

JÉSSIKA FAÊDA DE FREITAS

**DISSIPACÃO / MIGRAÇÃO E REMOÇÃO COM OZÔNIO DE PESTICIDAS EM
MAMÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Maria Eliana L. Ribeiro de Queiroz

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

F866d
2023 Freitas, Jéssika Faêda de, 1992-
Dissipação/migração e remoção com ozônio de pesticidas
em mamão / Jéssika Faêda de Freitas. – Viçosa, MG, 2023.
1 tese eletrônica (106 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.406>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Carica papaya* - Toxicologia. 2. Pesticidas - Análise de
riscos. 3. Cromatografia a gás. 4. Espectrometria de massa.
I. Queiroz, Maria Eliana Lopes Ribeiro de, 1958-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. III. Título.

CDD 22. ed. 634.651995

JÉSSIKA FAÊDA DE FREITAS

**DISSIPACÃO / MIGRAÇÃO E REMOÇÃO COM OZÔNIO DE PESTICIDAS EM
MAMÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 02 de junho de 2023.

Assentimento:



Documento assinado digitalmente
JÉSSIKA FAEDA DE FREITAS
Data: 10/07/2023 16:17:12-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jéssika Faêda de Freitas
Autora

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. E. Queiroz'.

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
Orientadora

*A Deus, aos meus pais Rafael e
Margareth, aos meus irmãos Rafael e Luiza, ao
meu noivo Davi.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela orientação, ensinamentos, confiança e amizade.

Ao Prof. André Fernando de Oliveira pela orientação, aprendizagem e ajuda.

À Professora Leda Rita D'Antonino Faroni e ao professor Ernandes Rodrigues de Alencar, pela orientação, apoio e confiança.

Ao Leandro e Robson pela ajuda nos experimentos e amizade.

A todos laquarianos, em especial aos amigos, Aline, Liany, Alessandra, Thais, Mariane, Mayara, Marcos, Vitor, Carol pela amizade e apoio.

Aos companheiros de trabalho do Laboratório de Pós Colheita pela ajuda e ensinamentos.

Ao professor Laércio Zambolim, ao professor Mateus Pereira Gonzatto e ao Jackson Mirellys A. Souza pela colaboração nesse trabalho.

Aos membros da banca examinadora que aceitaram participar da avaliação deste trabalho de pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento desta pesquisa (FAPEMIG-APQ-00886-18).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos (bolsa número 001).

À Universidade Federal de Viçosa, ao Programa de pós-graduação em Agroquímica do Departamento de Química, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus e aos meus protetores de luz, por serem sempre o meu refúgio e por recarregarem minhas forças nas horas mais difíceis.

Aos meus pais Rafael e Margareth, pelo exemplo, incentivo, amor incondicional e por me proporcionar e viver junto comigo os meus sonhos.

Aos meus irmãos Rafael e Luiza pelo carinho e apoio durante todos esses anos.

Ao meu noivo Davi pelo amor e companheirismo de todos momentos, principalmente nas horas extras de laboratório e finais de semana de trabalho, me ajudando e protegendo.

À minha sobrinha Isabela por toda alegria e carinho.

À minha avó Aparecida pelo amor e por me abençoar sempre.

À minha família pela união e por sempre torcer por mim.

As minhas amigas, Nayara, Flávia, Aline Trece, Renata, Kamilla, Larissa e Gabriela (in memoriam) pelo carinho e companheirismo.

Obrigada a todos que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

JÉSSIKA FAÊDA DE FREITAS, filha de Rafael Paulo de Freitas e Margareth Dias Faêda de Freitas, nasceu em Ubá, Minas Gerais, em 11 de maio de 1992.

Em março de 2011, iniciou o Curso de Bacharel em Química, pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), na cidade de Viçosa – MG, diplomando-se como Bacharel em agosto de 2016.

No período de fevereiro de 2013 a dezembro de 2013 foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Extensão Universitária (PIBEX), com projeto Jovem Cientista, localizado na cidade de Viçosa, espaço Química em Ação, departamento de Química da UVF.

Estagiou no Laboratório de Química Analítica (LAQUA) do Departamento de Química da UFV, auxiliando estudantes de pós-graduação no desenvolvimento de suas pesquisas e adquirindo conhecimento sobre princípios e emprego de técnicas de extração, e de técnicas cromatográficas.

No período de agosto de 2014 a julho de 2015 foi bolsista de iniciação científica (PIBIC/CNPq/UFV), no laboratório de Química Analítica (LAQUA), do Departamento de Química da UFV, desenvolvendo a pesquisa relacionada com remoção de trihalometanos em águas empregando Irradiação Ultravioleta.

Em março de 2017, iniciou os estudos no Programa de pós-graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa – MG, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2019.

Em março de 2019, iniciou os estudos no Programa de pós-graduação em Agroquímica, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa – MG, submetendo-se à defesa da tese em junho de 2023.

RESUMO

FREITAS, Jéssika Faêda, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2023. **Dissipação / migração e remoção com ozônio de pesticidas em mamão.** Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

A cultura do mamão, *Carica papaya* L. é susceptível a várias doenças. A principal forma de controle é o uso de pesticidas. Porém, o uso indiscriminado pode levar à contaminação do fruto e acarretar problemas de segurança dos alimentos, uma vez que pouco se sabe sobre a migração /dissipação destes pesticidas no fruto, o efeito do ozônio como agente de descontaminação. Em função do exposto, o presente trabalho teve como objetivos: (i) desenvolver e validar métodos de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LPT) para determinação de resíduos de pesticidas na casca, polpa e sementes de mamão por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), (ii) avaliar a migração/dissipação de imazalil, aplicado em pós-colheita, durante o armazenamento (iii) avaliar o efeito do ozônio como tecnologia pós-colheita na remoção/degradação de resíduos de pesticidas e avaliar a qualidade dos frutos pós tratamento. Os métodos otimizados (SLE/LTP-GC-MS) para casca, polpa e sementes do mamão foram validados, apresentando boa seletividade, linearidade e exatidão com uma faixa de recuperação de 70,7 a 110,9% para a casca, 83,5 a 112,7% para polpa e de 86,7 a 110,3% para sementes, com precisão $\leq 20\%$. O limite de quantificação (LQ) para as três matrizes foi de 0,025 mg kg⁻¹, abaixo do limite máximo de resíduos (LMR) permitido. Foi observado um efeito de matriz positivo para os pesticidas na casca e sementes e negativo para a polpa. Os métodos desenvolvidos foram aplicados em amostras de mamão, sendo detectados resíduos dos pesticidas na maioria das amostras. Azoxistrobina e imazalil foram detectados na casca, sendo este último também detectado na semente, acima do LMR. Bifentrina foi detectada em duas amostras de polpa, com níveis abaixo do LQ. Estes métodos foram aplicados para estudar a migração/dissipação de imazalil, sendo observado que, após o 23º dia de armazenamento, cerca de 70% haviam se dissipado. A maior parte dos resíduos remanescentes foi encontrada na casca, no entanto, a quantidade que migrou para a polpa estava acima do LMR permitido. Resíduos de imazalil também foram detectados nas sementes em concentrações inferiores ao LQ. A perda de massa foi o único parâmetro de qualidade que apresentou diferença significativa entre os frutos dos grupos controle e estudo. Uma vez constatada a presença de pesticidas em mamões estes foram tratados com água da rede de distribuição ozonizada (tratamento) e água da rede de distribuição sem ozonização (controle).

Os frutos foram tratados por 10, 35 e 60 min. A partir de 35 min as concentrações dos pesticidas ficaram constante, sendo esse tempo escolhido para os demais estudos. Os mamões do controle tiveram uma redução de 54,6 a 73,7%, significativamente menor que as dos frutos tratamento (62,7 a 81,0%). A cinética de degradação obedeceu ao modelo de primeira ordem com tempos de $t_{1/2}$ menores para o controle. Não foram detectados pesticidas na água ozonizada, somente no controle. A acidez titulável foi o único parâmetro de qualidade que diferiu significativamente em relação à testemunha. Estes estudos mostram que os pesticidas migram/dissipam no fruto e que o ozônio é capaz de degradá-los sem afetar a qualidade.

Palavras-chave: *Carica papaya* L. Análise de pesticidas. Validação de método. Cromatografia gasosa. Espectrometria de massas.

ABSTRACT

FREITAS, Jéssika Faêda, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2023. **Dissipation / migration and ozone removal of pesticides in papaya.** Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

The papaya crop, *Carica papaya L.*, is susceptible to several diseases. The primary method of control employed is the use of pesticides. However, the indiscriminate application of these chemicals can result in fruit contamination and cause food safety problems. Limited knowledge exists regarding the migration/dissipation of these pesticides in the fruit, as well as the potential effectiveness of ozone as a decontamination agent. Considering these factors, the present work had the following objectives: (i) to develop and validate methods of solid-liquid extraction with low temperature partition (SLE/LPT) for the determination of pesticides residues in the peel, pulp and seeds of papaya by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS), (ii) to evaluate the migration/dissipation of imazalil, applied in postharvest, during storage (iii) to evaluate the effect of ozone as a postharvest technology in the removal/degradation of pesticide residues and (iv) evaluate the quality of fruits after treatment. The optimized methods (SLE/LTP-GC-MS) for peel, pulp and papaya seeds were validated, showing good selectivity, linearity, and accuracy with a recovery range of 70.7 to 110.9% for the peel, 83.5 to 112.7% for pulp and 86.7 to 110.3% for seeds, with precision $\leq 20\%$. The limit of quantification (LOQ) for all pesticides analyzed in the three matrices was 0.025 mg kg⁻¹, below the maximum residue limit (MRL) allowed in papaya. A positive matrix effect was observed for pesticides on the bark and seeds and a negative one for the pulp. The developed methods were applied to analyze papaya samples and the pesticide residues were detected in most of them. Azoxystrobin and imazalil were detected in the bark, with imazalil also being detected in the seed, in both cases exceeding the MRL. Bifenthrin was detected in two pulp samples, with levels below the LOQ. These methods were applied to study the migration/dissipation of imazalil, and it was observed that, after the 23rd day of storage, about 70% of the pesticide had dissipated. Most of the remaining residues were found in the peel, however, the amount that migrated to the pulp was above the permitted MRL. Residues of imazalil were also detected in seeds at concentrations lower than LOQ. Weight loss was the only quality parameter that showed a significant difference between the control fruits and study groups. Once the presence of pesticides was found in papayas, they were treated with ozonized water (treatment) and tap water (control). The fruits were treated for 10, 35 and 60 min. From 35 min onwards, pesticides concentrations remained constant, and

this time was chosen for other studies. The control papayas obtained a reduction of 54.6 to 73.7%, significantly lower than the fruits treated with ozone (62.7 to 81.0%). The degradation kinetics obeyed the first order model with half-life constant smaller for the control. Pesticides were not detected in the ozonized water, only in the control. The titratable acidity was the only quality parameter that differed significantly between treatment and control. These studies showed that pesticides migrate/dissipate in the fruit and that ozone can degrade them without affecting the quality.

Keywords: *Carica papaya L.* Pesticide analysis. Method validation. Gas chromatography. Mass spectrometry.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
REFERÊNCIAS	17
CAPÍTULO 1	19
1. INTRODUÇÃO	21
1.1 MATERIAL E MÉTODOS	24
1.1.1 Princípios ativos e soluções padrão	24
1.1.2 Equipamentos.....	24
1.1.3 Condições cromatográficas.....	24
1.1.4 Preparo das amostras	25
1.1.5 Otimização do método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LPT).....	25
1.1.6 Validação do método SLE/LTP	26
1.1.6.1 Seletividade	26
1.1.6.2 Limite de detecção (LD) e Limite de quantificação (LQ).....	27
1.1.6.3 Linearidade.....	27
1.1.6.4 Exatidão.....	28
1.1.6.5 Precisão	28
1.1.6.6 Efeito de matriz	28
1.1.7 Aplicação do método	29
1.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
1.2.1 Análises cromatográficas do método	30
1.2.2 Otimização do método SLE/LTP para casca, polpa e sementes do mamão	32
1.2.3 Validação do método SLE/LTP para casca, polpa e sementes do mamão	35
1.2.3.1 Seletividade	35
1.2.3.2 Limite de detecção e limite de quantificação	37
1.2.3.3 Linearidade de resposta do método.....	38
1.2.3.4 Exatidão e Precisão	40
1.2.3.5 Efeito de matriz	43
1.2.3.6 Aplicação do método.....	44
1.3 Conclusão.....	46
1.4 Referências bibliográficas.....	47
CAPÍTULO 2	50

2.	INTRODUÇÃO	51
2.1	MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1.1	Princípios ativos e soluções padrão	53
2.1.2	Equipamentos.....	53
2.1.3	Condições cromatográficas	53
2.1.4	Amostras	54
2.1.5	Estudo de migração dos pesticidas no fruto do mamão.....	54
2.1.6	Avaliação da presença de imazalil na atmosfera da câmara de refrigeração	56
2.1.7	Análises físico-químico dos frutos	57
2.1.7.1	Perda de massa fresca.....	58
2.1.7.2	Cor da casca	58
2.1.7.3	Firmeza da polpa	58
2.1.7.4	Sólidos solúveis (SS).....	59
2.1.7.5	Acidez titulável (AT) e pH.....	59
2.1.7.6	Vitamina C	59
2.1.7.7	Produção de dióxido de carbono (CO ₂).....	60
2.2	RESULTADOS	61
2.2.1	Dissipação e migração de imazalil em mamão	61
2.2.2	Avaliação da presença de imazalil na atmosfera da câmara de refrigeração	63
2.2.3	Análise físico-química do mamão	65
2.2.4	Produção de dióxido de carbono (CO ₂)	68
2.3	Conclusão.....	70
2.4	Referências bibliográficas.....	71
	CAPÍTULO 3	74
3.	INTRODUÇÃO	76
3.1	MATERIAL E MÉTODOS	78
3.1.1	Princípios ativos e soluções padrão	78
3.1.2	Amostras	78
3.1.3	Extração e análise dos resíduos de pesticidas	78
3.1.4	Condições cromatográficas	79
3.1.5	Obtenção e quantificação do gás ozônio.....	80
3.1.6	Caracterização do sistema de ozonização em água.....	80
3.1.7	Avaliação do processo de ozonização dos frutos de mamão	82

3.1.7.1	Etapa 1- Determinação do tempo de exposição do mamão imerso em água da rede de distribuição ozonizada e sem a ozonização	83
3.1.7.2	Etapa 2- Qualidade dos frutos tratados durante o armazenamento	83
3.2	Resultados e discussões	87
3.2.1	Avaliação do sistema de ozonização em água	87
3.2.2	Avaliação do processo de ozonização dos frutos de mamão	88
3.2.2.1	Determinação do tempo de exposição do mamão imerso em água da rede de distribuição ozonizada e sem a ozonização	88
3.2.2.2	Avaliação da qualidade dos mamões	91
3.3	Conclusão.....	95
3.4	Referências bibliográficas.....	96
	CONCLUSÃO GERAL	100
	APÊNDICE	101

INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, a produção global de frutas tropicais vem crescendo continuamente. No ranking das principais regiões produtoras, a Ásia ocupa o primeiro lugar, América Latina e o Caribe ocupam o segundo lugar, destacando-se por serem regiões de condições agroclimáticas favoráveis para produção de frutas tropicais. As principais frutas tropicais comercializadas e produzidas mundialmente são abacaxi, manga, abacate e mamão. Dentre essas, o mamão tem suma importância econômica no Brasil, sendo o país considerado um dos principais exportadores e produtores de mamão (FAO, 2019).

O mamoeiro é uma planta herbácea de clima tropical, descoberta pelos espanhóis no Panamá, de provável origem no noroeste da América do Sul (DANTAS, 2000). A espécie mais cultivada e comercializada no mundo é *Carica papaya* L., pertencente à família Caricaceae, sendo está dividida em cinco gêneros, com 31 espécies descritas, as quais são *Carica* (21 espécies), *Jacaratia* (6 espécies), *Cylicomorpha* (2 espécies), *Jarilla* (1 espécie) e *Horovitzia* (1 espécie) (DANTAS & NETO, 2000).

Os cultivares de mamoeiro no Brasil são divididos em dois grupos, sendo esses denominados Solo e Formosa. O grupo solo, se encontra na maioria dos cultivares no mundo. No Brasil os cultivares mais comuns são *Sunrise Solo* e *Improved Sunrise Solo Line 72/12*, conhecidos popularmente como mamão Havaí, Papaia ou Amazônia. O fruto é proveniente de flor feminina ovalada e de flor hermafrodita piriforme, pesando em média 500 g, de cavidade interna pequena com formato estrelado de coloração vermelho alaranjada, sendo comercializado no mercado interno e externo (DANTAS, 2000). No grupo Formosa, o principal cultivar é Tainung nº 1, híbridos de formato alongado e obovado, pesando em média de 900 a 1100 g, apresentam coloração verde clara e polpa laranja avermelhada (MARTINS & COSTA, 2003).

Um dos grandes desafios atuais dessa cultura é o controle e manejo do mamão (*Carica papaya* L.) pós-colheita. O fruto por ser climatério, passa por um rápido amadurecimento, torna-se cada vez mais suscetível a danos mecânicos que levam a diversas doenças pós-colheita. Além desses fatores, o estresse abiótico durante o armazenamento pode também comprometer a qualidade e comercialização do fruto (RODRIGUES, COELHO & FREITAS-SILVA, 2021; TAN, ALI & SIDDIQUI, 2022).

Dentre as técnicas utilizadas para controle de doenças e pragas agrícolas pós-colheita, o uso de pesticida tem sido a forma predominante para este fim. Entretanto, o uso intensivo destes produtos tem gerado preocupação devido ao risco potencial que essas substâncias podem

apresentar ao meio ambiente e à saúde humana, quando utilizados de forma inadequada (ALBASEER, 2019; CASSAL *et al.*, 2014). Além disso, tem-se observado o uso de produtos sem registro para uma determinada cultura, que podem comprometer a segurança dos alimentos, uma vez que não se tem informações sobre a dose, período de carência e do limite máximo de resíduos permitido (ANVISA, 2016). Assim, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de extração simples e eficazes para a determinação de resíduos de pesticidas em mamão. Uma técnica que vem sendo empregada com sucesso para esse fim, é a extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP), que possui como vantagens o baixo consumo de solvente e ausência de etapas de clean-up no preparo da amostra de algumas matrizes (GOULART *et al.*, 2008).

Como o mamão é geralmente consumido *in natura*, há uma preocupação com a migração destes pesticidas para as camadas constituintes do fruto (casca, polpa e sementes). Estudos LI *et al.* (2022), mostraram que a distribuição do pesticida entre a casca e a polpa dos frutos para (HAN *et al.*, 2015) e maçã (LI *et al.*, 2022), dependem das propriedades biológicas e físico-químicas do fruto e do pesticida, ressaltando a importância desses estudos em diversas matrizes alimentícias e pesticidas. Estudos que abordam a dissipação e migração de pesticidas entre as frações constituintes dos frutos são reduzidos na literatura.

Contudo, uma outra preocupação está relacionada com a remoção/degradação desses resíduos. Uma vez que os pesticidas podem penetrar no interior do fruto, não ficando apenas na casca, é necessário utilizar técnicas que possam remover esses resíduos, antes que este chegue à mesa do consumidor, garantindo assim, a qualidade do fruto. Assim surge a perspectiva de se empregar o ozônio como uma tecnologia de pós-colheita para remoção/degradação de resíduos de pesticidas. O ozônio (O₃) é um gás fortemente oxidante, que pode ser aplicado na forma gasosa ou dissolvido em água, apresentando uma série de vantagens como alta reatividade, penetrabilidade, podendo ser usado sem risco de toxidez para os consumidores, uma vez que se decompõe em oxigênio (PANDISELVAM *et al.*, 2020).

Diante da necessidade e importância de se desenvolver métodos de extração simples e eficientes para monitorar e determinar resíduos de pesticidas em casca, polpa e sementes em concentrações que podem trazer preocupações à saúde e ao meio ambiente o presente trabalho teve como objetivo: (i) desenvolver e validar métodos de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LPT) para determinação de resíduos de pesticidas em diferentes partes das amostras de mamão (casca, polpa e sementes) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), (ii) avaliar a migração/dissipação de imazalil, aplicado pós-

colheita em mamão, entre a casca, polpa e sementes do fruto durante um período de armazenamento em câmara de refrigeração (iii) avaliar o efeito do ozônio como tecnologia pós-colheita na remoção/degradação de resíduos de pesticidas e conservação do fruto e (iv) avaliar a qualidade dos frutos durante o armazenamento por meio de parâmetros físico-químicos.

REFERÊNCIAS

- ALBASEER, S. S. Factors controlling the fate of pyrethroids residues during post-harvest processing of raw agricultural crops: an overview. **Food chemistry**, v. 295, p. 58-63, 2019.
- ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Relatório de Atividades de 2013 a 2015. Diário oficial da União; Poder executivo, Brasília, DF, de 25 de novembro de 2016. 1–246, 2016
- CASSAL, V. B., AZEVEDO, L. F., FERREIRA, R. P., SILVA, D. G., & SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014.
- DANTAS, J. L. L. & NETO, M. T. C. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, (Frutas do Brasil; 3), p. 11-14, 2000.
- DANTAS, J. L. L. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, (Frutas do Brasil; 3), p. 9, 2000.
- FAO. Food Outlook- Biannual Report on global Food Markets. Global information and early warning system on food and agriculture, n. May, p. 1–155, 2019.
- GOULART, S. M., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A., & QUEIROZ, J. H. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1320–1323, 2008.
- HAN, J. L., FANG, P., XU, X. M., LI-ZHENG, X. J., SHEN, H. T., & REN, Y. P. Study of the pesticides distribution in peel, pulp and paper bag and the safety of pear bagging. **Food Control**, v. 54, p. 338-346, 2015.
- LI, C., CHI, K., YU, H., GUO, Y., YA, W., & QIAN, H. Degradation, migration, and removal of trichlorfon on harvested apples during storage at room temperature. **Food Chemistry**, v. 381, p. 132243, 2022.
- MARTINS, D. S. & COSTA, A. F.S. A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória: Incaper, p. 497, 2003.
- PANDISELVAM, R., KAAVYA, R., JAYANATH, Y., VEENUTTRANON, K., LUEPRASITSAKUL, P., DIVYA, V., KOTHAKOTAE A. & RAMESH, S. V. Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods—a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 38-54, 2020.

RODRIGUES, J. P., COELHO, C. C. S., SOARES, A. G., & FREITAS-SILVA, O. Current technologies to control fungal diseases in postharvest papaya (*Carica papaya* L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, p. 102128, 2021.

TAN, G. H., ALI, A., & SIDDIQUI, Y. Current strategies, perspectives and challenges in management and control of postharvest diseases of papaya. **Scientia horticulturae**, v. 301, p. 111139, 2022.

CAPÍTULO 1

OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO EM BAIXA TEMPERATURA (SLE/LTP) PARA DETERMINAÇÃO RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM MAMÃO (CASCA, POLPA E SEMENTES) POR GC-MS

RESUMO

O Brasil é um dos principais produtores e exportadores mundial de mamão (*Carica papaya* L.). No entanto, os frutos são susceptíveis a várias doenças pré e pós-colheita. A principal forma de controle e prevenção é o uso de pesticidas. Entretanto, o uso indiscriminado pode levar à contaminação do fruto, tornando-se necessário desenvolver métodos de extração simples, eficientes e inovadores para monitorar a presença de resíduos de pesticidas nesta matriz. Um outro aspecto que vem sendo levantado, está relacionado com a possibilidade de migração desses resíduos para o interior do fruto (casca, polpa e sementes). Em função do exposto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver métodos utilizando a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP), para determinar resíduos de azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol na casca, polpa e sementes do mamão por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). Os métodos empregando SLE/LTP-GC-MS otimizados consistiram em acrescentar 4,0 g de amostra triturada e homogeneizada (casca, polpa ou sementes), 2,00 mL de água destilada apenas para a polpa e 4,0 mL do solvente extrator (acetonitrila), agitar essa mistura em vórtex por 60 s, centrifugar por 3 min (560 g) e levar ao freezer por 6 h a -20°C . O volume de 1 μL dos extratos orgânicos contendo os pesticidas foram injetados e analisados por GC-MS. Os métodos otimizados foram validados, apresentou boa seletividade, linearidade e exatidão com uma faixa de recuperação de 70,7 a 110,9% para a casca, 83,5 a 112,7% para polpa e de 86,7 a 110,3% para sementes, com precisão $\leq 20\%$. Os limites de quantificação (LQ) para as três matrizes foram de 0,025 mg kg^{-1} abaixo dos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos pela ANVISA, Codex e União Europeia, exceto para o imazalil, em que a União Europeia estabelece um LMR de 0,01 mg kg^{-1} e o limite de detecção (LD) de $7,5 \times 10^{-3}$ mg kg^{-1} . Foi observado um efeito de matriz positivo para os pesticidas na casca e sementes e negativo para a polpa exceto para tebuconazol. Os métodos desenvolvidos foram aplicados em amostras de mamão, sendo detectados resíduos dos pesticidas na maioria das amostras. Azoxistrobina e imazalil foram detectados na casca, sendo

este último também detectado na semente, acima do LMR. Bifentrina foi detectada em duas amostras de polpa, com níveis abaixo do LQ. Concluiu-se que o método otimizado e validado para determinação de resíduos de pesticidas em mamão (casca, polpa e sementes) se caracteriza como um método eficaz, simples, com baixo consumo de solvente e amostra, sendo a extração e o clean up realizados em etapa única.

1. INTRODUÇÃO

O mamão, *Carica papaya* L., em escala mundial, é de grande relevância para a agricultura, sendo produzidos no mundo cerca de 13,6 milhões de toneladas do fruto (FAO, 2018). No entanto, esses frutos são susceptíveis a várias doenças pós-colheita causadas na maioria das vezes por patógenos fúngicos (USALL *et al.*, 2016). Essas doenças acarretam perdas econômicas no mercado dos frutos *in natura* e comprometendo a sustentabilidade dessas culturas.

A principal forma de controle e prevenção de pragas e doenças no campo e na pós-colheita é o uso de pesticidas. São relativamente acessíveis economicamente, fáceis de aplicar e tem uma excelente ação curativa e preventiva (USALL *et al.*, 2016). Além de garantir bons rendimentos, boa qualidade dos frutos e evitam perdas no armazenamento (SŁOWIK-BOROWIEC & SZPYRKA, 2020). Porém, o uso indevido dos pesticidas pode fazer com que os alimentos sejam contaminados com resíduos, acarretando a segurança dos alimentos e os danos à saúde humana.

O controle de pragas no mamoeiro leva em consideração os limites máximos de resíduos permitidos (LMR) e os intervalos de segurança estabelecidos pelos órgãos regulamentadores, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), European Commission e Codex Alimentarius, para cada pesticidas. No Brasil, o Programa de Análise de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (PARA), coordenado pela ANVISA, monitora os resíduos de pesticidas em diferentes amostras de origem vegetal, avaliando o LMR por meio de estudos conduzidos em campo pelos pleiteantes de registro ou de alteração pós-registro, verificando se as concentrações de resíduos permaneceram nas culturas após a aplicação de pesticida (ANVISA, 2016).

De acordo com relatório PARA 2013/2015 foram analisadas 596 amostras de mamão, sendo que 82 não apresentaram resíduos dos pesticidas pesquisados e 514 amostras apresentaram resíduos. Dos pesticidas estudados o carbendazim, os pesticidas do grupo dos ditiocarbamatos e tebuconazol foram os que apresentaram maior número de detecções nas amostras analisadas. Das amostras analisadas, 28 apresentaram resíduos em concentrações acima do LMR e 108 amostras apresentaram pesticidas não autorizados para a cultura de mamão. As demais apresentaram resíduos em concentrações iguais ou inferiores ao LMR (ANVISA, 2016). Com base neste relatório e nos produtos recomendados para esta cultura, foram selecionados alguns pesticidas para o presente estudo, como azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol (Tabela 1).

