



Universidade dos Açores
Departamento de Ciências Agrárias

Avaliação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos provenientes das castas Terrantez da Terceira e Verdelho da Zona Vitivinícola dos Biscoitos.

Jorge Miguel Meneses Azevedo

Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrónómica

Orientador – Doutor David João Horta Lopes

Co-orientador – Doutora Maria Manuela Barbosa Correia

Angra do Heroísmo, Março de 2012

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar os meus agradecimentos às seguintes pessoas ou entidades que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Ao Doutor David João Horta Lopes, pela orientação deste trabalho, amizade, disponibilidade e ajuda.

À Doutora Maria Manuela Barbosa Correia do Instituto Superior de Engenharia do Porto, pela co-orientação deste trabalho, ajuda e disponibilidade para a realização das análises de resíduos de produtos fitofarmacêuticos.

À Dr^a. Marta Oliveira e à Doutora Simone Morais do Instituto Superior de Engenharia do Porto pelas determinações dos teores de metais por espectrofotometria de absorção atómica.

Aos técnicos do Laboratório de Enologia do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores, pela ajuda na realização de algumas análises físico-químicas.

Ao Eng.^o Jorge Tiago dos Serviços de Desenvolvimento Agrário da Terceira, pela ajuda e disponibilidade em enviar as amostras de vinhos para análise no Laboratório Regional de Enologia.

Aos viticultores da zona vitivinícola dos Biscoitos pela sua ajuda e prontidão em disponibilizarem as suas explorações para este trabalho, porque sem a sua ajuda não se teria realizado.

Aos amigos do Grupo de Proteção Integrada do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores, em especial à Eng.^a. Ana Santos pela ajuda na realização dos controlos de fermentação e recolha de amostras de vinho.

Aos meus pais e irmãos pela incessante ajuda e compreensão durante este trabalho e todo o meu percurso académico.

À minha namorada Marília Cármen da Silva Soares por estar ao meu lado e apoiar-me durante este trabalho e todo o meu percurso académico.

E a todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram para este trabalho.

Muito Obrigado.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I – DA VINHA AO VINHO	4
1.1 A Vinha.....	4
1.1.1 O ciclo vegetativo da videira	4
1.1.2 Principais problemas fitossanitários da vinha na zona vitivinícola dos Biscoitos	6
1.1.2.1 Pragas.....	6
1.1.2.2 Doenças	8
1.2 O Vinho	18
1.2.1 Maturação da uva.....	18
1.2.2 A fermentação alcoólica e as leveduras de interesse enológico ...	19
1.2.2.1 Fatores que condicionam a fermentação alcoólica	20
1.2.3 A fermentação malolática.....	22
1.2.4 Vinificação de vinhos brancos.....	23
CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DA ZONA VITIVINÍCOLA DOS BISCOITOS	26
2.1 Localização geográfica	26
2.2 Características edafo-climáticas	26
2.3 Sistema cultural	27
CAPÍTULO III – PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS	28
3.1 Definição	28
3.2 Composição	29
3.3 Classificação	29
3.3.1 Fungicidas	30
3.3.2 Inseticidas	33
3.3.3 Herbicidas.....	33
3.4 Resíduos de produtos fitofarmacêuticos	34
3.4.1 Limite Máximo de Resíduos	36

3.5	Resíduos de produtos fitofarmacêuticos em produtos vitivinícolas.....	39
3.5.1	Problemas enológicos associados à presença de resíduos	41
3.5.2	Evolução da presença de resíduos desde as uvas até ao vinho ...	44
3.5.3	Influência das etapas de vinificação na variação dos teores de resíduos.....	46
CAPÍTULO IV – MATERIAL E MÉTODOS		49
4.1	Descrição ampelográfica das castas.....	49
4.2	Controlo de maturação	50
4.3	Processo de vinificação	52
4.4	Controlo da fermentação alcoólica	53
4.5	Produtos fitossanitários aplicados na vinha	54
4.6	Produtos fitofarmacêuticos alvo de análise de resíduos	55
4.7	Determinação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos.....	55
4.7.1	Recolha de amostras para determinação de resíduos.....	55
4.7.2	Métodos analíticos utilizados na determinação de resíduos.....	56
4.8	Análises físico-químicas aos vinhos estudados	60
CAPÍTULO V – RESULTADOS E DISCUSSÃO		61
5.1	Controlo de maturação	61
5.1.1	Evolução do peso médio do bago	61
5.1.2	Evolução do teor de açúcares.....	62
5.1.3	Evolução do pH	63
5.1.5	Índices de maturação	65
5.2	Evolução da fermentação alcoólica	67
5.3	Determinação de resíduos.....	71
5.3.1	Metais	71
5.3.2	Produtos fitofarmacêuticos.....	77
5.4	Análises físico-químicas dos vinhos estudados	78
CAPÍTULO VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS.....		80
CAPÍTULO VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		82

CAPÍTULO VIII – LEGISLAÇÃO	90
----------------------------------	----

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido em três explorações vitícolas da zona vitivinícola dos Biscoitos, durante a época vitícola de 2010, e teve como objetivo avaliar a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos provenientes das castas Terrantez da Terceira e Verdelho.

Os produtos fitofarmacêuticos pesquisados foram: cimoxanil, ciprodinil, fludioxonil, folpete e metalaxil. Além destes produtos fitofarmacêuticos foram ainda determinados os teores totais de três metais: manganês, zinco e cobre.

Dos produtos fitofarmacêuticos propostos a despiste nenhum foi detetado pelo método analítico utilizado, cujos limites de deteção são inferiores aos limites máximos de resíduos definidos para as uvas. Os teores de metais encontravam-se abaixo dos limites máximos admissíveis previstos na legislação.

Palavras-chave: produto fitofarmacêutico, resíduos, mosto, vinho, Terrantez da Terceira, Verdelho, zona vitivinícola dos Biscoitos.

ABSTRACT

This work was developed in three vineyards in the wine zone of Biscoitos, during 2010, aimed to assess the presence of residues of plant protection products in musts and wines from vine varieties Verdelho and Terrantez da Terceira.

The plant protection products surveyed were: cimoxanil, cyprodinil, fludioxonil, folpet and metalaxyl. In addition to this plant protection products were also determined the total levels of three metals: zinc, manganese and copper.

