

10. HUXLEY, P.A. 1965. Coffee germination, test recommendations and defective seed types. Proceedings of the International Seed Testing Association 30(3):705-715
11. LAVÉE, S.S.; SHULMAN, Y.; NIR, G. 1984. The effect of cyanamide on budbreak of grapevines *Vitis vinifera*. In Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines. Davis, University of California p. 17-29
12. PIRRUNG, M.C.; BRAUMAN, J.I. 1987. Involvement of cyanide in the regulation of ethylene biosynthesis. Plant Physiology and Biochemistry 25(1):55-62
13. ROBERTS, E.H.; ELLIS, R.H. 1984. The implications of the deterioration of orthodox seeds during storage for genetic resources conservation. In Crop genetic resources: conservation and evaluation. Ed. by J.H.W. Holden, J.T. Williams. London, George Allen and Unwin p. 18-37
14. ROBERTS, E.H.; KING, M.W. 1980. The characteristics of recalcitrant seeds. In Recalcitrant crop seeds Ed. by H.F. Chin; E.H. Roberts. Malaysia, Tropical Press p. 1-15.
15. SOLOMOS, T. 1977. Cyanamide resistant respiration in higher plants. Plant Physiology (EE.UU.) 28:279-297.
16. TOKAKI, M.; DIETRICH, S. 1978. Efeito do ácido giberélico e da luz sobre enzimas de sementes de café (*Coffea arabica* L.) durante a germinação. Ciência e Cultura (Brasil) 30(9):1129-1130
17. VALENCIA, G. 1970. Tratamientos para acelerar la germinación de la semilla de café. Revista Cafetalera de Colombia 19(146):55-59
18. VALIO, I.F.M. 1976. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo). Journal of Experimental Botany 27(100):983-991.
19. VALIO, I.F.M. 1980. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. Journal of Seed Technology 5(1):32-39
20. VISWESHWARA, S.; RAJO, K.S.K. 1972. Seed germination in coffee. II Effect of placement. Indian Coffee 37(9-10):286-289; 311.

Estudo do Efeito do Processamento sobre Resíduo de Clorotalonil em Grãos de Café¹

A.M.S.M. Llistó*, L.G. Souza*

RESUMO

Pela presente pesquisa, procurou-se observar a ocorrência de resíduos do fungicida clorotalonil derivado da ftalotriprila, aplicado em plantas de café. Para determinação do nível do resíduo do clorotalonil usou-se um método cromatográfico adaptado por Llistó *et al.* (7) e Ribas (10), estudado para determinação de resíduos de clorotalonil em café. Os teores de resíduos foram calculados por comparação com amostras contendo concentrações conhecidas de clorotalonil. A execução do trabalho foi levada a efeito de duas maneiras: sementes de café, pulverizadas em laboratório, com tratamentos diferentes do clorotalonil técnico; e, o tratamento de plantas de café, no campo, com produto comercial contendo 50% do ingrediente ativo, com duas dosagens acima das indicadas comercialmente para a cultura. Verificou-se presença de resíduos nas cascas, pergamimho e sementes de café beneficiado, proveniente das amostras tratadas no campo. Nos grãos de café submetidos a torração, à temperatura de 220°C durante 25 minutos, houve completa eliminação dos resíduos em todos os níveis de aplicação.

ABSTRACT

The present work sought to observe the occurrence of residues of a chlorothalonil fungicide derived from phthalotripril in coffee beans when the fungicide was applied to coffee plants. A chromatographic method specially adapted by Llistó *et al.* (7) from Ribas (10) was employed. The residues were calculated by comparing samples containing known concentrations of chlorothalonil. The work was carried out by spraying coffee beans in the laboratory with eight different treatments of technical chlorothalonil; and by treating coffee plants in a plantation with a commercial product with 50% of the active ingredient of chlorothalonil and a concentration twice as high as that commercially recommended for coffee. Fungicide residues were found in the pericarp, endocarp and seeds of dried coffee berries. Seed samples submitted to roasting at 220°C over 25 min did not present any fungicide residue.

¹ Recebido para publicação 21 março 1988

* Professores Adjuntos do Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrônomicas "Campus" de Botucatu - UNESP.

INTRODUÇÃO

A utilização de defensivos agrícolas, permite aos agricultores, nas condições atuais, produzir e aumentar a produtividade

Os níveis de resíduos podem ser diminuídos pelo uso de pesticidas adequados, com períodos residuais breves, altamente específicos. Os métodos normais de processamento dos alimentos poderão também removê-los ou diminuir-los.

