendazim em comparação com a do azoxystrobin, como evidenciado no presente estudo.

O aumento gradual da degradação dos pesticidas em relação ao aumento da dosagem de radiação gama também foi observado por Mohamed et al. (2009), que monitoraram a remoção induzida por radiação dos inseticidas pirimifos-metil e malathion nas uvas. Nesse estudo, as doses de 1,0 e 2,0 kGy não apresentaram efeito, enquanto na dose mais alta (7,0 kGy), foram removidos 19,10% de pirimifos-metil e 3,83% de malathion. A dose de radiação absorvida é um fator importante envolvido na degradação de pesticidas em alimentos por radiação gama (MOHAMED et al., 2009), incluindo a degradação do carbendazim e do azoxistrobin em morangos, conforme evidenciado na pesquisa.

A dose absorvida é definida como a energia média produzida pela radiação ionizante que é absorvida por uma determinada massa alimentar (LÉPINE, 1991; TEZZOTO-ULIANA et al., 2015). Quanto maior a dose, maior a taxa de radiação e mais radicais reativos existirão, o que, conseqüentemente, favorece a recombinação radical-radical, gerando uma maior degradação (COSTA; TORNISIELO; WALDER, 2001). Isso pode ser confirmado calculando o rendimento da reação (G). O valor G fornece informações sobre o número de moléculas formadas ou destruídas em soluções absorvendo 100 eV (energia de radiação), que aumentarão à medida que a dose de radiação gama for aumentada (SPINKS; WOODS, 1991), conforme foi evidenciado no presente trabalho (Tabela 14).

**Tabela 14.** Valores G de acordo com a dosagem (kGy) usado para irradiar morangos contaminados com fungicidas

<b>Fungicida</b>	<b>D (kGy)</b>	<b>G (<math>\mu\text{mol J}^{-1}</math>)</b>
Azoxystrobin	0.5	4.878941e-07
	1.0	5.812511e-06
	1.5	3.824333e-05
	2.0	2.996530e-05
	4.0	1.520603e-05
Carbendazim	0.5	3.160202e-07
	1.0	5.117031e-06
	1.5	3.409744e-06
	2.0	3.925306e-06
	4.0	2.000278e-06

Basfar, Mohamed e Al-Saqer (2012) obtiveram até 95% de descontaminação do fungicida fosfamidon de pepinos e tomates irradiados com uma dose de 1,0 kGy, resultado muito mais eficiente e significativo quando comparado com os resultados obtidos no presente trabalho. Assim como morangos, pepinos e tomates contêm uma alta porcentagem de água em sua composição (93%, 95% e 94%, respectivamente) (NEPA, 2011), a alta eficiência na degradação do fosfamidon pode ter ocorrido devido à combinação de alta solubilidade da água do inseticida ( $1.000.000 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e o alto percentual de água nas matrizes alimentares. Por outro lado, a azoxystrobin e carbendazim são fungicidas com baixa capacidade hídrica de 6,7 e 8,0  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente (PPDB, 2020), indicando que os fungicidas estavam menos disponíveis na solução de água da matriz.

Embora Basfar, Mohamed e Al-Saqer (2012) não tenham detectado qualquer degradação do inseticida pirimifos-metil em batatas e cebolas quando dosados com até 2 kGy, a remoção de 100% do mesmo produto foi observada em água destilada em uma dosagem ainda menor (1 kGy). Como poucos artigos têm lidado com a degradação de agrotóxicos em matrizes alimentares, pesquisadores como Lépine (1991) e Costa, Tornisilo e Walder (2001) têm utilizado os resultados de experimentos de radiação realizados em soluções como modelo e, na maioria dos casos, uma maior redução de agrotóxicos em soluções aquosas do que em soluções

orgânicas tem sido evidenciada. Isso é causado pelas concentrações relativamente maiores de elétrons nos solventes polares irradiados. Como os alimentos têm uma matriz altamente complexa que contém grandes quantidades de vários compostos orgânicos, espera-se que, devido à eliminação das espécies reativas por outros constituintes, os rendimentos da degradação dos pesticidas nos alimentos sejam menores do que em soluções puras (CHOWDURY et al., 2014). Com base nisso, é possível deduzir que os fungicidas estudados no presente trabalho teriam uma degradação superior à obtida em morangos se analisados em solução aquosa.

Em geral, pode-se afirmar que as características da matriz e as características físico-químicas dos pesticidas influenciam diretamente o modo de ação da radiação gama e, conseqüentemente, a degradação dos agrotóxicos pela técnica (LÉPINE, 1991).

A radiação pode contribuir para a segurança dos alimentos, proporcionando diversos benefícios, que consistem em uma redução parcial, como demonstrado no presente estudo, ou total expresso em outros trabalhos, da ingestão de resíduos de agrotóxicos por meio de alimentos e todas as demais aplicações citadas no referencial teórico deste trabalho, para a qual já é amplamente utilizado (BASFAR; MOHAMED; AL-SAQER, 2012; ARMELIM et al., 2018).

Os resultados atuais indicam que a melhor dose de radiação para degradar os dois fungicidas dos morangos foi entre 1,5 e 2,0 kGy porque, além de ter obtido bom desempenho na redução da quantidade de fungicidas, uma investigação prévia da qualidade sensorial dos morangos após exposição a diferentes doses de radiação gama, não verificou diferenças entre morangos não irradiados e morangos submetidos a 2,0 kGy de radiação (FRANÇOSO et al., 2008). Além disso, não foram detectadas alterações na acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis e pectina em morangos submetidos a doses de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 kGy, respectivamente (CAMPOS et al., 2003). Nesse contexto, pode-se afirmar que, além de degradar parcialmente os pesticidas estudados, as doses de 1,5 e 2,0 kGy, não comprometem a qualidade do morango.