Of the plant protection products proposed to survey, no screening was sensed by the analytical method used, whose detection limits are lower than the maximum levels set for the grapes. The levels of metals were below the maximum permissible limits laid down in the legislation.

Key Words: plant protection products, residues, must, wine, Terrantez da Terceira, Verdelho, wine zone of Biscoitos.

INTRODUÇÃO

A produção de vinho em Portugal é uma importante componente do ramo agrícola nacional. De acordo com as Contas Económicas da Agricultura (INE) no ano de 2007 esta atividade rendeu 862 milhões de euros, representando cerca de 13% do valor gerado (I.V.V, I.P, 2009).

Com uma superfície vitícola de 240 mil hectares, repartida pelas diferentes regiões, a cultura da vinha ocupa cerca de 6,9% da superfície agrícola útil (SAU) e 2,6% do território continental, aproximadamente 91.909 Km², que na campanha 2008/2009 conduziu a uma produção declarada por 30 mil produtores de aproximadamente 5,6 milhões de hectolitros (I.V.V, I.P, 2009).

No Arquipélago dos Açores a produção média da região, para o período 2000/2001 a 2008/2009, é de cerca de 14400 hectolitros, onde em média 86% é predominantemente vinho de mesa. O Vinho de Qualidade Produzido em Região Determinada (VQPRD) e o vinho regional tem o mesmo peso, aproximadamente 7% (I.V.V, I.P, 2009).

A qualidade e o prestígio dos vinhos açorianos são uma referência de longa data. Como reconhecimento do seu valor, foram declaradas três zonas com Indicação de Proveniência Regulamentada (IPR): Pico, Graciosa e Biscoitos, na Ilha Terceira. Em todo o Arquipélago dos Açores é ainda possível produzir vinho de mesa, branco e tinto, com a Indicação Geográfica Vinho Regional Açores. Na zona vitivinícola dos Biscoitos predominam as castas Verdelho e Terrantez da Terceira, da espécie *Vitis vinifera* L., perfazendo uma área total de 15 hectares (Dias *et al.*, 2006)

À semelhança de outras culturas no mundo, a cultura da vinha é bastante fustigada pelo aparecimento de inúmeros problemas fitossanitários, principalmente em épocas críticas, comprometendo uma parte importante da produção (Gomes, 1999).

Na zona vitivinícola dos Biscoitos, são realizados, ao longo de uma época vitícola, inúmeros tratamentos fitossanitários, quer preventivos, quer curativos, contra os inimigos chave da cultura da vinha, nomeadamente, no combate ao míldio *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni, oídio *Uncinula necator* Schw. & Burr., à podridão-cinzenta *Botrytis cinerea* Pers., à traça-da-uva *Lobesia botrana* Den. & Schiff. e/ou *Eupoecilia ambiguella* Hb. e mais recentemente à cochonilha-algodão *Planococcus citri* Risso.

De acordo com Abreu (2007), os produtos fitofarmacêuticos aplicados na cultura da vinha nem sempre são eficazes e têm alguns inconvenientes: contaminam o ambiente; causam fitotoxicidade; destroem espécies auxiliares responsáveis pelo combate a certas pragas; causam desequilíbrios biológicos que levam ao aparecimento de outras espécies que transmitem novas doenças; provocam a ocorrência de fenómenos de resistência e podem surgir, residualmente, nas uvas e conseqüentemente nos mostos e vinhos, podendo provocar anomalias no desenvolvimento da fermentação, alterações organolépticas que vão interferir na qualidade do vinho, bem como podem provocar toxicidade para o consumidor.

Por todos estes aspetos, os produtos vitivinícolas têm vindo a ser estudados quanto à sua origem e efeito da aplicação das diferentes substâncias presentes nos mesmos. As substâncias tóxicas mais estudadas incluem substâncias endógenas, formadas durante a fermentação dos mostos, a conservação e envelhecimento dos vinhos e em relação aos contaminantes exógenos, micotoxinas, metais pesados e produtos fitofarmacêuticos (Abreu, 2007).

A presença de produtos fitofarmacêuticos em uvas e vinhos depende, entre outros fatores, da natureza e modo de ação da sua substância ativa, da formulação do produto que a contém, das condições de aplicação, como: a dosagem; periodicidade; época de intervenção; do intervalo de tempo decorrido entre o último tratamento e a vindima, bem como do tipo de vinificação e das condições fermentativas (Basan, 1989) (cit. por Abreu, 2007).

Os produtos fitofarmacêuticos seletivos devem ser usados nas quantidades estritamente necessárias e no momento certo, recorrendo-se, sempre que possível, a práticas culturais menos agressivas, como é o caso da proteção integrada. É desaconselhada a utilização do mesmo produto fitofarmacêutico ou de produtos fitofarmacêuticos com o mesmo modo de ação em anos consecutivos (D.G.A.D.R, 2010).

O risco do consumo de resíduos de produtos fitofarmacêuticos é devidamente avaliado, estabelecendo-se limites máximos de resíduos (LMR) que transmitem segurança ao consumidor e eliminam a ocorrência de entraves ao comércio de produtos vitivinícolas, quer a nível nacional quer internacional. A quantidade de produto a aplicar deverá permitir uma eficácia aceitável, com um nível mínimo de risco (Santos, 1999) (cit. por Abreu, 2007).

Este trabalho foi desenvolvido em três explorações vitícolas da zona vitivinícola dos Biscoitos, durante a época vitícola de 2010, e teve como objetivo avaliar a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos provenientes das castas Terrantez da Terceira e Verdelho.

CAPÍTULO I – DA VINHA AO VINHO

1.1 A Vinha

A videira, originária da parte oriental do Mar Negro, mais concretamente na Transcaucásia, é uma planta cultivada em regiões preferencialmente temperadas e pertence à família das Vitáceas. As plantas desta família são trepadeiras e arbustos de caule herbáceo com gavinhas opostas às folhas (Reynier, 1986).

Apesar de ter sido alvo de pragas e doenças que provocaram o desaparecimento de elevadas áreas de vinha, atualmente a videira continua a ser uma das culturas mais populares no mundo ocidental.

1.1.1 O ciclo vegetativo da videira

O ciclo vegetativo da videira tem início com a rebentação ou *abrolhamento* dos gomos latentes deixados durante a operação de poda de Inverno, sendo precedido pelo “*choro*” das varas (Fig.1), fenómeno que caracteriza a saída da seiva bruta através das feridas deixadas por esta operação (Cardoso, 2007).