A presença de resíduos de pesticidas em grãos de café pode acarretar problemas não só do ponto de vista do consumo interno, mas também pelos danos que poderá criar às exportações devido às restrições impostas por nações importadoras, uma vez que, as legislações vigentes em alguns países são extremamente rigorosas a este respeito.

Durante a execução da presente pesquisa, verificou-se a persistência do resíduo do fungicida clorotalonil em café. O fungicida clorotalonil, derivado de ftalonitrila, é aplicado nas partes aéreas de cafeeiros, para controle de *Colletotrichum coffeanum* (antracnose), *Cercospora coffeicola* (olho pardo), *Hemileia vastatrix* (ferrugem), *Phoma costaricensis* (requeima), *Mycena citricolor* (mancha americana) e, *Pellicularia koleroga* (mal de hilachas).

O uso intensivo de pesticidas nas últimas décadas fez com que estes compostos passassem a ser parte integrante do meio ambiente. A permanência destes pesticidas no meio ambiente, ou modo de encontrá-los e detectá-los bem como suas consequências têm objetivado várias pesquisas.

A Comisión del Codex Alimentarius (4), elaborou um guia dos limites máximos de resíduos de pesticidas aceitáveis, e, doses de orientação para produtos alimentícios e grupos de alimentos. Stellfeld *et al.* (11), codificaram as monografias dos pesticidas registrados no Ministério da Agricultura do Brasil, estabeleceram seus níveis de resíduos para os alimentos, e, o tempo de carência, de acordo com o pesticida e a cultura.

Ribas (10), analisando sementes de café provenientes de plantas tratadas no campo, com dosagens normais, e acima das normais, observou que a torração do café reduz o nível de resíduos de lindane e endosulfan, à quantidade abaixo do limite de detecção do método utilizado.

Amaral *et al.* (1), estudaram a influência de BHC, canfeclor, clordane, heptaclor e dieldrin na bebida do café. Concluíram que apenas o BHC interferiu negativamente na sua qualidade. Os demais inseticidas não causaram alterações de sabor e aroma ao café.

O clorotalonil é um fungicida produzido a partir da isophthalonitrila, segundo Worthing, (12), com dose diária aceitável de 0.03 mg/kg de peso corporal; sua classificação toxicológica está inserido na classe III,

segundo portaria 02/81-Disad (3). Segundo Ballee *et al.* (2), o clorotalonil foi registrado em 1969 nos Estados Unidos, para controle de doenças em batatas e, em 1971 seu uso foi estendido para outras culturas economicamente importantes.

Northover (8), constatou que a ocorrência de resíduos de clorotalonil eram similares em uva e seu suco, os quais haviam sido refrigerados a temperatura de 1°C por 15 dias. O material foi proveniente de videira submetido a tratamento no campo com 3 formulações e de 3 a 6 aplicações de clorotalonil.

Re *et al.* (9), estudando métodos de determinação de resíduos para fungicidas, observaram que os resíduos de clorotalonil são facilmente analisados por cromatografia gasosa, após serem extraídos por éter dietílico e passarem por uma purificação em coluna de alumínio.

De acordo com a Diamond Shamrock do Brasil (5), o clorotalonil tem ação efetiva e persistente para muitos fungos. É usado em vários países, os quais estabeleceram para as diferentes culturas, intervalos de pré-colheitas e tolerancias máximas de resíduos. Estudos conduzidos (6) de resíduos de clorotalonil e seu metabólito por cromatografia gasosa em amostras de batatas tratadas em laboratório, mostraram que a recuperação foi de 96 a 100% para quantidades adicionadas de 0.1 p.p.m. e de 93 a 119% para quantidade de 0.2 p.p.m.

Llistó *et al.* (17), estudando a determinação de resíduos de clorotalonil em grãos de café usando método de cromatografia gasosa, obtiveram para sementes fortificadas com níveis de 0.01 p.p.m.; 0.1 p.p.m. e 1 p.p.m. em laboratório, a recuperação de 100%, 106% e 110%, respectivamente. Verificaram que o clorotalonil e seu metabólito possuíam nas condições de trabalho, o mesmo tempo de retenção.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O presente trabalho de pesquisa foi desenvolvido em duas fases distintas: no campo e em laboratório.

No campo, o experimento foi instalado em cafezal pertencente a Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, Botucatu, na Fazenda Experimental "Presidente Médici".