Outro fator considerado é que, em países como Brasil, Bélgica, República Tcheca, Argentina, África do Sul, Tailândia, Índia, Rússia, Chile, China, Indonésia e Vietnã, é permitida a irradiação de morangos de até 2 kGy (ANVISA, 2001; MHSRV, 2004; EC, 2009; USDA, 2010; IFST, 2015; MINSAL, 2015; NHFPCPRC, 2016; IIA, 2016; ANMT, 1969; USDA, 2019). Embora alguns países limitem a dosagem da



irradiação, em 1983, a Comissão Codex Alimentarius com apoio da FAO e da (OMS), publicou o *Codex General Standard for Irradiated Foods*. A Comissão enfatizou que a irradiação de qualquer mercadoria alimentar até uma dose média global de 10 kGy não apresenta nenhum risco toxicológico e não introduz problemas nutricionais ou microbiológicos (CAC, 2003).

Algumas pesquisas, demonstraram que a dosagem de pesticidas na amostra pode influenciar na degradação; portanto, mais estudos são necessários para avaliar pesticidas em diferentes concentrações (LUCCHINI, 1955; MORI et al., 2006; KAUSHIK; SATYA; NAIK, 2009; MOHAMMED et al., 2009; BASFAR; MOHAMED; AL-SAQER, 2012; CHOWDHURY et al., 2014; ARMELIM et al., 2018). Além disso, devido à complexidade da matriz alimentar e às particularidades do grupo químico de cada pesticida, mais pesquisas são necessárias para compreender a interação entre a matriz alimentar, o grupo químico e a dosagem de radiação. Portanto, devido aos poucos estudos existentes, ainda não é possível gerar estimativas de degradação de um determinado pesticida em um determinado alimento.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A radiação gama mostrou-se uma técnica eficiente para reduzir os resíduos de carbendazim e azoxistrobin em morangos, e esclareceu que a porcentagem de redução depende da dosagem de radiação, bem como da natureza química do fungicida. O azoxistrobin é mais sensível à irradiação, apresentando um RD50 menor. Portanto, pode-se concluir que a radiação gama pode ser útil na redução dos fungicidas avaliados, contribuindo para reduzir sua ingestão em alimentos para níveis abaixo de seus limites máximos de resíduos permitidos.

Entretanto, novas pesquisas nas seguintes linhas são sugeridas: avaliar os mesmos fungicidas (azoxistrobin e carbendazim) em outras matrizes alimentares; aplicar diferentes doses de pesticidas para análises em trabalhos futuros; gerar comparações por meio da fortificação e irradiação de solventes orgânicos diluídos na água ou meios aquosos; testar mais variedades de pesticidas em diferentes matrizes; estimar o aumento do custo de produção ao incluir o sistema de irradiação na pós-colheita de diversas matrizes de origem vegetal.



## REFERÊNCIAS

- ABOU-ARAB, A. A. K. Behavior of pesticides in tomatoes during commercial and home preparation. **Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 509–514, 1 jun. 1999.
- ABRAS. Associação Brasileira de Supermercados. **RAMA: programa de rastreabilidade e monitoramento de alimentos**. 2018. Disponível em: <<http://abras.com.br/rama/indicadores/>>. Acesso: 02 de junho de 2019.
- ABUBAKAR, Y. et al. Pesticides, history, and classification. In: **Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 29–42.
- ADITHYA P. India's endosulfan Disaster. **Thanal**, n. October, p. 1–8, 2009.
- AKTAR, M. W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdiscip Toxicol.**, 2, P. 1–12, 2009.
- AL-NASIR, F. M. et al. Determination of pesticide residues in selected citrus fruits and vegetables cultivated in the Jordan Valley. **LWT**, v. 123, p. 109 -205, 2020.
- ALVAREZ, V. A.; RIDENOUR, D. A.; SABATINI, B. L. Distinct structural and ionotropic roles of NMDA receptors in controlling spine and synapse stability. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 28, p. 7365–7376, 2007.
- AMARO, M. C. C. A cadeia produtiva agroindustrial do morango nos municípios de Pelotas, Turuçu e São Lourenço. Pelotas: **UFRG**, p. 91, 2002.
- ANDRÉA, M.M. Contaminação do Solo por Agrotóxicos. São Paulo: Instituto Biológico - **O Biológico**, 2000. p.30-70.
- ANMT. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Regulates Law 18284. Buenos aires: **Código Alimentario Argentino**, 1969.
- ANTUNES, O. T. et al. Yield of strawberry cultivars polinized by jatai bees under protected environment. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 94–99, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de análise de Resíduos de agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Brasília, 2014. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3785json-file-1>> Acesso em: agosto de 2020.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. In: **Diário Oficial da União; Poder Executivo**. Brasília, 2001.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29/05/2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. In: **Diário Oficial da União; Poder Executivo**. Brasília, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015**. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3778json-file-1>>. Acesso em: janeiro de 2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC N° 221, de 28 de março de 2018. Dispõe sobre os critérios e os procedimentos para o processo de reavaliação toxicológica de ingredientes ativos de agrotóxicos no âmbito da Anvisa. **In: Diário Oficial da União; Poder Executivo**. Brasília, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia: Azoxistrobina**. 2008. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/a/4148json-file-1>>. Acesso em: janeiro de 2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia: Carbendazim**. 2002. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4227json-file-1>>. Acesso em: janeiro de 2021.

APVMA. Australian pesticide and veterinary medicines authority. **Carbendazim – review findings report -The reconsideration of the active constituent carbendazim, registration of products containing carbendazim and approvals of their associated labels**. 2012. Disponível em: <<https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/14541-carbendazim-review-findings-report.pdf>>. Acesso em: dezembro de 2020.