Figura 1 – “Choro da vara de videira. Adaptado de <http://casagospelalineraza.blogspot.pt/2010/10/videira-de-perto-2-o-periodo-do-choro.html>

Como consequência do *abrolhamento*, aparece uma massa de filamentos semelhantes a algodão designada por *gomo de algodão* (estado fenológico B, segundo Baggiolini) (Fig.2) (Cardoso, 2007).



Figura 2 – Estado fenológico B, segundo Baggiolini. Adaptado de <http://aprendervinha.blogspot.pt>



Figura 3 – Estado fenológico C, segundo Baggiolini. Adaptado de <http://aprendervinha.blogspot.pt>



Figura 4 – Estado fenológico D, segundo Baggiolini. Adaptado de <http://aprendervinha.blogspot.pt>

Com o aumento do volume do gomo, surge a denominada *ponta verde* dos órgãos primários contidos neste, sucedendo-se a *saída das folhas* (estados fenológicos C e D, segundo Baggiolini) (Fig.3 e 4) (Cardoso, 2007).

As fases seguintes de crescimento e desenvolvimento dos órgãos verdes, respetivamente, *2 e 3 folhas livres*, (estado fenológico E, segundo Baggiolini) (Fig.5), *cachos visíveis* (estado fenológico F, segundo Baggiolini) (Fig.6), *cachos separados* (estado fenológico G, segundo Baggiolini) (Fig.7) e *flores separadas* (estado fenológico H, segundo Baggiolini) (Fig.8) antecedem a importante fase da *floração* (estado fenológico I, segundo Baggiolini) (Fig.9) (Cardoso, 2007).



Figura 5 – Estado fenológico E, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>



Figura 6 – Estado fenológico F, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>



Figura 7 – Estado fenológico G, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>

A polinização e fecundação dão origem a um número de frutos bastante inferior ao número de flores. Os bagos, após a *alimpa* (estado fenológico J, segundo Baggiolini) (Fig.10) crescem e comportam-se de início como os outros órgãos verdes, realizando atividade fotossintética (Cardoso, 2007).



Figura 8 – Estado fenológico H, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>



Figura 9 – Estado fenológico I, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>



Figura 10 – Estado fenológico J, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>

Segundo Cardoso (2007), no *pintor* (estado fenológico M, segundo Baggiolini) (Fig.11) os sarmentos param de crescer e desaparecem os cloroplastos. No decurso da maturação dá-se o alongamento das paredes celulares e regista-se a expansão das células da polpa. Nesta fase, as



Figura 11- Estado fenológico M, segundo Baggiolini.
Adaptado de <http://aprendernavinha.blogspot.pt>

uvas brancas tornam-se translúcidas e amarelas, enquanto as tintas adquirem uma coloração de intensidade crescente até atingirem a cor escura característica.

1.1.2 Principais problemas fitossanitários da vinha na zona vitivinícola dos Biscoitos

1.1.2.1 Pragas

a) Traças-da-Uva

Estes lepidópteros são as pragas mais importantes da videira. As duas espécies de traça que estão referenciadas em Portugal são:

- Eudemis (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.);
- Cochilis (*Eupoecilia ambiguella* Hb.).

Estas espécies apresentam uma biologia semelhante, apesar de pertencerem a famílias diferentes (Bayer, 2001). A *Lobesia botrana* Den. & Schiff. por ser atualmente a espécie a que se atribui maior importância económica, será a única a ser descrita.

Eudemis (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.)

Biologia

Esta espécie hiberna sob o ritidoma das cepas, nas folhas caídas no solo ou nas fendas dos tutores (Fig.12) (Bayer, 1998).

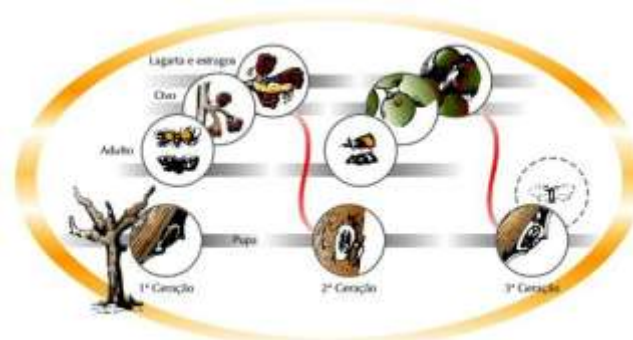


Figura 12 - Ciclo biológico da Traça-da-uva. (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.) (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

Na Primavera, com o aumento da temperatura, os adultos (Fig.13) emergem escalonadamente antes do abrolhamento da vinha, prologando-se por várias semanas (M.A.P.A, 1992).

Segundo Bayer (1998), após o acasalamento, as fêmeas efetuam as posturas dos ovos nos botões florais, ráquis e pedicelos da videira.



Figura 13 – Adulto de traça-da-uva. Adapt. de <http://www.adnradio.cl/nota.aspx?id=605647>

Sintomas e estragos

Na época de poda, podemos observar sob o ritidoma das videiras a presença de casulos sedosos construídos pela praga. Durante a floração encontram-se glomérulos nos cachos que podem provocar o “desavinho” (Bayer, 1998).

As larvas ao perfurarem os bagos e ao alimentarem-se da polpa contribuem para a instalação da *Lobesia botrana* Den. & Schiff. Nos anos em que a humidade relativa do ar é elevada, os ataques são mais frequentes entre a floração e fecho dos cachos. A distribuição dos estragos é irregular, varia com as condições climáticas, casta e sistema de condução (Bayer, 1998).

b) Cochonilha-algodão (*Planococcus citri* Risso)

Esta cochonilha é a mais importante no nosso país e é vulgarmente conhecida por algodão-da-vinha (Bayer, 2001).

Biologia

Esta espécie hiberna sob o estado larvar ou adulto (Fig.14) em locais abrigados da planta e no solo. Na Primavera migra para a parte aérea da planta onde se irá reproduzir. Esta espécie desenvolve-se ao longo de todo o ano e tem aproximadamente entre 4 e 5 gerações (Fig.15) (Bayer, 1998).



