

# Avaliação de resíduos de ditiocarbamatos e etilenotiouréia (ETU) em mamão e sua implicação na saúde pública\*

## Evaluation of dithiocarbamate and ethylenethiourea (ETU) residues in papaya, and their implication for public health

RIALA6/1016

Vera R.R. LEMES<sup>1\*</sup>; Heloisa H. C. BARRETTO<sup>1</sup>; Tereza A. KUSSUMI<sup>1</sup>; Sérgio COLACIOPPO<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz, Divisão de Bromatologia e Química, Av. Dr. Arnaldo, 355, Cerqueira César, 01246-902, São Paulo-SP.

<sup>2</sup> Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública-USP

Trabalho originário da Dissertação de mestrado da autora Vera R.R. LEMES, apresentada ao Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da USP.

Recebido: 03/11/2004 – Aceito para publicação: 30/06/2005

### RESUMO

Etilenotiouréia é uma substância tóxica, formada pela degradação e/ou biotransformação dos fungicidas etilenobisditiocarbamatos (EBDCs), utilizados em alimentos, e pode representar um risco à população consumidora. Os objetivos deste estudo foram: validar métodos analíticos de resíduos de ditiocarbamatos e de ETU em mamão; determinar os resíduos de mancozebe e de ETU em mamão *Carica papaya L.*, avaliar os teores encontrados e o risco à saúde da população. A determinação de ditiocarbamatos foi feita por espectrofotometria e a de ETU, por cromatografia líquida de alta eficiência. Foram analisadas amostras tratadas com mancozebe e testemunhas, procedentes de três localidades representativas da cultura de mamão. Os resultados das recuperações foram de 70 a 110 % para mancozebe e de 80 a 110 % para ETU, com coeficientes de variação de 4,8 a 13,2 % para mancozebe e de 3,7 a 13,3 % para ETU, todos satisfatórios. O limite de quantificação do método foi de 0,5mg/kg para mancozebe, e 0,01mg/kg para ETU. As amostras tratadas apresentaram resíduos de ETU de 0,01mg/kg a 0,32 mg/kg e de mancozebe de 0,5 mg/kg a 2,1 mg/kg. A presença de ETU em mamão alerta para a necessidade do conhecimento dos níveis presentes nos alimentos consumidos pela população.

**Palavras-Chave.** etilenotiouréia, etilenobisditiocarbamatos, mancozebe, ditiocarbamatos, agrotóxicos, alimentos, mamão, Saúde Pública, meio ambiente.

### ABSTRACT

Ethylenethiourea (ETU) is a toxic substance formed during degradation and/or biotransformation of ethylene-bisdithiocarbamate (EBDC) fungicides, which are employed in foods. Presence of this substance may represent a risk to populations who consume fruits and other foods. The objectives of the present study were to validate the analytical methods for determining dithiocarbamates and ETU levels in papaya, and to determine the levels of both mancozeb and ETU residues in papaya *Carica papaya L.*, and also to evaluate the association between the detected levels and the risk to the public health. The levels were determined by means of spectrophotometry, and high performance liquid chromatography was employed for determining ETU samples treated or non-treated with mancozeb were collected from three sites that are representative of papaya cultivation. The recovery studies showed a range from 70 to 110% for mancozeb, and from 80 to 110% for ETU with coefficients of variation ranging from 3.7 to 13.3% for ETU and from 4.8 to 13.2% for mancozeb, being all of them satisfactory. The method quantification limits was 0.5 mg/kg for mancozeb determination, and 0.01 mg/kg for ETU. All samples treated with mancozeb presented ETU residues ranging from 0.01 mg/kg to 0.32 mg/kg, and mancozeb levels ranged from 0.5 mg/kg to 2.1 mg/kg. The presence of ETU in papaya observed in the present study is a warning that it is necessary to be acquainted with the occurrence of this substance in foods consumed by population.

**Key Words.** ethylenethiourea, ethylene-bisdithiocarbamate, mancozeb, dithiocarbamate, pesticides, foods, papaya, public health, environment.

## INTRODUÇÃO

Os ditiocarbamatos são usados, no mundo inteiro, há várias décadas, como fungicidas na agricultura, no cultivo de plantas ornamentais, de grama e no tratamento do solo. São compostos derivados do ácido ditiocarbâmico. São subdivididos em dimetilditiocarbamatos (DMDC), como ferbam, ziram e tiram, etilenobisditiocarbamatos (EBDCs), como mancozebe, manebe, zinebe e metiram, monometildimetilcarbamato como metam sódico e propilenobisditiocarbamato como propinebe.

Os Etilenobisditiocarbamatos (EBDC) são sais orgânicos de manganês, zinco, ou zinco e sódio, insolúveis em água e em solventes orgânicos, instáveis em meio alcalino ou ácido, na presença de oxigênio, bem como em sistemas biológicos, decompõem-se rapidamente em água e possuem um amplo espectro de ação no controle de moléstias que atacam diversos cultivos, tais como cereais, frutas e legumes<sup>1,2</sup>. Na América Latina, mais de 50% de todos os fungicidas utilizados são do grupo dos EBDCs e, no Brasil, o volume de EBDCs supera os 40% do total utilizado no país, representando o principal produto contra fungos. O mancozebe está entre os 12 agrotóxicos mais vendidos no Brasil, incluindo os Estados de São Paulo, Bahia e Espírito Santo.

O mancozebe e o manebe apresentam classificação toxicológica III, segundo a legislação brasileira, ou seja, são considerados medianamente tóxicos<sup>3</sup>. Quanto ao potencial de periculosidade ambiental, o mancozebe é da classe II, ou seja, é considerado produto muito perigoso. A toxicidade aguda de EBDCs é alta para algumas espécies de organismos aquáticos como peixes, crustáceos, algas, bactérias<sup>2</sup>.