AQUINO, K. A. S. Sterilization by Gamma Irradiation. Gamma Radiation. Brazil: **Intechopen**, p. 38, 2012. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/gamma-radiation/sterilization-by-gamma-irradiation>>. Acesso: março de 2021.

ARMELIM, J. M. et al. The Dissipative Potential of Gamma Irradiation in Residues of Imidacloprid and Thiamethoxam in the Postharvest of Common Beans. **Toxicology & Chemical Food Safety**, p. 2669–2674, 2018.

ATREYA, K.; SITAULA, B. Mancozeb: growing risk for agricultural communities. **Himalayan Journal of Sciences**, v. 6, n. 8, p. 9-10, 28 jun. 2011.

ATTIX, F. H. Introduction to Radiologicalphysics and Radiation Dosimetry. New York: **Wiley Interscience Publication**, 1986, 278 p.

AVIS, T. J. et al. **Biochemistry and Cell Biology Ultrastructural Alterations in Fusarium sambucinum and Heterobasidion annosum Treated with Aluminum Chloride and Sodium Metabisulfite**. v. 99, n. 2, p. 167, 2009.

AZANDJEME, C. et al. Growing Burden of Diabetes in Sub- Saharan Africa: Contribution of Pesticides? **Current Diabetes Reviews**, **Bentham Science Publishers Ltd**, v. 9, n. 6, p.437-449, 2013.

BALINOVA, A. M.; MLADENOVA, R. I.; SHTEREVA, D. D. Effects of processing on pesticide residues in peaches intended for baby food. 2011.

BASFAR, A. A.; MOHAMED, K. A.; AL-SAQER, O. A. De-contamination of pesticide residues in food by ionizing radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 473–478, 1 abr. 2012.

BHANDARI, S.; PANERU, S.; PANDIT, S.; RIJAL, S.; MANANDHAR, H.; GHIMIRE, B. Assessment of pesticide use in major vegetables from farmers' perception and knowledge in Dhading district, Nepal. **Journal of Agriculture and Natural Resources**, v. 3, n. 1, p. 265-281, 8 jan. 2020.

BHANTI, M.; TANEJA, A. Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. **Chemosphere**, v. 69, n. 1, p. 63–68, 1 ago. 2007.

BOOBIS, A. R. et al. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. **Toxicology Letters**, v. 180, n. 2, p. 137–150, 15 ago. 2008.

BORDIGNON JR., C. L. et al. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 183–188, 2009.

BRAMMALL, R.A.; HIGGINS, V.J. The effect of glyphosate on resistance of tomato to Fusarium crown and root rot disease and on the formation of host structural defensive barriers. **Canadian Journal of Botany**, 66 (8), p. 1547–1555, 1998.

BRAZANTI, E. C. La Fresa. Madri: Mundi-Prensa, 1989, p.362.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1989.

BUXTON G.V.; GREENSTOCK, C. L.; HELMAN, W. P.; ROSS, A. B. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals. **J. Phys. Chem.**, V. 17, p. 513-886, 1998.

CABO VERDE, S.; FERREIRA, I.C.F.R.; ANTONIO A.L. Food Irradiation Technologies: Concepts, Applications and Outcomes, Food Chemistry, Functions and Analysis. UK: **The Royal Society of Chemistry**, p. 183-209, 2018.

CAC. Codex Alimentarius commission. General standard for irradiated foods codex (CODEX STAN 106-1983, Rev.1-2003). **Codex Alimentarius**, FAO/WHO, Rome, 2003.

CAMPOS, S. X. et al. Degradation of the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dimethylamine salt by gamma radiation from cobalt-60 in aqueous solution containing humic acid. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 68, n. 5, p. 781–786, 1 dez. 2003.

CANTILLANO, R. F. F. Fisiologia e manejo na colheita e pós-colheita de morangos. In. CARVALHO, S. P de (Coord.). **Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico**. Belo Horizonte: p.97-105. FAEMG, 2006.

CAO, F. et al. Developmental toxicity of the triazole fungicide cyproconazole in embryo-larval stages of zebrafish (*Danio rerio*). **Environ Sci Pollut Res** 26, 4913–4923, 2019.

CARP, A.E.; LISKA, B.J.; ZIEMER, P.L. Decomposition of aldrin by gamma radiation II in lipid solutions. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 7(6), 331-337, 1972.

CHIOTTA, M. L. et al. *Aspergillus* section *Nigri* species isolated from different wine-grape growing regions in Argentina. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 1, p. 137–141, 30 nov. 2009.

CONVERSE, R.H. **Disease of Strawberry**. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 1993.

COSTA, R. et al. *Pseudomonas* community structure and antagonistic potential in the rhizosphere: Insights gained by combining phylogenetic and functional gene-based analyses. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 9, p. 2260–2273, 2007.

CULLINEY, T. W.; PIMENTEL, D.; PIMENTEL, M. H. Pesticides and natural toxicants in foods. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 41, n. 3–4, p. 297–320, 1 set. 1992.

EC. European Commission. **Implementing – EU list of irradiated food and food ingredients - Directive 1999/3/EC**. 2009. Disponível em: <[https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:52009XC1124\(02\)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:52009XC1124(02))>. Acesso em: agosto de 2019.

CHITARRA, A. B. Armazenamento de frutos e hortaliças por refrigeração. Lavras: **Universidade Federal de Lavras**, 1999. 58 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio., Lavras: **Ver. e Ampl.**, 2<sup>a</sup>ed, 2005. 783 p.

CHOWDHURY, M.A.Z. et al. Determination of Carbamate and Organophosphorus Pesticides in Vegetable Samples and the Efficiency of Gamma-Radiation in Their Removal. **Biomed Research International**, 14, 1-9, 2014.

CIARROCCHI, I. R. et al. The effect of radiation in the degradation of carbendazim and azoxystrobin in strawberry. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 179, p. 109269, 2021.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; TAVARES, F. C. A. Comparação de caracteres morfológicos e agrônômicos com moleculares em morangueiros cultivados no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 419-423, 2002.