Figura 14 – Adulto de cochonilha-algodão. Adapt. <http://mrec.ifas.ufl.edu/iso/mealybugs.htm>

Sintomas e estragos

Esta praga é de fácil deteção, uma vez que ao produzir melada incentiva o aparecimento de formigas na videira e conseqüentemente ataques de fumagina, fungo saprófita. O seu ataque inicia-se pelas folhas, provocando a sua queda, bem como a desvitalização das plantas (Bayer, 2001).

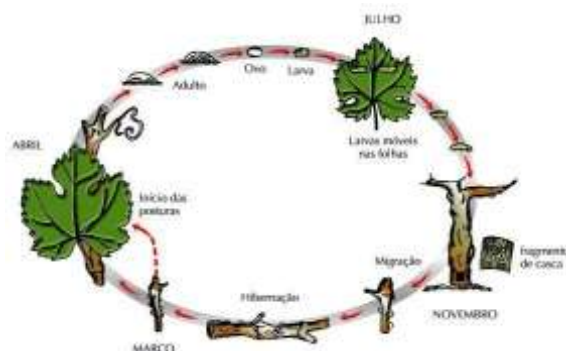


Figura 15 – Ciclo biológico da Cochonilha-algodão (*Planococcus citri* Risso) (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

1.1.2.2 Doenças

a) Míldio (*Plasmopara viticola* (Berk & Curt) Berl & Toni.)

O míldio-da-videira é uma doença originária da América e foi observada pela primeira vez em Portugal em 1881 (Félix *et al.*, 2006). O agente patogénico responsável por esta doença, é um fungo endoparasita obrigatório que se desenvolve em todos os órgãos verdes da videira, nomeadamente, ramos, folhas, cachos e gavinhas.

É considerada como uma das principais doenças da cultura da vinha e um dos fungos mais conhecidos pelos viticultores de todo o mundo devido aos seus graves ataques (Bayer, 1998).

Biologia

O míldio-da-videira, durante o Inverno, sobrevive nas folhas mortas da vinha sob a forma de oósporos, frutificações sexuadas que permitem a sua hibernação e constituem a fase sexuada (M.A.P.A, 1992).

Na Primavera, quando ocorrem precipitações acumuladas nas últimas 48 horas que ultrapassem os 10 mm e temperaturas acima dos 10°C, os oósporos germinam e produzem macroconídios ou zoosporângios. Estes, na presença de água, libertam os zoósporos que ao atingirem a página inferior das folhas e na presença de água, iniciam o desenvolvimento do tubo germinativo que irá depois penetrar o interior das folhas, através dos estomas (Félix *et al.*, 2006) (Fig.16).



Figura 16 - Ciclo biológico do míldio. (*Plasmopara viticola* (Berk & Curt) Berl & Toni.) (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

Em função das condições climáticas, esta doença pode ter um período de incubação mais ou menos longo. Após este período surgem manchas de aspeto oleoso, constituindo a denominada *infecção primária* (Bayer, 2001).

As manchas originadas pelas infeções primárias, na presença de condições favoráveis, nomeadamente, folhas molhadas ou humidade relativa do ar superior a 95%, escuridão e temperatura do ar a 25°C (mínimo de 11°C e máximos de 30 a 35°C), podem esporular e formar na página inferior esporangióforos com esporos (frutificação branca) constituindo assim as *infeções secundárias* (Félix *et al.*, 2006).

Sintomas e estragos

O míldio pode afetar todos os órgãos da videira mas localiza-se preferencialmente nas folhas e nos cachos (M.A.P.A, 1992).

As folhas estão mais suscetíveis ao ataque deste fungo durante a fase ativa de crescimento e a fase de maturação da vinha. Entre estas duas fases a videira é menos suscetível.

Nas folhas os sintomas manifestam-se pelo aparecimento de “manchas de óleo” na página superior e na página inferior de um enfeltrado de micélio branco nas zonas coincidentes com essas manchas (Fig.17). Nas castas tintas as folhas tomam uma coloração avermelhada (Bayer, 2001).



Figura 17 - Folha com sintomas de míldio. Adapt. de <http://infoagro.cothn.pt/portal>

Esta doença, durante a floração, provoca a destruição das inflorescências. Nos cachos (Fig.18), nos bagos e na ráquis pode ocorrer a presença de micélios



Figura 18 – Cacho com sintomas de míldio. Adapt. de http://infoagro.cothn.pt/pic/_curvatura_em_S_43b8fdd3ba145.jpg

e de frutificações de cor branca que irão evoluir para uma cor castanha, secar-se e quebrar ao mínimo contacto. Nos pâmpanos e sarmentos os ataques ocorrem precocemente e por vezes até antes do atempamento. Os tecidos afetados adquirem uma coloração castanha, os pâmpanos curvam-se em “S” e ficam cobertos de um enfeltrado de micélio branco (Bayer, 2001).

b) Oídio (*Uncinula necator* Schw & Burr.)

O oídio-da-videira existe na Europa desde 1845 e foi detetado em Portugal em 1852. O agente patogénico responsável por esta doença é um fungo ectoparasita obrigatório, cujo micélio se desenvolve à superfície dos órgãos verdes da videira (folhas, pâmpanos e cachos) e que pode causar grandes perdas de produção (Félix *et al.*, 2006).

Biologia

O oídio-da-videira na Primavera, quando o micélio alcança a maturação, inicia a sua reprodução assexuada com a formação de uma grande quantidade de conídios (M.A.P.A, 1992).

As cleistotecas rebentam e libertam os ascos com os ascósporos, que transportados pelo vento propagam-se e instalam-se sobre qualquer órgão verde da vinha (Fig.19). No caso de existirem condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento dos áscosporos, podem suceder-se as denominadas *infeções primárias* (M.A.P.A, 1992).

Estes focos, em função dos fatores climáticos e da sensibilidade das castas, aparecem desde o abrolhamento da videira e em diferentes graus de gravidade (Bayer, 2001). Caso as condições se mantenham favoráveis, a partir das *infeções primárias* e por intermédio de conídios, podem ocorrer *infeções secundárias* durante todo o ciclo da videira (M.A.P.A, 1992).

No final do ciclo vegetativo o desenvolvimento do fungo para, podendo conservar-se durante o Inverno, quer na forma de micélio, no interior dos gomos protegidos pelas escamas quer na forma de cleistotecas (forma assexuada) nos sarmentos (M.A.P.A, 1992).