Em laboratório, os ensaios foram levados a efeito nas instalações do Departamento de Tecnologia dos Produtos Agropecuários da mesma Faculdade em Botucatu, SP.

A matéria prima constituiu-se de frutos submetidos a tratamentos no campo e sementes de café tratadas no laboratório

Os defensivos usados foram: Bravonil 500, para aplicação no campo e o clorotalonil técnico para ensaio de laboratório

Para o campo, utilizou-se produto a base de clorotalonil, ou seja, Bravonil 500 produto comercial (p.c) com 50% de ingrediente ativo (i.a.), para pulverização das covas ou plantas, nas seguintes formulações: 1) 6.6 kg/ha de i.a.; 2) 3.3 kg/ha de i.a.; 3) testemunha. Foram realizadas 4 aplicações com um pulverizador costal, marca Jacto, série 7 800 Maq. PJH-C-09450 gastando-se 100 litros de solução por hectare. Procurou-se obter uma distribuição uniforme sobre as plantas. As dosagens usadas, para a pesquisa, foram maiores que as indicadas na prática (3), para a cultura do cafeeiro, em áreas comerciais, no controle das doenças

Em laboratório, foi utilizado clorotalonil técnico, com 98% de pureza. Preparou-se inicialmente uma solução, com 25 mg do padrão dissolvido em 50 ml de benzeno. A partir desse preparado inicial, foram feitas diluições para obter soluções com concentrações finais correspondentes a 0.1 p.p.m.; 0.5 p.p.m.; 1 p.p.m.; 2.5 p.p.m.; 5 p.p.m.; 7.5 p.p.m. e 10 p.p.m. Essas concentrações de 0.1 a 10 p.p.m. são indicadas como nível máximo de resíduos de clorotalonil permitíveis pela FAO (4), e segundo Stellfeld (11), para outras culturas. Para o café ainda não foi estipulado o nível máximo de resíduo permitido.

MÉTODOS

Amostragens

As análises de resíduos do clorotalonil foram feitas em frutos (café cereja) provenientes dos três tratamentos no campo, e coletados com intervalos de 1, 15 e 30 dias, após a última aplicação do produto, com duas repetições

As amostras colhidas a 1, 15 e 30 dias foram analisadas a 15, 30 e 75 dias respectivamente, após a última pulverização do fungicida. O intervalo de tempo entre as diferentes épocas de colheitas e as análises, foi devido ao tempo necessário para a secagem e beneficiamento dos frutos

Os lotes das sementes de café verde tratadas em laboratório constituíram as amostras para análises, que foram feitas e depois de serem torradas.

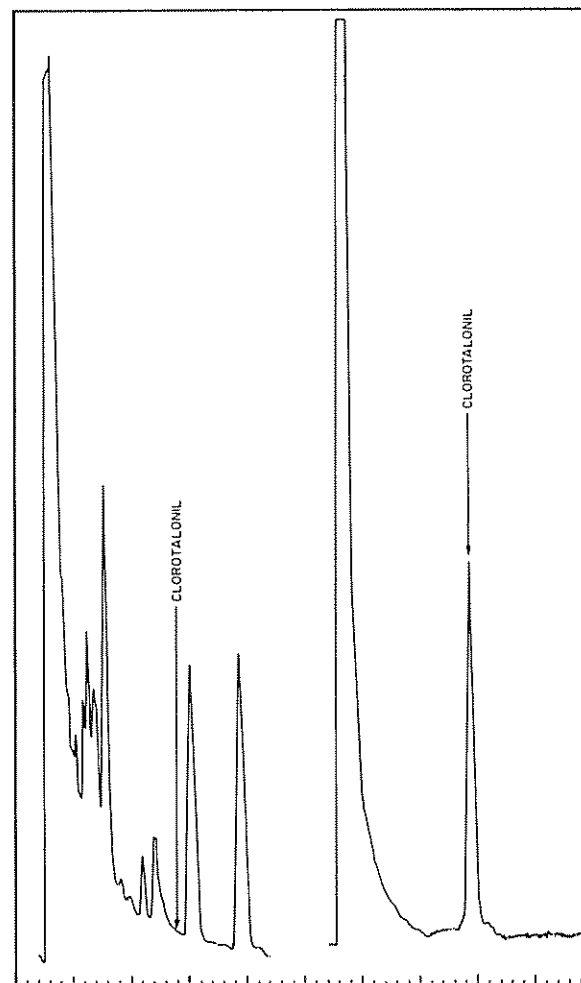


Fig. 1. Cromatogramas de uma amostra de sementes de café testemunha, proveniente de planta não tratada com o produto químico (A), e do padrão de clorotalonil (B).