A decomposição metabólica dos EBDCs é complexa e resulta na formação de dissulfeto de carbono ( $CS_2$ ), sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ), etileno diamina (EDA), etileno bistiouram dissulfeto (ETD), etileno diisocianato (EDI), etilenotiouréia (ETU), etilenouréia (EU) e 2-imidazole<sup>2</sup>.

Etilenotiouréia ou 2-imidazoledinone (ETU) é uma substância formada pela degradação e/ou biotransformação dos EBDCs, solúvel em água, em etanol e metanol e razoavelmente estável em água. Resíduos de ETU podem ser encontrados em plantas e no ambiente, seguido do uso na agricultura de EBDCs, ou em animais e no ser humano quando expostos a esses produtos, podendo ser encontrada como contaminante ou metabólito em mamíferos, plantas e organismos inferiores. Pode também ocorrer durante a manufatura ou o armazenamento do produto formulado e durante o processamento do alimento<sup>1</sup>.

A ETU tem a capacidade de induzir tumor na tireóide de roedores e no fígado de camundongo<sup>4,5,6,7</sup>. O fígado e a tireóide são locais de acúmulo de ETU no organismo<sup>8</sup>. Apresenta evidência suficiente para carcinogenicidade em animais e inadequada em seres humanos<sup>2</sup>.

Segundo IARC<sup>9</sup>, Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environmental and the WHO Expert Group on Pesticide Residues (JMPR-FAO/WHO)<sup>10</sup>, a ETU é um agente não genotóxico para

mamíferos. ELIA et al.<sup>4</sup>, ao estudarem os possíveis efeitos mutagênicos da ETU, não observaram efeito genotóxico em mamíferos, o que sugere que ela induz tumor hepático em camundongo por um mecanismo não-genotóxico que ainda não foi elucidado.

A exposição da população à ETU pelo consumo de alimentos apresenta várias fontes: os resíduos de ETU já formados antes de serem ingeridos, nas condições de industrialização, os remanescentes da aplicação de EBDCs nas culturas, os formados pelo processamento ou preparo e cozimento de alimentos com resíduos de EBDCs, e/ou os metabolizados no organismo, após ingestão

Limites Máximos de Resíduos (LMR) específicos para ETU não são estabelecidos no Brasil. A Ingestão Diária Aceitável (IDA) estabelecida pelo JMPR-FAO/WHO, grupo assessor do Codex Alimentarius, é de 0,002mg/kg de ETU por peso corpóreo<sup>11</sup>.

No Codex Alimentarius os LMR são estabelecidos para a classe de ditiocarbamatos: mancozebe, manebe, metiram, zinebe, propinebe, tiram, ziram, ferbam, e os valores são expressos em  $CS_2$  total. A Ingestão Diária Aceitável estabelecida pelo Codex Alimentarius é de 0,003 mg/kg/dia de  $CS_2$  para ferbam, ziram, 0,007 para propinebe e 0,03 mg/kg/dia de  $CS_2$  para mancozebe, manebe, metiram e zinebe<sup>12</sup>.

No Brasil, a Resolução RE nº 165, de 29 de agosto de 2003, da ANVISA/MS estabelece LMR para ditiocarbamatos em  $CS_2$  (mg/kg) em função do uso dos ingredientes ativos da classe dos EBDCs: mancozebe, manebe, metiram, além de outros ditiocarbamatos como o propinebe e tiram<sup>13</sup>.

O Brasil está entre os três maiores produtores de frutas do mundo, seguido da China e da Índia, produzindo 42 milhões de toneladas em 2,2 milhões de hectares. A produção mundial de mamão papaia é de mais de cinco milhões de toneladas ao ano, e no Brasil, um milhão e oitocentas mil toneladas ao ano<sup>14, 15</sup>.

A quantidade de consumo de frutas é expressiva na população brasileira e estas são, na maioria das vezes, ingeridas *in natura*. A média de consumo alimentar domiciliar *per capita* anual de frutas foi de 40,397 kg, em 1996, para o total das regiões metropolitanas, de acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares<sup>16,17</sup>. O mamão pode ser consumido *in natura* ou na forma de doces ou através de produtos industrializados contendo mamão como iogurtes, sorvetes.

É importante o conhecimento dos níveis de EBDCs e de ETU presentes nas frutas consumidas pela população, para fornecer subsídios sobre a qualidade das mesmas e dados para avaliação de risco à saúde e ao meio ambiente.

A presente pesquisa foi realizada com os objetivos: validar método analítico para determinação de resíduos de ditiocarbamatos e de etilenotiouréia em mamão; determinar os resíduos de etilenobisditiocarbamato (mancozebe) e de ETU em mamão *Carica papaya L*, determinar a dissipação desses resíduos, após o tratamento com mancozebe e avaliar o risco à saúde da população consumidora.

## MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia científica utilizada foi um estudo de caso controle analítico, onde a hipótese é a presença de resíduos de etilenotiouréia em mamão tratado com etilenobisditiocarbamato (mancozebe).

### Amostras

Foram analisadas amostras tratadas e não tratadas (testemunhas) provenientes de três regiões representativas da cultura de mamão: Lins-SP, Linhares-ES e extremo sul da Bahia. As amostras foram tratadas com mancozebe na forma de pó molhável na dose normal (160 g/ha) recomendada - tratamento 1 e na dose dupla(320g/ha) – tratamento 2. Foram feitas seis aplicações de mancozebe de 15 em 15 dias antes da colheita, realizada no verão, por profissional experiente.