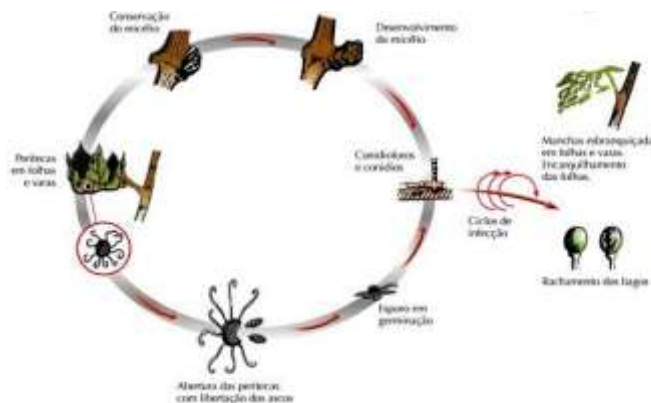


Figura 19 - Ciclo biológico do Oídio. (*Uncinula necator* Schw & Burr.). (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

São favoráveis ao desenvolvimento da doença dias nublados, com manhãs de elevada humidade relativa do ar (superior a 25%), seguidas de períodos de sol aberto e com temperaturas entre os 20°C e os 27°C. É de realçar que este fungo não necessita de água para germinar, sendo suficiente a existência de humidade do ar para que ocorram as infeções (Félix *et al.*, 2006).

Para além dos fatores climáticos acima referidos, os sistemas de condução que favoreçam o vigor excessivo da videira, porta enxertos vigorosos e castas sensíveis, podem também influenciar a instalação e severidade da doença (Bayer, 2001).

Sintomas e estragos

O oídio-da-videira pode atacar todos os órgãos verdes da planta. Nas folhas (Fig.20) os sintomas podem aparecer quer na página inferior, quer na superior, uma vez que em ambos os casos pode observar-se a presença de um polvilhado branco - acinzentado que pode limitar-se a algumas zonas da folha ou cobri-la por completo (M.A.P.A, 1992).



Figura 20 - Folha com sintomas de Oídio.
Adapt. de <http://infoagro.cothn.pt/portal>

Na altura da poda as varas apresentam uma cor branca com manchas castanhas típicas. No final do ciclo da videira pode ser possível observar a presença de cleistotecas nas folhas, nos cachos e nas varas (Bayer, 2001).



Figura 21 - Cacho com sintomas de Oídio.
Adapt. de <http://infoagro.cothn.pt/portal>

Os ataques mais fortes ocorrem nos cachos (Fig.21), uma vez que estes ficam cobertos por um micélio espesso, podendo fendilhar e/ou suberizar ou até mesmo parar o seu crescimento. Com ataques fortes também podem surgir malformações dos sarmentos e consequentemente a diminuição da acumulação de reservas nos gomos (M.A.P.A, 1992).

Os estragos provocados por esta doença podem ser de dois tipos: diretos ou indiretos. Os estragos diretos dizem respeito à quantidade e qualidade do desenvolvimento vegetativo da videira, enquanto os estragos indiretos favorecem a penetração do fungo causador da doença podridão cinzenta (M.A.P.A, 1992).

c) Podridão cinzenta (*Botrytis cinerea* Pers.)

Do fungo causador desta doença *Botrytis fuckeliana*, (forma imperfeita) só *Botrytis cinerea* Pers., (forma perfeita) é observada na videira. A podridão-cinzenta pode atacar os órgãos da videira, quer na sua forma parasítica quer na saprofítica (Félix *et al.*, 2006). Este fungo, segundo Bayer (2001), é uma das principais causas da baixa de rendimento e alteração de qualidade da produção.

Biologia

Este fungo conserva-se durante o Inverno, na maioria dos casos, sob a forma de esclerotos (Fig.22). Estas estruturas formam manchas negras sobre os sarmentos e são mais abundantes na sua extremidade (M.A.P.A, 1992).

Na Primavera, com condições de humidade e temperatura favoráveis, os esclerotos e o micélio hibernante originam conídios que são disseminados pela chuva e pelo vento e que posteriormente germinarão e contaminarão os órgãos verdes da vinha, caso estes encontrem-se molhados (M.A.P.A, 1992).

Segundo Bayer (2001), a temperatura óptima de germinação dos conídios, em presença de água, é de 18°C conseguindo manter o seu poder germinativo durante 30 dias, aproximadamente.

Os conídios ao germinarem produzem um tubo germinativo que pode penetrar os tecidos vegetais diretamente ou através de feridas causadas por outros fungos, como o míldio e o oídio, por pragas, por fatores climáticos ou por ação da poda (Bayer, 2001)

De acordo com M.A.P.A (1992), os conídios quando germinam dentro do órgão atacado produzem um micélio que, depois de destruir o tecido parasitado, sai para o exterior. No início apresentam uma cor branca, mas ao fim de poucos dias adquirem uma cor cinzenta muito característica desta doença.

Os conídios produzem nuvens de contaminação ao longo de todo o período vegetativo da videira. Quando se aproxima o Outono o fungo inicia a formação dos seus órgãos de conservação, os esclerotos (M.A.P.A, 1992).

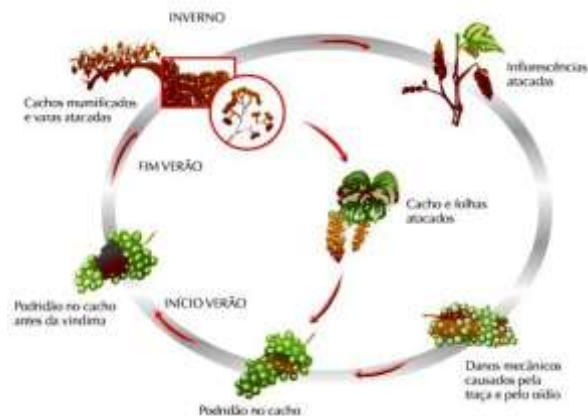


Figura 22 - Ciclo biológico da *Botrytis cinerea* Pers. (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

Sintomas e estragos

Como já foi referido, esta doença afeta principalmente os cachos, no entanto as restantes partes verdes da videira não estão isentas de ataques.

As folhas atacadas apresentam manchas vermelho-acastanhadas, difusas, na periferia do limbo, com aspeto de queimaduras e na presença de um tempo chuvoso ou de elevada humidade evidenciam a presença do micélio e dos conídios do fungo. No entanto, os ataques desta doença sobre as folhas não são considerados graves (Bayer, 2001).