Torração

Das amostras de café coletadas no campo, a 1, 15 e 30 dias, após secagem e beneficiamento, foram retiradas as sementes para serem submetidas à torração, em estufa a 220°C, por 25 minutos.

Os grãos de café cru, tratados em laboratório, foram submetidos à mesma torração que as amostras de campo

Determinação do Resíduo de Clorotalonil

O método empregado para a análise de resíduos, utilizando-se cromatografia a gás, foi adaptado por Llistó (7) a partir de Ribas (10) permitindo a obtenção de um limite de detecção da ordem de 0.01 p.p.m. e recuperação de 100%

O método foi previamente estudado e adaptado para café. Fez-se o estudo da porcentagem da mistura dos eluentes, o estudo do fracionamento para se determinar o volume usado de eluente, e em quais frações o clorotalonil e seu metabólito eram obtidos

Foram feitas curvas padrões para determinação da recuperação e sensibilidade do método, a partir do clorotalonil técnico, adicionando-se quantidades conhecidas de clorotalonil nas sementes de café verde e testemunha após torradas, efetuando-se suas determinações

Para as amostras tratadas em laboratório, os cálculos foram feitos através de áreas dos picos, comparando-as com soluções padrões de concentrações semelhantes

RESULTADOS

Na Fig 1, são apresentados os cromatogramas A e B. A representa a análise de uma amostra de café testemunha, ou seja proveniente de plantas não tratadas com o produto químico, e B cromatograma de padrão de clorotalonil, mostrando o tempo de retenção do mesmo.

Os resultados das análises quantitativas de resíduos de clorotalonil contidos na Tabela, correspondem a média aritmética de duas repetições

Na Tabela 2, estão contidos os valores de resíduos de clorotalonil, obtidos a partir da média aritmética dos resultados de duas repetições

Análise do Fungicida nas Sementes de Café Verde Tratado em Laboratório

A média aritmética dos valores de resíduos de clorotalonil de cinco repetições para cada tratamento são representados no gráfico da Fig 2

Os resultados de resíduos de clorotalonil, são expressos em partes por milhão (p.p.m.), o que corresponde a miligrama do produto químico por quilo da amostra.

Análise de Resíduo do Fungicida nas Sementes de Café Provenientes dos Tratamentos de Campo e Submetidos a Torração

As amostras de sementes de café correspondentes à colheita efetuada 1 dia após a última pulverização, e que receberam os tratamentos de 6.6 kg/ha de i.a. (A) e de 3.3 kg/ha de i.a. não apresentaram resíduos, bem como as amostras de sementes de café testemunha.

Tabela 1. Resíduos de clorotalonil (média de 2 repetições) em cascas, pergaminho e sementes de café provenientes de plantas pulverizadas 4 vezes com 6.6 kg/ha i.a., coletadas em diferentes épocas.

Dias após última pulverização	Resultados mg/kg (ppm)			Total
	Casca	Pergaminho	Semente	
01	384	428	65	788.0
15	436	207	27	670.0
30	350	174	7	531.0

Análises de Resíduo nas Sementes de Café tratadas em Laboratório e Submetidas à Torração

Na Fig. 3, são apresentados os cromatogramas A e B. A representa a análise de uma amostra de semente de café testemunha, que após torração foi adicionada o clorotalonil, e B cromatograma de uma amostra de sementes de café testemunha torradas.

As análises de sementes de café torradas após os tratamentos de laboratório e correspondentes à 0.1; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0; 7.5 e 10.0 p.p.m. de clorotalonil, não apresentaram resíduo

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Frutos de Café não Torrados e Provenientes de Plantas Pulverizadas no Campo

Nas Tabelas 1 e 2, encontram-se os níveis de resíduos de clorotalonil encontrados na casca, pergaminho e sementes de café, provenientes de duas do-