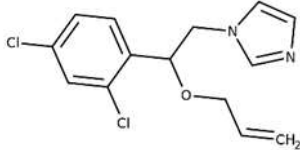
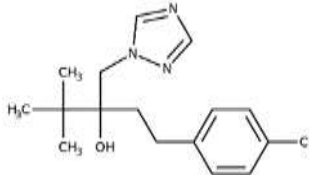
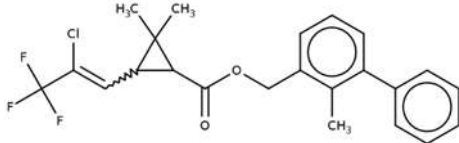
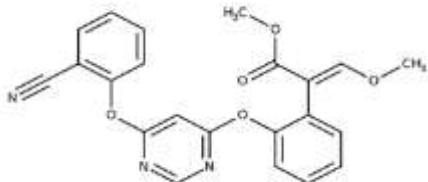
Os alimentos tornam-se seguros para o consumo somente quando as doses e os intervalos de segurança de aplicação dos pesticidas são respeitados. Caso as frutas e hortaliças sejam consumidas antes do período de carência, podem conter níveis de resíduos altos, ocasionando danos à saúde do consumidor (CALDAS & SOUZA, 2000; ARAÚJO *et al.*, 2001; MISRA, 2015). Como o mamão é geralmente consumido in natura, há uma preocupação com os níveis de resíduos de pesticidas presentes nas partes constituintes do fruto, sendo essas a casca, polpa e sementes.

Dentre as técnicas de extração, a extração sólido-líquido ou líquido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP ou LLE/LTP), vem sendo empregado com eficiência para diversas matrizes alimentícias (SOUZA *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2019; HELENO *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2021). Apesar do QuEChERS (*Quick* - rápido, *Easy* - fácil, *Cheap* - barato, *Effective* - eficaz, *Rugged* - robusto e *Safe* - seguro) ser o principal método de extração aplicado para análises de matrizes alimentícias, ele envolve várias etapas, uma etapa de extração inicial em acetonitrila, uma etapa de extração / partição após a adição de sal e uma etapa de *clean-up* utilizando extração dispersiva em fase sólida (PRESTES *et al.*, 2009). Entretanto o método SLE/LTP apresenta como vantagens à simplicidade, o baixo consumo de solvente e ausência de etapas de *clean-up* no preparo da amostra de algumas matrizes, muitas vezes utilizadas em outros métodos de extração.

No método SLE/LTP, uma amostra sólida é colocada em contato com um solvente extrator, o qual tem que ser miscível e menos denso do que a água e que se mantenha líquido a -20 °C. A mistura, amostra e solvente extrator, é agitada e levada ao *freezer* para separação das fases. Nesta etapa, a fase aquosa junto com a matriz é congelada, ficando na parte inferior do recipiente, e a fase superior, contendo o solvente e os pesticidas, é removida e analisada por cromatografia (GOULART *et al.*, 2008).

Com base no melhor do nosso conhecimento e na literatura consultada, este método não foi descrito na literatura para determinação de resíduos de pesticidas na casca, polpa e sementes de mamão. Visto a necessidade e importância de desenvolver métodos de extração simples e eficiente para monitorar e determinar resíduos de pesticidas nesta matriz, o presente estudo teve como objetivo desenvolver métodos utilizando a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP), para determinar e analisar resíduos de pesticidas em mamão (casca, polpa e sementes) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) e aplicação do método desenvolvido.

Tabela 1- Propriedades físico-químicas dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. MM = massa molar, ^aLimite máximo de resíduos (LMR) pela Anvisa-Brasil¹, União Europeia² e Codex Alimentarius³; ^bCoefficiente de partição octanol-água em pH 7 a 20 °C; ^cSolubilidade em água a 20 °C. Fonte: IUPAC, 2023.

Pesticida / MM (g mol ⁻¹)	Estrutura química	Grupo químico	Modo de ação	LMR ^a / (mg L ⁻¹)	Log K _{ow} ^b	Solubilidade ^c / (mg L ⁻¹)	Pressão de vapor (a 25 °C) / mpa
Imazalil 297,18		Imidazol	Sistêmico	¹ 1,0 / ² 0,01	2,56	184	0,158
Tebuconazol 307,82		Triazol	Sistêmico	¹ 1,0 / ^{2/3} 2,0	3,7	36	1,30 x 10 ⁻³
Bifentrina 422,88		Piretróide	Contato	¹ 0,3 / ² 0,4	6,6	0,001	0,0178
Azoxistrobina 403,388		Estrobilurina	Sistêmico	^{1/2/3} 0,3	2,5	6,7	1,10 x 10 ⁻⁷

1.1 MATERIAL E MÉTODOS

1.1.1 Princípios ativos e soluções padrão

De acordo com o relatório publicado pelo Programa Análise de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil, publicado no final de 2016 foram selecionados alguns pesticidas para o presente estudo, como imazalil (99,7%) usado em pós-colheita, e os utilizados durante o cultivo do mamão, azoxistrobina (99,3%), tebuconazol (99,3%) e bifentrina (99,1%), todos da Sigma-Aldrich. Esses compostos foram detectados em concentrações iguais ou superiores $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ (ANVISA, 2016).

Foram preparadas soluções estoque em acetonitrila, 99,9% grau HPLC (Sigma-Aldrich), de concentração aproximadamente $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$ para cada padrão a partir de padrões dos princípios ativos. As demais soluções de trabalho foram preparadas a partir de diluições das soluções estoques.

1.1.2 Equipamentos

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás equipado com um detector espectrômetro de massa (MS) tipo quadrupolo (GCMS-QP2020), um sistema de injeção (AOC-20i.), marca Shimadzu (Kyoto, Japão). Foram empregados também um banho ultrassônico (Sanders, Santa Rita do Sapucaí, Brasil) operado a 280W e 40 kHz, uma balança analítica (Shimadzu, São Paulo, Brasil), um vórtex misturador ((Phoenix, AP 56, Araraquara, Brazil), uma centrífuga (Quimis[®], ISO 8001, São Paulo, Brasil) e um Ultra-turrax (IKA[®], T18 D S32, Staufen, Alemanha).

1.1.3 Condições cromatográficas

A separação cromatográfica dos analitos foi realizada em uma coluna capilar (SH-Rtx-5MS) cuja fase estacionária é composta de 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura do filme. O hélio (grau de pureza 99,999%, White Martins, Brasil) foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de $1,20 \text{ mL min}^{-1}$. A programação de temperatura da coluna consistia em manter a temperatura inicial a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 min, aquecer a uma taxa de $30 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $210 \text{ }^\circ\text{C}$, manter esta temperatura por 1 min, aumentar novamente a uma taxa de $30 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $250 \text{ }^\circ\text{C}$, manter esta temperatura por 2 min, aquecer a uma taxa de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $290 \text{ }^\circ\text{C}$, e manter esta

temperatura por 5 min. O tempo total de análise foi de 14,33 min. A temperatura do injetor foi mantida a 300 °C. Um volume de 1 µL de amostra foi injetado no cromatógrafo, usando o modo de injeção splitless.

O espectrômetro de massas (MS) foi operado por impacto de elétrons 70 eV. Um tempo de corte de 5,0 min foi definido para evitar danos ao instrumento. As temperaturas da interface do detector foram fixadas em 300 °C, e a fonte de ionização em 230 °C.

1.1.4 Preparo das amostras

Para o desenvolvimento desse trabalho, foram adquiridas amostras de mamão papaia produzidas em um sítio localizado na cidade de Ubá-MG, isentas de resíduos de pesticidas. A ausência dos pesticidas foi previamente confirmada por meio de extração e análise.

Os frutos foram cuidadosamente fracionados em casca, polpa e sementes. A casca foi retirada com profundidade média de $1,7 \pm 0,12$ mm, com auxílio de lâmina apropriada para descascar frutos. Para a amostragem da polpa utilizou uma faca partindo o fruto ao meio. As sementes (sementes mais sarcotesta mucilaginosa) foi retirada com auxílio de uma espátula de ponta arredondada. Posteriormente as amostras fracionadas foram trituradas, homogeneizadas e reservadas em frascos de plásticos em freezer. Horas antes da extração as amostras eram retiradas do freezer e deixadas a temperatura ambiente até descongelar. Nas etapas de otimização e validação as amostras foram fortificadas com 100 µL solução padrão contendo os pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em concentrações previamente determinadas, preparadas em acetonitrila. Em seguida, as amostras foram agitadas em vórtex por 10 s e deixadas em repouso por 2 h para que houvesse maior interação dos pesticidas com a amostra.

Após os métodos SLE/LPT-GC-MS para casca, polpa e sementes do mamão serem otimizados e validados, foi aplicado em amostras produzidas por diferentes produtores e comercializadas em Viçosa -MG.

1.1.5 Otimização do método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LPT)

A extração SLE/LTP consiste em adicionar uma certa quantidade de amostra em frascos de vidro transparente com capacidade de 22 mL, posteriormente adicionar às amostras, volumes de água e de solvente extrator, agitar em vórtex, centrifugar e colocar em freezer a -20 °C. Após a separação das fases por congelamento, a fase orgânica contendo os pesticidas é extraída e

colocada diretamente em frascos de análise (*vial*). Visando as etapas de extração, os principais parâmetros que podem influenciar na extração SLE/LTP de pesticidas são a massa de amostra, solvente de extração, adição de água na amostra, tempo de agitação, tempo de centrifugação e tempo de congelamento. Desses parâmetros, o presente trabalho avaliou a quantidade, em gramas, de amostra (2 e 4 g) e o volume de água destilada, em mililitros (0 e 2 mL), a ser adicionado nas amostras de mamão (casca, polpa e sementes). Foi utilizado um planejamento fatorial completo 2^2 , envolvendo três repetições (Tabela 2). O modelo fatorial foi gerado pelo software de estatística (Statistica, versão 7.0) a fim de descrever a influência das combinações das variáveis testadas sobre as respostas cromatográficas.

Os demais parâmetros foram adaptados de acordo com alguns estudos que otimizaram e validaram o método SLE/LTP para determinação de resíduos de pesticidas, em morango (HELENO *et al.*, 2013) e em pimentão (HELENO *et al.*, 2019).

Tabela 2- Planejamento fatorial completo 2^2 , em triplicata, utilizado para otimização da técnica SLE/LTP para determinação de resíduos de pesticidas em mamão.

Ensaio	Massa de amostra (g)		Volume de água destilada (mL)	
	Real	Código	Real	Código
1	2,0	α^-	0,0	α^-
2	4,0	α^+	0,0	α^-
3	2,0	α^-	2,0	α^+
4	4,0	α^+	2,0	α^+

1.1.6 Validação do método SLE/LTP

A validação do método analíticos SLE/LTP-GC-MS otimizado busca atender aos critérios estabelecidos pelo órgãos regulamentadores ANVISA, Resolução RDC n° 166/17 (ANVISA, 2017) e SANTE/11813/2017 (SANTE, 2017). As figuras de mérito avaliadas foram a seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão e efeito de matriz.

1.1.6.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada a fim de verificar se há presença de interferentes na matriz no mesmo tempo de retenção do analito de interesse (ANVISA, 2017; SANTE, 2017).

Para determinação da seletividade do método proposto foi realizado a análise de extratos das amostras de mamão isentas dos pesticidas (branco) e a análise de extratos das amostras de mamão contendo os pesticidas. Para obtenção desses extratos as amostras foram submetidas ao procedimento de extração SLE/LTP otimizado e posterior análise por GC-MS. As análises dos dados cromatográficos foram feitas utilizando o *software* GCsolution (Shimadzu) e os cromatogramas obtidos com auxílio do *software* Origin 2018.

1.1.6.2 Limite de detecção (LD) e Limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito determinada dentro dos critérios de desempenho do método, ou seja, com precisão e exatidão. O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não quantificada (ANVISA, 2017). O LQ, foi determinado levando em consideração a relação sinal: ruído 10:1 e o LD a relação sinal: ruído de 3:1 do pico cromatográfico atribuído a cada pesticida (ANVISA, 2017). Foi considerando também a relação os valores abaixo do LMR de cada pesticida em estudo para determinar o LQ (SANTE, 2017).

1.1.6.3 Linearidade

De acordo com a ANVISA, 2017, a linearidade é avaliada dentro de uma faixa de trabalho em que as respostas analíticas devem ser diretamente proporcionais as concentrações definidas de cada analito em estudo. Deve-se ter no mínimo cinco níveis de concentração, e que o nível mais baixo de resíduo seja igual ou superior ao limite de quantificação (SANTE, 2017).

Para a determinação da linearidade do método SLE/LTP-GC-MS, foi previamente estabelecida uma faixa de trabalho com concentrações de 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,125; 0,250; 0,500 e 1,00 mg kg⁻¹ dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, Imazalil e tebuconazol. Por fim, foi construído uma curva analítica, relacionando a área do pico de cada analito sobre a área do padrão interno (pirimifós-metílico) versus a concentração em mg kg⁻¹. Com base no coeficiente de determinação (R²) e nos gráficos de resíduos foram firmados a linearidade do método proposto.

1.1.6.4 Exatidão

A exatidão do método é a correlação da proximidade do valor analítico obtido com valor definido para o processo analítico. São necessários no mínimo 5 repetições no LQ e pelo menos outro nível 2-10 vezes o LQ (SANTE, 2017). A verificação da exatidão do método SLE/LTP-GC-MS foi realizada em três níveis de concentração (1LQ; 4LQ e 10LQ) com 5 repetições em cada nível, avaliando a porcentagem de recuperação (Equação 1).

$$\% R = \left[\frac{cE \times 100}{cR} \right] \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

%R = Porcentagem de recuperação

CE = Média das concentrações obtidas experimentalmente;

CR = Concentração real (concentração em que as amostras foram fortificadas).

1.1.6.5 Precisão

A precisão representa a dispersão dos resultados em diferentes ensaios (SANTE, 2017). A avaliação da precisão do método SLE/LTP-GC-MS em amostras de mamão (casca, polpa e sementes) foi realizada por estudos de repetitividade e precisão intermediária em três níveis de concentração (1LQ; 4LQ e 10LQ) com 5 repetições em cada nível, avaliando o coeficiente de variação (Equação 2). Sendo que a precisão intermediária foi avaliada em três concentrações em três dias intercalados.

$$CV = \left(\frac{s}{\bar{x}} \times 100 \right) \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

s = Desvio padrão das concentrações obtidas experimentalmente para o analito de interesse;

\bar{x} = Média das concentrações obtidas experimentalmente para o analito.

1.1.6.6 Efeito de matriz

O efeito de matriz é a comparação entre a resposta analítica atribuída ao analito em solução padrão preparada em acetonitrila com a resposta do extrato da matriz fortificada com os analitos em estudo (SANTE, 2017). A comparação foi realizada através de curvas analíticas com concentrações 1LQ; 2LQ; 3LQ; 4LQ e 10LQ. O efeito matricial foi calculado através

da inclinação da curva analítica de cada pesticida preparada em extrato da matriz (a_E) e da e inclinação da curva analítica de cada pesticida preparada em solvente puro (a_S) de acordo com a Equação 3 (KNOW, LEHOTAY, & GEIS-ASTEGGIANTE, 2012).

$$\% EM = \left[\frac{a_E - a_S}{a_S} \right] \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

1.1.7 Aplicação do método

O método desenvolvido, otimizado e validado foi aplicado na casca, polpa e sementes de amostras de mamão do grupo papaia comercializadas por diferentes produtores e adquiridas em Viçosa-MG.

1.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.2.1 Análises cromatográficas do método

Primeiramente foram realizadas as análises no GC-MS pelo modo *Scan* ou *TIC* (*total ion chromatogram* - cromatograma de íons totais), a fim de identificar os pesticidas, determinar o tempo de retenção dos analitos e os espectros de massas de cada analito em estudo. Foi injetado uma solução-padrão contendo os pesticidas pirimifós-metílico (padrão interno), imazalil, tebuconazol, bifentrina e azoxistrobina na concentração de 2 mg L⁻¹ em acetonitrila (Figura 1). Essa amostra foi injetada no modo *Scan*, varredura 35 a 500 *m/z*, cada analito foi identificado com auxílio da biblioteca (*NIST* 2014) e selecionados os espectros de massa de cada analito (Figura 2).

Figura 1- Cromatograma no modo *Scan* de uma solução-padrão contendo os agrotóxicos pirimifós-metílico (PM), imazalil (IMA), tebuconazol (TEB), bifentrina (BIF) e azoxistrobina (AZO) na concentração 2 mg L⁻¹ e tempo de retenção (*tR*) de 5,479, 6,665, 8,155, 8,595 e 13,080 min, respectivamente.

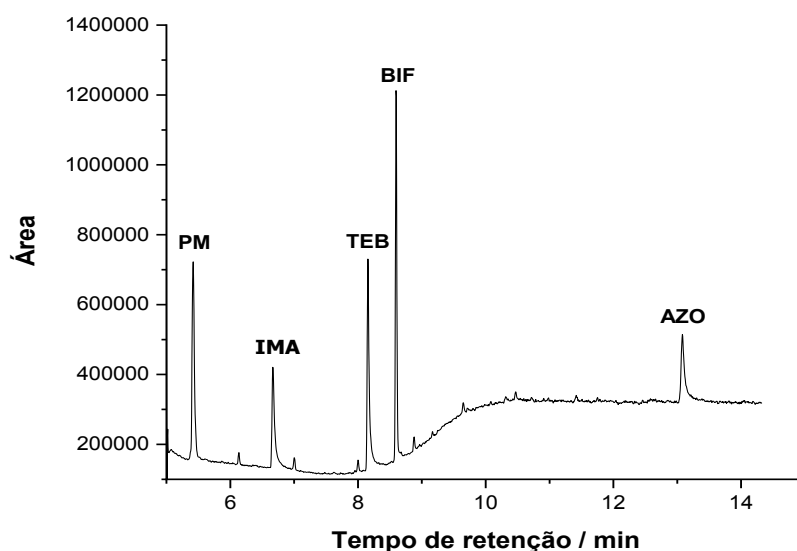
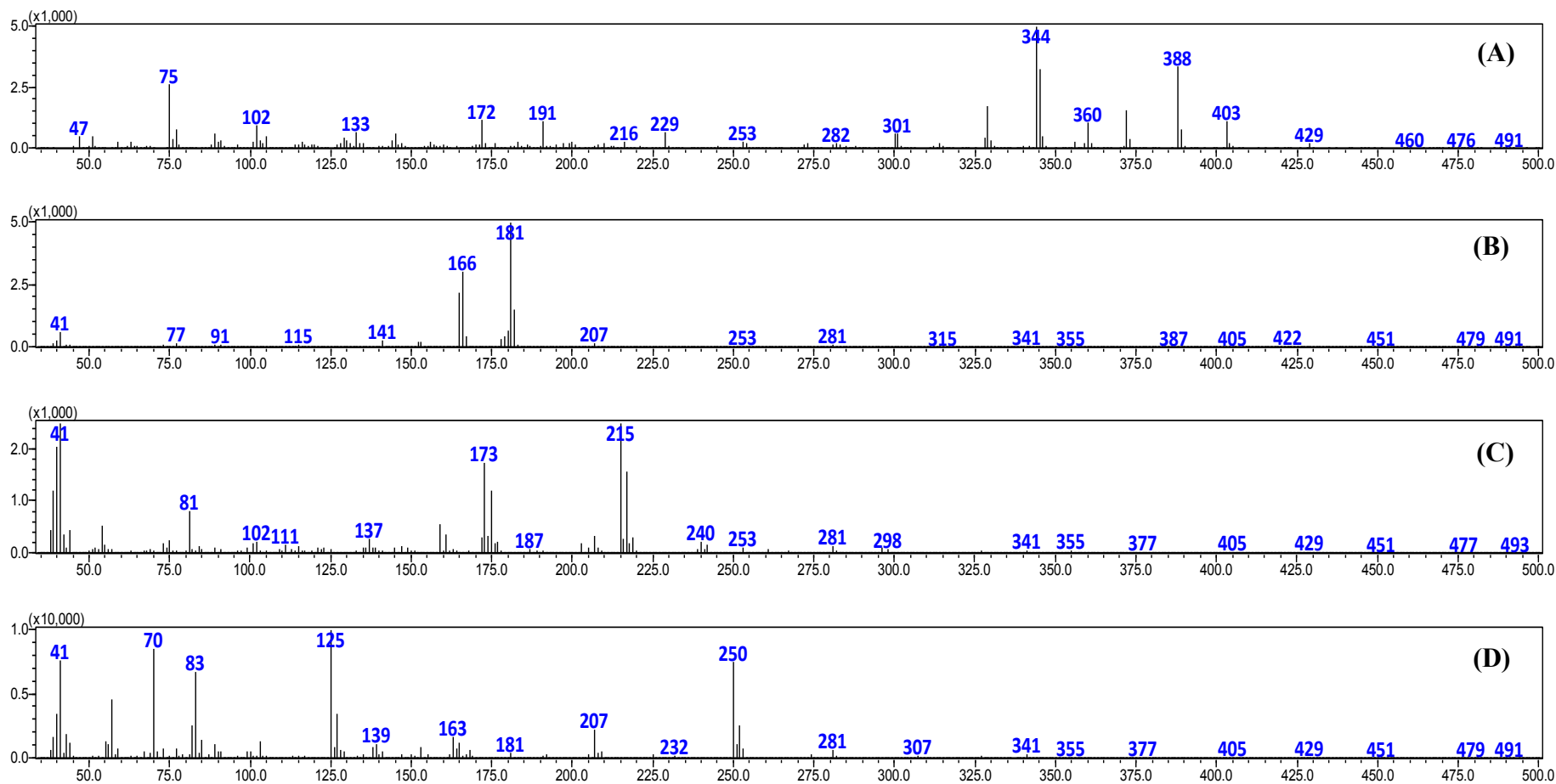


Figura 1- Espectros de massas total (SCAN) para os pesticidas azoxistrobina (A), bifentrina (B), imazalil (C) e tebuconazol (D), respectivamente.



Com base nessas informações a quantificação do método foi realizada no modo monitoramento do íon selecionado (*Select Ion Monitoring-SIM*), em que os analitos foram quantificados no tempo de retenção determinado previamente e com base nos três íons selecionados, sendo um íon alvo e dois de referência (Tabela 3). As seleções das m/z de cada pesticida foram com base nos íons de maior intensidade e de $m/z > 100$, para garantir maior seletividade (SANTE, 2017).

Tabela 3- Íons monitorados no modo *SIM* na análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, tempos de retenção e janela de tempos dos pesticidas.

Pesticida	t_R (min)	Íons monitorados	Janela do tempo (min)
Azoxistrobina	13,080	344/345/388	12,0-13,61
Bifentrina	8,595	181/166/165	8,43-8,69
Imazalil	6,665	215/173/217	6,5-6,9
Tebuconazol	8,155	125/250/127	7,9-8,43

1.2.2 Otimização do método SLE/LTP para casca, polpa e sementes do mamão

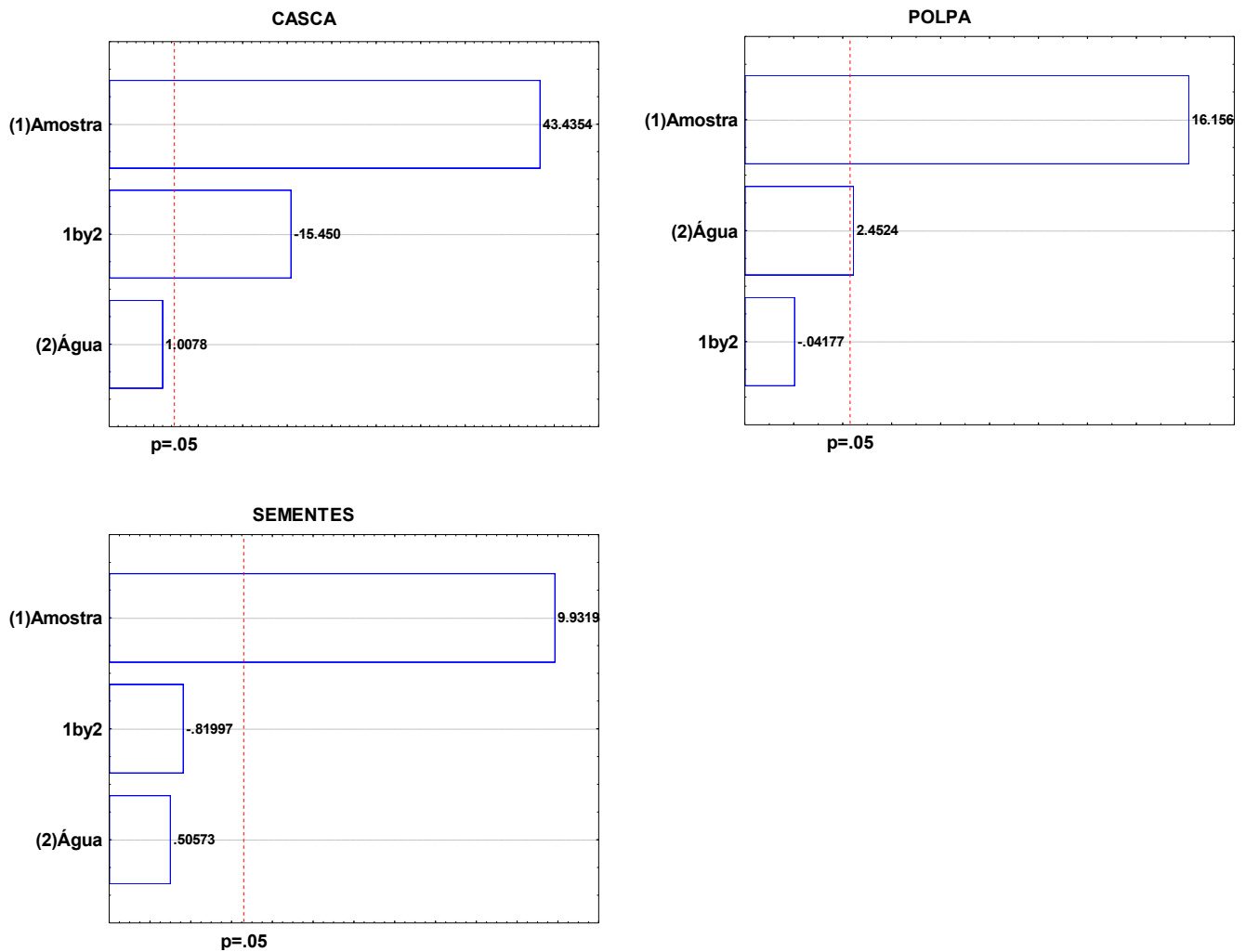
Os estudos em morango (HELENO *et al.*, 2013) e em pimentão (HELENO *et al.*, 2019) os pesquisadores avaliaram o comportamento simultâneo entre o tipo de solução extratora e razão massa de amostra com volume de solução extratora, aplicando um planejamento fatorial 2^2 . Concluíram que a proporção massa de amostra/volume de solução extratora, 4,0g / 4,00 mL de acetonitrila, foram os que apresentaram uma resposta significativa. Para avaliação dos três parâmetros tempo de agitação (min), tempo de centrifugação (min) e tempo de congelamento foi usado planejamento composto central. Verificou que quanto menor o tempo de congelamento, maior recuperação dos analitos (8,5 h) e que o tempo de centrifugação e agitação foram significativamente negativos (3 min a 2000 rpm e de 200 rpm em 10 min, respectivamente) (HELENO *et al.*, 2019).

Com base nesses estudos foram utilizados para todas as amostras de mamão as melhores condições de extração, sendo 4,00 mL de acetonitrila, como solvente extrator, 1 min de agitação no vórtex, 3 min de centrifugação a 2000 rpm (560 g) e 6 h de freezer a -20 °C.

A otimização da quantidade de massa de amostras (g) e o volume de água destilada foi feita através do planejamento fatorial 2^2 , envolvendo três repetições e analisadas de acordo com a ANOVA usando níveis de significância p-valor. Após os ensaios experimentais e as análises por GC-MS as áreas de cada pesticida no extrato de cada ensaio foram somadas para utilização

como resposta para gerar os gráficos de Pareto dos efeitos e interações da casca, polpa e sementes do mamão, respectivamente (Figura 3). Estes gráficos mostram os valores dos efeitos de cada uma das variáveis, e de suas interações determinando se os mesmos são estatisticamente significativos.