O método de amostragem utilizado foi ao acaso. Os frutos foram coletados aleatoriamente, de diversas partes de mamoeiros individuais, simulando o procedimento normal de colheita, de uma forma representativa, segundo o estabelecido pelo Codex Alimentarius<sup>18</sup>. As amostras foram embaladas em saco de polietileno, identificadas, armazenadas e enviadas congeladas ao laboratório.

As amostras foram reduzidas a sub amostras e estocadas em freezer à temperatura de -20° C, até o momento das análises.

Para os estudos de recuperação de ETU foram preparadas amostras controle de mamão com adição de solução-padrão nos níveis de 1 vez o limite de quantificação (LOQ), 2LOQ e 10LOQ e para EBDCs ½, 1,2 e 6 LOQ, sendo utilizadas três amostras para cada nível estudado.

Foram analisadas 41 amostras, sendo 27 para a realização dos ensaios de conformidade de validação, 9 amostras para os estudos de resíduos remanescentes da aplicação de EBDC (mancozebe), e mais 5 amostras para os estudos de dissipação de mancozebe e de ETU, totalizando 55 determinações.

### Método para determinação de resíduos de etilenotiouréia (ETU)

O método utilizado para determinação de resíduos de ETU foi o preconizado por DISERENS<sup>19</sup>. A ETU é extraída com metanol da amostra de fruta devidamente homogeneizada. O extrato orgânico é concentrado e após ajuste do pH é feita uma purificação em coluna de Extrelut. O eluato é concentrado e filtrado. A determinação é feita por cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de ultravioleta (UV).

As condições cromatográficas foram: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência HPLC 1100, com detector de UV (comprimento de onda:  $\lambda = 240$  nm), bomba quaternária, amostrador automático, microcomputador com *Workstation*, coluna spherisorb ODS 2, 5  $\mu$ m, 125 mm x 4 mm, em aço inox, fase móvel a 2% de acetonitrila em água purificada para HPLC, com fluxo de 0,75 mL, temperatura de 30° C.

A análise qualitativa foi feita por padronização externa, através da comparação do tempo de retenção da ETU e a quantitativa através da curva de calibração, por

comparação de área. A concentração de ETU foi determinada, levando em consideração o fator de diluição e a quantidade de amostra.

### Método para determinação de resíduos de ditiocarbamatos

O método analítico utilizado para determinação de resíduos de mancozebe foi o proposto por Keppel, apropriado para as análises de monitoramento dos resíduos dos ditiocarbamatos em alimentos. Os ditiocarbamatos, incluindo os EBDCs, são determinados pelo método de evolução de CS<sub>2</sub>. Consiste na decomposição de ditiocarbamatos em meio de solução de cloreto estanoso e ácido clorídrico, gerando dissulfeto de carbono, que, após purificação é coletado em uma solução etanólica de acetato de cobre e dietanolamina. Dois complexos cúpricos de ditiocarbamatos [cúprico-N,N-bis(2-hidroxi etil)] são formados e medidos em conjunto por espectrofotometria na região do visível em comprimento de onda de 435 nm contra o reagente de cor em solução etanólica<sup>20</sup>.

A curva-padrão foi traçada pelos valores das absorvâncias *versus* concentração de CS<sub>2</sub> das soluções de trabalho, sendo que o fator de correção do CS<sub>2</sub> para mancozebe é de 1,776.

### Avaliação da conformidade dos métodos analíticos estudados

Foram calculados as recuperações, a média, o desvio-padrão e o coeficiente de variação para cada nível estudado.

A avaliação dos métodos propostos foi feita conforme parâmetros de conformidade de validação de métodos. O intervalo de aceitabilidade para os valores individuais de recuperação é de 70 a 110%<sup>21,22</sup>. A EPA<sup>23</sup> considera valores de variabilidade para determinação da aceitabilidade de métodos, recuperações entre 70 e 120%. O coeficiente de variação percentual (CV%) em relação à média para cada nível de fortificação deve ser de até 15%<sup>21</sup>.

### Avaliação de risco de ingestão de mancozebe através do consumo de mamão

Com os valores de resíduos de mancozebe e ETU, encontrados nas amostras de mamão com tratamento 1, dose normal de uso, considerando o maior valor encontrado, foi verificada a contribuição do risco, pelo consumo de mamão em comparação com a Ingestão Diária Aceitável (IDA).

### Comparação da Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) de EBDCs com a Ingestão Diária Aceitável

Como não existem dados de monitoramento de resíduos para todas as culturas onde é permitido o uso de EBDCs, foi feita uma estimativa de ingestão pelo cálculo da Ingestão Diária Máxima Teórica. A IDMT foi calculada pela equação:  $IDMT = \sum C_i \times LMR_j$ ; considerando C<sub>i</sub> o maior consumo médio *per capita* de cada alimento do total das regiões metropolitanas pesquisadas no Brasil<sup>16,17</sup> e LMR<sub>j</sub><sup>13</sup> como o nível de resíduo em cada alimento.

Com os dados, foi estimada a IDMT de resíduos de EBDC para o total das culturas onde é autorizado o uso de EBDCs, e foi comparada com a Ingestão Diária Aceitável (IDA). Os resultados foram expressos em percentagem (%) da IDA<sup>12</sup>.

#### Conversão da IDMT de EBDC para ETU e comparação com a IDA

Como não foram estabelecidos LMR para ETU na legislação, foi estimado um valor da IDMT para ETU, através da conversão da IDMT de EBDCs para IDMT de ETU. Os fatores de conversão foram baseados nos estudos de metabolização e excreção de ETU.