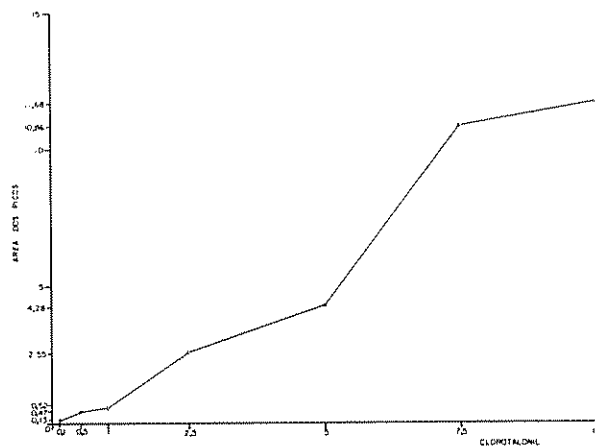


Fig 2 Valores das áreas dos picos de clorotalonil (média de 5 repetições) correspondentes aos tratamentos efetuados em laboratório

sagens diferentes, correspondentes a 3 e 15 vezes maiores que a recomendada para café (5). Os teores de resíduos da casca e pergaminho, foram mais altos do que os níveis de tolerancias estabelecidos para outras culturas (4, 11) e que vão de 0.1 a 10 p.p.m.

Estes resultados ocorrem devido ao fato do clorotalonil ser um fungicida, cuja ação é de contacto, permanecendo na superfície da planta onde foi aplicado, ou seja, na casca do fruto.

Tabela 2. Resíduos de clorotalonil (média 2 repetições) em cascas, pergaminho e sementes de café provenientes de plantas pulverizadas 4 vezes com 3.3 kg/ha i.a., coletadas em diferentes épocas.

Dias após última pulverização	Resultados mg/kg (ppm)			Total
	Casca	Pergaminho	Semente	
01	348	418	44	810.0
15	180	96	3.2	279.2
30	178	104	2.8	284.8

Pela análise das Tabelas 1 e 2, verificou-se que os valores totais de resíduos, correspondentes à soma dos resíduos na casca, pergaminho e semente dos frutos da primeira colheita foram mais elevados do que os valores encontrados na segunda e terceira colheitas.

Pela Tabela 1, essas diferenças chegam a 23.6% e 39.4%, respectivamente. Na Tabela 2, esse valor é da ordem de 65.5% e 64.8%, respectivamente. Verifica-se, conseqüentemente, que, na maior dosagem, ou seja, de 6.6 kg/ha de i.a., as diferenças dos níveis de resíduos são menores entre as amostras colhidas a 1, 15 e 30 dias.

O que se observa, analisando os valores obtidos e as diferenças encontradas, é que houve um decréscimo significativo da casca para a semente, o que pode ser resultante da pequena penetração do produto durante o tempo em que o mesmo permanece aderido na casca do fruto, por se tratar de fungicida cuja ação é de contacto.

Nos grãos de café provenientes de plantas que receberam 6.6 kg/ha de i.a., em 4 pulverizações, os resultados das amostras colhidas a 1 e 15 dias, após o último tratamento encontram-se acima dos níveis de tolerância de resíduos para clorotalonil estabelecidas para outras culturas, enquanto que os valores encontrados para 30 dias, acham-se dentro desses limites de tolerancias (4, 11). No caso dos grãos de café provenientes de plantas que receberam 3.3 kg/ha de i.a. em 4 pulverizações, os resultados encontram-se dentro da faixa de tolerância de resíduos de clorotalonil

estabelecidos para outras culturas, com exceção da amostra colhida a 1 dia.

As amostras provenientes do campo e colhidas a 1, 15 e 30 dias, foram analisadas nos seguintes intervalos de tempo: 15, 30 e 75 dias após a última pulverização. Neste período, entre colheita e análise, os frutos foram submetidos a secagem natural e beneficiamento. O intervalo de segurança ou período de carência máximo foi de 75 dias, para as duas dosagens. Este período foi suficiente para reduzir o nível de resíduos das sementes de 95% a 99%, e os valores encontrados estão dentro dos níveis máximos de tolerância exigidos para outras culturas.

Sementes Submetidas a Torração

Os resultados obtidos da análise dos grãos de café submetidos a torração mostraram que os níveis de