COSTA M.A.; TORNISIELO V.L.; WALDER J.M.M. Residues of <sup>14</sup>C- prochloraz in irradiated mangos. **Pesticides: Ecotoxicology and Environment Magazine**. 11:105-114, 2001.

CRAVEN, E.; SCHLECHT, J.; STEIN, R. Gamma irradiation plants. CABO VERDE, S.; FERREIRA, I.C.F.R.; ANTONIO A.L. (Eds.), Food Irradiation Technologies: Concepts, Applications and Outcomes, Food Chemistry, Functions and Analysis. UK: **The Royal Society of Chemistry**, p. 28-50, 2018.

CUCCURULLO, G. et al. Influence of mode stirrer and air renewal on controlled microwave drying of sliced zucchini. **Biosystems Engineering**, v. 158, p. 95–101, 1 jun. 2017.

DAMALAS, C. A.; ELEFTHEROHORINOS, I. G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 5, p. 1402–1419, 2011.

DARROW, G. M. Strawberry: history, breeding and physiology. New York: **Holt, Rinehart and Winston**, 1966. 447 p.

DAVIK, J.; HONNE, B. I. Genetic variance and breeding values for resistance to a wind-borne disease [*Sphaerotheca macularis* (Wallr. ex Fr.)] in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) estimated by exploring mixed and spatial models and pedigree information. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, n. 2, p. 256–264, 2005. Douglas Gubler e Converse (1993)

DIAS et al. Produção de morangos em regiões não tradicionais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 236, p. 24-33, jan./fev. 2007.

DIAS, M. S. C. Culturas: Morango. **Manual de Tecnologia Agrícola**. Belo horizonte: EPAMIG, 2007. 800 p.

DONNELLY, K. J.; ROBINSON, D. R. Invited Review Free Radicals in Foods. **Free Radical Research**, 22:2, 147-176, 1995.

DUARTE FILHO, J.; CUNHA, R. J. P.; ALVARENGA, D. A.; PEREIRA, G. E.; ANTUNES, L. E. C. Aspectos do florescimento e técnicas empregadas objetivando a produção precoce em morangueiros. **Informe Agropecuário**, v. 20, n. 198, p. 30-35, 1999.

DUFFARD, R., TRAINI, L. Embryotoxic and teratogenic effects of phenoxy herbicides. **Acta Physiologica Latino Americana**, 31 (1), 1981. Pp. 35– 38.

EFSA. European Food Safety Authority. Conclusion on the Peer Review of th Pesticide Risk Assessment of the Active Substance Carbendazim. **EFSA Journal**, 8(5):1598. 2010.



EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Clima Temperado (org.). Morangueiro. Brasília: **Embrapa**, 2016. 590 p.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Agricultural Research Service. National Program Germplasm System. Germplasm resources information network. **Beltsville**, 2006. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/exsplist.pl>>. Acesso em: novembro de 2019.

EC. European Commission. **Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed (SANTE 11813/2017)**. 2018. Disponível em: <[https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2017-11813.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf)> Acesso em: abril de 2020.

FAO. Food and Agriculture Organization. Agriculture and Food Organization Corporate Statistical Database. **Pesticides Use**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>>. Acesso em: janeiro de 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization. Agriculture and Food Organization Corporate Statistical Database. **Strawberry: production rates**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QI>>. Acesso em: janeiro de 2021.

FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L. et al. Field-Incurred Fenitrothion Residues in Kakis: Comparison of Individual Fruits, Composite Samples, and Peeled and Cooked Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 860–863, 2004.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: **UFV**, 2003. 402 p.

FRANÇOSO, I. L. T. et al. Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 614–619, set. 2008.

GALLETA, G. J.; BRINGHURST, R. S. Strawberry management. In: GALLETA, G. J.; HIMELRICK, D. G. (Ed.). Small fruit crop management. New Jersey: **Prentice-Hall**, 1990. p. 83-93.

GÁMIZ-GRACIA, L. et al. Analysis of pesticides by chemiluminescence detection in the liquid phase. **TRAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 11, p. 927–942, 2005.

GARRIDO, C.; CARBÚ, M.; FERNÁNDEZ-ACERO, F. J.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, V. E.; CANTORAL, J. M. **New insight in the study of strawberry fungal pathogens**. In: HUSAINI, A. M.; MERCADO, J. A. (eds) Genomics, transgenics, molecular breeding and biotechnology of strawberry. Japan: Global Science Books, 2011. p. 24–39.

GIAMPIERI, F. et al. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. [S.L.]: **Nutrition**, v. 28, p.9-19, 2012.

GUARDIA-RUBIO, M. et al. Determination of pesticides in olives by gas chromatography using different detection systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1145, n. 1–2, p. 195–203, 2007.

GRAY, L. E. et al. Carbendazim-induced alterations of reproductive development and function in the rat and hamster. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 15, n. 2, p. 281–297, 1 ago. 1990.

GUTIERREZ, L. et al. Effect of Mixed Antimicrobial Agents and Flavors in Active Packaging Films. **J. Agric. Food Chem**, v. 57, p. 8564–8571, 2009. Hauke et al. (2004)

HÄKKINEN, S. H.; TÖRRÖNEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and Vaccinium species: Influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 517–524, 2000.

HALLMAN, G. J. Phytosanitary Applications of Irradiation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 2, p. 143–151, 2011.

HALLMAN, G. J.; LOAHARANU, P. Phytosanitary irradiation – Development and application. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 119, p. 39-45, 2016.

HAO, J. et al. Reduction of Pesticide Residues on Fresh Vegetables with Electrolyzed Water Treatment. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 4, 2011.