Estudos realizados por Nelson<sup>24</sup>, em 1986, demonstram que 23 % de 100 mg/kg de mancozebe podem ser convertidos a ETU em ratos. Didonato<sup>24</sup>, em 1986, concluiu que 6,4 % de 100 mg/kg de mancozebe, 13,6 % de 25 mg/kg de manebe, 9,5% de 5 mg/kg de metiram, 22 % de 50 mg/kg de zinebe, são transformados a ETU em plasma de rato. Porém, estes dados foram todos baseados no C<sup>14</sup> total, sem conversão para o respectivo peso molecular<sup>24</sup>. Aplicando o fator de conversão para o peso molecular, considerando a máxima conversão *in vivo*, nos estudos citados, a porcentagem de mancozebe que se transforma em ETU é de 8,7% e de manebe é de 5,2%. Com estes fatores de conversão foram calculados os valores de ETU a partir das IDMT de mancozebe e manebe, e então comparados com a IDA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos analíticos avaliados apresentaram exatidão e precisão satisfatórias e foram utilizados para determinação dos resíduos de mancozebe e de etilenotioréia nesta pesquisa. Tanto as recuperações de mancozebe quanto às de ETU estavam dentro do limites aceitáveis para resíduos, de 70% a 110%, com coeficientes de variação menores que 15%, conforme pode ser observado nas Tabelas 1 e 2.

O método para determinação de resíduos de ETU em amostras de mamão apresentou uma boa precisão com coeficiente de variação de 3,7 a 13,3% e recuperações de 80-110%, conforme pode ser observado na Tabela 1. Não foram encontrados resíduos de ETU nas amostras testemunhas no limite de quantificação do método, que foi de 0,01 mg/kg. O limite de detecção foi de 0,005mg/kg.

O método para determinação de resíduos de mancozebe em amostras de mamão apresentou uma boa precisão, com coeficiente de variação de 4,8 a 13,2%, conforme pode ser observado na Tabela 2.

O limite de detecção do método foi de 0,1 mg/kg de CS<sub>2</sub> e o limite de quantificação foi de 0,3 mg/kg de CS<sub>2</sub>, correspondente a 0,5 mg/kg de mancozebe.

A hipótese da presença de resíduos de etilenotioréia em mamão tratado com etilenobisditiocarbamato (mancozebe) foi confirmada pelo presente estudo analítico, pois todas apresentaram resíduos de ETU em níveis que variaram de

**Tabela 1.** Distribuição dos resultados das recuperações de ETU, desvio-padrão e coeficiente de variação de acordo com o nível de fortificação.

Nível de fortificação (mg/Kg)	Recuperação(%) variação(%)	Média recuperação(%)	Desvio-padrão	Coeficiente de variação(%)
0,01(LOQ)	80-103	90	11,9	13,3
0,02(2xLOQ)	100-110	107	5,8	5,4
0,10(10xLOQ)	98-105	102	3,8	3,7

Nível de fortificação: quantidade de padrão adicionado na amostra controle; Recuperação: relação entre a concentração encontrada e a concentração adicionada para cada amostra fortificada (em porcentagem); LOQ: limite de quantificação do método.

**Tabela 2.** Distribuição dos resultados das recuperações de mancozebe, desvio - padrão e coeficiente de variação de acordo com o nível de fortificação.

Nível de fortificação (mg/Kg)	Recuperação(%) variação(%)	Média recuperação(%)	Desvio-padrão	Coeficiente de variação(%)
0,2(1/2LOQ)	95-110	102	8,7	8,5
0,5(LOQ)	84-88	83	5,0	6,0
1,0(2xLOQ)	79-87	83	4,0	4,8
3,0(6xLOQ)	70-89	77	10,2	13,2

Nível de fortificação: quantidade de padrão adicionado na amostra controle; Recuperação: relação entre a concentração encontrada e a concentração adicionada para cada amostra fortificada (em porcentagem); LOQ: limite de quantificação do método.

0,01 a 0,32 mg/kg, conforme pode ser observado nas Figuras 1, 2 e 3.

Observa-se na Figura 1, que os resíduos de ETU presentes nas amostras de mamão com tratamento 1 (160g i.a.ha), diferem bastante de local para local. As amostras de Linhares-ES apresentaram valores mais baixos o que não se explica apenas pela temperatura, outros fatores devem ter interferido nos níveis de resíduos encontrados.

Observa-se que apesar dos níveis de mancozebe nas amostras de mamão serem praticamente iguais, dentro do coeficiente de variação do método, no tratamento 1, os níveis de ETU apresentaram uma diferença significativa. Considerando o nível de precisão do método (coeficiente de variação de 15%), tem-se o mesmo resultado para mancozebe, em Lins e no Sul da Bahia. Porém, para ETU difere consideravelmente (55%) (Figura 1).

Foram encontrados resíduos de CS<sub>2</sub> em todas as amostras tratadas de mamão em níveis que variaram de 0,5 mg/kg a 2,1 mg/kg calculados em mancozebe (Figura 2).

Em relação aos resíduos de ETU, observou-se um aumento considerável do nível no tratamento 2 em Lins-SP, cerca de 3,5 vezes o valor encontrado na dose de 160g i.a.ha, enquanto que os valores encontrados em Linhares e no Sul da Bahia são praticamente os mesmos, conforme Figura 2.

Os níveis de mancozebe e ETU nas amostras de mamão tratado (tratamento 2) foram iguais ou mais altos do que nas amostras com tratamento 1. Nas amostras provenientes de Linhares e do Sul da Bahia têm-se praticamente os mesmos resultados, quando se compara o tratamento 1 e 2. (Figuras 1 e 2).