Figura 3- Gráficos de Pareto das variáveis massa de amostra (1) e volume de água destilada (2) para a soma das áreas dos picos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em amostras da casca, polpa e sementes de mamão.



Verificou-se pelos gráficos de Pareto que o limite máximo do fator massa de amostra (4,0 g) apresentou efeito positivo e significativo, a 95% de significância ($p < 0,05$), para casca, polpa e sementes do mamão. Constatou-se que o fator água destilada teve efeito significativo positivo (2,00 mL) para polpa. Para a casca e sementes o volume de água destilada não teve influência significativa na extração dos pesticidas. Em função deste resultado optou-se por não adicionar água destilada nas amostras da casca e sementes, gerando menor quantidade de resíduos.

Porém na análise individual da área de cada pesticida, para as amostras de sementes, apenas a bifentrina foi significativa de modo negativo na utilização de água destilada, os demais pesticidas os resultados foram significativos positivos. No entanto, se utilizar água para a amostra de sementes a resposta cromatográfica da bifentrina ficaria muito ruim em relação aos demais pesticidas. Já para a casca e polpa as análises das áreas de cada pesticida teve a mesma influência que a soma de todos os pesticidas para o volume de água destilada (Apêndice 1.1). Portanto, devido à complexibilidade do desenvolvimento da extração simultânea de pesticidas com diferentes propriedades, os resultados apresentado pela soma das áreas foram adotados.

Apêndice

Em resumo, o método SLE/LTP-GC-MS otimizado para a casca, polpa e sementes do mamão, consistiu em pesar em frascos de vidro transparente com capacidade de 22 mL, 4,0 g de mamão, medida em balança analítica com precisão de 1×10^{-4} g. Posteriormente foram adicionados às amostras, volumes de 2 mL de água para polpa e 4 mL de acetonitrila para a casca, polpa e sementes. Em seguida, as misturas são agitadas por 1 min em vórtex, centrifugadas a 560 g por 3 min e colocados em freezer a -20 °C por 6 h. Após a separação das fases por congelamento do mamão juntamente com a fase aquosa, foram removidos 1,00 mL da fase orgânica contendo os pesticidas e colocados em *vial* e analisadas por GC-MS.

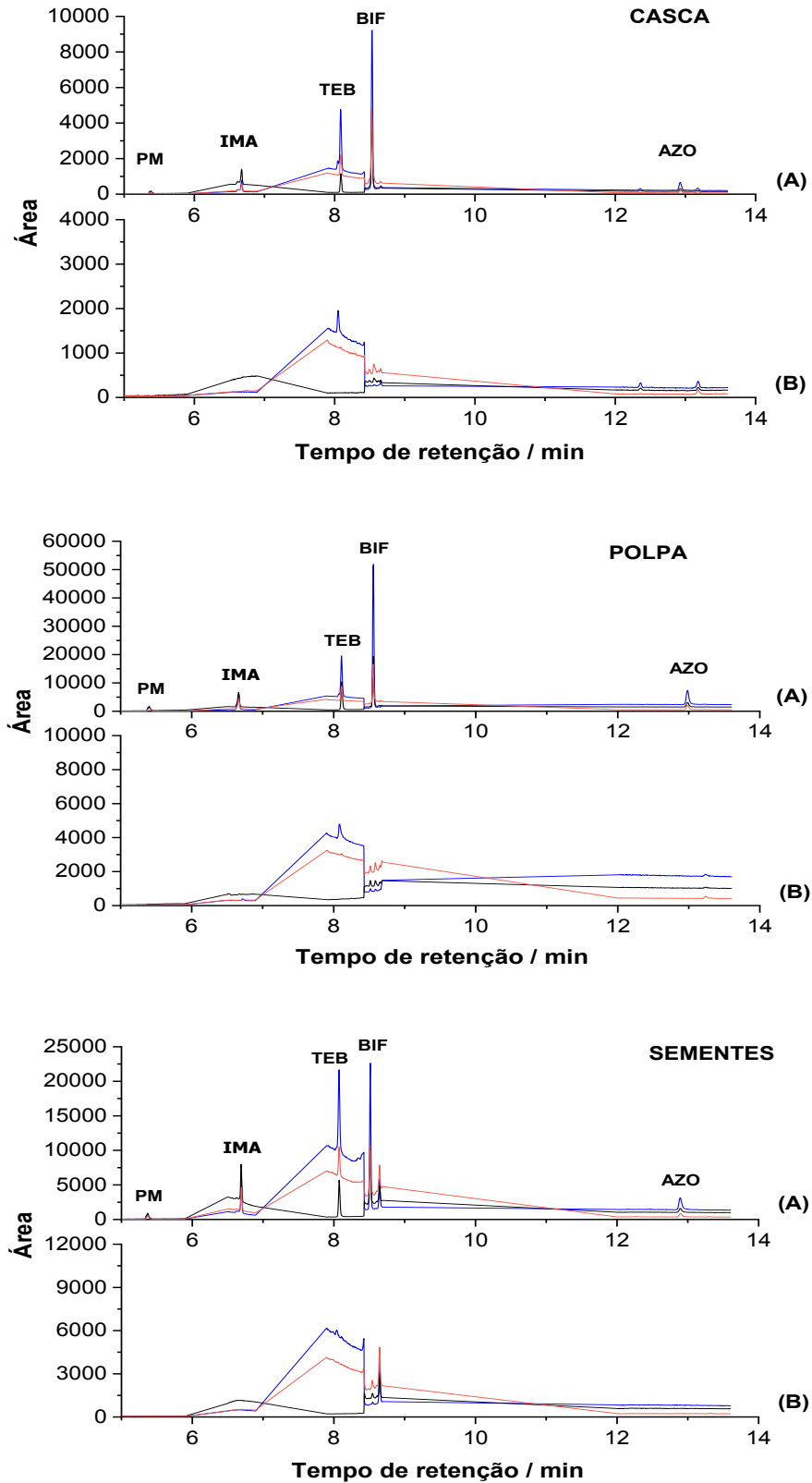
O método SLE/LTP-GC-MS otimizado apresentou baixo consumo de amostra e de solvente extrator comparado com os métodos QuEChERS-GC-MS desenvolvido por CARVALHO (2015), o qual utilizou 10 g de amostra mamão (casca e polpa) e 10 mL de solvente extrator (acetonitrila). E por Farias *et al.* (2017), que utilizou 15 g de amostra mamão (polpa) e 15 mL de acetonitrila acidificada com 1% (v/v) de ácido acético como solvente extrator. Além disso, no método SLE/LTP- GC-MS otimizado, não foi necessário o emprego de etapas de evaporação e de *clean-up*, o que reduziu os riscos de contaminação e perdas de amostras.

1.2.3 Validação do método SLE/LTP para casca, polpa e sementes do mamão

1.2.3.1 Seletividade

Para a avaliação da seletividade do método foram realizados a comparação entre os cromatogramas obtidos de extratos de amostras de mamão isentas dos pesticidas (branco), com os dos extratos das amostras de mamão fortificadas com concentração de $0,250 \text{ mg kg}^{-1}$ para os pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol (Figura 4). Esses cromatogramas foram obtidos pelo modo *SIM*, sendo selecionados três íons, um íon alvo e dois de referência de cada pesticida (Tabela 3), o qual possibilita a minimização do sinal de interferentes na matriz.

Figura 4- Comparação entre os cromatogramas no modo *SIM* dos extratos das amostras de mamão (casca, polpa e sementes): fortificados com a concentração de $0,250 \text{ mg kg}^{-1}$ (A) e isentas dos pesticidas (B).



Observa-se que no tempo de retenção de 8,050 min eluiu um coextrativo nas amostras do branco da casca e polpa do mamão, porém o analito tebuconazol elui em 8,090 min, sendo assim por mais que o interferente e o analito eluem próximos, eles possuem t_R diferentes, podendo concluir que não há interferentes nesse tempo de retenção. O mesmo acontece com a bifentrina, em todas as amostras de branco da casca, polpa e sementes é possível verificar picos de coextrativos, apesar dos tempos de retenção serem bem próximos é possível quantificar o analito separadamente do interferente. Contudo mesmo que esses interferentes tivessem o mesmo t_R do analito de interesse, poderia considerar o método seletivo desde que houvesse precisão do método e a intensidade do pico de interferência fosse inferior a 30% do nível de resíduo correspondente ao LQ (SANTE, 2017).

Portanto o método proposto é seletivo para os pesticidas imazalil, tebuconazol, bifentrina e azoxistrobrina, visto que os interferentes presentes na matriz das amostras de mamão isentas de pesticidas (branco) não interferem no t_R dos analitos de interesse e nem na precisão do método (Figura 4).

1.2.3.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O Limite de quantificação foi previamente avaliado considerando valores abaixo do LMR de cada pesticida em estudo (SANTE, 2017). Foi considerado também um sinal cromatográfico pelo menos dez vezes maior que o ruído da linha de base obtido para cada amostra de mamão livre de pesticida (branco) por GC-MS. Para todos os pesticidas em estudo foi definido um LQ de $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ que enquadra nos requisitos adotados para avaliar a quantificação do método e dentro da seletividade e especificidade do método SLE/LTP-GC-MS utilizado para as amostras de casca, polpa e sementes do mamão. O LD foi determinado considerando um sinal cromatográfico de pelo menos 3 vezes o ruído, obtendo um valor de LD igual a $7,5 \times 10^{-3} \text{ mg kg}^{-1}$ para todos pesticidas em estudo. Além disso observa-se na Tabela 1 que os valores LMRs estabelecidos pela ANVISA, Codex e União Europeia para os pesticidas em estudo, estão acima do valor de LQ obtido para casca, polpa e sementes do mamão, exceto para o imazalil, em que a União Europeia estabelece um LMR de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. O presente trabalho obteve resultados do LQ menores do que os obtidos por Pano-Farias *et al.* (2017), que avaliaram vários pesticidas em amostras de mamão usando o método QuEChERS-GC-MS.

1.2.3.3 Linearidade de resposta do método

A linearidade do método foi determinada pela injeção de extratos de amostras da polpa e sementes de mamão fortificadas com os pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol nas concentrações 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,125, 0,250, 0,5 e 1 mg kg⁻¹ e da casca nas concentrações 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,125, 0,250, e 1 mg kg⁻¹. Os parâmetros utilizados para estimar a linearidade do método foram o coeficiente de determinação (R²) e gráfico de resíduos. Verifica-se na Tabela 4 que os valores de R² foram, para todos os pesticidas, acima de 0,990 mostrando que o modelo matemático foi adequado (ANVISA, 2017). Além da avaliação do R² é necessário avaliar o gráfico de dispersão dos resíduos (Figura 5 e 6), a fim de comprovar a linearidade do método (ANVISA, 2017).

Figura 5- Gráficos de resíduos para curva analítica de amostras da casca e polpa do mamão, respectivamente, fortificadas com padrão dos analitos na faixa de concentração de 0,025 a 1 mg kg⁻¹ para azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol.

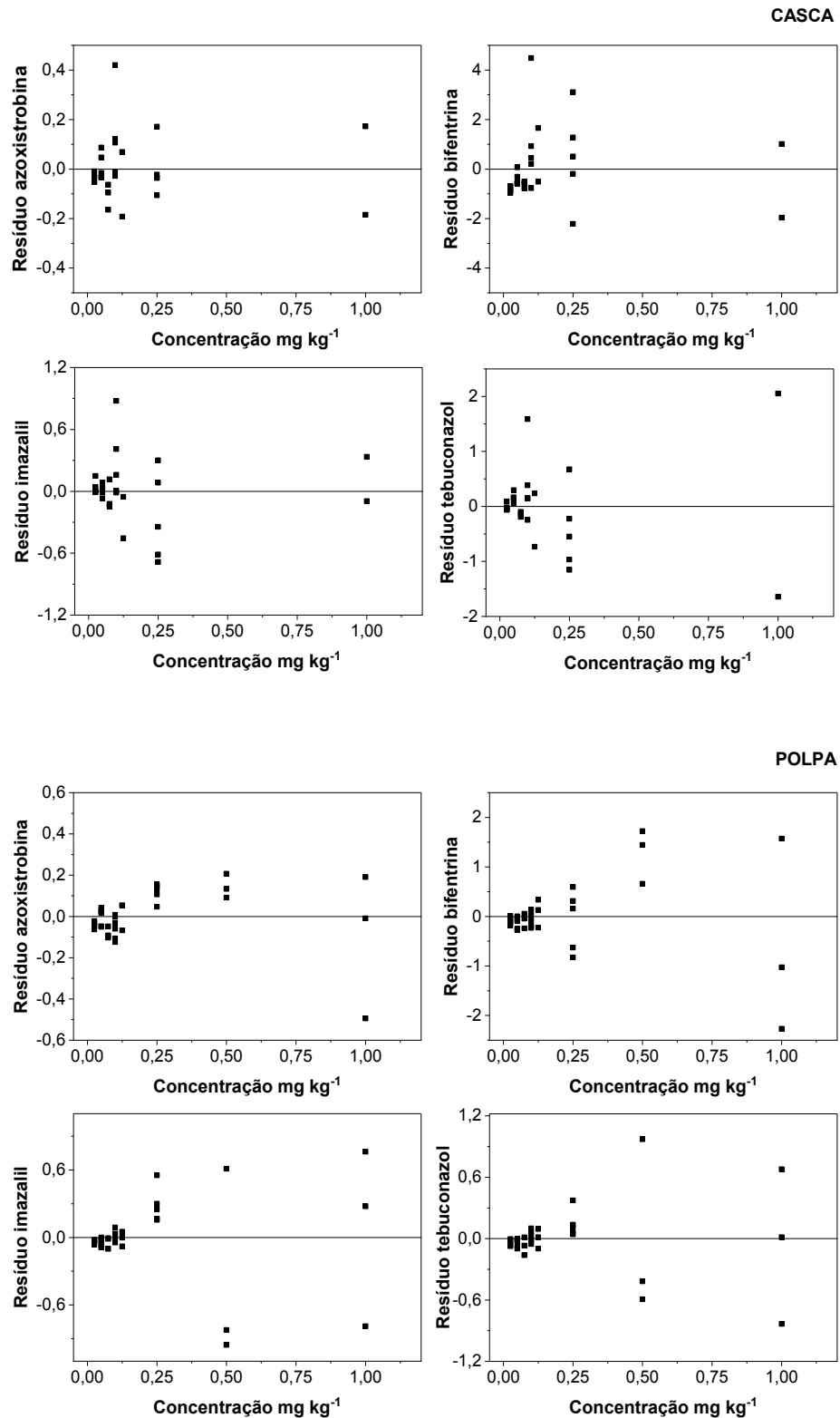
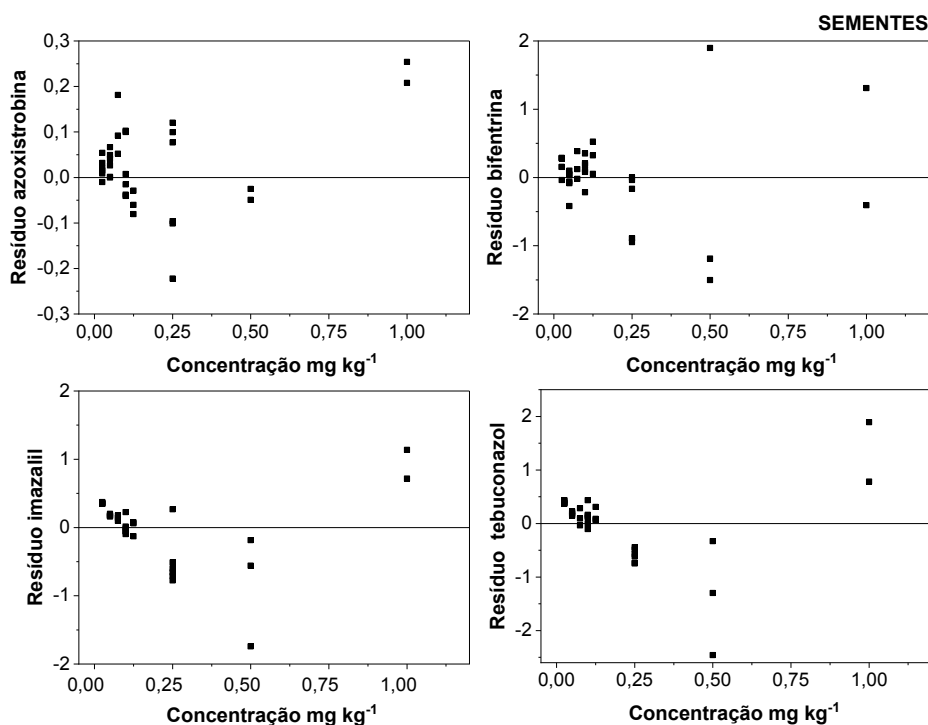


Figura 6- Gráficos de resíduos para curva analítica de amostras das sementes do mamão, fortificadas com padrão dos analitos na faixa de concentração de 0,025 a 1 mg kg⁻¹ para azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol.



Os diagramas de dispersão dos resíduos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol para a casca, polpa e sementes do mamão tiveram valores de resíduos dispersos aleatórios em torno de zero.

1.2.3.4 Exatidão e Precisão

A exatidão do método foi avaliada, em cinco repetições, por ensaios de recuperação em três níveis de concentração, 0,025, 0,1 e 0,250 mg kg⁻¹ para os pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. Observa-se na Tabela 4 que a recuperação do método para a amostras da casca variaram de 70,7 a 110,9%, da polpa de 83,5 a 112,7% e das sementes de 86,7 a 110,3%. Essas amostras de mamão enquadram dentro da faixa aceitável de recuperação para análise de resíduos que geralmente é entre 70 a 120% (SANTE, 2017). Portanto, o método teve uma boa exatidão para os pesticidas em estudo.

A precisão foi expressa por meio do desvio padrão relativo, sendo avaliada a repetitividade (intra-dia) e a precisão intermediária (inter-dia). A repetitividade representa a conciliação dos resultados de medições contínuas de um mesmo método, sob as mesmas

condições de medição realizadas em um dia. De acordo com a Tabela 4 o desvio padrão relativo para a casca variou de 4,9 a 14,5%, a polpa 1,86 a 7,66% e sementes 1,3 a 12,6%, os valores do desvio padrão relativo foram inferiores a 20% para todos os pesticidas (SANTE, 2017), mostrando que o método tem uma boa repetitividade para todas as partes das amostras de mamão. A precisão intermediária foi avaliada em três dias diferentes e em três níveis de concentração 0,025, 0,1 e 0,250 mg kg⁻¹ com cinco repetições em cada nível. Verifica-se na Tabela 4 que o desvio padrão relativo para todas as partes das amostras de mamão inter-dia foram inferiores a 20%, considerados satisfatório de acordo com órgãos regulamentadores (ANVISA, 2017; SANTE, 2017).

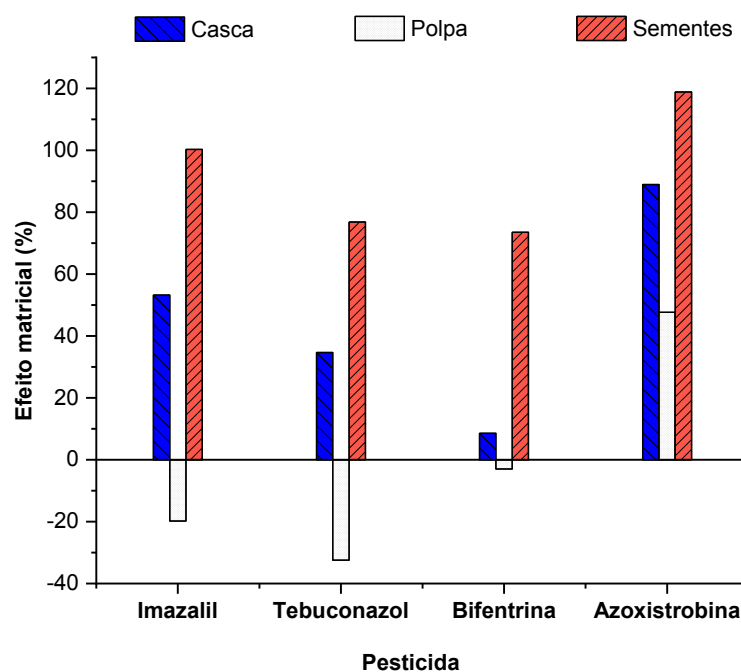
Tabela 4- Parâmetros de validação do método, regressão linear ($y = \text{área}$ e $x = \text{concentração mg kg}^{-1}$), coeficiente de determinação (R^2), faixa linear, nível de fortificação (NF), % recuperação e desvio-padrão ($\% R \pm DP$), precisões inter-dia e intra-dia, coeficiente de variação (CV) para pesticidas das amostras de casca, polpa e sementes do mamão, respectivamente.

Mamão	Composto	Regressão linear / R^2	Faixa linear	NF	$R^e \pm DP$ (%)	Intra-dia	Inter-dia
			mg kg ⁻¹			CV ^g (%) (n= 5)	CV (%) (n= 15)
Casca	Azoxistrobina	$y = 8,709x + 0,013$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$70,67 \pm 0,083$	12,3	17,9
				0,1	$110,97 \pm 0,15$	14,5	15,5
				0,25	$103,71 \pm 0,056$	5,7	5,4
	Bifentrina	$y = 71,462x + 1,188$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$73,68 \pm 0,081$	11,3	18,0
				0,1	$104,87 \pm 0,049$	4,9	15,8
				0,25	$103,05 \pm 0,089$	9,0	7,9
	Imazalil	$y = 13,445x - 0,150$ 0,998	0,025 - 1	0,025	$95,37 \pm 0,11$	11,6	16,3
				0,1	$108,89 \pm 0,13$	12,4	18,0
				0,25	$100,99 \pm 0,068$	6,8	10,5
	Tebuconazol	$y = 32,259x - 0,573$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$93,69 \pm 0,060$	6,5	10,4
				0,1	$107,71 \pm 0,083$	7,9	12,9
				0,25	$101,11 \pm 0,067$	6,7	6,5
Polpa	Azoxistrobina	$y = 8,8043x + 0,050$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$83,45 \pm 0,071$	8,9	14,1
				0,1	$94,74 \pm 0,061$	6,6	12,9
				0,25	$106,56 \pm 0,019$	1,9	5,5
	Bifentrina	$y = 45,635x + 0,446$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$89,46 \pm 0,065$	7,5	11,6
				0,1	$99,98 \pm 0,032$	3,3	9,6
				0,25	$102,03 \pm 0,054$	5,5	5,9
	Imazalil	$y = 10,58x - 0,009$ 0,997	0,025 - 1	0,025	$92,26 \pm 0,064$	7,0	7,9
				0,1	$104,26 \pm 0,044$	4,3	6,0
				0,25	$112,68 \pm 0,061$	5,5	7,7
	Tebuconazol	$y = 18,423x - 0,025$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$92,93 \pm 0,066$	7,2	9,2
				0,1	$102,81 \pm 0,032$	3,1	8,7
				0,25	$105,01 \pm 0,029$	2,8	5,5
Sementes	Azoxistrobina	$y = 7,463x - 0,001$ 0,996	0,025 - 1	0,025	$106,21 \pm 0,22$	9,7	14,5
				0,1	$95,19 \pm 0,10$	8,5	10,7
				0,25	$98,61 \pm 0,11$	7,5	8,3
	Bifentrina	$y = 32,811x + 0,073$ 0,999	0,025 - 1	0,025	$86,69 \pm 0,050$	12,6	18,5
				0,1	$110,31 \pm 0,091$	5,6	7,0
				0,25	$103,01 \pm 0,068$	6,1	6,4
	Imazalil	$y = 16,148x - 0,691$ 0,991	0,025 - 1	0,025	$107,19 \pm 0,051$	1,3	5,2
				0,1	$95,68 \pm 0,094$	7,0	7,7
				0,25	$97,13 \pm 0,047$	10,9	9,6
	Tebuconazol	$y = 28,348x - 0,977$ 0,994	0,025 - 1	0,025	$92,92 \pm 0,096$	3,3	17,8
				0,1	$106,96 \pm 0,067$	7,0	6,1
				0,25	$100,12 \pm 0,044$	2,1	3,9

1.2.3.5 Efeito de matriz

O efeito de matriz foi analisado pelas curvas analíticas dos pesticidas preparados em solvente puro (acetonitrila) e no extrato orgânico da matriz da casca, polpa e sementes do mamão após a aplicação do método SLE/LTP. Ambas as curvas analíticas foram construídas em concentrações 1LQ, 2LQ, 4LQ, 5LQ e 10LQ mg L⁻¹ para azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. A porcentagem do efeito matricial (Figura 7) foi determinada conforme a equação 3 com base na inclinação da curva analítica de cada pesticida preparada em extrato da matriz e no solvente (Apêndice 1.2).

Figura 7- Porcentagem do efeito de matriz dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol da casca, polpa e sementes do mamão, respectivamente.



A presença de co-extrativos pode causar variações na resposta cromatográfica durante a análise de pesticidas induzida pela matriz. Nota-se na Figura 7 que os resultados mostram efeito de matriz positivo para todos os pesticidas da casca e sementes, ou seja, ocorreu um aumento do sinal cromatográfico. Esse aumento, pode estar correlacionado com a injeção no cromatógrafo, durante as análises ocorre uma competição entre os pesticidas e os co-extrativos da matriz por sítios ativos do injetor, levando uma maior quantidade do analito para coluna cromatográfica (HAJŠLOVÁ & ZROSTLIKOVA, 2003, PINHO *et al.*, 2012). Além do aumento da resposta cromatográfica (efeito de matriz positivo), observou que quanto maior o tempo de retenção, maior o efeito da matriz para cada pesticida (ordem crescente de eluição

imzalil < tebuconazol < bifentrina < azoxistrobina). E para polpa que teve a adição de água durante a extração o efeito matricial foi negativo para todos os pesticidas exceto para azoxistrobina, em geral, isso ocorre quando há degradação e ou sorção do pesticida no injetor (PINHO *et al.*, 2012). Pinho *et al.* (2010) relatou que quanto maior a complexidade da matriz maior o efeito de matriz.

1.2.3.6 Aplicação do método

O método SLE/LTP-GC-MS validado, foi aplicado na determinação de pesticidas em amostras de mamão papaia comercializadas por diferentes produtores (A, B, C, D e E). Dessas amostras foram analisados a casca, a polpa e a sementes de cada amostra, em triplicata. Os resultados para cada amostra de mamão e os LMRs de cada pesticidas estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5- Níveis de pesticidas (mg kg^{-1}) acima ou abaixo do limite de quantificação (LQ) de $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ e não detectados (n.d.) nas amostras da casca, polpa e sementes do mamão.

¹Limite máximo de resíduos (LMR) estabelecidos pela Anvisa-Brasil^a, União Europeia^b e Codex Alimentarius^c.

Mamão	Pesticida			
	Azoxistrobina	Bifentrina	Imazalil	Tebuconazol
	¹ LMR / (mg kg^{-1})			
	^{a, b, c} 0,3	^a 0,3/ ^b 0,4	^a 1,0/ ^b 0,01	^a 1,0/ ^{a, b} 2,0
	Casca / (mg kg^{-1})			
A	0,08	<LQ	n.d.	n.d.
B	<LQ	<LQ	n.d.	<LQ
C	<LQ	<LQ	n.d.	n.d.
D	n.d.	0,13	<LQ	0,03
E	0,85	<LQ	0,13	n.d.
	Polpa / (mg kg^{-1})			
A	n.d.	<LQ	n.d.	n.d.
B	n.d.	<LQ	n.d.	n.d.
C	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
E	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	sementes / (mg kg^{-1})			
A	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
E	n.d.	n.d.	0,07	n.d.

Observa-se que para a casca foi detectado concentrações de azoxistrobina nas amostras A e E, bifentrina na amostra D, imazalil na amostra E e tebuconazol na amostra D. Porém apenas a amostra E estava com concentração de azoxistrobina acima do LMR estabelecido pelos órgãos regulamentadores Anvisa, União Europeia e Codex e de imazalil acima do LMR estabelecido pela União Europeia. Nas demais amostras foram detectados os pesticidas em concentrações abaixo do LQ de $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ ou não foram detectados.