HENDAWI, M. Y.; MOYA, H.; AMYOT, M.; SAUVÉ, S. Occurrence of pesticides in fruits and vegetables from organic and conventional agriculture by QuEChERS extraction liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Food Control**, [S.L.], v. 104, p. 74-82, 2019.

HODAIFA, G. Treatment of Olive Oil Mill Wastewater by UV-Light and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> System. **International Journal of Green Technology**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 46-53, 2018.

HUNTER, T.; JORDAN, V. W. L. Mancha de fruta de morango causada por *Fusarium sambucinum*. **Plant Path**, 23, p. 118, 1973.

IAEA. International Atomic Energy Association. Dosimetry for Food Irradiation. Technical Report Series No. 409. Austria, Vienna: **IAEA**, p. 161, 2002.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola**. 2021. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/avaliacao-ambiental/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#sobre-a-avaliacao>>. Acesso: fevereiro de 2021.

ICGFI. International Consultative Group on Food Irradiation. Irradiation as Quarantine Treatment of Fresh Fruits and Vegetables. Bethesda, MD, USA: **ICGFI**, 1991.

ISHII, H. et al. Lack of cross-resistance to a novel succinate dehydrogenase inhibitor, fluopyram, in highly boscalid-resistant isolates of *Corynespora cassiicola* and *Podosphaera xanthii*. **Wiley Online Library**, v. 67, p. 474–482, 2009.

EMA. European Medicines Agency. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, in Q2 (R1) - Harmonised Tripartite Guideline. London: **EMA**, 2005.

IFST. Institute of Food Science + Technology. **Food Irradiation**. 2015. Disponível em: <<https://www.ifst.org/resources/information-statements/food-irradiation>>. Acesso em: março de 2021.

IIA. International Irradiation Association. **Recent developments in Food Irradiation by Yves Henon**. 2016. Disponível em: <[https://www.globalharmonization.net/sites/default/files/pdf/GHI-Food-Irradiation\\_October-2018.pdf](https://www.globalharmonization.net/sites/default/files/pdf/GHI-Food-Irradiation_October-2018.pdf)>. Acessado em: março de 2019

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008. Brasília: **Coordenação Geral de Acreditação**, 2016. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_05.pdf)>. Acesso: dezembro de 2020.

JIANG, J. et al. Biological response of zebrafish after short-term exposure to azoxystrobin. **Chemosphere**, v. 202, p. 56–64, 1 jul. 2018.

JIN, M. Residue behaviors and risk assessment of flonicamid and its metabolites in the cabbage field ecosystem. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 161, p. 420-429, 2018.

JONES, J. K.; SMARTT, J.; SIMMONDS, N. W. Evolution of crop plants. London: **Longman**, 1995. p. 412-417.

KALYANI, B.; MANJULA, K. Review Article Food Irradiation - Technology and Application. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, v. 3, n. 4, p. 549–555, 2014.

KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S. N. **Food processing a tool to pesticide residue dissipation - A review** **Food Research International**. Elsevier, 42, p. 26-40, 2009.

KILCAST, D. Food irradiation: Current problems and future potential. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 36, n. 3–4, p. 279–296, 1995.

KIM; KABIR; JAHAN, 2017

KIM, K.; KABIR, E.; JAHAN, S.A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 575, p.525-535, 2017.

KOLE, R.; BANERJEE, H.; BHATTACHARYYA, A. Monitoring of Market Fish Samples for Endosulfan and Hexachlorocyclohexane Residues in and Around Calcutta. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 67, 554–559, 2001.

KROL, W. J. et al. Reduction of Pesticide Residues on Produce by Rinsing. **J. Agric. Food Chem.**, v. 10, n. 48, p. 4666–4670, 2000.

KUBESCH, K. et al. Degradation of catechol by ionizing radiation, ozone and the combined process ozone-electron-beam. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, n. 4, p. 447–453, 2005.

KUMAR, N. et al. Developmental toxicity in embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) exposed to strobilurin fungicides (azoxystrobin and pyraclostrobin). **Chemosphere**, v. 241, p. 124980, 1 fev. 2020.

KUSSUMI T.A. Development of multiresistant method for the determination of benzimidazole, carbamates and triazines pesticides in maize by liquid chromatography coupled to mass spectrometry [dissertation]. São Paulo (SP): **Nuclear Energy Research Institute**. 2007. Disponível em: <[http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/IPEN\\_8f1f309f3e58f153580c79fb4f4ab4dd](http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/IPEN_8f1f309f3e58f153580c79fb4f4ab4dd)>. Acesso em: outubro de 2019.

LARSEN, R. C. et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for quantifying *Verticillium albo-atrum* DNA in resistant and susceptible alfalfa. **Phytopathology**, v. 97, n. 11, p. 1519–1525, 2007.

LAH, K. Effects of pesticides on human health. **Toxipedia**, 16, 2011. p. 2014.

LÉPINE, F. L. Effects of Ionizing Radiation on Pesticides in a Food Irradiation Perspective: A Bibliographic Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 12, p. 2112–2118, 1991.

LIMA, M. A.; CALEGARIO, F. F. Morango: produção segura. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, ano 9, n. 65, p. 24-25, 2011.

LITTLE, E.E., ARCHESKI, R.D., FLEROV, B.A. et al. Behavioral indicators of sublethal toxicity in rainbow trout. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 19, 380–385, 1990.

LIU, Y. et al. The degradation behaviour, residue distribution, and dietary risk assessment of malathion on vegetables and fruits in China by GC-FPD. **Food Control**, [S.L.], v. 107, p. 106-754, 2020.

LIU, Z.; CHEN, X.; SHI, Y.; SU, Z.C. Bacterial degradation of chloryfos by *Bacillus cereus*. [S.L.]: **Adv. Mater.** 2012. 215 p.