Ataques fortes desta doença podem provocar a perda de alguns órgãos mais jovens, com a conseqüente diminuição da produção, bem como levar a que alguns gomos da base dos sarmentos não abrolem no ano seguinte (M.A.P.A, 1992).

No final do Verão, as varas atacadas ficam sem a sua consistência normal, com uma cor branca e cobertas de formações negras, os esclerotos (Bayer, 2001).

Os cachos são sensíveis a esta doença durante todo o seu desenvolvimento. Durante a floração e alimpa a podridão cinzenta pode viver sobre os restos de pólen, causando por isso problemas no vingamento. À medida que os bagos se desenvolvem, o micélio pode permanecer no seu interior e assim que as condições climáticas se tornam favoráveis surgem manchas castanhas cobertas de micélio acinzentado típico (Fig.23) (Bayer, 2001).

Os ataques nos períodos floração e alimpa, fecho dos cachos e pintor, até à vindima, são os que causam maiores estragos diretos e indiretos à produção, mais concretamente através da diminuição dos teores de açúcar, formação de odores indesejáveis e oxidação do mosto (Bayer, 2001).



Figura 23- Cacho com sintomas de podridão cinzenta.
Adapt. de <http://infoagro.cothn.pt/portal>

d) Escoriose (*Phomopsis viticola* Sacc.)

Esta doença foi registada pela primeira vez na Europa em 1961. É especialmente destrutiva em regiões onde as condições climáticas, posteriores à rebentação da vinha, mantêm os gomos molhados pela água das chuvas durante vários dias (Bayer, 2001). Segundo este autor, a enxertia de varas doentes e a poda são apontadas como as principais causas da propagação desta doença.

Biologia

O fungo responsável pela escoriose hiberna sob a forma de picnídios, estruturas localizadas na casca dos sarmentos. Em condições de grande humidade, nomeadamente, chuvas, água do “choro da videira”, os picnídios emitem cirros brancos, gelatinosos e cheios de esporos, que podem penetrar facilmente nos órgãos herbáceos da videira.

As *infecções primárias* são favorecidas pelo tempo fresco e chuvoso, mostrando-se a presença de água essencial, mas não indispensável, à

germinação dos picnidísporos que ocorre quando os pâmpanos têm entre 2 a 25 cm (Bayer, 2001).

Após um período de incubação compreendido entre 1 a 3 semanas, na dependência da temperatura, aparecem os primeiros sintomas da doença sobre os entrenós da base dos pâmpanos. O micélio deste fungo desenvolve-se na superfície dos rebentos jovens avançando com o seu crescimento (M.A.P.A, 1992).

Durante o Verão esta doença continua a evoluir sobre os sarmentos herbáceos e a contaminar os gomos formados, contribuindo para uma observação mais facilitada dos seus sintomas. No Outono começam a formar-se os picnídios e o micélio começa a ser mais evidente sobre os sarmentos, devido ao seu branqueamento típico (Fig.24).

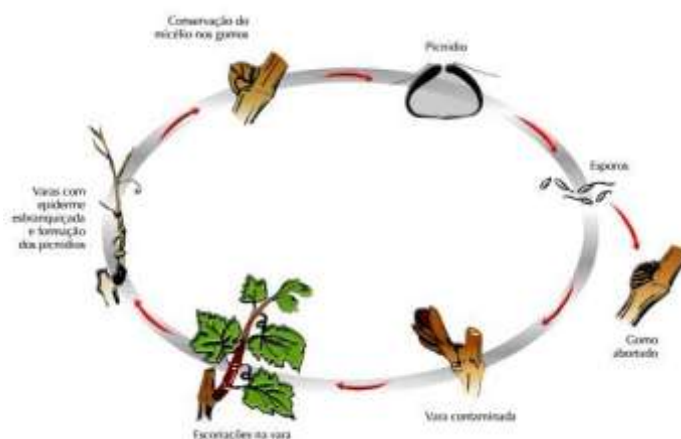


Figura 24 - Ciclo biológico da Escoriose (*Phomopsis viticola* Sacc.) (Adapt. de <http://www.sapecagro.pt>)

A ausência de sintomas visíveis deste fungo sobre os sarmentos não significa o seu desaparecimento, uma vez que este consegue manter-se sobre a madeira e nas gemas deixadas pela poda sob a forma de micélio (M.A.P.A, 1992).

Sintomas e estragos

Na Primavera este fungo é facilmente identificável pelo aparecimento de pequenas lesões negras, arredondadas ou lineares, mais ou menos profundas

nos entrenós da base dos pâmpanos. As folhas e os cachos também podem evidenciar sintomas idênticos (M.A.P.A, 1992).

Nas folhas observam-se pontuações negras com uma aurícula amarela que pode ser confundida com sintomas de acariose. No Verão, pela evolução dessas lesões, surgem necroses acastanhadas, estriadas ou fusiformes, mais ou menos profundas (Bayer, 2001).

No Outono e na altura da poda é possível observar um branqueamento cortical dos sarmentos a partir da base e numerosos picnídios de cor negra. Os gomos basais morrem e a base dos sarmentos pode apresentar-se fendilhada (Fig.25) (Bayer, 2001).

Os estragos provocados por este fungo são variáveis e importantes porque numerosos gomos das cepas são invadidos por este fungo e na Primavera seguinte não abroham. O estrangulamento produzido nos gomos pela doença origina rebentos frágeis, podendo estes quebrar por acção do vento (M.A.P.A, 1992).



Figura 25 – Sarmento com sintomas de Escriose. Adapt. de <http://infoagro.cothn.pt/portal>

e) Vírus e fitoplasmas

As doenças causadas por vírus podem provocar diversos danos, nomeadamente, desavinho, bagoínha, incompatibilidade na enxertia, diminuição de vigor e da longevidade das cepas, bem como a redução dos teores de açúcar. Os vírus tem uma sintomatologia mais ou menos particular e a partir da qual muitas vezes não é possível, por si só, identificar o agente causal.

A sua penetração na videira, como nas plantas em geral, é feita através de vetores, nomeadamente, afídeos, nematodes, cochonilhas, ou por ação do próprio homem durante a poda e a enxertia.