Para a polpa foram detectadas bifentrina nas amostras A e B mas com concentrações abaixo do LQ. Já para a sementes não foram detectados resíduos de pesticidas nas amostras exceto para amostra E, que em foi detectada a presença de imazalil com concentração acima do LMR estabelecido pela União Europeia.

No estudo realizado por CARVALHO (2015), em amostras de mamão papaia (casca mais polpa) coletadas nos municípios do interior da Bahia foram detectados níveis de resíduos de pesticidas tiabendazol, imazalil, tebuconazol, bifentrina e difenoconazol, sendo que somente a bifentrina e tebuconzol foram quantificados estando acima do LQ, porém abaixo do LMR.

1.3 Conclusão

O método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) desenvolvido, otimizado e validado para determinação de resíduos dos pesticidas, azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), mostrou-se viável para determinação dos analitos em mamão. Além de ser simples, eficaz, com baixo consumo de solvente, o método pode ser realizado em etapa única de extração. O método apresentou uma faixa de recuperação de 70,7 a 112,7% para o mamão e limites de quantificação ($0,025 \text{ mg kg}^{-1}$) abaixo dos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos pela ANVISA, Codex e União Europeia, exceto para o imazalil, em que a União Europeia estabelece um LMR de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$.

Amostras de mamão adquiridas em Viçosa-MG, apresentaram níveis de resíduo de pesticidas em todas as amostras da casca, tendo apenas uma amostra com concentração de azoxistrobina e imazalil acima do LMR permitido pelos órgãos regulamentadores. Nas amostras da polpa foi detectado bifentrina em duas amostras, mas com níveis abaixo do LQ e nas sementes foi encontrado resíduos de imazalil acima do LMR aceito pela União Europeia. Mostrando a necessidade de estudar a migração dos resíduos de pesticidas no fruto e a remoção da casca, visto que, toda as amostras estudadas apresentaram resíduos de pesticidas na casca.

Contudo, pode-se concluir que o método desenvolvido resultou em um método viável para análise dos analitos em mamão, por ser simples, eficaz, com baixo consumo de solvente, extração realizado em etapa única e sem a necessidade de clean-up.

1.4 Referências bibliográficas

ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Relatório de Atividades de 2013 a 2015. Diário oficial da União; Poder executivo, Brasília, DF, de 25 de novembro de 2016. 1–246, 2016.

ANVISA. RDC N. 166, de 25 de Julho de 2017. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 2017, p. 1–21, 2017.

ARAÚJO, S. M. M., LEMOS, R. N. S., QUEIROZ, M. E. R.; NUNES, G. S. Uso de inseticidas organofosforados nos pólos de produção na ilha de São Luís (MA): Condições de trabalho e contaminação de hortaliças. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.11, n.159-179, 2001.

CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.5, p.529-537, 2000.

CARVALHO, G. A. Determinação de resíduos de agrotóxicos em mamão empregando o método QuEChERS e CG-EM. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, p.127, 2015.

CODEX. Codex Alimentarius International Food Standards. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>>. Acesso em: 20 março, 2023.

EUROPEAN COMMISSION. Pesticides database - European Commission (EU). Disponível em: <<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>>. Acesso em: 20 março, 2023.

FARIAS, N. S. P., MAGAÑA, S. G. C, VALENCIA, R. M., & GONZALEZ, J. Validation and assessment of matrix effect and uncertainty of a gas chromatography coupled to mass spectrometry method for pesticides in papaya and avocado samples. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, n. 3, p. 501-509, 2017.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. Major tropical fruits - Statistical compendium, 2019.

GOULART, S. M., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A., & QUEIROZ, J. H. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1320–1323, 2008.

HAIŠLOVÁ, J. & ZROSTLIKOVA, J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, n. 1-2, p. 181-197, 2003.

HELENO, F. F., QUEIROZ, M. E. L. R. D., NEVES, A. A., & OLIVEIRA, A. F. D. Otimização, validação e aplicação de método para determinação da concentração residual de difenoconazol em morangos após múltiplas aplicações. **Química Nova**, v. 37, p. 153-157, 2013.

HELENO, F. F., RODRIGUES, A. A., QUEIROZ, M. E., NEVES, A. A., OLIVEIRA, A. F., & LIBARDI, V. M. Determination of fungicides in bell pepper using solid-liquid extraction with low temperature partitioning. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 79-84, 2019.

IUPAC. **Pesticide Properties Database**. Disponível em: < <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm> >. Acesso em: 20 março, 2023.

KWON, H., LEHOTAY, S. J., & GEIS-ASTEGGIANTE, L. Variability of matrix effects in liquid and gas chromatography–mass spectrometry analysis of pesticide residues after QuEChERS sample preparation of different food crops. **Journal of chromatography A**, v. 1270, p. 235-245, 2012.

MISRA, N. N. The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues. **Trends in Food Science & Technology**, v.45, n.2, p.229-244, 2015.

PANO-FARIAS, N. S., CEBALLOS-MAGAÑA, S. G., MUNIZ-VALENCIA, R., & GONZALEZ, J. Validation and assessment of matrix effect and uncertainty of a gas chromatography coupled to mass spectrometry method for pesticides in papaya and avocado samples. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, p. 501-509, 2017.

PINHO, G. P. D., SILVÉRIO, F. O., NEVES, A. A., QUEIROZ, M. E. L., & STARLING, M. A. V. Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatográfica de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33, p. 909-913, 2010.

PINHO, G. P. D., SILVÉRIO, F. O., NEVES, A. A., & QUEIROZ, M. E. L. R. D. Evaluation of pesticide adsorption in gas chromatographic injector and column. **Química Nova**, 35, 738-742.

PRESTES, O. D., FRIGGI, C. A., ADAIME, M. B., & ZANELLA, R. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, p. 1620-1634, 2009.

RODRIGUES, A. A. Z., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A., OLIVEIRA, A. F., PRATES, L. H. F., FREITAS, J. F., HELENO, F. F., & FARONI, L. R. D. A. Use of ozone and detergent for removal of pesticides and improving storage quality of tomato. **Food Research International**, v. 125, p. 108626, 2019.

RODRIGUES, A. A. Z., DE QUEIROZ, M. E. L. R., FARONI, L. R. D. A., PRATES, L. H. F., NEVES, A. A., DE OLIVEIRA, A. F., FREITAS, J. F., HELENO F. F. & ZAMBOLIM, L. The efficacy of washing strategies in the elimination of fungicide residues and the alterations on the quality of bell peppers. **Food Research International**, v. 147, p. 110579, 2021.

SANTE. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed, Document No. SANTE/11813/2017.

SŁOWIK-BOROWIEC, M., & SZPYRKA, E. Selected food processing techniques as a factor for pesticide residue removal in apple fruit. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 2, p. 2361-2373, 2020.

SOUZA, L. P., FARONI, L. R. D. A., HELENO, F. F., PINTO, F. G., QUEIROZ, M. E. L. R., & PRATES, L. H. F. Ozone treatment for pesticide removal from carrots: Optimization by response surface methodology. **Food chemistry**, v. 243, p. 435-441, 2018.

USALL, J., IPPOLITO, A., SISQUELLA, M., & NERI, F. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 30-40, 2016.

CAPÍTULO 2

AValiação DA DISSIPaÇÃO/MIGRaÇÃO DE IMaZaLIL EM MaMÃO Na PÓS-COLHEITA DURANTE O ARMAZENAMENTO

RESUMO

O mamão pós-colheita é susceptível a várias doenças fúngicas durante o armazenamento e transporte, acarretando perdas econômicas. Normalmente o controle dessas doenças e pragas é feito empregando fungicidas. Entretanto, o uso intensivo dos pesticidas, não respeitando-se as boas práticas agrícolas (BPA), pode gerar riscos associados à segurança dos alimentos. Um fungicida recomendado para controle de doenças pós colheita no mamão é o Imazalil. As como frutas como o mamão são geralmente consumidas *in natura*, portanto há especial preocupação com a presença de resíduos de pesticidas no fruto, uma vez que estes podem degradar, dissipar para o ambiente, ou mesmo penetrar no fruto. Para entender melhor o comportamento do fungicida após aplicação, o objetivo do presente estudo foi avaliar a migração de resíduos de imazalil entre a casca, polpa e sementes do mamão papaia, durante 23 dias de armazenamento em câmara de refrigeração a 14 °C e 91% UR. Os parâmetros pH, mudança na cor, perda de massa, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, vitamina C, firmeza, respiração do fruto e o nível de contaminação que chega ao consumidor foram avaliados neste estudo. A cada dois dias, frutos do grupo controle (sem aplicação de imazalil) e do grupo de estudo (aplicação de imazalil) tiveram sua casca, polpa externa, polpa interna e sementes separadas, trituradas, homogeneizadas e submetidas aos procedimentos de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). Após o 23º dia, cerca de 70% do imazalil havia se dissipado. A maior parte do resíduo remanescente foi encontrada na casca. No entanto, a pequena quantidade migrada para a polpa estava acima do limite máximo de resíduo permitidos (LMR) pelas agências reguladoras. O resíduo de imazalil também foi detectado nas sementes em concentrações inferiores ao LQ (0,025 mg kg⁻¹). A perda de massa foi o único parâmetro de qualidade que apresentou diferença significativa entre os frutos dos grupos controle e estudo.

2. INTRODUÇÃO

O mamão, *Carica papaya L.*, popularmente conhecido como mamão papaia, possui alta quantidade de nutrientes essenciais para a saúde, sendo o fruto fonte de minerais, fibras e vitaminas C, A e E (ALARA, ABDURAHMAN & ALARA, 2020). Além disso, em escala mundial, é de grande relevância para a agricultura. No período de 2016-2018 foram produzidos anualmente cerca de 4 milhões de toneladas (FAO, 2019). Sendo o Brasil um dos principais países produtores de mamão, com produção de 1.256.703 toneladas (IBGE, 2023).

Porém, um dos fatores responsáveis por comprometer a produção e a qualidade do fruto *in natura* e industrializado são as perdas provocadas por fitopatógenos (OLIVEIRA & VITÓRIA, 2011). De acordo com o estudo feito por Dantas *et al.* (2003), dos frutos de mamão estudados, 82,5% apresentaram diferentes doenças fúngicas pós-colheita. Dentre essas, as de maior incidência foram a podridão peduncular com maior média de incidência (39,71%), em seguida a antracnose (20,32%) e a mancha chocolate (10,45%). As doenças pós-colheita, principalmente a antracnose, infecta o mamão jovem e permanece latente durante o crescimento do fruto no campo. Isso pode reduzir a qualidade do fruto durante o armazenamento e transporte, acarretando perdas econômicas (LI *et al.*, 2013).

Diante disso, e da alta demanda do mercado externo, algumas práticas pós-colheita são utilizadas, como infraestrutura da casa de embalagem, lavagem e seleção dos frutos, tratamento térmico seguido do pré-resfriamento, imersão dos frutos em calda fúngica e em cera e por último a classificação e armazenamento em câmara fria. Apesar dessas práticas serem necessárias, nem todas essas etapas são aplicadas nos frutos destinados ao mercado interno, devido ao custo-benefício (MARTINS & COSTA, 2003).

Dentre essas o uso de anti-fúngicos é umas das práticas mais utilizadas para o controle de doenças e pragas no mamão pós-colheita, com o intuito de aumentar a vida de prateleira dos frutos e evitar perdas econômicas. Os fungicidas recomendados para tratamento pós-colheita de mamão são bastante restritos em relação ao total de fungicidas existentes no mercado. Desses, o imazalil foi selecionado para o presente estudo. O imazalil é fungicida sistêmico, ou de penetração, absorvido pela planta e transportados através do sistema vascular da planta (ZACHARIA, 2011). A aplicação é realizada por imersão em caldas (200 mL do produto comercial / 100 L de água) por 2 min para o controle e prevenção de doenças no mamão (AGROFIT, 2023).

No entanto, o uso intensivo dos pesticidas, não respeitando as boas práticas agrícolas (BPA), como o limite máximo de resíduo (LMR) e os riscos toxicológicos (ANVISA, 2016), pode gerar preocupações associadas a saúde humana e ao meio ambiente. Como frutas como mamão são geralmente consumidas *in natura*, há especial preocupação com a dissipação de resíduos de pesticidas no fruto.

A dissipação do princípio ativo do pesticida é a taxa em que a substância ativa é alterada dentro ou sobre matrizes vegetais, como folhas, caules, sementes, frutas (LEWIS & TZILIVAKIS, 2017). Essa dissipação pode ocorrer por diferentes mecanismos, tais como dissolução, degradação térmica, degradação biológica, oxidação, fotodegradação, volatilização, hidrólise e translocação de pesticida (ALBASEER, 2019). Ou seja, a dissipação corresponde a variação da concentração inicial de pesticida na superfície do fruto. Essa variação em que os pesticidas são deslocados e dissipados no fruto está associado com os parâmetros físico-químicos do pesticida e as condições ambientais (BAJWA & SANDHU, 2014).

Atualmente, estudos que abordem a dissipação e migração de fungicidas em frutos do mamão são escassos na literatura, o que mostra a importância deste tipo de estudo, uma vez que permitirá, além da compreensão sobre o risco de contaminação pós-colheita do mamão, obter informações para orientar produtores e consumidores com relação ao manejo e à segurança dos alimentos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dissipação e migração do resíduo de imazalil entre a casca, polpa e sementes do mamão papaia durante o armazenamento do fruto em câmara de refrigeração.

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Princípios ativos e soluções padrão

Solução estoque de imazalil, na concentração de 1070.0 mg L⁻¹, foi preparada pela solubilização do padrão de imazalil (99.7% m/m) adquirido da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) em acetonitrila (99.9% grau HPLC, Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil). As demais soluções de trabalho foram preparadas a partir de diluições da solução estoque. Foi também preparada uma calda com o produto comercial Magnate® 500EC (ADAMA - Londrina, Brasil), que contém o princípio ativo imazalil, na concentração, de 1000 mg L⁻¹ que é a dose recomendada pelo fabricante.

2.1.2 Equipamentos

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás (Shimadzu) equipado com um detector espectrométrico de massas (MS) tipo quadrupolo (GCMS-QP2020) e um sistema de injeção (AOC-20i.) Shimadzu (Kyoto, Japão). Outros equipamentos utilizados foram câmara de refrigeração (Metalfrio), balança analítica (Bel Engineering, Monza, Itália), agitador de tubos (Phoenix, AP 56, Araraquara, Brasil), centrífuga (Fanem, 206 MP, Guarulhos, Brasil), Ultraturrax (IKA®, T18 D S32, Staufen, Alemanha), colorímetro (Konica Minolta Sensing, CR-10, Japão), penetrômetro digital (Agriseach Equipment, DD-200, São Paulo, Brasil), refratômetro digital (Atago®, Pal-1, Japão) e medidor de pH (LineLab, pHplus, São Leopoldo, Brasil).

2.1.3 Condições cromatográficas

Os compostos foram separados em uma coluna capilar (SH-Rtx-5MS) cuja fase estacionária é composta de 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme. O hélio (grau de pureza 99,999%, White Martins, Brasil) foi utilizado como gás de arraste, a uma vazão de 1,20 mL min⁻¹. A programação de temperatura da coluna consistia em manter a temperatura inicial a 150 °C por 1 min, aquecer a uma taxa de 30 °C min⁻¹ até 210 °C, manter esta temperatura por 1 min, aquecer novamente a uma taxa de 30 °C min⁻¹ até 250 °C, manter esta temperatura por 2 min, aquecer a uma taxa de 20 °C min⁻¹ até 290 °C, e manter esta temperatura por 1 min. O tempo total de análise foi de 10,33 min. A temperatura do injetor foi mantida a 300 °C. Um volume de 1 µL de amostra foi injetado no cromatógrafo, usando o modo de injeção splitless. O espectrômetro de massas (MS) foi operado com impacto de elétrons 70 eV, um

tempo de corte de 5,0 min para evitar danos ao instrumento e temperaturas da interface do detector e da fonte de ionização em 300 °C e 230 °C, respectivamente.

A quantificação do método foi realizada no modo monitoramento do íon selecionado (*Select Ion Monitoring-SIM*), em que o pesticida imazalil era quantificado no tempo de retenção determinado previamente e com base nos três íons selecionados, 215, 173 e 217.

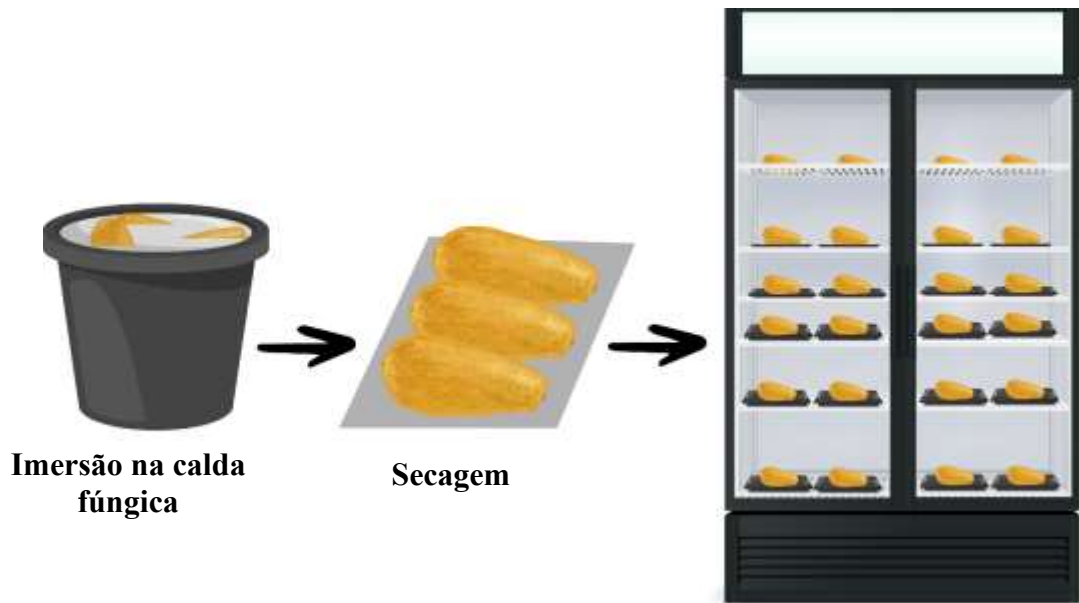
2.1.4 Amostras

Foram adquiridos 80 mamões papaia do mesmo lote de um supermercado localizado em Viçosa (Minas Gerais, Brasil). Estes foram transportados em caixas plásticas forradas com plástico bolha até ao Laboratório de Análise de frutas LAF-UFV. Uma vez no laboratório os frutos foram separados, 24 frutos sendo do grupo controle (sem aplicação da dose de pesticida) e 56 frutos do grupo de estudo (aplicação da dose de pesticida).

2.1.5 Estudo de migração dos pesticidas no fruto do mamão

Os frutos do grupo de estudo foram imersos em uma solução aquosa (calda) contendo o produto comercial, Magnate® 500 EC (500 g L⁻¹). A calda fúngica foi preparada de acordo com a dose recomendada pelo fabricante para o uso pós-colheita para o mamão, com concentração de 1000 mg L⁻¹ do princípio ativo imazail. Os frutos foram imersos na calda fúngica por 2 min e colocados para secar em bandejas contendo papel absorvente por 2 h. Posteriormente, os frutos foram separados em bandejas de poliestireno, um fruto por bandeja enumerada de acordo com o dia de análise, e armazenados em câmara de refrigeração a aproximadamente 14 °C e 91% UR (Figura 8). Paralelamente, foram separados frutos do grupo controle, os quais foram imersos por 2 min em água e submetidos às mesmas condições de armazenamento e análise dos frutos do grupo de estudo. Após essas etapas os frutos foram analisados periodicamente, sendo avaliado por dia uma amostra controle e três amostras de estudo. A primeira amostragem (tempo zero) foi analisada no mesmo dia de imersão após a secagem. O tempo um foi após 24 h, os demais tempos de amostragem foram de 48 em 48 h, durante 23 dias (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 22 dias de armazenamento).

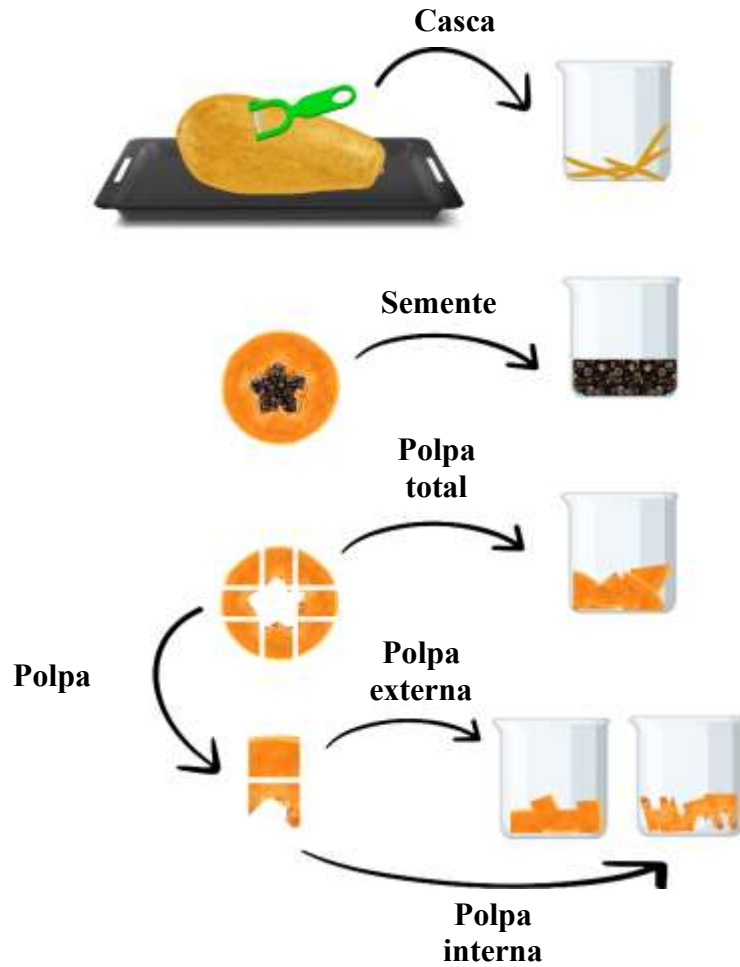
Figura 8- Montagem do experimento desde a imersão dos frutos até o armazenamento em câmara de refrigeração.



Fonte: Freitas (2023).

Nos dias de análise os frutos eram cuidadosamente fracionados em casca, polpa e sementes, evitando o mínimo de contaminação cruzada de resíduos entre as partes fracionados do fruto (Figura 9). A casca foi retirada com profundidade média de $1,7 \pm 0,12$ mm, com auxílio de lâmina apropriada para descascar frutos. Para amostragem da polpa utilizou-se uma faca, retirando uma parte central do mamão que foi dividido em 8 frações, sendo 4/8 denominamos de polpa total (polpa mais o endocarpo), as demais frações foram divididas em duas partes, polpa externa (próximo a casca) e polpa interna (polpa mais o endocarpo). As sementes (sementes mais a sarcotesta mucilaginosa) foi retirada com auxílio de uma espátula de ponta arredondada. As amostras foram trituradas, homogeneizadas e submetidas aos procedimentos de extração SLE/LTP descritos anteriormente, e analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa periodicamente.

Figura 9- Separação das frações do mamão em casca, polpa total, polpa externa, polpa interna e sementes.



Fonte: Freitas (2023).

2.1.6 Avaliação da presença de imazalil na atmosfera da câmara de refrigeração

Para avaliar a presença de resíduos de imazalil dentro da câmara de refrigeração, onde foram armazenados os frutos dos grupos de estudo e o grupo controle, foi empregado recipientes contendo um adsorvente. A sílica, usada como adsorvente, foi acondicionada em vidros de relógio, que foram colocados em quatro pontos da câmara de refrigeração, S1, S2, S3 e S4. Durante vinte dias de armazenamento dos frutos (Figura 10) amostras de sílica foram coletadas, e a presença de imazalil analisada por GC-MS. As amostras foram coletadas no dia um, no nono dia e no décimo nono dia de armazenamento, T1, T9 e T19, respectivamente. Nos dias de análise, a sílica era retirada da câmara de refrigeração, sendo pesados 4,000 g de cada ponto de amostragem S1, S2, S3 e S4, o imazalil era removido pela técnica de extração sólido-

líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) e analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (GC-MS).

Outra forma utilizada para avaliar se havia resíduo de imazalil na câmara de refrigeração, consistiu em usar uma bomba peristáltica com uma entrada e saída de ar. A bomba succionava o ar da câmara de refrigeração que era forçada a passar por uma seringa que continha 4,0000 g de sílica (Figura 10). Nos dias T1, T9 e T19 de armazenamento, a bomba peristáltica era colocada na câmara de refrigeração, e, ligada para puxar o ar por 4 h. Após esse tempo, a sílica era retirada da seringa realizando-se a extração SLE/LTP e análise por GC-MS.

Figura 10- Câmara de refrigeração com os mamões armazenados, contendo a sílica acondicionada em vidro de relógio (S1, S2, S3 e S4) e a bomba peristáltica nos pontos estabelecidos.



Fonte: Freitas (2023).

2.1.7 Análises físico-químico dos frutos

Os frutos dos grupos de estudo e controle foram avaliados através das características físico-químicas durante o armazenamento em câmara de refrigeração. Os parâmetros de qualidade perda de massa, cor da casca, firmeza da polpa e teores sólidos solúveis (°Brix) foram avaliados nos seguintes dias de amostragem: 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 22 dias. Os parâmetros pH, acidez titulável (AT) e ácido ascórbico foram avaliados em todas as amostras

após os 23 dias de estudo. Já a produção de CO₂ foi avaliada diariamente, contabilizando 22 dias de análise. As características físico-químicas de qualidade dos mamões foram determinadas de acordo com os métodos recomendados pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005).

2.1.7.1 Perda de massa fresca

No primeiro dia de análise (tempo zero, T₀), antes da imersão dos frutos, foi realizado a pesagem de todos os frutos (massa inicial) em uma balança eletrônica com precisão de 0,1 g. Durante o tempo de armazenamento os frutos foram pesados a cada intervalo de tempo de amostragem. Os resultados foram expressos em percentual perda de massa (%PM) entre a diferença da massa inicial do fruto (M₀) e aquela obtida a cada intervalo de tempo de amostragem (M_t), equação 4.

$$\% PM = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

2.1.7.2 Cor da casca

A avaliação da cor da casca foi realizada com o auxílio de um colorímetro, com leitura direta da reflectância em dois pontos equatorial central do mamão. Os valores obtidos foram de acordo com CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). O coeficiente "L*" (luminosidade), e as coordenadas "a*" e "b*", em que "a*" positivo corresponde a cor de vermelho-roxo, "a*" negativo, de azulado-verde e "b*" positivo amarelo, "b*" negativo azul (MCGUIRE, 1992). Com esses valores, foram calculados o o ângulo Hue (Equação 5), que assume valores de 0° para o vermelho, 90° para o amarelo, 180° para o verde e 270° para o azul (McGUIRE, 1992).

$$h^* = \arctang \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{Equação 5}$$

2.1.7.3 Firmeza da polpa

Para a determinação da firmeza da polpa foi retirado com auxílio de uma lâmina, apropriada para descascar frutos, uma fração da casca próximo ao pedúnculo do mamão, de aproximadamente 15 mm. Foi aplicado uma força através da ponteira de um penetrômetro digital. Os resultados foram expressos em Newton (N).

2.1.7.4 Sólidos solúveis (SS)

Os teores de sólidos solúveis foram determinados com um refratômetro digital (° Brix). Foi adicionado ao refratômetro amostras da polpa triturado e homogeneizado com auxílio de uma espátula de ponta arredondada. As leituras foram realizadas em triplicata das amostras e no mesmo dia de amostragem.