LIU, L.-N.; ZHANG, J.-Z.; XU, T. Histopathological studies of sclerotia of *Rhizoctonia solani* parasitized by the EGFP transformant of *Trichoderma virens*. **Letters in Applied Microbiology**. 49, 745–750, 2009.

LU, S.-Y. et al. ENDOCRINE-DISRUPTING ACTIVITY IN CARBENDAZIM-INDUCED REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY IN RATS. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Part A, v. 67, p. 1501–1515, 2004.

LOAHARANU, P. Irradiated Foods. New York: **National Council on Science and Health**, 5 ed., 2003.

LOCKE, D.; LANDIVAR, J.A.; MOSELEY, D. The effects of rate and timing on glyphosate applications on defoliation efficiency, regrowth inhibition, lint yield, fiber quality and seed quality. Beltwide Cotton Conferences (USA). Texas: **Agri**. v. 2, p. 1088-1090, 1995.

LORENZ, E. S. Penn State Negative Effects of Pesticides. **Agricultural Communications and Marketing**, p. 1–8, 2009.

LUCHINI, L.C. Degradação do inseticida paration-etílico em diversas matrizes ambientais por meio de radiação ionizante gama do cobalto-60. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Química Analítica, **Instituto de Química de São Carlos - USP**, São Carlos, 1995.

LUTZ, H., LUTZ-OSTERTAG, Y. The action of different pesticides on the development of bird embryos. In **Drugs and Fetal Development**, p. 127–150, 1972.

MAAS, J.L. Compendium of Strawberry Diseases. USA: **The American Phytopathological Society**, 2ª ed., 1998, 98 p.

MAHMOOD I., IMADI S.R., SHAZADI K., GUL A., HAKEEM K.R. Effects of Pesticides on Environment. In: Hakeem K., Akhtar M., Abdullah S. (eds). Plant, Soil and Microbes. **Springer, Cham.**, p. 253-259, 2016.

MAJEWSKI, M.S. Pesticides in the atmosphere: distribution, trends, and governing factors. Califórnia: **CRC Press**. 2019. 228 p.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes em produtos de origem vegetal - PNCRC/vegetal**. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>>. Acesso: abril de 2021.

MARSON, B. M. et al. Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: an overview focused on HPLC methods. **Quim. Nova**, v. 43, n. 8, 1190-1203, 2020.

MCLAUGHLIN, W. L. **Dosimetry for radiation processing**. London: Taylor & Francis, 1989. 251 p.

MHSRV. Ministry of Health of Socialist Republic of Vietnam. **On the issuance of the regulations on safety and sanitation of foods preserved by irradiation - No. 3616/2004/QD-BYT.** 2004. Disponível em: <<https://vanbanphapluat.co/decision-no-3616-2004-qd-byt-of-october-14th-2004-on-the-issuance-of-the-regulations-on-safety-and-sanitation-of-foods-preserved-by-irradiation>>. Acesso em: fevereiro de 2020.

MILLER, R. B. Electronic Irradiation of Foods. An Introduction to the Technology Food Engineering Series. New York: **Springer**, 2015, 293 p.

MINSAL. Ministry of Health of the Republic of Chile. 2015. **Health Food Regulation - DTO. N° 977/96.** 2015. Disponível em: <[https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/DECRETO\\_977\\_96%20actualizado%20a%20Enero%202015\(1\).pdf](https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/DECRETO_977_96%20actualizado%20a%20Enero%202015(1).pdf)>. Acesso em: setembro de 2020.

MOHAMED, K. A. et al. Radiolytic degradation of malathion and lindane in aqueous solutions. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 994–1000, 1 nov. 2009.

MOISAN, F. et al. Association of Parkinson's Disease and Its Subtypes with Agricultural Pesticide Exposures in Men: A Case–Control Study in France. **Environmental Health Perspectives**, v. 123, n. 11, p.1123-1129, 2015.

MOREIRA, R. G. Food irradiation. Handbook of Food Technology and Food Engineering. New York: **Marcel Dekker**, 2004.

MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, M. E. Fundamentals of Food Irradiation. In: **Innovative Food Processing Technologies**. [S.l.] Elsevier, p. 1–18, 2021.

MORI, M. et al. Degradation of chlorpyrifos by ionizing radiation. **J Radioanal Nucl Chem**, 270, 99–102, 2006.

MORINAGA, H. et al. A Benzimidazole Fungicide, Benomyl, and Its Metabolite, Carbendazim, Induce Aromatase Activity in a Human Ovarian Granulosa-Like Tumor Cell Line (KGN). **Endocrinology**, v. 145, p. 1860–1869, 2004.

MUSA, C. I. Caracterização físico-química de morangos de diferentes cultivares em sistemas de cultivo distintos no município de Bom Brincípio/RS. 160 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento, Tecnologia e Ambiente, **Univates**, Lajeado, 2016.

NATA. National Association of Testing Authorities. Technical Note 17: Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia: **NATA**, 2013.

NEPA. Núcleo de Pesquisa em Alimentos. Brazilian Table of Food Composition. 4<sup>th</sup> ed. Campinas, São Paulo, Brazil: **Unicamp**. 2011. Disponível em: <[http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf?arquivo=taco\\_4-versao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf](http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4-versao_ampliada_e_revisada.pdf)>. Acesso: junho de 2020.

NER, A. M. Strawberry Growth, Development and Diseases. Boston: **Cabi**, 2016. 324 p.

NHFPCPRC. National Health and family planning commission of PRC. **National Food Safety Standard – Hygienic specification for food irradiation processing - GB 18524-2016**. 2016. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=Atw5DwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-T&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?id=Atw5DwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-T&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)>. Acesso: março de 2019.