Os resultados do estudo de dissipação de mancozebe e ETU, realizado na cidade de Lins-SP, encontram-se na Figura 3. Foram encontrados resíduos de mancozebe e ETU em todas as amostras de mamão tratado. Houve uma diminuição significativa dos níveis de ETU após 3 dias da aplicação, permanecendo praticamente inalterado até 9 dias, e uma diminuição mais acentuada ocorreu após 12 dias (Figuras 1, 2 e 3).

Com os valores de resíduos de mancozebe e ETU, encontrados nas amostras de mamão com tratamento 1, dose normal de uso, considerando o maior valor encontrado de 1,8 mg/kg e 0,09 mg/kg, respectivamente, foi verificada a contribuição do risco, pelo consumo de mamão em comparação com a Ingestão Diária Aceitável, e os resultados encontram-se na Tabela 3.

A contribuição da estimativa da ingestão de resíduos de mancozebe e de ETU pelos valores encontrados e o consumo de mamão<sup>16</sup> foi de 0,6 % da IDA e 0,7% da IDA, respectivamente (Tabela 3).

A Tabela 4 apresenta a comparação da Ingestão Diária Máxima Teórica de etilenobisditiocarbamato com a Ingestão Diária Aceitável.

A IDMT para EBDCs (Tabela 4) representa 47% da IDA, e se os resíduos presentes nos alimentos não excederem os LMR, aparentemente o consumo dos mesmos não representa

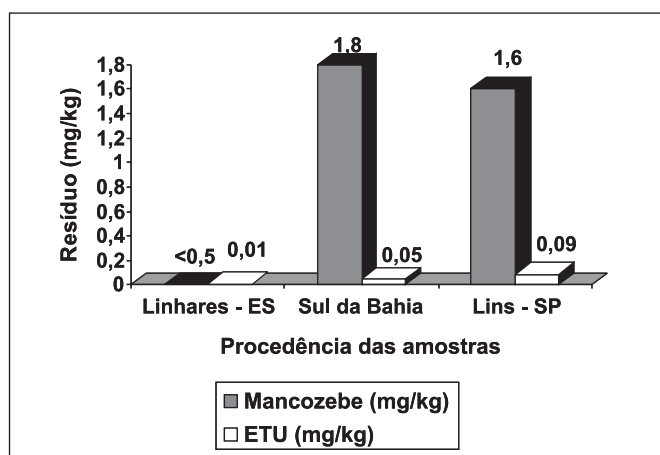


Figura 1. Resultado do estudo de resíduos de EBDC (mancozebe) e etilenotiuréia nas amostras de mamão tratado com mancozebe, tratamento 1 (160g ia/ha), de acordo com a procedência.

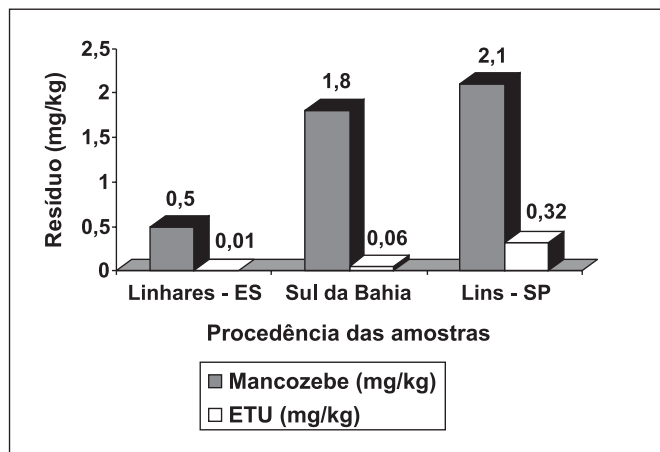


Figura 2. Resultado do estudo de resíduos de EBDC (mancozebe) e etilenotiuréia nas amostras de mamão tratado com mancozebe, tratamento 2 (320 g ia/ha), de acordo com a procedência.

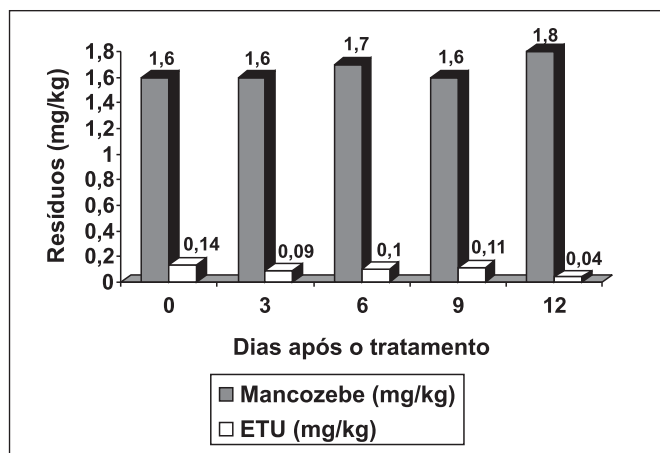


Figura 3. Resultado do estudo de dissipação dos resíduos de EBDC (mancozebe) e etilenotiuréia nas amostras de mamão tratado com mancozebe, tratamento 1 (160 g i.a/ha), realizado em Lins-SP.

um risco à saúde da população. Portanto, é improvável que a ingestão diária seja excedida na prática, desde que os LMR sejam estabelecidos para os principais usos do agrotóxico e utilizadas as Boas Práticas Agrícolas (Tabelas 3 e 4).