2.1.7.5 Acidez titulável (AT) e pH

A determinação da acidez ocorreu por titulação volumétrica com indicador. Foi adicionado em um Erlenmeyer 3,0 gramas do suco da polpa, em triplicata, e 100 mL de água destilada, a mistura foi agitada e titulada com solução de NaOH 0,05 mol L⁻¹, padronizada previamente com biftalato de potássio, até o ponto de viragem com o indicador fenolftaleína. Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g da polpa (Equação 6).

$$g \text{ de ácido cítrico por cento (m/m)} = \frac{V \times F \times M \times MM}{10 \times P \times n} \quad \text{Equação 6}$$

Onde V é o volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL, F o fator de correção da solução de hidróxido de sódio, M é a concentração em mol L⁻¹ da solução de hidróxido de sódio, MM a massa molecular do ácido cítrico em g, P a massa da amostra em g e n o número de hidrogênios ionizáveis.

As amostras preparadas para determinação da acidez total titulável, foram utilizadas para medir o pH, através da imersão direta eletrodo de vidro sensível a H⁺.

2.1.7.6 Vitamina C

A vitamina C total foi determinada pelo teor de ácido ascórbico, pelo método de Tillmans. Três (3,0) gramas de amostras da polpa previamente trituradas e homogeneizadas foram pesadas em um Erlenmeyer, em duplicata. Posteriormente foram adicionadas 50,0 mL de ácido oxálico 0,5% (resfriado) e agitadas para homogeneização. Titulou-se, essas amostras, com solução de Tillman (DFI-2,6 dicloro-fenol indofenol) 0,02%, até o ponto de viragem, rósea claro persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g de amostra (Equação 7).

$$\text{Vitamina C mg por cento (m/m)} = \frac{100 \times V \times F}{m} \quad \text{Equação 7}$$

Onde V é o volume da solução de Tillmans gasto na titulação (mL), F é o fator da solução de Tillmans e m é a massa da amostra (g).

2.1.7.7 Produção de dióxido de carbono (CO₂)

Para a determinação da produção de CO₂ foi utilizado dois mamões, sendo um do grupo controle e o outro do grupo de estudo, ambos analisados diariamente durante 22 dias. Esses frutos foram acondicionados individualmente em frascos de vidro hermético com volume de 3300 mL. Entre 30 a 60 min após o fechamento do frasco, com auxílio de uma seringa foi retirado 1 mL da atmosfera interna do frasco e injetado em um cromatógrafo a gás GOW MAC, Série 550, equipado com coluna de alumínio preenchida com a fase estacionária Porapak Q (1,8 m x 2 mm) e detector por condutividade térmica.

As condições cromatográficas foram: fluxo do gás de arraste de 40.0 mL por minuto de gás hélio, corrente elétrica de 150 mA, temperaturas da coluna de 50 °C, temperaturas do detector de 70 °C e temperaturas do injetor de 80 °C.

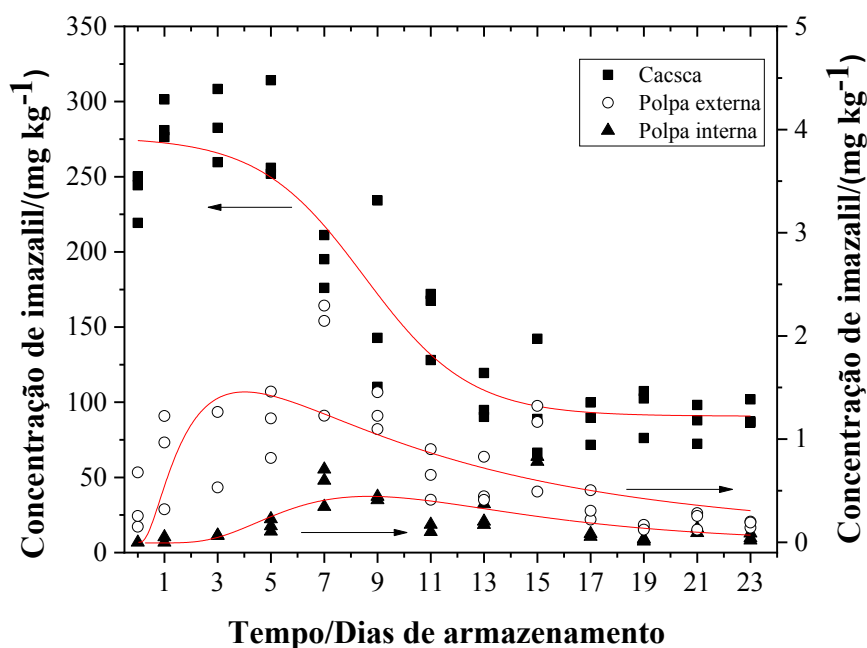
A quantificação de CO₂ foi realizada por meio de padronização externa, em que as áreas intensidades dos picos registrados no cromatograma eram comparadas com os picos referentes a injeção de padrão gasoso composto de 5,001 % mol de CO₂ por mol de mistura CO₂ + N₂. Os resultados foram expressos em mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

2.2 RESULTADOS

2.2.1 Dissipação e migração de imazalil em mamão

As amostras dos frutos do grupo de estudo e controle foram analisadas periodicamente durante 23 dias de armazenamento. Nas amostras do grupo controle não foram detectados resíduos de imazalil, conforme esperado. As concentrações do princípio ativo imazalil em mg kg^{-1} na casca, polpa externa e polpa interna do mamão do grupo de estudo foram determinadas em função dos dias de armazenamento em câmara de refrigeração a $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 91% UR (Figura 11).

Figura 11- Concentração do princípio ativo imazalil em mg kg^{-1} na casca, polpa externa e polpa interna do mamão durante os dias de armazenamento em câmara de refrigeração.



Os dados obtidos para a casca podem ser explicados por um modelo sigmoidal, expresso na Equação 8, com coeficiente de determinação ajustado igual a 0.87. Observou-se um período de latência até 5º dia, em que a concentração do imazalil na casca se manteve constante ($276,0 \pm 13,0\text{ mg kg}^{-1}$), diminuindo exponencialmente até o 12º dia, aproximadamente, mantendo-se a partir de então um valor constante, de cerca de $90,7 \pm 8,6\text{ mg kg}^{-1}$. No período em que o imazalil teve comportamento de latência seguido pelo exponencial, supõe-se que ocorreu a dissipação do produto. No período em que a concentração de imazalil se manteve constante

(após 12° dia), pode ter havido a partição e/ou adsorção irreversível devido às condições biológicas do fruto, que poderia explicar o patamar observado (Figura 11).

$$c = (90,7 \pm 8,6) + \frac{(276 \pm 13) - (90,7 \pm 8,6)}{1 + e^{(8,50 \pm 0,64)/(1,97 \pm 0,58)}} \quad \text{Equação 8}$$

Na polpa externa observou-se um aumento na concentração de imazalil até o 4° dia, passando de 0,36 mg kg⁻¹ para 1,16 mg kg⁻¹. Já na polpa interna a maior concentração, de 0,38 mg kg⁻¹ ocorreu no 9° dia. Tanto na polpa externa como na interna foi observado, um aumento na concentração seguido de uma diminuição exponencial e conseqüentemente uma dissipação ao longo dos dias de armazenamento. Essa dissipação no interior da fruta pode ser atribuída à degradação química ou biológica. Este último pode ocorrer durante o armazenamento da fruta devido às reações enzimáticas e atividade microbiana, que podem ser aceleradas em condições adequadas de umidade, pH, etc. (Albaseer, 2019). Embora, as concentrações mais altas tenham sido detectadas na casca, foi detectado resíduo de imazalil nas sementes, porém este estava abaixo do limite de quantificação (LQ = 0,025 mg kg⁻¹). O nível de resíduos de imazalil encontrado na casca e na polpa do mamão estavam acima do LMR permitido pela União Europeia e pela Anvisa, que estabelece um valor de 0,01 mg kg⁻¹ e 1 mg kg⁻¹, respectivamente (EUROPEAN COMMISSION, 2023; ANVISA, 2016).

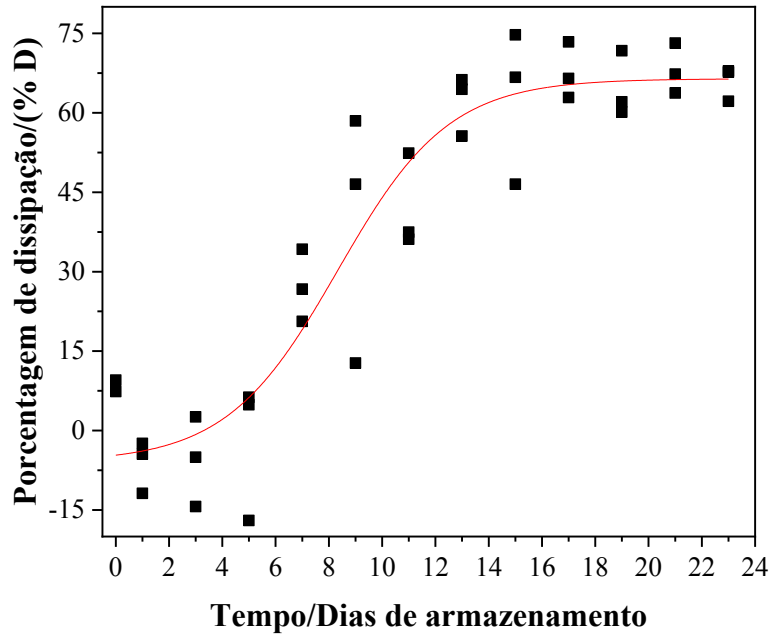
Estudos realizados por Han *et al.* (2015), mostraram que resíduos de diversos pesticidas, que se distribuem entre a casca e a polpa da fruta pera, ficaram principalmente na casca para a maioria dos pesticidas, exceto para os pesticidas com forte polaridade e alta solubilidade em água. Li *et al.* (2022), constataram uma migração de 6,17% do pesticida trichlorfon da casca de maçãs para a polpa no período de 5 dias de armazenamento, ficando a maior parte na casca.

Para entender melhor o comportamento do imazalil na casca, polpa externa e interna, os resultados foram expressos em porcentagem de dissipação (%D) ao longo dos dias de armazenamento, conforme a Equação 9. Eles são apresentados na Figura 12.

$$\% D = \frac{\sum m_i 100}{\sum m_i(t_0)} \quad \text{Equação 9}$$

Onde m_i é a soma da massa de imazalil nas frações do fruto e $m_i(t_0)$ é a soma da massa de imazalil nas frações do fruto no primeiro dia de análise, no tempo zero.

Figura 12- Porcentagem de dissipação de imazalil (%D) da casca para a polpa ao longo dos dias de armazenamento.



Cerca de 70% do imazalil se dissipou durante os 23 dias de armazenamento (Figura 12). Essa redução pode estar associada a diferentes mecanismos, como volatilização, fotodegradação, degradação biológica, etc. Li *et al.* (2022) investigaram a dissipação de triclorfon em amostras de maçã e observaram uma redução significativa de pesticidas durante o armazenamento (cerca de 85% em 30 dias). Esses achados reforçam a importância de pesquisar diferentes matrizes de alimentos e pesticidas, pois cada um possui propriedades biológicas, físicas e químicas específicas.

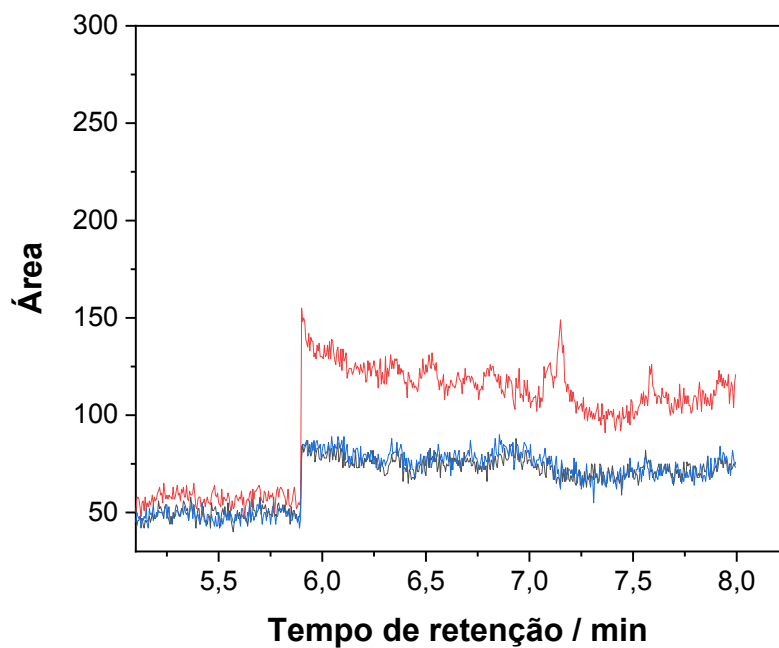
2.2.2 Avaliação da presença de imazalil na atmosfera da câmara de refrigeração

Dentre os principais processos físico-químicos de separação utilizados em preparo de amostra, encontra-se a adsorção, e este processo pode ser utilizado de forma eficiente para remover pesticidas de matrizes líquidas ou gasosas (KALHOR *et al.*, 2018). Um dos adsorventes mais utilizados para este fim é a sílica (SiO_2), que também pode ser utilizada como suporte em sínteses de fases estacionária, devido à sua alta estabilidade física, térmica e química quando em condições ácidas (DINALI *et al.*, 2021).

Neste estudo a sílica foi utilizada como adsorvente para avaliar a presença do imazalil na atmosfera da câmara, o que poderia auxiliar a compreender o processo de dissipação deste

pesticida. Entretanto, foi observado pelos cromatogramas que não houve resíduos de imazalil na sílica utilizada na câmara de refrigeração tanto pela amostra de sílica coletada pela bomba peristáltica quanto para a sílica acondicionada em vidro de relógio. Esses resultados indicam que não houve dissipação do imazalil para o ar dentro da câmara de refrigeração a qual continha os mamões do grupo de estudo e controle armazenados. A Figura 13, representa um cromatograma obtido no nono dia de armazenamento da sílica acondicionada na posição S4 dentro da câmara de refrigeração, visto que os demais cromatogramas se assemelham ao apresentado na Figura 13.

Figura 13- Cromatograma obtido pela análise do extrato da sílica coletada no nono dia de armazenamento (T9) na posição (S4) da câmara de refrigeração.



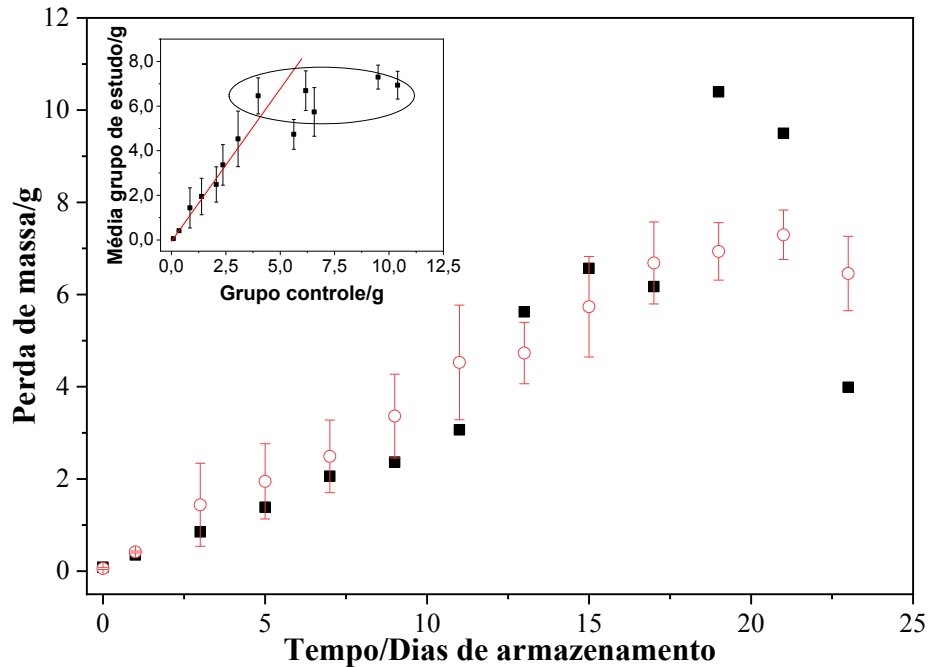
2.2.3 Análise físico-química do mamão

As análises físico-químicas de frutas armazenadas é de grande importância uma vez que a qualidade do fruto está associada a diversos fatores como os níveis de açúcares, ácidos orgânicos e minerais. Esses fatores variam de acordo com o estágio de maturação do fruto na colheita, o tipo do mamão, cultivar, tratamentos culturais no pomar etc. (SOUZA *et al.*, 2009). Estes, por sua vez, podem levar a transformações físico-químicas do fruto (SOUZA *et al.*, 2014). A qualidade do mamão foi investigada para verificar se durante o armazenamento os frutos tratados com imazalil (grupo de estudo) diferiram significativamente dos isentos de imazalil (grupo controle) durante o armazenamento.

A alta correlação (R^2) entre os parâmetros do estudo e controle indicou um efeito não significativo no grupo de estudo. Por isso, firmeza/N, sólidos solúveis/°Brix, pH, ácido cítrico (acidez titulável), ácido ascórbico (vitamina C) e o ângulo hue não diferiram significativamente entre os dois grupos (Apêndice 2.1).

No entanto, o mesmo não ocorreu em relação à perda de massa (Figura 14). Ambos os grupos tiveram comportamento de perda de massa semelhante até o dia 11 ($R^2 = 0,915$, $N = 13$, regressão linear ponderada), mas nenhuma correlação significativa foi encontrada posteriormente ($R^2 = 0,428$, $N = 6$), e a perda de massa do grupo de estudo permaneceu constante e abaixo do grupo controle. Esses dados sugerem uma distinção entre os dois tratamentos após o dia 11. Uma vez que as doenças do fruto levam à perda de massa, a proteção parece ser efetiva para os frutos tratados com o fungicida. Embora seja muito comum a perda de água em frutas, o mecanismo é complexo. De acordo com LUFU, AMBAW & OPARA, 2020, essa perda pode estar associada a diversos fatores, como fisiológicos, bioquímicos, físico-mecânicos além dos tratamentos pré e pós-colheita.

Figura 14- Valores do parâmetro perda de massa/g do grupo controle (■) e do grupo de estudo (○) em função dos dias armazenados.



Apesar da não correlação entre os tratamentos, a firmeza do mamão diminuiu ao longo do armazenamento (Apêndice 2.1A), tornando o fruto cada vez mais suscetível a danos mecânicos durante a pós-colheita. Este fato está associado à ação das enzimas pécnicas sobre os componentes da parede celular (CHAN JR, TAM & SEO, 1981). Além disso, conforme constatado por SOUZA *et al.* (2014), o aumento na produção de etileno também reduz a firmeza dos frutos.

O teor de açúcar na polpa do mamão, foi estimado pelos sólidos solúveis (SS), não foram observadas diferenças entre os resultados de ambos os tratamentos, nem a variação com o tempo (Apêndice 2.1B). De acordo com estudo realizado por BARRAGÁN-IGLESIAS, MÉNDEZ-LAGUNAS, & RODRÍGUEZ-RAMÍREZ (2018), os frutos durante o amadurecimento na árvore, desenvolvem até 40% da quantidade de sólidos solúveis, decorrente da sacarose obtida da fotossíntese nas folhas. Após a colheita, o mamão por possuir baixo teor de amido, não acumula carboidratos na polpa, o que justifica a pequena variação no teor de SS no fruto ao longo do armazenamento (GOMEZ, LAJOLO & CORDENUNSI, 2002).

Os valores de pH tiveram o mesmo comportamento em ambos os tratamentos, sugerindo-se que o fungicida não influenciou neste parâmetro (Apêndice 2.1C). Devido ao

grande volume de líquido no fruto, comparado com a região afetada pela doença, a força do tampão (OLIVEIRA, 2020) deve ter sido suficiente para evitar a variação do pH.

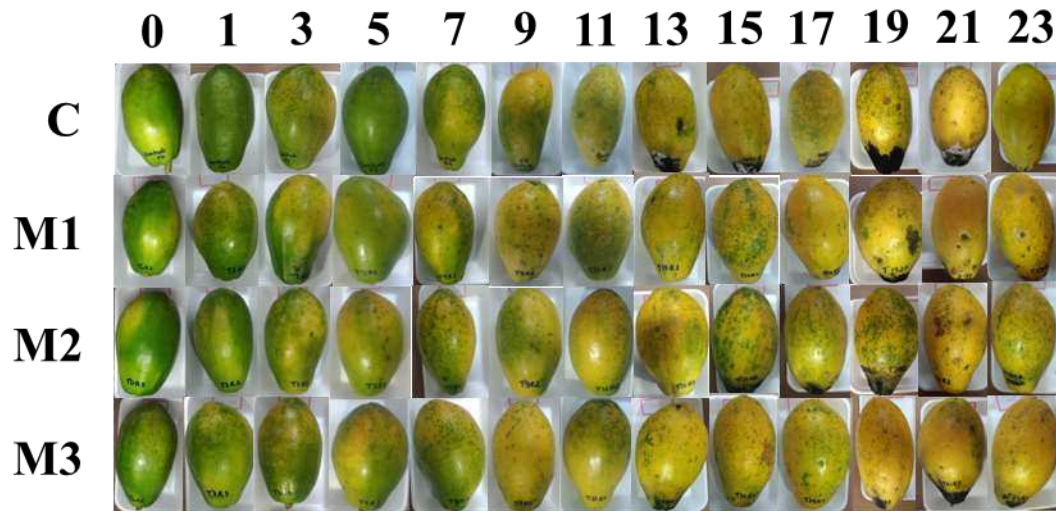
Os níveis de ácido cítrico aumentaram linearmente ao longo do tempo no grupo tratado com fungicida. Por outro lado, devido à grande variabilidade nos resultados do grupo controle, não houve correlação significativa entre os tratamentos (Apêndice 2.1D). Os níveis estão dentro do mínimo aceitável pela legislação brasileira, que é de 0,1 g de ácido cítrico por 100 g de amostra (BRASIL, 2018).

A quantidade de ácido ascórbico (Vitamina C) encontrada nas amostras analisadas apresentaram uma média do grupo de estudo de 44.53 mg de AA / 100 g de amostra de mamão e do controle de 47.24 mg de AA / 100 g de amostra (Apêndice 2.1E). De acordo, com a legislação Brasileira, a quantidade mínima de AA é 50 mg de AA / 100g de amostra de mamão (BRASIL, 2018). Porém, a quantidade de vitamina C varia em relação ao estágio de maturação do fruto (SOUZA *et al.*, 2009).

Por fim, foi observada uma diminuição exponencial no ângulo de matiz (h^*) ao longo do tempo (t) (Apêndice 2.1F). A alta correlação entre os tratamentos sugere que a aplicação de fungicida não influenciou na variação deste parâmetro. No primeiro dia de análise o ângulo hue variou de 101 a 110 °. A partir do sétimo dia de armazenamento a 14 °C e 91% UR, todos os frutos do grupo controle e do grupo de estudo tiveram o ângulo de hue abaixo de 90 °, predominando a cor amarela (MCGUIRE, 1992). Essas alterações de cor devem-se as mudanças físicas e químicas que ocorrem no fruto durante o amadurecimento.

Além da evolução da cor dos frutos ao longo dos dias armazenados, foram identificadas incidências de doenças como podridão peduncular e antracnose a partir do sétimo dia nas amostras controle (isentas do fungicida) e do grupo estudo a partir do décimo terceiro dia (Figura 15). E desde o primeiro dia de análise foi observado uma doença fisiológica, conhecida como sarda ou mancha fisiológica (OLIVEIRA & VITORIA, 2011). As sardas no mamão são observadas quando o fruto tem mais de 40 dias de idade e se aproxima da época de colheita. A incidência e severidade dessa doença vem causando grandes perdas econômicas para o mercado externo, em torno de 50 % dos frutos destinados à exportação, no período de maio a outubro (MARTINS & COSTA, 2003).

Figura 15- Evolução da cor da casca ao longo dos 23 dias de armazenamento para o grupo controle (C) e os frutos do grupo de estudo (M1, M2 e M3).

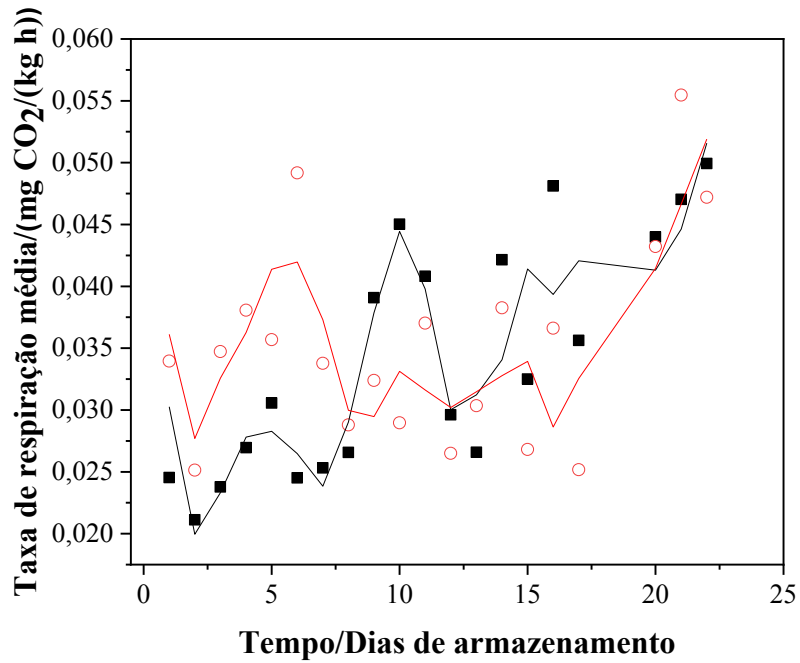


2.2.4 Produção de dióxido de carbono (CO₂)

De acordo com os resultados expressos na figura 16, não houve alteração significativa na emissão de CO₂ entre os grupos controle e de estudo durante os dias de armazenamento. O que se observa é um crescimento na taxa respiratória pelos frutos ao longo dos dias de armazenamento. O mesmo foi observado por OLIVEIRA, 2012, a respiração não apresentou similaridade na emissão de CO₂, apenas um aumento na taxa de emissão de CO₂ pelos frutos de mamão durante seu armazenamento.

Para melhor visualização do comportamento da variação da taxa de respiração média, os dados foram smoothing tratados usando o algoritmo Savitzky-Golay quadrático, com janela de 5 pontos. Observou-se um pico na taxa respiratória no 5° e no 10° dia para os grupos de estudo e grupo controle, respectivamente. Após o 13° dia, observou-se uma tendência de aumento da taxa de respiração para ambos os grupos (Figura 16). Embora o primeiro pico da taxa respiratória tenha sido diferente para os dois grupos, por ser o mamão um fruto climatérico que passa por etapas de amadurecimento, esse aumento é esperado (LI *et al.*, 2013, SOUZA *et al.*, 2014). Resultados similares foram obtidos por Gallon *et al.* (2022), ao avaliar a taxa de respiração em mamões com transtorno de amaciamento precoce e de mamão não suscetíveis a esse transtorno. Foi observado um aumento na taxa respiratória durante os dias de armazenamento, porém não houve diferença significativa entre o fruto com ou sem transtorno.

Figura 16- Taxa respiratória do mamão controle isento de imazalil (■) e do mamão contendo o princípio ativo imazalil (○) em relação aos dias de armazenamento em câmara de refrigeração.



2.3 Conclusão

Durante o armazenamento, cerca de 70% do imazalil dissipou-se ao longo dos dias de armazenamento. Embora a maior parte do composto tenha permanecido na casca, uma pequena quantidade migrou para a polpa e ficou acima do LMR estabelecido pelas agências reguladoras. Resíduos de imazalil foram detectados nas sementes, mas abaixo do LQ do método. Em relação aos parâmetros de qualidade, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos estudo e controle durante o armazenamento em câmara refrigerada, exceto para perda de massa.

2.4 Referências bibliográficas

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Disponível em: < https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons > Acesso em: 17 abril, 2023.

ALARA, O. R., ABDURAHMAN, N. H., & ALARA, J. A. Carica papaya: Comprehensive overview of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities. **Advances in Traditional Medicine**, 22, 17–47, 2020.