1.2 O Vinho

Segundo dados arqueológicos, a mais antiga produção de vinho teve lugar em vários locais da Geórgia, Irão e China entre 6.000 e 5.000 a.C. (Berkowitz, 1996; Stone Pages, 2011).

Já na Península Ibérica, mais concretamente no vale do Tejo e no vale do Sado, a plantação de vinha ocorreu pela primeira vez cerca de 2.000 a.C. pelos Tartessos, seguindo-se a estes os Fenícios, no século X a.C., com a introdução de novas castas e mais tarde os Gregos e os Romanos, nos séculos VII a.C. e II a.C., com o desenvolvimento da cultura e dos métodos de vinificação (Portugal Web, 2010).

Com a fundação de Portugal, o vinho tornou-se no produto mais exportado. No entanto, foi na segunda metade do século XIV e nos séculos XV e XVI, com as descobertas portuguesas, que se registou um grande aumento das exportações. Em 1756, devido à fama do vinho do Porto e no sentido de regular o comércio e a produção da região, foi criada a primeira região demarcada do mundo, mais concretamente a região Alto Douro.

No princípio do século XX várias regiões vinícolas foram demarcadas e em 1986 as regiões vinícolas foram redefinidas e novas foram criadas depois da adesão portuguesa à União Europeia (Portugal Web, 2010).

1.2.1 Maturação da uva

A maturação, segundo Cardoso (2007), é a fase da videira que se segue à paragem do crescimento dos órgãos vegetativos, nomeadamente, sarmentos, folhas e engaço. É traduzida pelo aumento do peso e volume do bago, que muda de aspeto, consistência e sofre transformações importantes na sua composição química.

De forma a acompanhar as transformações referidas e com o intuito de obter vinhos de qualidade, realiza-se o denominado controlo de maturação.

Este controlo pretende conhecer a composição físico-química da uva ao longo do período que antecede a vindima e baseia-se essencialmente na colheita de bagos individuais, seguida da sua pesagem e análise físico-química (Cardoso, 2007).

Contrariamente ao modelo ideal de maturação, nem sempre o crescimento dos órgãos vegetativos para na fase do pintor. São exemplo as videiras vigorosas, que continuam a utilizar glúcidos para o crescimento desses órgãos, em detrimento dos bagos e assim provocar um atraso na maturação (Cardoso, 2007).

1.2.2 A fermentação alcoólica e as leveduras de interesse enológico

Desde os tempos mais remotos, que o homem se impressionou e avançou sucessivas explicações para o fenómeno da fermentação alcoólica. Este fenómeno é responsável pela transformação do açúcar em álcool etílico, com a libertação de dióxido de carbono e energia sob a forma de calor (Cardoso, 2007; Navarre, 2008).

Em 1860, Pasteur confirmou a existência de diversos produtos secundários da fermentação alcoólica e considerou as leveduras como agentes envolvidos na mesma (Cardoso, 2007). As leveduras são fungos que se agrupam principalmente no grupo *Ascomycotina* e foram descobertas por Pasteur no decorrer das suas investigações sobre a fermentação alcoólica (Navarre, 2008).

Encontram-se nos solos, nos depósitos de fermentação, na adega e na uva, mais concretamente na película do bago maduro, retidas pela pruína, sendo disseminadas no meio ambiente por insetos, sobretudo pelas moscas drosófilas (Cardoso, 2007; Navarre, 2008).

Segundo Cardoso (2007), a população de leveduras existentes nas uvas aumenta com o final da maturação sendo essencialmente constituída por leveduras apiculadas (*Kloeckera apiculata*) e oxidativas (*Rhodotorula*), enquanto

as principais responsáveis pela fermentação alcoólica (*Saccharomyces cerevisiae*) encontram-se em menor quantidade.

Numa fermentação espontânea, inicialmente predominam as leveduras apiculadas, caracterizadas por serem sensíveis ao etanol e ao dióxido de enxofre. Assim que é atingido o teor alcoólico de 3 a 4% estas leveduras dão lugar às leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, indicadas como muito resistentes ao etanol (Cardoso, 2007).

1.2.2.1 Fatores que condicionam a fermentação alcoólica

O desenvolvimento da fermentação alcoólica depende de numerosos fatores que podem ser controlados ou não pelo vinificador. Estes fatores atuam sobre as leveduras e conseqüentemente sobre a velocidade da fermentação alcoólica (Navarre, 2008).

Assumem especial importância, a temperatura, o oxigénio, o azoto, os fatores de sobrevivência das leveduras, bem como os activadores e os inibidores de fermentação (Cardoso, 2007; Navarre, 2008).

Segundo Cardoso (2007), as leveduras usadas em vinificação têm um ótimo térmico situado entre os 31 e os 33°C podendo neste intervalo completar uma geração num tempo mínimo. No entanto, segundo o mesmo autor, em termos tecnológicos a temperatura ideal pode afastar-se bastante destes valores. São exemplo as fermentações de vinhos brancos, rosados e alguns tintos, onde as temperaturas situam-se entre os 15 e os 18°C de forma a preservar os aromas frutados.

Temperaturas acima dos 30°C devem ser evitadas, pois conjugadas com outros fatores desfavoráveis, como um teor elevado de açúcar, podem originar dificuldades fermentativas. As leveduras têm uma temperatura letal compreendida entre os 50 e os 60°C. No entanto, segundo Navarre (2008), são bastante resistentes a temperaturas baixas, aproximadamente - 200°C, quando estão no estado de esporos.

Para um bom desenvolvimento, as leveduras necessitam de oxigénio e azoto assimilável, nomeadamente, azoto amoniacal e aminoácidos, de forma a promover a síntese de esteróis, que atuam sobre a permeabilidade das membranas celulares, bem como a biossíntese de proteínas celulares (Cardoso, 2007).

Um mosto carenciado de oxigénio e azoto assimilável origina fermentações mais lentas e incompletas, em comparação com um mosto que não o está. O momento de introdução no mosto, quer de oxigénio, quer de azoto assimilável, é extremamente importante, pois interessa fornecê-los às leveduras na fase de crescimento, mais concretamente ao segundo ou terceiro dia após o início da fermentação (Cardoso, 2007).

Na prática, no caso do oxigénio, as necessidades são satisfeitas através da repisa ou remontagem. Já em relação ao azoto assimilável, a sua carência é colmatada com a adição de hidrogenofosfato de amónio ou sulfato de amónio (Cardoso, 2007).