Pela dificuldade de se analisar os princípios ativos de ditiocarbamatos separadamente, vários países no mundo, incluindo o Brasil, têm monitorado seus resíduos como CS<sub>2</sub> total.

De 196 amostras de morango analisadas na Holanda, em 1998, 179 (91%) apresentaram resíduos de ditiocarbamatos em níveis que variaram de 0,1 a 0,6 mg/kg, sendo que 15 (68%) amostras de uva tinham resíduos em concentrações que variaram de 0,2 a 0,4 mg/kg, abaixo do LMR de 3mg/kg, e não foram encontrados resíduos nas 9 laranjas estudadas<sup>25</sup>.

No Brasil, um trabalho realizado no Estado de Minas Gerais, mostra que 19,3% das hortaliças e 17,1% das frutas analisadas apresentaram resíduos de ditiocarbamatos em níveis de até 1,7 mg/kg<sup>26</sup>.

Em Belo Horizonte-MG, resíduos de ditiocarbamatos foram pesquisados em 87 amostras de frutas e 11 de hortaliças. Constatou-se a presença de ditiocarbamatos em CS<sub>2</sub> em 24 (48%) das 98 amostras, tendo sido mais freqüentes em frutas como pêssego (100%), ameixa (60%), nectarina (50%) e morango (37,5%)<sup>27</sup>.

Reis e Caldas<sup>28</sup> estudaram resíduos de ditiocarbamatos em 466 amostras de vegetais e frutas comercializadas na cidade do Rio de Janeiro. Observou-se que 63% das amostras apresentaram resíduos de ditiocarbamatos, sendo que 24% com concentrações superiores ao limite máximo permitido por lei. Alface, cenoura e tomate foram os produtos que apresentaram os maiores níveis de resíduos, com 50%, 47,4% e 38,2% das amostras acima do LMR, respectivamente.

Conceição<sup>29</sup> analisou resíduos de ditiocarbamatos em 80 amostras de tomate do Distrito Federal e 59% apresentaram resíduos em níveis que variaram de 0,2 a 1,2 mg/kg de CS<sub>2</sub>.

Amostras de frutas e de outros vegetais têm sido analisadas no Brasil pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Nos resultados obtidos, de junho de 2001 a junho de 2002, foram encontrados resíduos de ditiocarbamatos (resultados expressos mg de CS<sub>2</sub> por Kg de amostra), em 68 (69%) das 99 amostras de maçã, em níveis que variaram de 0,04 a 2,10 mg/kg; em 58 (40%) das 144 amostras de mamão, de 0,10 a 2,14 mg/kg; em 85 (60%) das 141 amostras de morango, de 0,10 a 1,03 mg/kg; em 1 (1,1%) das 92 amostras de banana em nível de 0,01 mg/kg e em 1 (0,7%) das 141 amostras de laranja em nível de 0,31 mg/kg. Foram também encontrados resíduos de ditiocarbamatos em 100 (53%) das 189 amostras de tomate em níveis que variaram de 0,07 a 1,50 mg/kg; em 57

**Tabela 3.** Risco de ingestão de mancozebe (em CS<sub>2</sub>) através do consumo de mamão, em % IDA.

Substância	Valor encontrado (mg/kg)	Ingestão mg/pessoa/dia <sup>a,b</sup>	IDA (mg/kg pc/dia)	IDA <sup>a</sup> (mg/pessoa/dia)	% IDA
Mancozebe	1,8*	0,01015	0,03 <sup>c</sup>	1,8	0,6
ETU	0,09*	0,00091	0,002 <sup>d</sup>	0,12	0,7

\* considerando o maior valor encontrado no tratamento 1 (uso normal); a = considerando como o consumo de mamão= 0,01015kg/dia<sup>16</sup>; b = peso médio de uma pessoa igual a 60 kg; c= valor estabelecido pelo CODEX ALIMENTARIUS<sup>12</sup>; d= valor estabelecido pelo CODEX ALIMENTARIUS<sup>11</sup>; EBDC= etilenobis-ditiocarbamatos (mancozebe, manebe, metiram e zinebe); IDA= Ingestão Diária Aceitável; pc = peso corpóreo.

**Tabela 4.** Comparação da Ingestão Diária Máxima Teórica de etilenobisditiocarbamato com a Ingestão Diária Aceitável<sup>12</sup>

	IDA (mg/kg pc/dia)	IDA <sup>a</sup> (mg/pessoa/dia)	Ingestão Diária Máxima Teórica (mg/pessoa/dia) <sup>c</sup>	% IDA
Ditiocarbamatos				
Mancozebe	0,03 <sup>b</sup>	1,80	1,47 <sub>mancozebe</sub>	82
			0,66 <sub>frutas-mancozebe</sub>	37
Manebe	0,03 <sup>b</sup>	1,80	0,04 <sub>manebe</sub>	2
Etilenobisditiocarbamatos EBDC-CS <sub>2</sub>	0,03 <sup>b</sup>	1,80	0,85 <sub>CS2</sub>	47
			0,37 <sub>CS2-frutas</sub>	20

a = considerando o peso médio de uma pessoa igual a 60 kg; b= valor estabelecido pelo CODEX ALIMENTARIUS<sup>12</sup> para o grupo dos EBDC; c= ; LMR pela RE 165 de 02/09/03<sup>13</sup>; EBDCs= etilenobisditiocarbamatos (mancozebe, manebe, metiram e zinebe); IDMT= Ingestão Diária Máxima Teórica; IDA= Ingestão Diária Aceitável; pc = peso corpóreo.