ALBASEER, S. S. Factors controlling the fate of pyrethroids residues during post-harvest processing of raw agricultural crops: an overview. **Food chemistry**, v. 295, p. 58-63, 2019.

ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Relatório de Atividades de 2013 a 2015. Diário oficial da União; Poder executivo, Brasília, DF, de 25 de novembro de 2016. 1–246, 2016.

BAJWA, U. & SANDHU, K. S. Effect of handling and processing on pesticide residues in food-a review. **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 2, p. 201-220, 2014.

BARRAGÁN-IGLESIAS, J., MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L., & RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 272–278, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 37, de 1º de outubro de 2018. Diário Oficial da União, publicado em: 08/10/2018, edição: 194, Seção: 1, p. 23. Brasília, 2018.

CHAN JR, H. T., TAM, S. Y., & SEO, S. T. Papaya polygalacturonase and its role in thermally injured ripening fruit. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 1, p. 190-197, 1981.

DANTAS, J. L. L. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, (Frutas do Brasil; 3), p. 9, 2000.

DANTAS, S. A. F., OLIVEIRA, S. M. A., MICHEREFF, S. J., NASCIMENTO, L. C., GURGEL, L. M. S., & PESSOA, W. R. L. S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 528-533, 2003.

DINALI, L. A. F., OLIVEIRA, H. L., TEIXEIRA, L. S., BORGES, W. S., BORGES, K. B. Mesoporous molecularly imprinted polymer core@ shell hybrid silica nanoparticles as adsorbent in microextraction by packed sorbent for multiresidue determination of pesticides in apple juice. **Food Chemistry**, v. 345, p. 128745, 2021.

FAO. Food Outlook- Biannual Report on global Food Markets. Global information and early warning system on food and agriculture, n. May, p. 1–155, 2019.

GALLON, C. Z., SHIGA, T., PURGATTO, E., & JACOMINO, A. P. Occurrence of early softening in papaya due to specific cell wall-related changes. **Scientia Horticulturae**, v. 297, p. 110915, 2022.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. & CORDENUNSI, B. Evolution of soluble sugars during ripening of papaya fruit and its relation to sweet taste. **Journal of food science**, v. 67, n. 1, p. 442-447, 2002.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, 4ª Edição, 1ª Edição Digital, p. 1020, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática- SIDRA. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado> >. Acesso em: 28 abril 2023.

HAN, J. L., FANG, P., XU, X. M., LI-ZHENG, X. J., SHEN, H. T., & REN, Y. P. Study of the pesticides distribution in peel, pulp and paper bag and the safety of pear bagging. **Food Control**, v. 54, p. 338-346, 2015.

KALHOR, M. M., RAFATI, A. A., RAFATI, L., & RAFATI, A. A. Synthesis, characterization and adsorption studies of amino functionalized silica nano hollow sphere as an efficient adsorbent for removal of imidacloprid pesticide. **Journal of Molecular Liquids**, v. 266, p. 453-459, 2018.

LEWIS, K. & TZILIVAKIS, J. Development of a data set of pesticide dissipation rates in/on various plant matrices for the Pesticide Properties Database (PPDB). **Data**, v. 2, n. 3, p. 28, 2017.

LI, C., CHI, K., YU, H., GUO, Y., YA, W., & QIAN, H. Degradation, migration, and removal of trichlorfon on harvested apples during storage at room temperature. **Food Chemistry**, v. 381, p. 132243, 2022.

LI, X., ZHU, X., ZHAO, N., FU, D., LI, J., CHEN, W., & CHEN, W. Effects of hot water treatment on anthracnose disease in papaya fruit and its possible mechanism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 437-446, 2013.

LUFU, R.; AMBAW, A. & OPARA, U. L. Water loss of fresh fruit: Influencing pre-harvest, harvest and postharvest factors. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109519, 2020.

MARTINS, D. S. & COSTA, A. F.S. A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória: Incaper, p. 497, 2003.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

OLIVEIRA, A. F. Buffering function: a general approach for buffer behavior. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, 6(3), 0387-0396, 2020.

OLIVEIRA, J. G. & VITÓRIA, A. P. Papaya: Nutritional and pharmacological characterization, and quality loss due to physiological disorders. An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1306-1313, 2011.

OLIVEIRA, M. G. Armazenamento de frutos de mamoeiro: investigação da participação da oxidase alternativa e da proteína desacopladora na respiração em mitocôndrias isoladas da polpa do fruto. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes - RJ, p. 122, 2012.

ROBINSON, J. E.; BROWNE, K. M.; BURTON, W. G. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. **Annals of Applied Biology**, v. 81, n. 3, p. 399-408, 1975.

SERRANO, L. A. L. & CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3 p. 657-959, 2010.

SOUZA, T., COELHO, E. F., PAZ, V. P. S., & LEDO, C. A. S. Avaliação física e química de frutos de mamoeiro 'Tainung n° 1', fertirrigado com diferentes combinações de fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 179-184, 2009.

SOUZA, A. F., SILVA, W. B., GONÇALVES, Y. S., SILVA, M. G., & OLIVEIRA, J. G. Fisiologia do amadurecimento de mamões de variedades comercializadas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 318-328, 2014.

TOKUHISA, D. C. F. D., DIAS, S., ALVARENGA, E. M., HILST, P. C., & DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 161-168, 2007.

ZACHARIA, James Tano. Identity, physical and chemical properties of pesticides. **Pesticides in the modern world-trends in pesticides analysis**, p. 1-18, 2011.

CAPÍTULO 3

PROCESSO DE OZONIZAÇÃO COMO TECNOLOGIA DE PÓS-COLHEITA PARA DEGRADAÇÃO/REMOÇÃO DE PESTICIDAS EM MAMÃO

RESUMO

Um dos grandes desafios da cultura do mamão (*Carica papaya L.*) é o controle de doenças e pragas pós-colheita. Atualmente, o controle desses é feito empregando pesticidas. Porém, o uso indiscriminado desses compostos, podem levar à contaminação do fruto e acarretar problemas de segurança dos alimentos. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do ozônio gasoso dissolvido em água como estratégia para remoção/degradação de resíduos de pesticidas e conservação do fruto do mamão. Primeiramente foi determinado um sistema para o processo de ozonização dos mamões. Posteriormente, foram realizados os experimentos em duas etapas. Na primeira etapa, foi determinado o tempo de imersão do mamão em água da rede de distribuição ozonizada (tratamento) e sem ozonização (controle). Avaliando-se degradação/remoção dos pesticidas nos frutos de mamão e na água. Na segunda etapa, foi avaliado o efeito da aplicação do ozônio na qualidade do mamão durante o armazenamento (20 °C e 71% UR). Todas as amostras de ambos os experimentos foram trituradas, homogeneizadas e submetidas aos procedimentos de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). Os resultados mostraram que a concentração do ozônio na água saturou em 30 min e o melhor sistema foi o contendo pedra porosa. Para avaliar a influência dos tempos (10, 35 e 60 min) de exposição dos mamões do grupo tratamento e controle na degradação de pesticidas foi feito o estudo cinético de degradação representado por um modelo de primeira ordem (1° ordem). Observou que para os frutos do grupo tratamento os tempos de $t_{1/2}$ foram menores em relação aos do grupo controle. E que a partir do tempo de 35min os valores das concentrações de pesticidas ficaram constante, portando foi escolhido o tempo de 35 min para o estudo degradação/remoção de pesticidas em mamão e qualidade. Além dos frutos do grupo tratamento terem apresentado uma maior taxa de remoção dos pesticidas e um menor tempo de $t_{1/2}$ não foi detectado resíduos de pesticidas na água ozonizada em que os frutos foram imersos. Já para água dos frutos do grupo controle foi detectado resíduos dos pesticidas imazalil e tebuconazol. Os mamões do controle no tempo de 35 min obtiveram uma remoção de 54,6 a 73,7% dos pesticidas estudados. Porém para os frutos

do grupo tratamento a remoção foi significativamente maior (62,7 a 81,0%). As alterações físico-químicas dos frutos de mamão do grupo tratamento foram avaliadas ao longo 6 dias de armazenamento. Não houve diferença significativa entre os frutos do tratamento em relação ao controle e a testemunha, exceto para a acidez titulável do tratamento.

3. INTRODUÇÃO

O mamão, *Carica papaya* L. é de grande relevância na agricultura mundial. Porém, a disponibilidade para o consumo humano acaba sendo limitada devido as perdas que ocorrem geralmente na pós-colheita. Essas perdas podem estar relacionadas a patógenos, que afetam a qualidade dos frutos e a comercialização, comprometendo a sustentabilidade dessa cultura (TAN & SIDDIQUI, 2022). O controle dos microrganismos é feito tradicionalmente com o uso de pesticidas. Porém, os produtos alimentícios tornam-se seguros para o consumo somente quando as doses e os intervalos de segurança de aplicação dos pesticidas são respeitados. Caso estes parâmetros não sejam respeitados, é provável que os alimentos tenham níveis de resíduos elevados, podendo ocasionar danos à saúde do consumidor (GOMES *et al.*, 2020).

Visando sanar esta preocupação em relação à segurança dos alimentos, algumas técnicas tem sido eficazes para remoção de resíduos de pesticidas em frutas e vegetais, como lavagem com diversos agentes químicos (RODRIGUES *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2019), descascamento e produção de sucos, congelamento, processos de alta temperatura (pasteurização/esterilização e cozimento) (YIGIT & VELIOGLU, 2019; SŁOWIK-BOROWIEC & SZPYRKA, 2020) e outros. Porém, algumas dessas técnicas possuem desvantagens. No caso da lavagem usando cloro e detergente, por serem desinfetantes químicos, têm o uso controlado em indústrias de alimentos, devido aos possíveis riscos que podem gerar à saúde. No caso de técnicas como branqueamento e esterilização, tratamentos térmicos, podem afetar a qualidade do alimento, como firmeza, cor e até mesmo o sabor (MIR *et al.*, 2022).

No entanto, alternativas emergentes vêm sendo estudadas e aplicadas para remoção/degradação de resíduos de pesticidas, como plasma frio, campo elétrico pulsado, irradiação, pressão hidrostática, ozônio (MIR *et al.*, 2022) e ultrasonicação (ZHOU *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2021). Dentre estes, o tratamento com ozônio tem se destacado devido à sua eficiência como agente desinfetante e ação antimicrobiana, melhorando a segurança e qualidade dos alimentos (PANDISELVAM *et al.*, 2020).

O ozônio foi reconhecido como seguro pela Food and Drug Administration dos EUA em 2001 (FDA, 2001). Desde então, vários estudos vêm comprovando a sua eficácia para remoção/degradação de pesticidas em matrizes como uva (HELENO *et al.*, 2015), batata (HELENO *et al.*, 2016), arroz (ÁVILA *et al.*, 2017), cenoura (SOUZA *et al.*, 2018), tomate (RODRIGUES *et al.*, 2019) e *Citrus japonica* (Kumquat), espinafre e pepino (WU *et al.*, 2019). Para a inativação de microrganismos (TERAO *et al.*, 2019) e na degradação de micotoxinas (MOHAMMADI *et al.*, 2017). Além dessas aplicações, o ozônio é utilizado em tratamentos

pós-colheita em frutas e vegetais, visando estender a vida de prateleira e de armazenamento e garantir a qualidade do alimento (ÖZEN *et al.*, 2021).

Poderoso oxidante, o ozônio atua na decomposição de matéria orgânica/poluentes (BHILWADIKAR *et al.*, 2019), apresentando inúmeras vantagens como alta penetrabilidade, alta reatividade e por se decompor em oxigênio não apresenta riscos de toxicidade no produto tratado (KIM, YOUSEF& DAVE, 1999). O ozônio pode ser aplicado na forma gasosa ou dissolvida em água (COELHO *et al.*, 2015). É instável na água, sendo capaz de oxidar compostos orgânicos e inorgânicos por meio de um ataque direto ou indireto. O tipo de reação entre o ozônio e os compostos orgânicos vai depender da concentração de ozônio e de radicais hidroxilas. A reação direta predomina em meio ácido, via ozônio molecular. Já em meio alcalino, uma quantidade maior de radicais hidroxila é formado predominando a reação indireta, e em meio neutro pode ocorrer tanto a reação direta quanto a reação indireta (HELENO *et al.*, 2016).

Contudo, o alto poder de oxidação do ozônio pode causar alterações na qualidade dos alimentos durante o armazenamento pós-colheita e no processamento de alimentos. Essas alterações dependem da composição química dos alimentos, da dose de ozônio e das condições de tratamento (KIM, YOUSEF& DAVE, 1999). Por isso, para garantir a eficiência na remoção/degradação de contaminantes e na qualidade dos alimentos, alguns parâmetros como concentração de O₃, tempo de exposição, constituintes dos alimentos, teor de umidade, modo de aplicação, devem ser avaliados para cada fruto (RODRIGUES *et al.*, 2019). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do ozônio gasoso dissolvido em água como tecnologia na pós-colheita para remoção/degradação de resíduos de pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol e conservação do fruto do mamão.

3.1 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1 Princípios ativos e soluções padrão

Os padrões azoxistrobina (99,3% m/m), bifentrina (99,1% m/m), imazalil (99,7% m/m) e tebuconazol (99,3% m/m) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Foram preparadas soluções estoque em acetonitrila, 99,9% grau HPLC (Sigma-Aldrich), de concentração de aproximadamente 1000,0 mg L⁻¹ para cada padrão a partir de padrões dos princípios ativos. As demais soluções de trabalho foram preparadas a partir de diluições das soluções estoques.

Para a imersão dos mamões, foi preparada uma calda contendo os produtos comerciais Amistar® WG (500 g kg⁻¹ azoxistrobina, Syngenta - São Paulo, Brasil), Talstar® EC (100 g L⁻¹ bifentrina, FMC - Campinas, Brasil), Magnate® EC (500 g L⁻¹ imazalil, ADAMA - Londrina, Brasil) e Folicur® EC (200 g L⁻¹ tebuconazol, Bayer - São Paulo, Brasil) na dose recomendada pelos fabricantes. A dose recomendada para os produtos: Amistar® WG, para Talstar® EC e Magnate® EC foi respectivamente 16 g, 40 mL e 200 mL de produto comercial (PC) por 100 L de água. E para Folicur® foi 1L de PC por 1 ha (foi considerado 300 L de água para 1ha).

3.1.2 Amostras

Frutos da variedade mamão papaia foram adquiridos do mesmo lote de um supermercado localizado em Viçosa (Minas Gerais, Brasil). Estes foram transportados em caixas plásticas forradas com plástico bolha até ao Laboratório de Pós-colheita da Universidade Federal de Viçosa. No laboratório os frutos foram separados em branco imersos em água da rede de distribuição (sem calda de pesticidas) e os demais frutos foram imersos em uma calda contendo os pesticidas (azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol).

Para os frutos do grupo imerso em calda, foram preparados 10 L de uma calda contendo 80 mg L⁻¹ do princípio ativo (PA) azoxistribina (1,6 g do Amistar® WG), 40 mg L⁻¹ do PA bifentrina (4 mL do Talstar® EC), 1000 mg L⁻¹ do PA imazalil (20 mL do Magnate® EC) e 666,7 mg L⁻¹ do PA tebuconazol (33,3 mL do Folicur®), em triplicata. O tempo de imersão dos frutos na calda preparada foi de 2 min. Os frutos contaminados foram colocados dentro de uma capela, forrada com papel toalha, por 12 h para secagem e aderência dos princípios ativos.

3.1.3 Extração e análise dos resíduos de pesticidas

O método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) foi utilizado para extrair os resíduos de azoxistrobina, bifentrina, imzalil e tebuconazol das

amostras de mamão. Para preparação das amostras, foi retirado com auxílio de lâmina apropriada para descascar frutos a casca do mamão, essa foi triturada e homogeneizada em Ultra-turrax (IKA®, T18 D S32, Staufen, Alemanha). Após esse processo, adicionaram-se 4 g de casca, medida em balança analítica (Shimadzu, São Paulo, Brasil) com precisão de 1×10^{-4} g, em frascos de vidro transparentes com capacidade de 22 mL. Posteriormente foi adicionado 4,00 mL de acetonitrila. As misturas foram agitadas por 1 min em vórtex (Kasvi, K40-10208, Paraná, Brasil), centrifugadas (Quimis, Q222TM2, São Paulo, Brasil) a 2000 rpm (560 g) por 3 min e armazenadas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 6 h. Após este período foram formadas duas fases, uma fase sólida congelada (fase aquosa e matriz) e uma fase líquida, contendo o solvente orgânico (acetonitrila) com os analitos de interesse (pesticidas). Um volume de 1,0 mL do sobrenadante foi transferido para um vial e o extrato analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).

3.1.4 Condições cromatográficas

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás equipado com um detector espectrométrico de massas (MS) tipo quadrupolo (GCMS-QP2020) e um sistema de injeção (AOC-20i.) da Shimadzu (Kyoto, Japão). A separação cromatográfica dos analitos foi realizada em uma coluna capilar (SH-Rtx-5MS) cuja fase estacionária é composta de 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura do filme. O hélio (grau de pureza 99,999%, White Martins, Brasil) foi utilizado como gás de arraste, a uma vazão de $1,20\text{ mL min}^{-1}$. A programação de temperatura da coluna consistia em manter a temperatura inicial a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min, aquecer a uma taxa de $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $210\text{ }^{\circ}\text{C}$, manter esta temperatura por 1 min, aquecer novamente a uma taxa de $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, manter esta temperatura por 2 min, aquecer a uma taxa de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $290\text{ }^{\circ}\text{C}$, e manter esta temperatura por 5 min. O tempo total de análise foi de 14,33 min. A temperatura do injetor foi mantida a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Um volume de $1\text{ }\mu\text{L}$ de amostra foi injetado no cromatógrafo, usando o modo de injeção splitless. O espectrômetro de massas (MS) foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV. Um tempo de corte de 5,0 min foi estabelecido para evitar danos ao instrumento. As temperaturas da interface do detector e da fonte de ionização foram $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

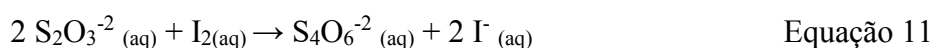
A quantificação dos analitos foi realizada no modo “monitoramento do íon selecionado” (*Select Ion Monitoring-SIM*), em que os pesticidas azoxistrobina, bifentrina imazalil e tebuconazol eram quantificados no tempo de retenção (t_R) determinado e com base em três íons

selecionados, sendo um íon alvo e dois de referência. Esses íons foram previamente determinados pela injeção de padrões no modo Scan ou TIC (total ion chromatogram - cromatograma de íons totais), com varredura de 35 a 500 m/z e identificados com auxílio da biblioteca (NIST 2014).

3.1.5 Obtenção e quantificação do gás ozônio

O gás ozônio (O_3) foi obtido através de um gerador modelo M10 (myOZONE, Jaguariúna, São Paulo, Brasil). Para a geração de ozônio utilizou-se o gás oxigênio (O_2) obtido por meio de um concentrador de oxigênio EverFlo (Philips Respiration, Murrysville, Pensilvânia, EUA). O gerador de ozônio usou um fluxo constante de oxigênio de 1 L min^{-1} , que foi quantificado por um medidor de fluxo modelo MF5700 (Siargo Ltd, Chengdu, Sichuan, China).

A concentração do gás ozônio foi determinada pelo método iodométrico, conforme descrito a seguir (RAKNESS *et al.*, 1996). O ozônio gerado é borbulhado por 30 s em uma proveta de 50 mL contendo uma solução acidificada de iodeto de potássio (KI) 2 %, ocorrendo a oxidação do íon iodeto a iodo (Equação 10). A quantidade de iodo formada é titulada com solução padronizada de tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (Equação 11), usando como indicador uma suspensão de amido 1%, até desaparecimento da coloração azul.

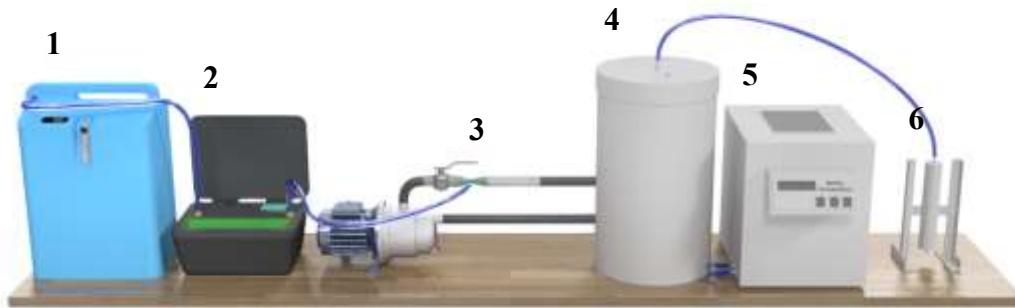


3.1.6 Caracterização do sistema de ozonização em água

Um primeiro estudo foi realizado com a finalidade de avaliar um protótipo que permitiria obter uma melhor eficiência do processo de ozonização dos mamões imersos em água da rede de distribuição. Dois sistemas, um utilizando tubo de Venturi ligado a uma bomba peristáltica (Figura 17) e o outro empregando pedra porosa (Figura 18) foram avaliados. Em ambos, a aplicação do ozônio foi realizada em protótipo de PVC (34 de diâmetro por 58 cm de altura), com uma tampa, também de PVC, composta de duas aberturas para entrada e saída do gás. O sistema esquematizado na Figura 17 é composto por um tubo de Venturi ligado a uma bomba peristáltica (3), acoplado em protótipo de PVC (4). Dentro do protótipo, foi adicionado uma serpentina conectada por uma mangueira em um banho termostático (5) (SPLabor, SP-

152, São Paulo, Brasil) para manter a temperatura constante. A entrada do ozônio foi realizada em uma conexão contida no tubo de Venturi. À medida que o gás percorria o tubo este era homogeneizado e dissolvido na água dentro do protótipo. A saída do gás residual era desviada para um filtro catalisador (6) (Ozônio & Vida, São José dos Campos, SP) para degradá-lo em oxigênio.

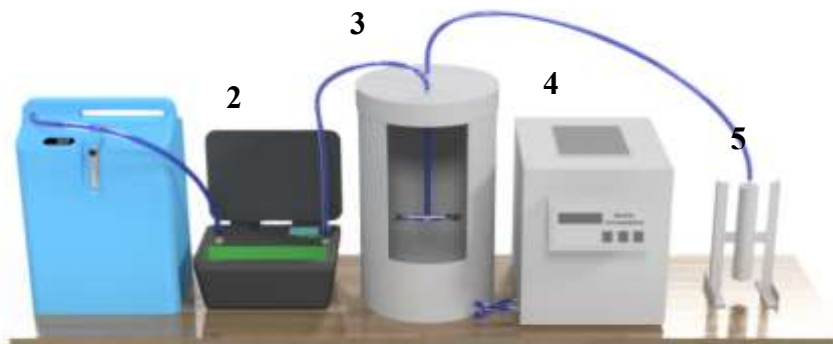
Figura 17- Esquema do procedimento experimental do tratamento dos mamões utilizando água ozonizada continuamente borbulhada. Na sequência, concentrador de oxigênio (1), gerador de ozônio (2), tubo de Venturi ligado a uma bomba peristáltica (3) conectado ao protótipo de PVC (4), banho termostático (5) e catalisador de ozônio (6).



Fonte: Freitas (2023).

Já no sistema, esquematizado na Figura 18, o gás ozônio era borbulhado na água utilizando uma mangueira contendo uma conexão formato T em que eram conectadas uma pedra porosa em cada extremidade (3). A medida em que o gás ozônio percorria a mangueira, o gás era expelido em macro bolhas, fazendo com que a água contida no recipiente fosse continuamente borbulhada com o ozônio gasoso uniformemente. Para manter a temperatura constante do sistema, foi adicionado ao protótipo uma serpentina acoplada em um banho termostático (4). A saída do gás residual também foi desviada para um filtro catalisador (5).

Figura 18- Esquema do procedimento experimental do tratamento dos mamões utilizando água ozonizada continuamente borbulhada. Na sequência, concentrador de oxigênio (1), gerador de ozônio (2), protótipo de PVC (conectado duas pedras porosas) (3), banho termostático (4) e catalisador de ozônio (5).



Fonte: Freitas (2023).

A avaliação da eficiência de ambos os sistemas foi determinada quantificando a concentração de ozônio na água pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Zampier, 2021, que emprega verde malaquita e hipoclorito (ZAMPIER *et al.*, 2021). Esse método foi adaptado do método indigotrisulfonato (APHA, 2015).

Uma curva analítica foi preparada, em balão volumétrico de 25,0 mL, adicionando 10,0 mL de solução de verde de malaquita $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, 5,0 mL de solução padrão de hipoclorito em diferentes concentrações (entre 0,250 e 3,0 mg de Cl L^{-1}). O volume do balão foi completado com água tipo 1. A absorbância foi medida a 618 nm. Para quantificação do ozônio na água, foram adicionados aos béqueres 5,0 mL da solução tampão acetato, 10,0 mL da solução verde de malaquita $22,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 5,0 mL de amostra de água ozonizada. As leituras foram realizadas a cada 5 min, em um espectrômetro na região do visível (Femto, Cirrus 80ST), durante 90 min. Simultaneamente, foi realizada também a quantificação do ozônio na água usando o Kit medidor de ozônio (CHEMetrics, I-2019 SAM Ozone, EUA).

3.1.7 Avaliação do processo de ozonização dos frutos de mamão

Os experimentos foram realizados em duas etapas. Na etapa 1, foi determinado o tempo de exposição do mamão imerso em água da rede de distribuição e do mamão imerso em água da rede de distribuição ozonizada necessário para se obter maior degradação/remoção de

resíduos de pesticida na casca do mamão. Na etapa 2 foi avaliado, através dos parâmetros físico-químicos, o efeito da aplicação do ozônio na qualidade do mamão.

3.1.7.1 Etapa 1- Determinação do tempo de exposição do mamão imerso em água da rede de distribuição ozonizada e sem a ozonização

Para este estudo foram adquiridos vinte e quatro mamões, sendo três isentos de pesticidas (branco) e os vinte e um mamões imersos em caldas contendo os princípios ativos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. Dos frutos contaminados três foram separados como testemunha (sem imersão em água da rede de distribuição), nove como controle (imerso em água da rede de distribuição) e nove como tratamento (imerso em água da rede de distribuição ozonizada).

Os mamões do grupo tratamento foram imersos no protótipo circular de PVC, 34 de diâmetro por 58 cm de altura, contendo 15 L de água mantida a 14 °C, conforme a Figura 18. Inicialmente, a água foi borbulhada continuamente com gás de ozônio com uma dose de 9,1 mg kg⁻¹ min⁻¹ durante 30 min. Após esse período, três mamões foram imersos na água ozonizada continuamente borbulhada com o ozônio gasoso por um período de 10, 35 e 60 min, totalizando um tempo de 40, 65 e 90 min, respectivamente por experimento. Após a imersão dos frutos, o recipiente foi novamente fechado com tampa para impedir vazamento do gás. Ao final dos tempos totais foi feita a medição da concentração de ozônio na água pelo Kit medidor de ozônio e obteve uma concentração de 2,43 mg L⁻¹. O mesmo protótipo e tempos de exposição foram utilizados para os frutos do grupo controle, onde foram imersos. Além dos frutos foram avaliados a água sem ozonização e a água ozonizada em que os mamões foram imersos, a fim de avaliar possíveis resíduos de pesticidas na água. As amostragens foram realizadas antes da imersão dos frutos (30 min) e no final dos tempos avaliados (40, 65 e 90 min).

Ao final dos tratamentos, os frutos foram acondicionados em bandejas para secagem e posteriormente submetidos ao processo de extração SLE/LTP para quantificação dos resíduos. Os resíduos também foram quantificados na água após extração (ELL/LTP) (GOULART *et al.*, 2010). Os extratos foram analisados por GC-MS. As análises foram realizadas em triplicata e a porcentagem de remoção dos pesticidas na casca do mamão e na água avaliadas.