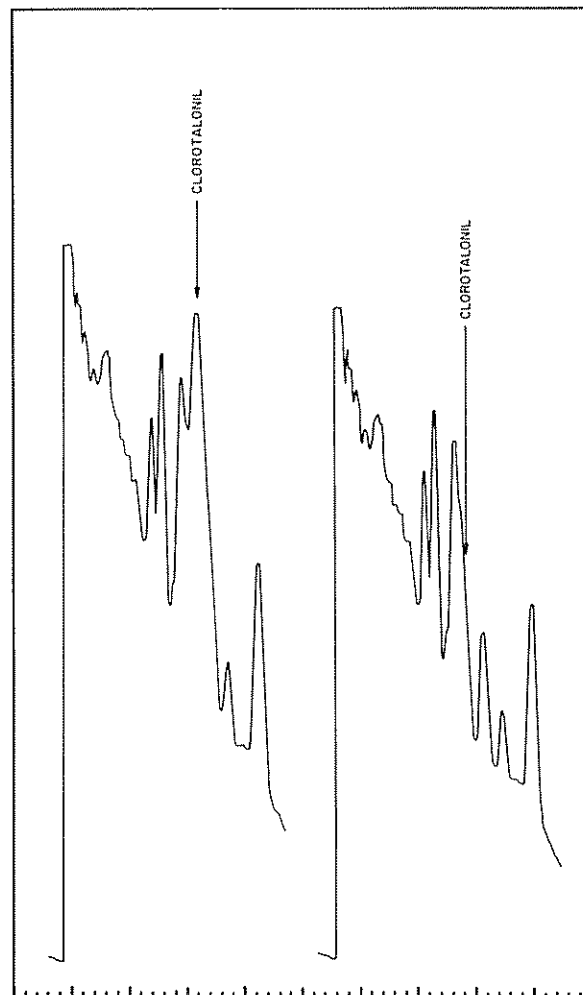


Fig. 3 Cromatogramas de amostras de sementes de café testemunha, tratadas em laboratório com acetona e submetidas a torração. A sementes testemunha que após torração foi adicionado o clorotalonil, e B sementes testemunhas.

resíduos em ambos os tratamentos de campo, acima dos normais usados, foram totalmente eliminados, ocorrendo o mesmo com os grãos tratados em laboratório.

Isto mostra que a temperatura e tempo empregados para a torração das sementes foram suficientes para eliminar os resíduos de clorotalonil.

LITERATURA CITADA

1. AMARAL, S.F.; ARRUDA, V.H.; ORLANDO, A. 1973. Alguns inseticidas e bebidas do café arquivos do Instituto Biológico (Bra.) 40:173-80.
2. BALLEE, D.L.; DUANE, W.C.; STALLARD, D.E.; WOLFE, A.L. 1976. GUNTER. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators; government regulations, pheromone analysis, additional pesticides 2 ed. New York, Academic Press, v.8, cap. 15, p. 263-274
3. BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA 1981. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Produtos Saneantes Domissanitários. Portaria 02/DISAD, 11 fev Diário Oficial da União, Brasília, (Bra.); Mar. 5:4407-44016 Seção I.
4. COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS 1978. Guia de limites máximos del codex para resíduos de plaguicidas. Roma, Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS. 222p.
5. DIAMOND SHAMROCK DO BRASIL Boletim Técnico São Paulo, Bra., Bravonil 500 12 p.
6. DIAMOND SHAMROCK CORPORATION. 1970. Analytical method for determination of deconil 2787 and metabolite residue. In Pesticide analytical manual Cleveland v.2, p. 1-7.
7. LLISTÓ, A.M.S.M.; SOUZA, I.G.; MARCONDES, D.A.S. 1981. Método para análise de resíduos de clorotalonil em café. In Jornada Científica da associação dos docentes do Campos de Botucatu – UNESP (10, 1981, Botucatu, Bra.) Botucatu, Bra. p. 74.
8. NORIHOVER, J.; RIPLEY, B.D. 1980. Persistence of chlorothalonil on grapes and its effects on disease control and fruit quality. Journal of Agricultural Food Chemistry (EE UU.) 28:971-974.
9. RE, A.D.; FONTANA, P.; MARCHINI, G.P.; MOLINARI, C.P.; ROSSI, E. 1980. Fungicides for gray-mold control: A critical review of analytical methods for formulation and residue analysis. Residue Rev 74:99-131.
10. RIBAS, C. 1976. Estudo da persistência de resíduos de Lindane e endosulfan através da cromatografia à gás, em grãos de café. Tese – Mestrado, Piracicaba, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” 95 p.
11. SIELLFELD, A.M.C.; GONÇALVES, A.L.; ROSS, J.R.; ALMEIDA, M.E.W.; LARA, W.H. 1981. Resíduos de pesticidas em alimentos no Brasil. Voc Técnico CATT (32):1-239
12. WORTHING, C.R. (ed.) 1979. Chlorothalonil 6 ed. In The pesticide manual; a world compendium Nottingham, British Crop Protection Council. p. 114