(35%) das 162 amostras de alface em níveis que variaram de 0,10 a 3,50 mg/kg; e em nenhuma das 176 amostras de batata e em nenhuma das 134 amostras de cenoura<sup>30</sup>. Considerando o nível mais alto encontrado em amostra de mamão (2,14 mg/kg de CS<sub>2</sub>) verifica-se que está abaixo do LMR que é de 3,0 mg/kg de CS<sub>2</sub><sup>31</sup>.

Como não são estabelecidos LMR para ETU, os valores da IDMT de ETU foram estimados a partir dos valores das IDMT dos EBDCs, considerando dados de estudos da metabolização e excreção de ETU, realizados por Nelson e Didonato<sup>24</sup>. Com fatores de conversão de 8,7% para mancozebe e de 5,2% para manebe foram calculados os valores de ETU a partir das IDMT de mancozebe e manebe e os dados encontram-se na Tabela 5.

A Ingestão Diária Máxima Teórica calculada para ETU representa 106,5% da IDA, pela conversão da IDMT de mancozebe e 1,7% da IDA, pela conversão de manebe. Para o EBDCs total a IDMT calculada para ETU representa 108,2% da IDA, conforme Tabela 5.

No Brasil, existem poucos trabalhos de pesquisa de ETU em alimentos. Araujo<sup>32</sup>, em 1998, analisou amostras de tomate no Estado de Pernambuco e o ETU foi detectado em 25 (78,1%) das 32 amostras de tomate de mesa e em 15 (55,5%) das 27 amostras de tomate industrial. Porém, 3 (11,1%) amostras de tomate industrial e apenas 1 (3,1%) de mesa apresentaram resultados acima do limite de quantificação do método, que foi de 0,025mg/kg.

Tem-se uma preocupação maior com alimentos consumidos cozidos e industrializados, pois os processos de preparo e de manufatura dos mesmos podem favorecer a decomposição dos EBDCs a ETU, levando a um aumento dos níveis de ETU nestes produtos. Pesquisadores encontraram resíduos de ETU em amostras de alimentos infantis, sendo 38 (12 %) de 310 amostras à base de frutas ou suco de frutas; em 11 (6%) de 167 amostras originárias de vegetais; 6 (9%) de 65 amostras de cereais e 9 (13%) das 70 amostras de sobremesas<sup>33</sup>.

Se a população estivesse ingerindo todos os alimentos com níveis iguais aos LMR permitidos, e considerando a conversão de 8,7% de mancozebe e de 5,2% de manebe, poderia estar correndo risco de efeito adverso à saúde pela ingestão de ETU, uma vez que o valor da IDMT de EBDC

ultrapassou a IDA (108,2%), conforme pode ser observado na Tabela 5. Merecem uma maior atenção os subgrupos: pessoas que consomem mamão diariamente ou que consomem apenas vegetais e crianças que podem consumir mamão e frutas *in natura* e legumes cozidos e industrializados desde os primeiros meses de vida. Por apresentarem menor peso corpóreo, o risco de ingestão de ETU pelo consumo de alimentos é maior na criança do que no adulto. Porém, a IDMT é uma superestimativa e são necessárias estimativas mais precisas para a ingestão de resíduos de ETU. Estas estimativas só poderão ser feitas quando informações dos níveis desses resíduos em produtos comercializados estiverem disponíveis. Portanto, destaca-se que é importante o estudo dos níveis de resíduos de ETU em alimentos consumidos pela população para que se possa fazer uma avaliação de risco mais condizente com a realidade.

### CONCLUSÕES

1. Os métodos estudados em amostra de mamão, apresentaram resultados dentro dos níveis aceitáveis, com boa exatidão e precisão propiciando implantação da metodologia para análise de ETU em mamão no laboratório.
2. O conhecimento dos níveis do metabólito ETU, presentes em mamão tratado com EBDCs, alerta para a necessidade de conhecimento dos níveis presentes nos alimentos consumidos pela população.
3. Os dados do estudo de dissipação de resíduos de ETU fornecem subsídios para estabelecimento de períodos de carência na legislação, ou seja, dias que se deve aguardar, após a aplicação, para consumo.
4. IDMT é uma superestimativa, e deve-se realizar monitoramento de resíduos de ETU, nos alimentos consumidos pela população, para cálculo da exposição real e avaliação de risco.

### REFERÊNCIAS

1. Mestres R, Mestres G. Ethylenebisdithiocarbamate and ethylenethiourea residues in food. *Rev Bras Toxicol* 1991; 4(1/2): 11-8
2. [WHO] World Health Organization. Environmental Health Criteria 78. Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, and propylenethiourea: a

**Tabela 5.** Comparação dos valores calculados de ETU, baseados na conversão de mancozebe e manebe para ETU, com a IDA<sup>11</sup>

EBDC	IDMT (mg/pessoa/dia)	IDMT ETU calculada (mg/pessoa/dia)	IDA <sup>a</sup> ETU (mg/kg pc/dia)	IDA ETU (mg/pessoa/dia)	% IDA ETU
Mancozebe	1,47 <sup>b</sup>	0,1278 <sup>c</sup>	0,002	0,12	106,5
Manebe	0,04 <sup>b</sup>	0,0020 <sup>d</sup>	0,002	0,12	1,7
EBDC	1,51 <sup>b</sup>	0,1328	0,002	0,12	108,2

a= valor estabelecido pelo Codex Alimentarius<sup>11</sup>; b= LMR pela RE 165, de 02/09/03<sup>13</sup>; c= conversão do valor da IDMT de mancozebe encontrado pelo fator de 8,7% ; d= conversão do valor da IDMT de manebe encontrado pelo fator de 5,2%.