3.1.7.2 Etapa 2- Qualidade dos frutos tratados durante o armazenamento

Para a avaliação da qualidade dos frutos, foram adquiridos quarenta e oito mamões papaia. Sendo 12 frutos não imersos em calda de pesticidas (branco) e os demais imersos em

calda contendo os princípios ativos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. Estes frutos foram separados em três grupos de 12 mamões cada, e denominados grupos testemunha (sem imersão em água da rede de distribuição), nove como controle (imerso em água da rede de distribuição) e nove como tratamento (imerso em água da rede de distribuição ozonizada).

Os frutos submetidos ao tratamento e os do grupo controle foram imersos em um protótipo circular de PVC, 34 cm de diâmetro por 58 cm de altura, contendo 30 L de água mantida a 14 °C. A água foi borbulhada continuamente com gás ozônio a uma dose de 9,9 mg kg⁻¹ min⁻¹ e fechado com tampa para impedir vazamento do gás. Após 30 min foram imersos seis mamões por vez por 35 min.

Os frutos dos grupos sem e com imersão em calda foram avaliados periodicamente (0°, 2°, 4° e 6° dia) quanto às características físico-químicas durante o armazenamento em câmara de refrigeração (20 °C e 71% UR), a fim de verificar se os frutos tratados teriam sua qualidade afetada. Os parâmetros de qualidade determinados foram perda de massa, cor, firmeza, sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (AT), pH, ácido ascórbico (vitamina C). As características físico-químicas de qualidade dos mamões foram determinadas de acordo com os métodos recomendados pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005).

A perda de massa foi determinada pela diferença da massa inicial do fruto (M_0) e aquela obtida periodicamente nos intervalos de tempos armazenados (M_t), as pesagens foram realizadas em uma balança eletrônica (GEHAKA, BK8000, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos em percentagem de perda de massa (%PM), Equação 12.

$$\% PM = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

A avaliação da cor da casca foi realizada em dois pontos da parte central do mamão, com o auxílio de um colorímetro (Konica Minolta Sensing, CR-10, Japão) de acordo com CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). Obtendo a leitura direta da reflectância das coordenadas "L*" (luminosidade, eixo branco a preto), "a*" (eixo vermelho a verde) e "b*" (eixo amarelo a azul) (MCGUIRE, 1992; CIE, 2004). A partir dos valores de L*, a* e b* foram determinados o ângulo hue (°h, Equação 13), a saturação de cor (croma, Equação 14) e a diferença total de cor (ΔE , Equação 15).

$$^{\circ}h = \arctang \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{Equação 13}$$

$$chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Equação 14}$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* + L_0^*)^2 + (a^* + a_0^*)^2 + (b^* + b_0^*)^2} \quad \text{Equação 15}$$

Em que L_0^* , a_0^* e b_0^* são as coordenadas obtidas antes da exposição dos mamões aos tratamentos.

Para a determinação da firmeza foi aplicado uma força através da ponteira de um penetrômetro digital (Instrutherm, PTR-300, São Paulo) em três pontos do fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N).

Para determinar o teor de sólidos solúveis foram adicionados ao refratômetro digital (Atago[®], Pal-3, Japão) gotas de amostras de polpa triturada e homogeneizada. Essas leituras (°Brix) foram realizadas nos dias de amostragem, em triplicata, nas amostras durante o período de armazenamento dos frutos.

A acidez titulável foi determinada empregando análise volumétrica e medindo-se o pH. Em um Erlenmeyer foram adicionadas dez gramas (10,0 g) do suco da polpa e 100 mL de água destilada. A mistura foi agitada e titulada com uma solução de NaOH 0,05 mol L⁻¹, previamente padronizada, até o ponto de viragem do indicador fenolftaleína. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g da polpa, Equação 16 (IAL, 2008).

$$g \text{ de ácido cítrico por cento (m/m)} = \frac{V \times F \times M \times MM}{10 \times P \times n} \quad \text{Equação 16}$$

Onde V é o volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL, F o fator de correção da solução de hidróxido de sódio, M é a molaridade da solução de hidróxido de sódio, MM a massa molecular do ácido cítrico em g, P a massa da amostra em g e n o número de hidrogênios ionizáveis.

A vitamina C foi determinada pela oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio. Foram pesados dez gramas (10,0 g) de amostra da polpa e homogeneizado em 50,0 mL de água destilada. Adicionou-se 10,0 mL de solução de ácido sulfúrico a 20 % (v/v), 1,0 mL de solução

de iodeto de potássio a 10% (m/v) e 1,0 mL da solução de amido a 1% (m/v). Titulou-se com solução de iodato de potássio 0,02 mol L⁻¹, até o aparecimento da coloração azulada. Os resultados foram expressos em miligramas de vitamina C por 100 g de amostra, Equação 17 (IAL, 2008).

$$\text{Vitamina C mg por cento (m/m)} = \frac{100 \times V \times F}{m} \quad \text{Equação 17}$$

Onde V é o volume de iodato gasto na titulação, F fator estequiométrico de 8,806 e m é a massa de amostra (g).

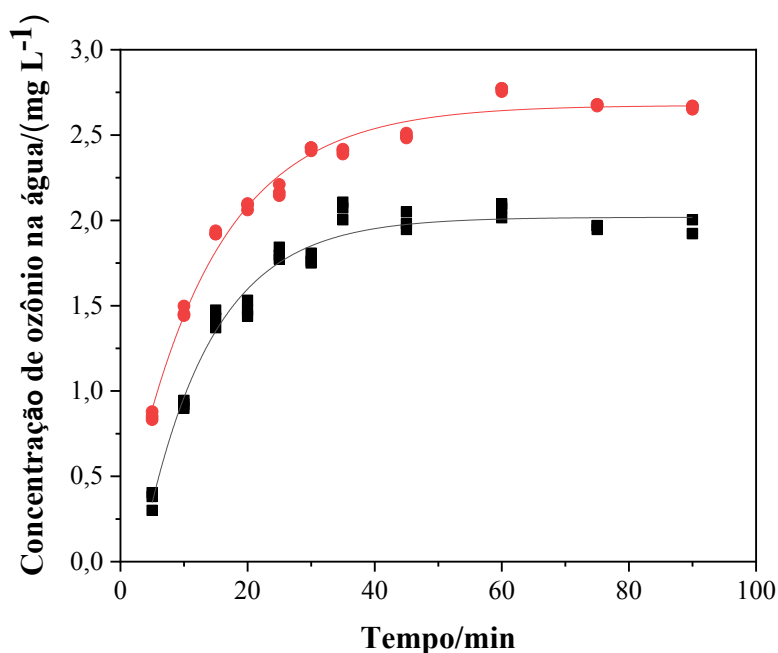
3.2 Resultados e discussões

3.2.1 Avaliação do sistema de ozonização em água

A quantificação do teor de ozônio dissolvido na água foi realizada através do método indigotrisulfonato adaptado (APHA, 2015; ZAMPIER *et al.*, 2021).

A partir desse resultado foi determinado qual sistema obteve maior concentração de ozônio dissolvido na água e a partir de qual tempo em minutos o ozônio saturou (Figura 19).

Figura 19- Curva de saturação da concentração de ozônio dissolvido na água (mg L^{-1}) em função do tempo (min) nos sistemas contendo o tubo de Venturi conectado a bomba peristáltica (■) e a pedra porosa (●).



Observou-se que para ambos os sistemas o ozônio dissolvido na água saturou em 30 min, porém a concentração de ozônio na água da rede de distribuição (mg L^{-1}) no sistema contendo pedra porosa foi superior ao sistema contendo o tubo de Venturi conectado a bomba peristáltica. Essa diferença está relacionada com a temperatura da água. Por mais que a temperatura dos sistemas fossem controladas por um banho termostático, observou-se que no sistema conectado à uma bomba, a temperatura oscilava entre 14 °C e 18 °C, enquanto no sistema contendo pedra porosa, está se mantinha constante (14 °C). Souza *et al.* (2018), também observaram que a concentração de ozônio dissolvido na água diminuía com o aumento da temperatura. Fato este justificável, pois quanto maior a temperatura, mais rápida a

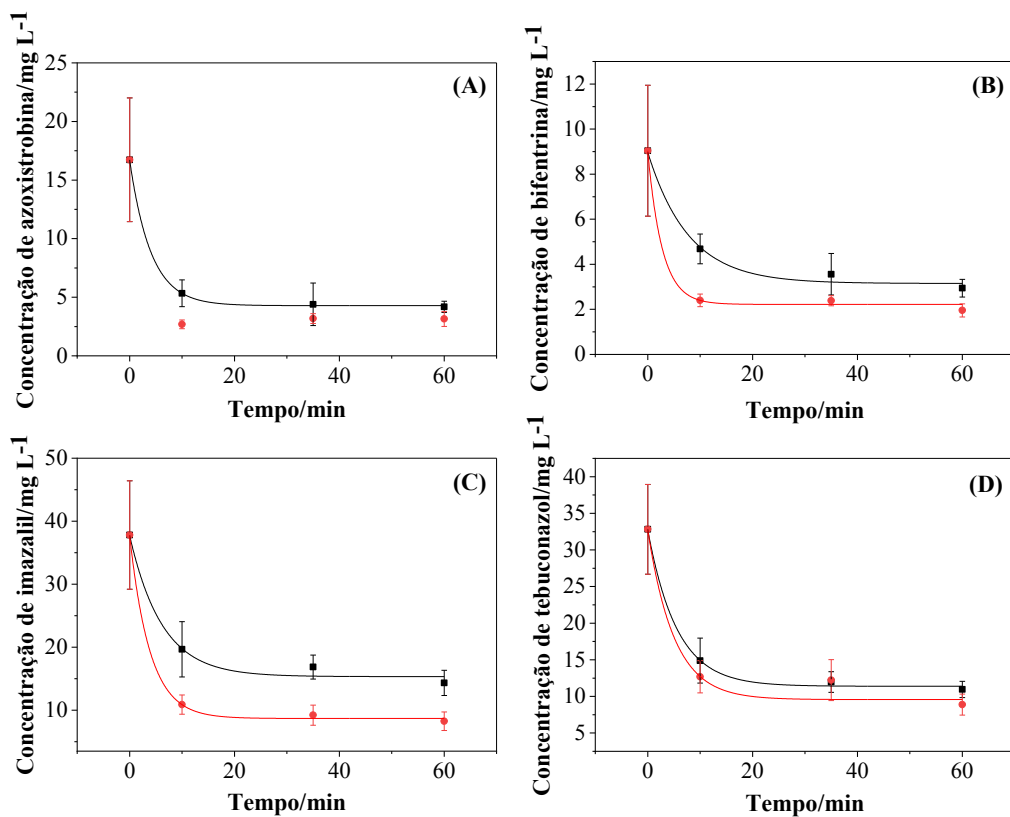
decomposição do ozônio (GALDEANO *et al.*, 2017). Por esse motivo, foi definido a utilização do sistema contendo a pedra porosa para o processo de ozonização em água para avaliar a remoção/degradação de resíduos de pesticidas em mamão.

3.2.2 Avaliação do processo de ozonização dos frutos de mamão

3.2.2.1 Determinação do tempo de exposição do mamão imerso em água da rede de distribuição ozonizada e sem a ozonização

A determinação da concentração de pesticidas imazalil, tebuconazol, bifentrina e azoxistrobina nas amostras de mamão dos grupos testemunha, controle e tratamento foram realizadas empregando o método SLE/LTP-GC-MS previamente otimizado. As curvas representando o decaimento da concentração dos pesticidas em função do tempo (min) para os diferentes tratamentos das amostras são mostradas na figura 20.

Figura 20- Decaimento da concentração de pesticida azoxistrobina (A), bifentrina (B), imazalil (C) e tebuconazol (D) na casca do mamão do grupo controle (■) e do grupo tratamento (●) em função do tempo (min) de exposição dos frutos.



Para avaliar a influência do tempo de exposição dos mamões imersos em água da rede de distribuição ozonizada (tratamento) e sem a ozonização (controle) na degradação de pesticidas foi feito o estudo cinético de degradação, o qual foi ajustado e representado por um modelo de primeira ordem (1° ordem). Em todas as condições adotadas, os níveis de pesticidas apresentaram declínio exponencial em função do tempo. A partir do modelo cinético que melhor se ajustou aos dados foi determinado os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) das concentrações de pesticidas no mamão dos grupos tratamento e controle. O modelo cinético de 1ª ordem (Equação 18) e a equação integrada e linearizada (Equação 19) foram utilizados para determinar a taxa de degradação dos pesticidas e o tempo de $t_{1/2}$ em min (Equação 20).

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad \text{Equação 18}$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt \quad \text{Equação 19}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad \text{Equação 20}$$

Fonte: Wright (2004).

Em que C corresponde à concentração de cada pesticida após um tempo t (min) de exposição do mamão imerso, k correspondente a constante cinética de taxa de degradação de 1ª ordem (min^{-1}) e C_0 a concentração inicial de cada pesticida no mamão testemunha (mg L^{-1}).

O modelo cinético de 1ª ordem, os valores do coeficiente de determinação (R^2), os valores de k e os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) para cada pesticida são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6- Modelo de cinética de primeira ordem para degradação dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em função do tempo (t) nos mamões dos grupos tratamento e controle.

Pesticida		Modelo ajustado	R ²	k (min)	t _{1/2} (min) ± Erro padrão
Azoxistrobina	Controle	$y = 12,45e^{-0,247t} + 4,28$	0,998	0,247 ± 0,020	2,809 ± 0,229
	Tratamento	-	-	-	<2,809 ± 0,229
Bifentrina	Controle	$y = 5,83e^{-0,129t} + 3,15$	0,968	0,129 ± 0,043	5,388 ± 1,812
	Tratamento	$y = 6,82e^{-0,363t} + 2,22$	0,805	0,363 ± 0,221	1,909 ± 1,164
Imazalil	Controle	$y = 22,42e^{-0,162t} + 15,33$	0,966	0,162 ± 0,058	4,285 ± 1,524
	Tratamento	$y = 29,13e^{-0,258t} + 8,69$	0,984	0,258 ± 0,039	2,685 ± 0,409
Tebuconazol	Controle	$y = 21,41e^{-0,180t} + 11,38$	0,992	0,180 ± 0,029	3,849 ± 0,626
	Tratamento	$y = 23,22e^{-0,199t} + 9,56$	0,929	0,199 ± 0,087	3,474 ± 1,523

O t_{1/2} é calculado empregando a equação 20. Os tempos de t_{1/2} dos pesticidas (Figura 20 (B), (C) e (D)) variaram de 2,809 a 5,388 para os frutos do grupo controle e de 1,909 a 3,474 para os frutos do grupo tratamento. Já para o pesticida azoxistrobina (Figura 20 (A)), os dados obtidos não permitiram um ajuste adequado do modelo, embora possa-se dizer que o valor de t_{1/2} foi inferior ao do grupo controle. Valores de tempos de t_{1/2} menores para os frutos do grupo tratamento em relação ao controle, indicaram que o tempo gasto para reduzir a quantidade de pesticida à metade do valor inicial é menor quando os frutos são tratados com ozônio. Nota-se também, para os frutos dos grupos controle e tratamento, que os valores das concentrações de todos os pesticidas a partir do tempo de 35 min permaneceram constantes, sendo, portanto, este tempo de 35 min, escolhido para o estudo de degradação/remoção de pesticidas em mamão.

Os resultados obtidos para os experimentos realizados em mamão do grupo controle no tempo de 35 min mostraram uma redução de 73,7%, 60,3%, 55,4% e 54,6% para azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol (Figura 20), respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Li *et al.* (2021) em maçãs, sendo observada uma remoção de 77,4% de triclorfon e 87,5% de carbosulfan. e Liu *et al.* (2023) também obtiveram resultados semelhantes com uvas tratadas com água de torneira, obtendo taxas de remoção de pesticidas entre de 9 e 69%. Mas para ambos os estudos, incluindo o presente trabalho, os resultados comprovaram que a lavagem com água ozonizada remove significativamente quantidades maiores de resíduos do que a lavagem com água sem ozonização. Além da água ozonizada ter apresentado uma maior taxa de remoção dos pesticidas para azoxistrobina (81,0 %), bifentrina (73,6 %), imazalil (75,6 %) e tebuconazol (62,7 %) e um menor tempo de t_{1/2} não foram detectados resíduos dos pesticidas na água ozonizada em que os frutos foram imersos. Por outro lado, foram detectados resíduos dos pesticidas imazalil e tebuconazol na água sem ozonização (controle) (Tabela 7).

Este fato pode ser justificado pela forte capacidade do ozônio em oxidar compostos orgânicos e inorgânicos (HELENO *et al.*, 2016).

Tabela 7- Concentração de pesticida imazalil e tebuconazol na água sem ozonização (controle) e na água com ozônio (tratamento) em cada tempo de imersão dos frutos em minutos.

Concentração de pesticida na água / mg L ⁻¹			
Pesticida	Tempo / min	Controle	Tratamento
Imazalil	10	0,104	n.d.
	35	0,167	n.d.
	60	0,126	n.d.
Tebuconazol	10	0,135	n.d.
	35	0,202	n.d.
	60	0,155	n.d.

n.d.= não detectado.

Observa-se na Tabela 7 que para os tempos de 10, 35 e 60 min foram detectadas resíduos de imazalil e tebuconazol na água em que os frutos do grupo controle foram imersos, os demais pesticidas estudados não foram detectados. A solubilidade em água do imazalil (184 mg L⁻¹) e do tebuconazol (36 mg L⁻¹) é maior do que a da azoxistrobina (6,7 mg L⁻¹) e da bifentrina (0,001 mg L⁻¹) (IUPAC, 2023). Esta maior solubilidade dos pesticidas imazalil e tebuconazol possibilitou a transferência desses do fruto para a água, justificando a detecção de resíduos desses pesticidas na água sem ozonização. Já para água em que os frutos do grupo tratamento foram imersas não foram detectados resíduos de pesticidas. Portanto, a imersão dos frutos em água da rede de distribuição ozonizada garante uma maior remoção dos resíduos de pesticidas sem transferência desses para água.

3.2.2.2 Avaliação da qualidade dos mamões

Os frutos foram avaliados periodicamente, nos dias 0, 2, 4 e 6 de armazenamento em câmara de refrigeração (20 °C e 71% UR), a fim de verificar se os frutos tratados com água da rede de distribuição ozonizada (tratamento) diferiram significativamente dos tratados com água da rede de distribuição sem ozonização (controle) e sem imersão em água da rede de distribuição (testemunha) durante o armazenamento.

Os valores obtidos dos parâmetros luminosidade/L* (A), variação de cor/ ΔE (B), intensidade de cor/croma (C), ângulo hue/° (D), firmeza/N (E), sólidos solúveis/°Brix (F), pH (G), vitamina C/ (g de ácido ascórbico/100g de polpa) (H) ao longo do tempo para controle, tratamento e testemunha são apresentados no Apêndice 3.1. Devido à grande variabilidade dos

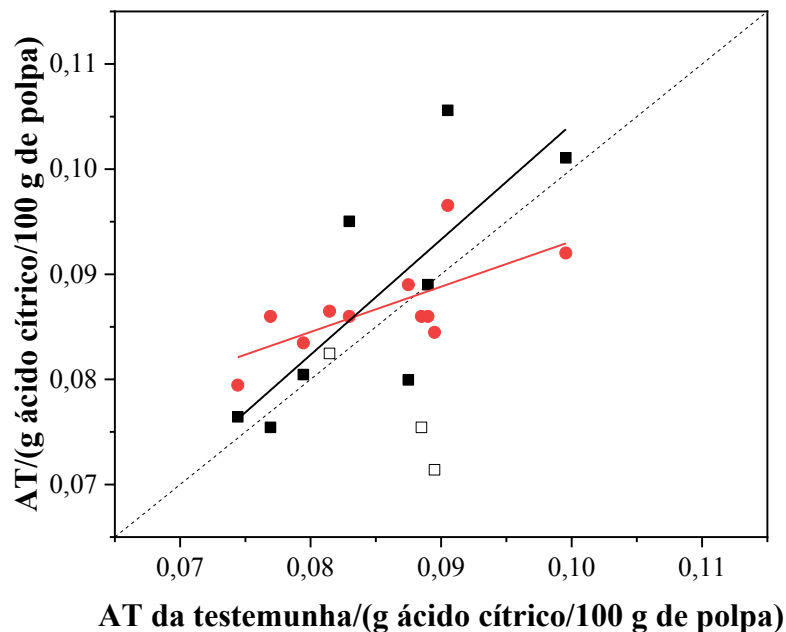
dados, representada pelas barras de estimativa do desvio-padrão, não foi possível observar uma diferença entre os frutos tratamento em relação aos frutos controle e testemunha ao longo dos dias de armazenamento.

No entanto, o mesmo não ocorreu quando se tratou da acidez titulável (AT) (Figura 21). Uma vez que com o tempo há uma variação natural da AT, o comportamento dos frutos após o tratamento foi avaliado fazendo-se há uma correlação entre esse tratamento com o controle. A significância da correlação foi avaliada com um teste t-Student (Equação 21).

$$t_{calc} = r \sqrt{\frac{N-2}{1-r^2}} \quad \text{Equação 21}$$

$$t_{crítico}(\alpha/2, N - 2)$$

Figura 21- Acidez titulável (AT) em g ácido cítrico/100g de polpa de mamão do controle (■) e do tratamento (●) em função da acidez titulável (AT) da testemunha durante armazenamento.

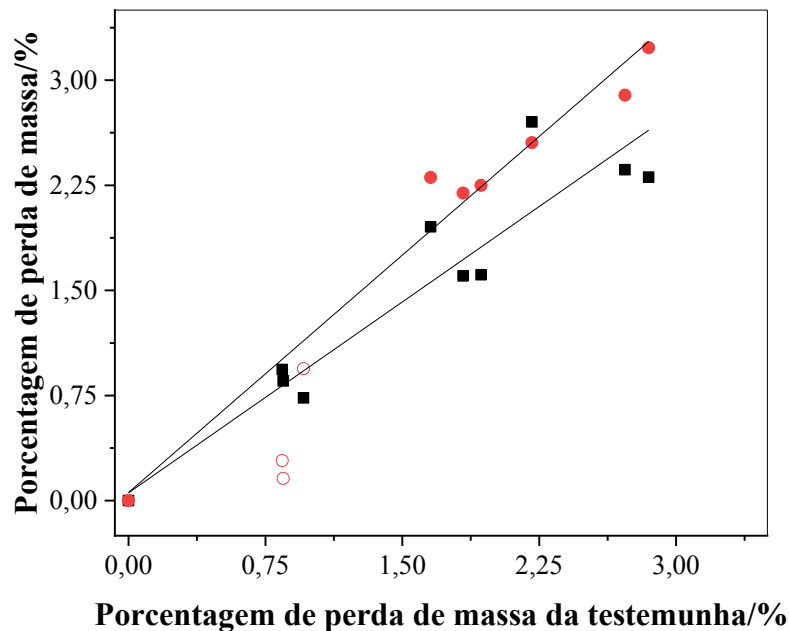


Os frutos do grupo tratamento não seguiram a mesma tendência daqueles da testemunha, uma vez que a inclinação foi significativamente menor que o valor igual a 1 (pelo teste t-Student). Para os frutos do grupo controle não houve diferença significativa da inclinação com a testemunha. Os símbolos vazados (□) são pontos de outliers. Nota-se que a acidez titulável dos frutos aumentou para todos os tratamentos ao longo dos dias de armazenamento. Este

aumento pode estar associado às alterações das condições atmosféricas ambientais (gasosas) e suas interações com o fruto durante o armazenamento, que afetam o sistema enzimático glicolítico, resultando no acúmulo de ácidos (SOUZA *et al.*, 1999, RODRIGUES *et.*, 2021).

Em relação a perda de massa a significância da correlação foi também avaliada com um teste t-Student. Observa-se na Figura 22 que não houve diferença significativa entre o tratamento e controle em relação a testemunha (inclinações não diferem significativamente de 1). Os símbolos vazados (○) são pontos de outliers mais um ponto correto (dentro da faixa).

Figura 22- Porcentagem de perda de massa (%) do controle (■) e do tratamento (●) em função da Porcentagem de perda de massa da testemunha durante armazenamento.



Nota-se na Figura 22 que ao longo dos dias de armazenamento ocorreu um aumento da % de perda de massa do mamão para todos os tratamentos. Os símbolos vazados (○) são pontos de outliers. O mamão por ser um fruto climatérico, o processo respiratório do fruto continua após a colheita, influenciando na perda de massa. As frutas e vegetais em geral, que tenham sua massa reduzido de 5% em relação à massa inicial podem gerar uma perda na qualidade, além de murchar devido à perda de água (ROBINSON, BROWNE & BURTON, 1975). No presente trabalho foi verificado uma perda de massa fresca inferior a 3% para todos os tratamentos. Estudos relatam que a quantidade de água por fruto reduzida pode estar relacionada com a

espessura da cutícula e do tecido epidérmico, sendo estes dependentes do cultivar e da maturidade dos frutos (ALI, ONG & FORNEY, 2014).

Contudo, a dose de ozônio gasoso ($9,9 \text{ mg kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$) e o tempo de imersão dos frutos na água ozonizada (35 min) utilizados garantiram a degradação/remoção de resíduos de pesticidas em mamões, preservando a qualidade e a segurança da fruta. Uma vez que não houve diferença significativa entre os frutos do tratamento em relação ao controle e a testemunha, exceto para a acidez titulável do tratamento.

3.3 Conclusão

O ozônio gasoso dissolvido em água foi empregado para avaliar o efeito do ozônio como tecnologia pós-colheita na remoção/degradação de resíduos de pesticidas e conservação do fruto do mamão. O protótipo empregando pedra porosa foi o que apresentou melhor eficiência no processo de ozonização dos mamões imersos em água. Trinta minutos (30 min) foi o tempo necessário para alcançar a saturação completa do sistema com gás ozônio. Após a saturação os mamões dos grupos tratamento e controle, foram imersos em água ozonizada e em água sem ozonização, respectivamente, por 10, 35 e 60 min. Uma cinética de degradação de primeira ordem foi a que melhor explicou a degradação dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol. Os tempos de $t_{1/2}$ dos pesticidas para os frutos controle foram maiores (2,809 a 5,388) em relação aos frutos tratados com ozônio (1,909 a 3,474). A partir do tempo de 35 min os valores das concentrações de pesticidas ficaram constante, sendo esse tempo escolhido para os estudos de degradação/remoção de pesticidas em mamão. Os mamões do controle obtiveram uma remoção de (54,6 a 73,7%) dos pesticidas estudados. Porém para os tratados com ozônio a remoção foi significativamente maior (62,7 a 81,0%). Além da água ozonizada ter apresentado uma maior taxa de remoção dos pesticidas nos frutos em tempo de $t_{1/2}$ não foram detectados resíduos na água após o tratamento. Já na água do controle, foram detectados resíduos dos pesticidas imazalil e tebuconazol. Os parâmetros de qualidade avaliados ao longo seis dias de armazenamento em câmara de refrigeração a 20 °C e 71% UR dos frutos do grupo tratamento não se diferiram significativamente em relação ao controle e a testemunha, exceto para a acidez titulável (AT). Assim, pode-se concluir que o ozônio é uma tecnologia de pós-colheita eficiente para degradação/remoção de pesticidas na casca do mamão sem afetar a qualidade do fruto e sem transferência de resíduos de pesticidas para a água, garantido a segurança.

3.4 Referências bibliográficas

ALI, A., ONG, M. K., & FORNEY, C. F. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. **Food chemistry**, v. 142, p. 19-26, 2014.

American Public Health Association (APHA); American Water Works Association (AWWA); Water Environment Federation (WEF); Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed.; American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation: Washington, USA, 2005.

ÁVILA, M. B. R., FARONI, L. R. A., HELENO, F. F., QUEIROZ, M. E. L. R., & COSTA, L. P. Ozone as degradation agent of pesticide residues in stored rice grains. **Journal of food science and technology**, v. 54, n. 12, p. 4092-4099, 2017.

BHILWADIKAR, T., POUNRAJ, S., MANIVANNAN, S., RASTOGI, N. K., & NEGI, P. S. Decontamination of microorganisms and pesticides from fresh fruits and vegetables: a comprehensive review from common household processes to modern techniques. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 18, n. 4, p. 1003-1038, 2019.