NIEMIRA, A. B.; FAN X. Low-dose irradiation of fresh and fresh-cut produce: safety, sensory, and shelf life. Food Irradiation Research and Technology, **Blackwell Publishing and Institute of Food Technologists**, p. 169-184, 2006.

OLSVIK P.A. et al. Effects of the fungicide azoxystrobin on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolt. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 73, p. 1852-1861, 2010.

MOLINS, R. A. Food Irradiation: principles and applications. New York: **Wiley Interscience**, 2001, p. 1-21.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana de Saúde e Organização Mundial da Saúde. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília: **OPAS, OMS**; 2003.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana de Saúde e Organização Mundial da Saúde. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília: **OPAS, OMS**; 1996.

OSHITA D.; JARDIM I. Strawberry: an alimentary, environmental and sanitary concern, monitored by modern liquid chromatography. **Scientia Chromatographica**, 4, 2012, 46-70.

PAN, X. M.; Schuchmann, M. N.; Sonntag, C. V. Oxidation of benzene by the OH radical. A product and pulse radiolysis study in oxygenated aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, v. 3, p. 289-297, 1993.

PAN. Pesticides Action Network. Pesticides and Health Hazards: Facts and Figures. Germany: **PAN**, 2012, 16p.

PARWEEN, T.; JAN, S. Ecophysiology of pesticides: interface between pesticide chemistry and plant physiology. London: **Elsevier**, 2020, 304 p.

PATUSSI, C.; BUNDCHEN, M. Avaliação in situ da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de tradescantia clone 4430. **Ciência & Saúde Coletiva, Manguinhos**, RJ. V. 4, n. 18, p. 1173-1178, 2012.

PELL, M.; STENBERG, B.; TORSTENSSON, L. Potential denitrification and nitrification tests for evaluation of pesticide effects in soil. [S.L]: **Ambio**, 1998, p. 24–28.

PERTOT, I. et al. Identificator: A web-based tool for visual plant disease identification, a proof of concept with a case study on strawberry. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 84, p. 144–154, 1 jun. 2012.

PIRES, R. C. M.; PASSOS, F. A.; TANAKA, M. A. Irrigação do morangueiro. Informe Agropecuário, v. 20, n. 198, p. 52-58, 1999.

PMRA. Pest management regulatory agency. **Registration decision - Carbendazim**. Canadian: PMRA, 2011.

PPDB - Pesticide Properties Database: creating tools for pesticide risk assessment and management in Europe Developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU), University of Hertfordshire (funded by UK national sources and the EU-funded Project). 2020. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>>. Acesso em: junho de 2020.

PRAKASH, A.; INTHAJAK, P.; HUIBREGTSE, H.; CAPORASO, F.; FOLEY, D. M. Effects of low-dose gamma irradiation and conventional treatments on shelf life and quality characteristics of diced celery. **J Food Sci**, v. 65, n. 6, p. 1070-1075, 2000.

PRODORUTTI, D. et al. Genetic diversity of *Armillaria* spp. infecting highbush blueberry in northern Italy (Trentino region). *Phytopathology*, v. 99, n. 6, p. 651–658, 2009.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; JUNG-MENDAÇOLLI, S. L.; PASSOS, F. A.; SANTOS, R. R. Caracterização botânica de cultivares de morangueiro. **Bragantia**, v. 55, n. 1, p. 29-44, 1996.

RATNER, M.H. et al. Younger age at onset of sporadic Parkinson's disease among subjects occupationally exposed to metals and pesticides. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 7, n. 3, p.123-133, 2015.

REDONDO, C. et al. Characterization of *Penicillium* Species by Ribosomal DNA Sequencing and BOX, ERIC and REP-PCR Analysis. **Phytopathology**, 168, 11–22, 2009.

REICHERT, L.J.; MADAIL, J. C. M. Aspectos socioeconômicos - Morango: produção. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**; Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, p. 12-15, 2003.

ROCHA, D.A.; ABREU, C.M.P.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, C.D.; FONSECA, E.W.N. **Rev. Bras. Frutic.** 30(4) (2008) 1124.

RODRIGUES, M. A. T. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura de soja**. Tese (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 2009.

RONQUE, E. R. V. A cultura do morangueiro. Curitiba: **Emater**, 1998. 206 p.



RUIZ-MOYANO, S. et al. Characterization of molds isolated from smoked paprika by PCR-RFLP and micellar electrokinetic capillary electrophoresis. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 776–782, 1 dez. 2009. Shafique et al. (2009)

SANHUEZA, R. M, V.; HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C.; FREIRE, J.M. Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do Nordeste. Pelotas: **Embrapa Uva e Vinho, Sistema de Produção**, 6ª versão eletrônica, 2005.

SANTOS, L. O. et al. Técnicas de conservação pós-colheita do morango. Belo Horizonte: **Informe Agropecuário**, V.28, n.236. p. 84-87, 2007.

SANTOS, A., FLORES, M. Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, 20 (6), p. 349–352, 1995.

SANTOS, A. M. D; MEDEIROS, A. R. M. D. Implantação da cultura. In: ANTUNES, L. E. C. (Ed.). Sistema de produção do morango. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2005. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 5).

SAVONEN, C. **Soil microorganisms object of new OSU service**. Good Fruit Grower. 1997. Disponível em:

<<http://www.goodfruit.com/archive/%201995/6other.html>>. Acesso: março de 2019.

UC. University of California. Pesticide combinations imperil frogs, probably contribute to amphibian decline. **ScienceDaily**. 2006. Disponível em: <[www.sciencedaily.com/releases/2006/02/060202180830.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2006/02/060202180830.htm)>. Acesso: março de 2020.

SEERAM, N.P; LEE, R.; SCHEULLER, H.S.; HEBER, D. Strawberry: benefices. **Food Chem.**, 97, 2006.

SHAFIQUE, S. FCBP-252 for hyper-active  $\alpha$ -amylase. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 47, n. 7, p. 591–596, 2009.