- general introduction. Geneva; 1988.
3. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n° 03, de 16 de janeiro de 1992. Ratifica os termos das "Diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins n° de 09 de dezembro de 1991". Diário Oficial da União, Brasília, 04 fev. 1992 p.1356.
  4. Elia MC, Arce G, Hurt SS, Neill PJ, Scribner HE. The genetic toxicology of ethylenethiourea: a case study concerning the evaluation of a chemical's genotoxic potential. *Mut Res* 1995; 341:141-9.
  5. Triverdi N, Kakkar R, Srivastava MK, Mithal A, Rauzadam RB. Effect of oral administration of fungicide-mancozeb on thyroid gland of rat. *Indian J Exp Biol* 1993; 31: 564-6.
  6. Yoshida A, Harada T, Maita K. Tumor induction by concurrent oral administration of ethylenethiourea and sodium nitrite in mice. *Toxicol Pathol* 1993; 21:303-1.
  7. Yoshida A, Harada T, Hayashi S, Mori I, Miyajima H, Maita K. Endometrial carcinogenesis induced by concurrent oral administration of ethylenethiourea and sodium nitrite in mice. *Carcinogenesis* 1994; 15:2311-8.
  8. Nebbia C, Ferrero E, Valenza F, Castagnaro M, Re G, Soffietti MG. Pathologic changes, tissue distribution and extent of conversion to ethylenethiourea after subacute administration of zinc ethylene-bis-dithiocarbamate (zineb) to calves with immature rumen function. *Am J Vet Res* 1991; 52:1717-22.
  9. [IARC] International Agency for Research on Cancer. Genetic and related effects. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum Suppl* 1987; 6:304-7.
  10. [JMPPR] Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues; 1993 Sept 20-29; Geneva. Report. Geneva: FAO; 1994. (FAO Plant Production and Protection).
  11. [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. Pesticide residues in food. Rome; 1994. v.2.
  12. [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. Pesticide residues in food: maximum residue limits. Rome; 1998 v. 2B.
  13. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RE n° 165, de 29 de agosto de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de set. 2003. p.48-50.
  14. [SEAGRI] Secretaria da Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária da Bahia. Cultura mamão. Disponível em <URL:http://www.seagri.ba.gov.br> [2003 abr 6]
  15. Silva EMF da, coordenador. Estudo sobre o mercado de frutas. Brasília: FIPE, 1999.
  16. [IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 1995-1996. Rio de Janeiro: Ministério do Planejamento e Orçamento; 1998. v.2.
  17. [IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em <URL:http://www.sidra.ibge.gov.br> [2003 maio 7]
  18. Toledo HHB, Steling CM, Gojtan Jr E, Baptista GC, Aleluia I, Lange Jr L et al. Manual: critérios mínimos para a condução de estudos de resíduos. São Paulo: GARP; 2002. 2 Pt.
  19. Diserens H. Determination of ethylenethiourea in various foods. *Lab News* 1991; 62:69-80.
  20. Thier H, Zeumer H, editores. Multiresidue method S15 - dithiocarbamate and thiuram disulfide fungicides photometric determination. In: Manual of pesticide residues analysis. Deutsche. Forschungsgemeinschaft, Pesticides Comm. Weinheim: Verlag; 1987. v. I. p. 353-60.
  21. European Commission. Directorate General health and Consumer Protection. Guidance document on residual analytical methods: SANCO/825/00 rev. 6. 2000.
  22. [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. Good laboratory practice on pesticide residue in food. Rome; 1993. Suppl 1. v. 2. Section 4.2, 164.
  23. [EPA] Environmental Protection Agency. Office of Prevention, Pesticide and Toxic Substances. Residue chemistry test guidelines. Washington; 1996.
  24. [MAFF] Ministry of Agriculture, Fisheries & Food. Advisory Committee on Pesticides. Position document on consumer risk arising from the use of ethylene bisdithiocarbamates. London: 1990.
  25. De Kok A. Control of pesticide residues in food European model. In: Proceedings of Workshop Control of Pesticide Residues in Food European Model; 1999 out 4-6; Araraquara, (BR). São Paulo: GARP; 1999.
  26. Soares IAA, Goulart MCP, Queiroz RL, Mello SMM, Ávila JT, Azevedo SF. Resíduos de fungicidas orgânicos do grupo dos ditiocarbamatos em frutas e hortaliças. Minas Gerais: Secretaria de Estado da Agricultura e Pecuária; 1987. p. 99-100.
  27. Pereira EC. Resíduos de fungicidas orgânicos do grupo dos ditiocarbamatos em frutas e outros produtos de origem vegetal. *Rev Soc Bras Toxicol* 1988; 1(1/2):41-3.
  28. Reis MRCS, Caldas LQA. Dithiocarbamate residues found on vegetables and fruit marketed in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Ciênc Cult* 1991; 43 (3):212-8.
  29. Conceição MH. Resíduos de pesticidas em tomates: metodologia analítica e avaliação da exposição humana. Brasília; 2002. [Tese de Doutorado – Instituto de Química da Universidade de Brasília].
  30. [ANVISA] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Resultados analíticos de 2002. Brasília; 2003. Disponível em URL:http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resl\_anual\_2002\_an2.pdf [2003 nov 15]
  31. [ANVISA] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Toxicologia. Disponível em <URL:http://www.anvisa.gov.br> [2003 jun 13]
  32. Araújo ACP. Importância da análise de resíduos de praguicidas para ações de saúde pública: estudo da cultura do tomate no Estado de Pernambuco. São Paulo; 1998. [Tese de Doutorado - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].
  33. Richardson M. Pesticides - friend or foe? *Wat Sci Technol* 1998; 37(8):19-25.