CIE, Colorimetry, Commission International d'Eclairage. 3rd ed., ISBN 3 901 906 33 9 Wien, 2004.

COELHO, C. C. D. S., SILVA, O. F., CAMPOS, R. S., BEZERRA, V. S., & CABRAL, L. M. C. (2015). Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 369-375, 2015.

FDA. Us Food And Drug Administration. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. United States Food and Drug Administration, rules and regulations. Fed. Regist, v. 66, n. 123, p. 33829-33830, 2001

GALDEANO, M. C., WILHELM, A. E., GOULART, I. B., TONON, R. V., FREITAS-SILVA, O., GERMANI, R., & CHÁVEZ, D. W. H. Effect of water temperature and pH on the concentration and time of ozone saturation. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

GOMES, H. D. O., MENEZES, J. M. C., DA COSTA, J. G. M., COUTINHO, H. D. M., TEIXEIRA, R. N. P., & DO NASCIMENTO, R. F. A socio-environmental perspective on pesticide use and food production. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 197, p. 110627, 2020.

HELENO, F. F., QUEIROZ, M. E. L. R., FARONI, L. R. A., NEVES, A. A., OLIVEIRA, A. F., COSTA, L. P. L., & PIMENTA, G. G. Aqueous ozone solutions for pesticide removal from potatoes. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 8, p. 752-758, 2016.

HELENO, F. F., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A., FARONI, L. R. A., SOUSA, F. A., & OLIVEIRA, A. F. Ozone treatment for the removal of residual chlorothalonil and effects on the quality of table grapes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 687-694, 2015.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, 4ª Edição, 1ª Edição Digital, p. 1020, 2008.

IUPAC. **Pesticide Properties Database**. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>>. Acesso em: 20 abril, 2023.

KIM, J. G., YOUSEF, A. E., & DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of food protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

LI, C., XIE, Y., GUO, Y., CHENG, Y., YU, H., QIAN, H., & YAO, W. Effects of ozone-microbubble treatment on the removal of residual pesticides and the adsorption mechanism of pesticides onto the apple matrix. **Food Control**, v. 120, p. 107548, 2021.

LIU, C., CHEN, R., LIU, F., GAO, Z., LI, X., WANG, Y., WANG S. & LI, Y. Distribution pattern, removal effect, transfer behavior of ten pesticides and one metabolite during the processing of grapes. **Food Research International**, v. 164, p. 112398, 2023.

MCGUIRE, R. G. Relatando medições objetivas de cores. *HortScience*, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MIR, S. A., DAR, B. N., MIR, M. M., SOFI, S. A., SHAH, M. A., SIDIQ, T., SUNOOJ K. V., HAMDANI A. M. & KHANEGHAH, A. M. Current strategies for the reduction of pesticide residues in food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 106, p. 104274, 2022.

MOHAMMADI, H., MAZLOOMI, S. M., ESKANDARI, M. H., AMINLARI, M., & NIAKOUSARI, M. The effect of ozone on aflatoxin M1, oxidative stability, carotenoid content and the microbial count of milk. **Ozone: science & engineering**, v. 39, n. 6, p. 447-453, 2017.

ÖZEN, T., KOYUNCU, M. A., & ERBAŞ, D. Effect of ozone treatments on the removal of pesticide residues and postharvest quality in green pepper. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2186-2196, 2021.

PANDISELVAM, R., KAAVYA, R., JAYANATH, Y., VEENUTTRANON, K., LUEPRASITSAKUL, P., DIVYA, V., KOTHAKOTA, A., & RAMESH, S. V. Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods—a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 38-54, 2020.

ROBINSON, J. E.; BROWNE, K. M.; BURTON, W. G. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. **Annals of Applied Biology**, v. 81, n. 3, p. 399-408, 1975.

RODRIGUES, A. A. Z., QUEIROZ, M. E. L. R., OLIVEIRA, A. F., NEVES, A. A., HELENO, F. F., ZAMBOLIM, L., FREITAS, J. F., & MORAIS, E. H. C. Pesticide residue removal in classic domestic processing of tomato and its effects on product quality. **Journal of environmental science and health, part b**, v. 52, n. 12, p. 850-857, 2017.

RODRIGUES, A. A. Z., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A., OLIVEIRA, A. F., PRATES, L. H. F., FREITAS, J. F., HELENO, F. F., & FARONI, L. R. D. A. Use of ozone and detergent for removal of pesticides and improving storage quality of tomato. **Food Research International**, v. 125, p. 108626, 2019.

RODRIGUES, A. A. Z., DE QUEIROZ, M. E. L. R., FARONI, L. R. D. A., PRATES, L. H. F., NEVES, A. A., DE OLIVEIRA, A. F., FREITAS, J. F., HELENO F. F. & ZAMBOLIM, L. The efficacy of washing strategies in the elimination of fungicide residues and the alterations on the quality of bell peppers. **Food Research International**, v. 147, p. 110579, 2021.

SŁOWIK-BOROWIEC, M., & SZPYRKA, E. Selected food processing techniques as a factor for pesticide residue removal in apple fruit. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 2, p. 2361-2373, 2020.

SOUZA, A. B., SCALON, S. D. P. Q., CHITARRA, M. F., & CHITARRA, A. B. Bitencourt. Postharvest application of strawberry fruits (*Fragaria ananassa*): evaluation of fruit quality and postharvest life. **Cienciae Agrotechnologia**, v. 23, p. 841-848, 1999.

SOUZA, L. P., FARONI, L. R. D. A., HELENO, F. F., PINTO, F. G., QUEIROZ, M. E. L. R., & PRATES, L. H. F. Ozone treatment for pesticide removal from carrots: Optimization by response surface methodology. **Food chemistry**, v. 243, p. 435-441, 2018.

TAN, G. H., ALI, A., & SIDDIQUI, Y. Current strategies, perspectives and challenges in management and control of postharvest diseases of papaya. **Scientia horticulturae**, v. 301, p. 111139, 2022.

TERAO, D., NECHET, K. L., FRIGHETTO, R. T. S., & SASAKI, F. F. C. Ozonated water combined with heat treatment to control the stem-end rot of papaya. **Scientia Horticulturae**, v. 257, p. 108722, 2019.

WANG, W., GAO, Z., QIAO, C., LIU, F., & PENG, Q. Residue analysis and removal of procymidone in cucumber after field application. **Food Control**, v. 128, p. 108168, 2021.

WU, Y., AN, Q., LI, D., WU, J., & PAN, C. Comparison of different home/commercial washing strategies for ten typical pesticide residue removal effects in kumquat, spinach and cucumber. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 3, p. 472, 2019.

YIGIT, N., & VELIOGLU, Y. S. Effects of processing and storage on pesticide residues in foods. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 21, p. 3622-3641, 2020.

ZAMPIER, L. M., OLIVEIRA, A. F. D., HELENO, F. F., DE QUEIROZ, M. E. L., NEVES, A. A., & OLIVO, S. L. Determination of Ozone or Hypochlorite in Waters Based on Digital Images Analysis Using Same Reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 2140-2151, 2021.

ZHOU, Q., BIAN, Y., PENG, Q., LIU, F., WANG, W., & CHEN, F. The effects and mechanism of using ultrasonic dishwasher to remove five pesticides from rape and grape. **Food chemistry**, v. 298, p. 125007, 2019.

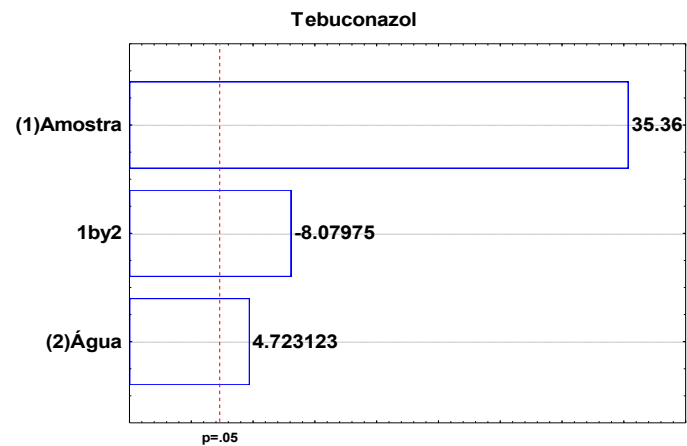
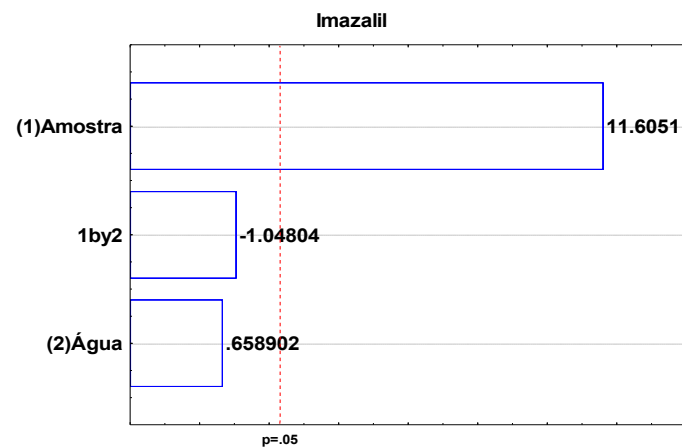
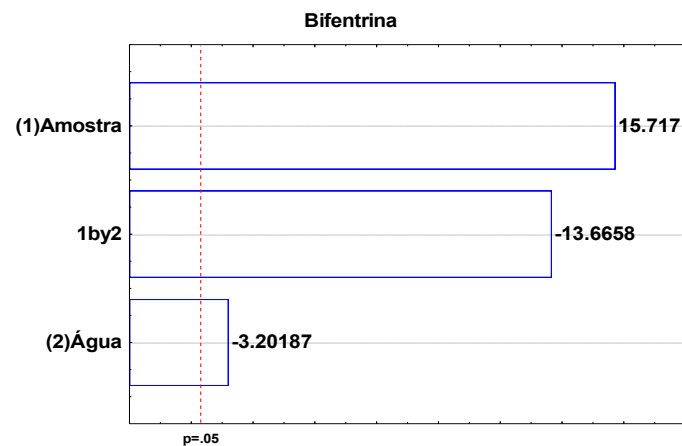
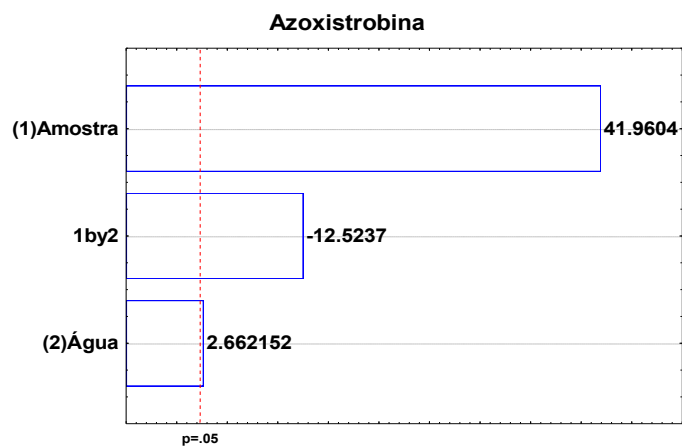
CONCLUSÃO GERAL

O método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (SLE/LTP) desenvolvido, otimizado e validado para determinação de resíduos dos pesticidas, azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), mostrou-se viável para determinação dos analitos em mamão (casca, polpa e semente), além de ser simples, eficaz, com baixo consumo de solvente e ser realizado em etapa única de extração. Estes métodos foram empregados para avaliar a migração/dissipação do pesticida imazalil, aplicado em pós-colheita em mamão. Verificou-se que cerca de 70% do imazalil dissiparam-se ao longo dos dias de armazenamento. A maior parte do composto permaneceu na casca, porém a pequena quantidade migrou para a polpa estava acima do LMR estabelecido pelas agências reguladoras. Foram detectados também resíduos de imazalil nas sementes, mas abaixo do LOQ do método. Uma vez constatada a presença de resíduos nos frutos, novos estudos foram conduzidos para avaliar a eficácia do ozônio para degradar/remover resíduos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol, na casca do mamão. Estes pesticidas também podem ser usados para controles de pragas na cultura do mamão. A cinética que melhor explicou os dados de degradação dos mamões dos grupos tratamento (água da rede de distribuição ozonizada) e controle (água da rede de distribuição sem ozonização) foi a de primeira ordem para todos os pesticidas. Os tempos de $t_{1/2}$ dos pesticidas para os frutos do grupo controle foram significativamente maiores que os frutos do grupo tratamento. Além disso, não foram encontrados resíduos de pesticidas na água ozonizada, usada no tratamento dos frutos, já na água sem ozonização, usada para o grupo controle foram detectados resíduos de imazalil e tebuconazol. Os mamões do controle obtiveram uma remoção significativamente menor em relação aos frutos tratados com ozônio. Os parâmetros de qualidade avaliados ao longo dos dias de armazenamento dos frutos do grupo tratamento não se diferiram significativamente em relação ao controle e a testemunha, exceto a acidez titulável (AT). Observou-se que a AT para todos os tratamentos aumentou ao longo dos dias de armazenamento. Portanto, pode-se concluir que a maior parte de imazalil permanece na casca, porém uma pequena quantidade migrou para a polpa. O ozônio dissolvido em água é uma tecnologia de pós-colheita eficiente para degradação/remoção de pesticidas na casca do mamão sem afetar a qualidade do fruto e sem transferência de resíduos de pesticidas para água, garantindo a segurança.

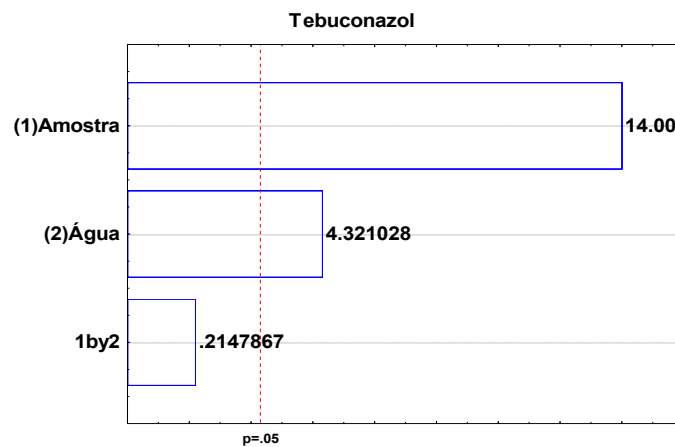
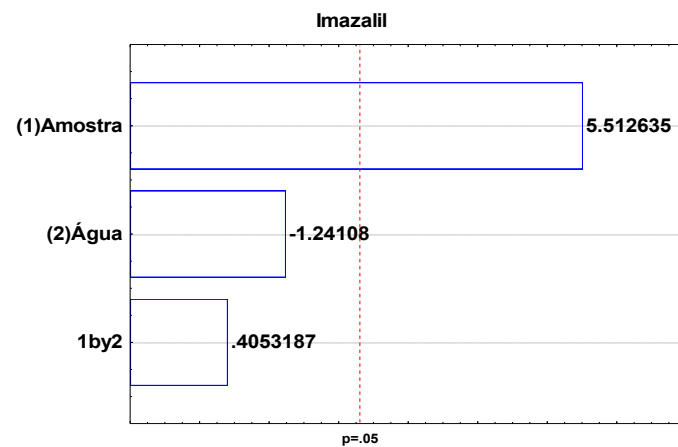
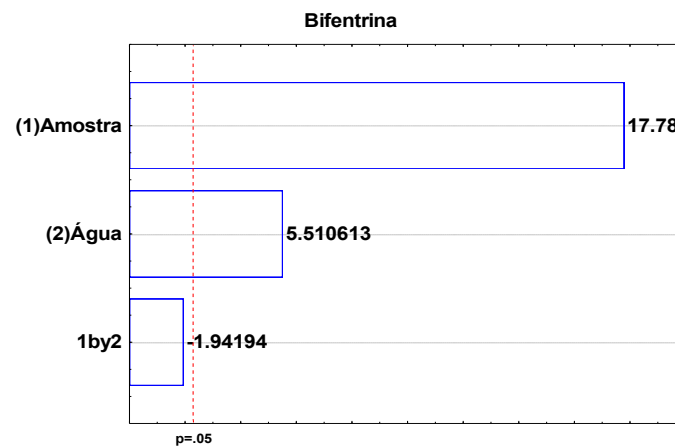
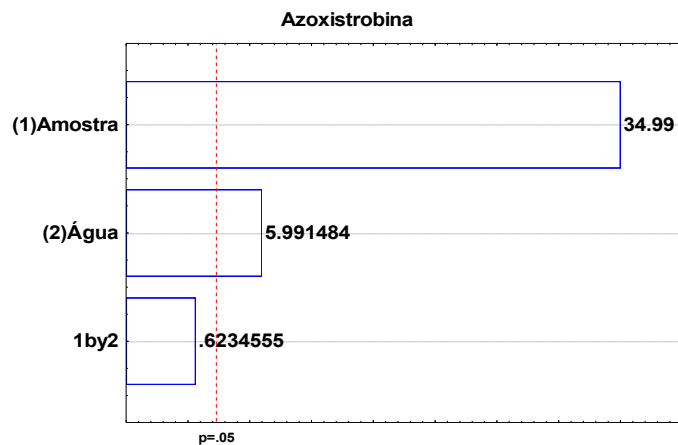
APÊNDICE

CAPÍTULO 1

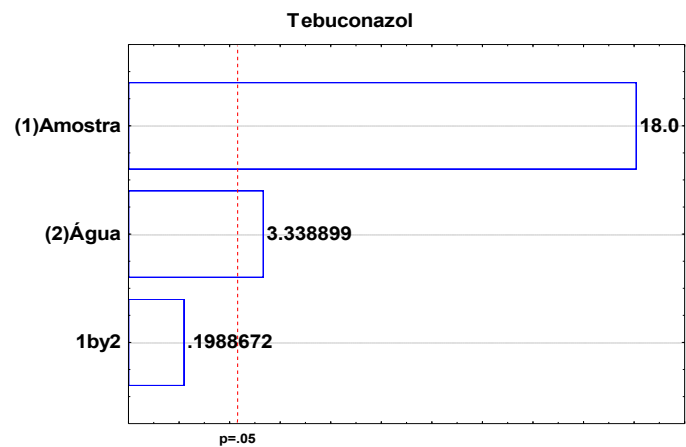
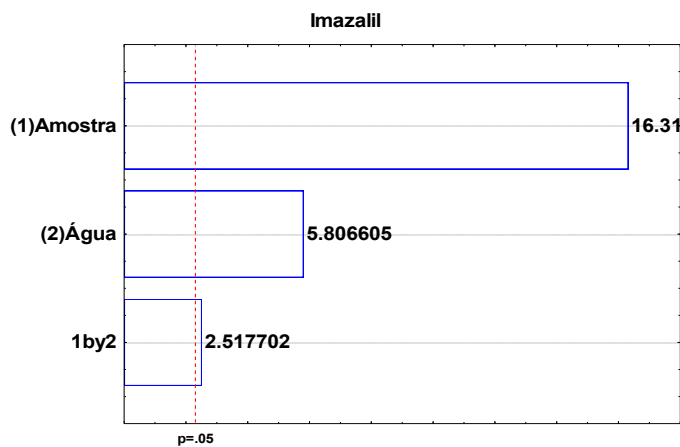
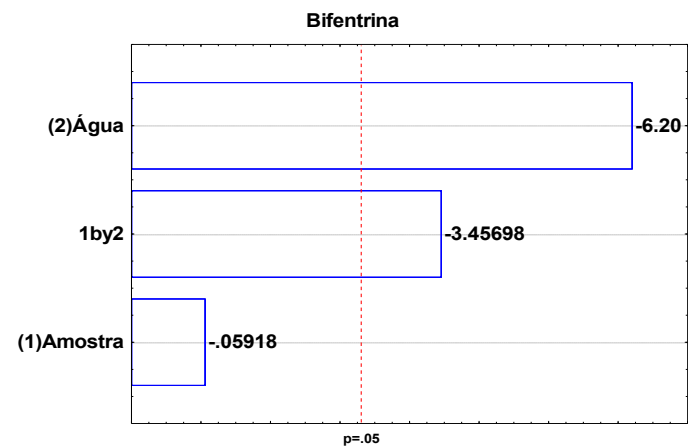
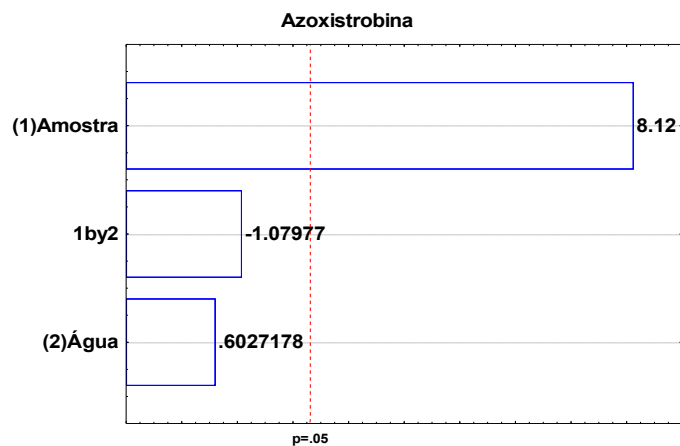
Apêndice 1.1- Gráficos de Pareto das variáveis massa de amostra (1) e volume de água destilada (2) das áreas dos picos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em amostras da casca do mamão.



Apêndice 1.1- Gráficos de Pareto das variáveis massa de amostra (1) e volume de água destilada (2) das áreas dos picos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em amostras da polpa do mamão.



Apêndice 1.1- Gráficos de Pareto das variáveis massa de amostra (1) e volume de água destilada (2) das áreas dos picos dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol em amostras das sementes do mamão.

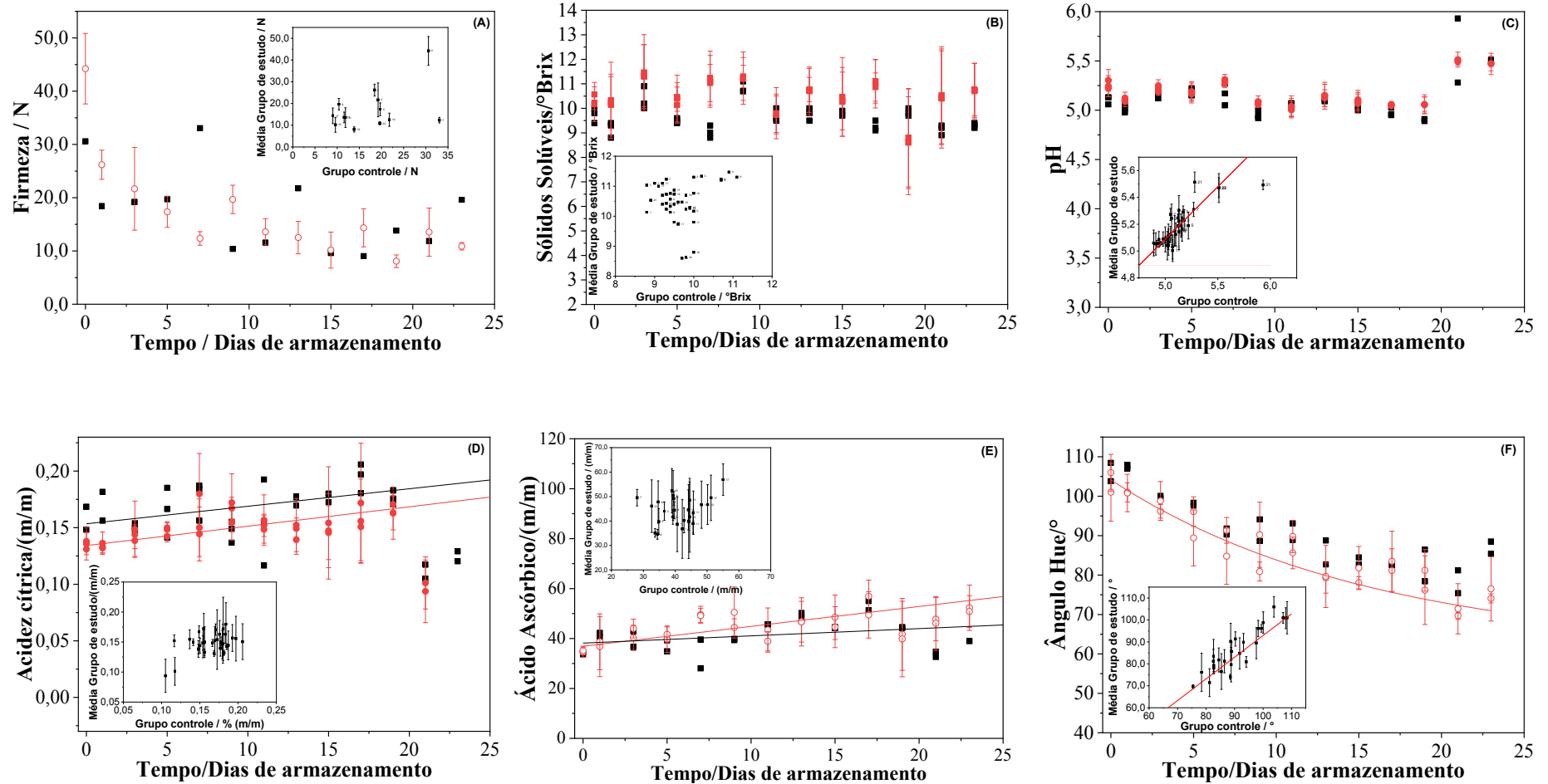


Apêndice 1.2- Regressão linear dos pesticidas azoxistrobina, bifentrina, imazalil e tebuconazol da casca, polpa e sementes do mamão preparadas em extrato da matriz e no solvente.

Pesticida	Regressão linear / Coeficiente de determinação (R ²)					
	Casca		Polpa		Sementes	
	Extrato da matriz	Solvente	Extrato da matriz	Solvente	Extrato da matriz	Solvente
Azoxistrobina	$y = 8,513x - 0,017$ 0,971	$y = 4,506x + 0,018$ 0,971	$y = 6,652x - 0,065$ 0,999	$y = 4,506x + 0,018$ 0,971	$y = 6,473x - 0,033$ 0,994	$y = 2,958x + 0,120$ 0,939
Bifentrina	$y = 45,525x + 1,373$ 0,998	$y = 41,934x + 0,169$ 0,998	$y = 38,814x + 0,233$ 0,999	$y = 40x + 0,264$ 0,998	$y = 76,196x - 0,204$ 0,999	$y = 43,916x + 1,343$ 0,937
Imazalil	$y = 9,612x - 0,067$ 0,981	$y = 6,274x + 0,079$ 0,999	$y = 7,962x + 0,047$ 0,9953	$y = 9,9298x - 0,106$ 0,994	$y = 18,227x - 0,242$ 0,993	$y = 9,101x - 0,008$ 0,978
Tebuconazol	$y = 17,894x - 0,187$ 0,991	$y = 13,287x - 0,062$ 0,998	$y = 13,198x + 0,116$ 0,998	$y = 19,537x - 0,202$ 0,998	$y = 26,346x - 0,304$ 0,999	$y = 14,901x + 0,192$ 0,963

CAPÍTULO 2

Apêndice 2.1- Valores médios dos parâmetros de qualidade firmeza/N (A), sólidos solúveis/°Brix (B), pH (C), ácido cítrico/%(m/m) (D), ácido ascórbico/(m/m) (E) e ângulo de hue (F) nos grupos de estudo (○) e controle (■), em função dos dias de armazenamento a 14 °C e 91% UR.



CAPÍTULO 3

Apêndice 3.1- Média dos parâmetros de qualidade luminosidade/L* (A), variação de cor/ ΔE (B), intensidade de cor/croma (C), ângulo hue/ $^{\circ}$ (D), firmeza/N (E), sólidos solúveis/ $^{\circ}$ Brix (F), pH (G), vitamina C/g ácido ascórbico (AA)/100g de polpa (H) dos grupos controle (■), tratamento (●) e testemunha (▲) em função dos dias de armazenamento (tempo).