SHARMA D.; NAGPAL A.; PAKADE Y.B.; KATNORIA J.K. Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. **Talanta**. 82(4), 1077-1089, 2010.

SILVA, A. C. DE O. et al. Effect of gamma radiation on lipids by the TBARS and NMR. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 6, p. 1343–1348, dez. 2011.

SPINKS, J. W. T.; WOODS, R. J. An Introduction to Radiation Chemistry. Toronto: **John-Wiley and Sons**, Inc., 3ª ed., 1991, 451 p.

STRASSBURGER, A. S. et al. Sistema de produção do morangueiro: fatores que influenciam o manejo da irrigação. In: TIMM, L. C.;

STATES OF JERSEY. Department of Environmental Protection - Pesticide Control Program. **Pesticide Evaluation & Monitoring**. Jersey, 2007.

SZCZAWIŃSKA, M. E. Application of ionizing radiation for control of Salmonella in Food. Croatia: **M. Mares**, 2017, 273 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre: **Artmed**. 3° ed, p. 312- 333, 2004.

TANO Z. J. Identity physical and chemical properties of pesticides. Pesticides in the Modern World: Trends in Pesticides Analysis. Uk: **Techopen**, p. 1-18, 2011.

TAVARES, V. E. Q.; REISSER JUNIOR, C.; ESTRELA, C. C. (Ed.). Morangueiro irrigado: aspectos técnicos e ambientais do cultivo. Pelotas: **Universidade Federal de Pelotas**, p. 30-50, 2009.

TEZZOTO-ULIANA J.V.; SILVA P.P.M. KLUGE R.A.; SPOTO M.H.F. Gamma radiation in plant foods. **Revista Virtual de Química**, 7(1), 267-277, 2015.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA - BERKELEY. Pollinators Help One-third Of the World's Food Crop Production. ScienceDaily. 2006.

USDA. United States Department of Agriculture. **New Requirements for Irradiated Food**. 2010. Disponível em: <[https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/New%20Requirements%20for%20Irradiated%20Food\\_Bangkok\\_Thailand\\_5-13-2010.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/New%20Requirements%20for%20Irradiated%20Food_Bangkok_Thailand_5-13-2010.pdf)>. Acesso: novembro de 2019.

USDA. United States Department of Agriculture. **Food and Agricultural Import Regulations and Standards Report**. 2019. Disponível em: <[https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Food%20and%20Agricultural%20Import%20Regulations%20and%20Standards%20Report\\_Jakarta\\_Indonesia\\_3-18-2019.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Food%20and%20Agricultural%20Import%20Regulations%20and%20Standards%20Report_Jakarta_Indonesia_3-18-2019.pdf)>. Acesso: abril de 2020.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Thiophanate-Methyl and Carbendazim (MBC). Human Health Assessment Scoping Document in Support of Registration Reviews. United States: **Memorandum**. 2014.

USEPA. United States Environmental Protection Agency Registration eligibility science chapter for chlorpyrifos. **Fate and environmental risk assessment chapter**. United States, 2000.

VAUGHAN, J. G.; GEISSLER, C. A. The new Oxford book of food plants. New York: **Oxford University**, 1997. 237 p.

VALLEJO, I. et al. Inheritance of chromosome-length polymorphisms in the phytopathogenic ascomycete *Botryotinia fuckeliana* (anam. *Botrytis cinerea*). **Mycological Research**, v. 106, n. 9, p. 1075–1085, 1 set. 2002.

VESSMAN, J., STEFAN, R., VAN STADEN, J.F., DANZER, K., LINDNER, W., BURNS, D.T., FAJGELJ, A. E. MULLER, H. Selectivity in analytical Chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, 73, 1381-1386, 2001.

VON-SONNTAG, C. Free-Radical-Induced DNA Damage and its Repair. Heidelberg: **Springer**, 2006, p. 47-75.

WANG, S.; JIN, F.; CAO, X.; SHAO, Y.; WANG, J.; SHE, Y.; QI, Y.; ZHANG, C.; LI, H.; WANNER, B. L.; METCALF, W. W. Molecular genetic studies of a 10.9-kb operon in *Escherichia coli* for phosphonate uptake and biodegradation. **FEMS Microbiology Letters**, v. 100, n. 1–3, p. 133–139, 1992.

WANWIMOLRUK, S.; DUANGSUWAN, W.; PHOPIN, K.; BOONPANGRAK, S. Food safety in Thailand 5: the effect of washing pesticide residues found in cabbages and tomatoes. **Journal Of Consumer Protection And Food Safety**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 209-221, 2017.

WELLS, M. **Vanishing bees threaten US**. Flórida: BBC News. 2007. Disponível em: < <http://news.bbc.co.uk/2/hi/americas/6438373.stm>>. Acesso: abril de 2021.

YADAV, I. C.; DEVI, N. L.; SYED, J. H.; CHENG, Z.; LI, J.; ZHANG, G.; JONES, K. C. Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: a comprehensive review of india. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 511, p. 123-137, 2015.

YANG, X.; LI, Y.; LI, S.; OLADEJO, A. O.; RUAN, S.; WANG, Y.; HUANG, S.; MA, H. Effects of ultrasound pretreatment with different frequencies and working modes on the enzymolysis and the structure characterization of rice protein. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 38, p. 19-28, 2017.

ZAOUAK, A.; NOOMEN, A.; JELASSI, H. Gamma radiation induced degradation of the phenoxy acid herbicide diclofop-methyl in aqueous solutions *Applied Radiation and Isotopes*. **Elsevier Ltd**, v. 156, 2020.

ZONA, R.; SOLAR, S. Oxidation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by ionizing radiation: Degradation, detoxification and mineralization. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 137–143, 1 fev. 2003.