Segundo Cardoso (2007), os esteróis e os ácidos gordos de cadeia longa, entre outras substâncias em condições práticas da vinificação, designam-se por *fatores de sobrevivência*. Isto porque, apesar de não promoverem um crescimento celular mais rápido das leveduras, prolongam a sua atividade fermentativa.

Os *ativadores de fermentação* são substâncias orgânicas ativas em doses muito fracas e que estão para as leveduras como as vitaminas estão para os organismos superiores. Entre estes activadores, encontram-se, a riboflavina, a nicotinamida e a tiamina (Navarre, 2008). A tiamina, segundo Cardoso (2007), promove fermentações mais rápidas, o aumento da população de leveduras viáveis e a redução das combinações de SO₂.

Relativamente aos inibidores de fermentação, segundo Navarre (2008), distinguem-se dois grupos fundamentais, os narcóticos e os anti-sépticos. Os

narcóticos paralisam todas as funções das células e têm uma ação reversível, designadamente, os carbonetos, os álcoois superiores, o dióxido de carbono e os sais de amónio quaternários utilizados na desinfeção do material vínico.

Por outro lado, os anti-sépticos têm uma ação irreversível e podem favorecer ou matar a levedura. Neste grupo distinguem-se as substâncias fornecidas pelo vinificador durante a fermentação (anidrido sulfuroso e ácido sórbico), as fabricadas pelas leveduras (etanol, ésteres e ácidos gordos), as que existem de forma natural na uva, como por exemplo, açúcar e os taninos e por fim as que existem excecionalmente, isto é, substâncias sintetizadas pelos parasitas da videira, como a *Botryticine* produzida pela *Botrytis cinerea* e resíduos de produtos fitofarmacêuticos ou seus derivados (Navarre, 2008).

1.2.3 A fermentação malolática

A fermentação malolática consiste na decomposição do ácido málico em ácido láctico e dióxido de carbono por intermédio da enzima malolática presente nas bactérias lácticas, nomeadamente, *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Oenococcus*. Os principais fatores condicionantes da atividade malolática são: pH; SO₂ e temperatura (Cardoso, 2007).

Um pH abaixo de 3,2, tal como a presença de SO₂, exercem uma importante ação inibidora da atividade malolática. No caso do SO₂, a sua ação inibidora é tanto mais acentuada, quanto mais elevado for o seu teor (Cardoso, 2007).

Segundo Cardoso (2007), temperaturas abaixo de 18°C provocam um atraso na fermentação malolática, que em certos casos pode ser de alguns meses. Além dos fatores referidos, todos os processos de clarificação dos vinhos, ao reduzirem a população de bactérias, contribuem para dificultar a fermentação malolática (Cardoso, 2007).

A presença do ácido láctico, nos vinhos provenientes da fermentação malolática, leva a uma diminuição da acidez total, bem como da acidez sensorial (Cardoso, 2007).

1.2.4 Vinificação de vinhos brancos

O conceito de vinificação em branco engloba a transformação das uvas em vinhos brancos, podendo partir-se de uvas brancas ou de uvas tintas, minimizando-se, neste último caso a extração de matéria corante e outras substâncias fenólicas. De uma forma prática, na vinificação em tinto as operações de trasfega e prensagem seguem-se à fermentação, enquanto na vinificação em branco a separação por esgotamento e prensagem são precedentes (AESB, 2008).

A vinificação de vinhos brancos e rosados pode ser realizada por diversos processos, designadamente, “meia-curtimenta”, “bica aberta” e “maceração pelicular” (Cardoso, 2007).

A “meia-curtimenta” consiste em iniciar a fermentação na presença das partes sólidas. Neste processo, assim que a manta se eleva e se separa da fase líquida efetua-se a sua trasfega para outro recipiente, onde prosseguirá a fermentação. O bagaço residual é prensado ou misturado com nova massa esmagada.

Este processo de vinificação pode dar origem a vinhos demasiado corados e oxidáveis devido à excessiva extração de substâncias fenólicas. Em virtude deste processo originar vinhos de carácter grosseiro, com o decorrer dos tempos foi abandonado (Cardoso, 2007).

Segundo Cardoso (2007), a procura de vinhos mais ligeiros, nomeadamente, com menos cor e com aroma fino e delicado, fez com que se evitasse o contacto com as partes sólidas das uvas, através da extração e separação imediata do mosto, que desta forma irá fermentar em fase líquida. A

este processo dá-se o nome de “bica aberta” (Fig.26), devido ao facto do mosto extraído por pisa e/ou prensagem correr livremente pela bica do lagar.

Atualmente, devido à necessidade de extrair substâncias correlacionadas positivamente com a qualidade dos vinhos, alguns enólogos utilizam o processo de “maceração pelicular”. Este processo consiste numa maceração controlada, que até então pelo processo de “bica aberta” não era possível, ao mesmo tempo que se mantém em grau reduzido a extração de substâncias penalizadoras dessa qualidade em vinhos considerados magros e pouco persistentes (Cardoso, 2007).

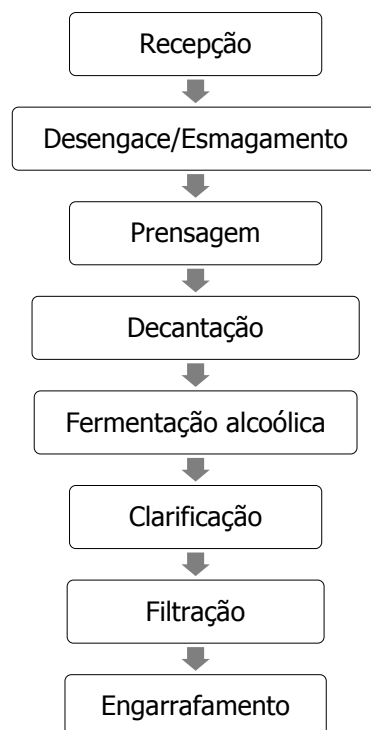


Figura 26 - Etapas gerais da produção de vinho branco pelo processo de “bica aberta”. (Adapt. de Cardoso, 2007).

Os vinhos brancos, além de poderem ser obtidos a partir de processos de vinificação diferentes, também são de diversos tipos e podem classificar-se quanto à sua riqueza em açúcar residual, em seco, meio seco, meio doce e doce. Alguns destes vinhos são apreciados pela sua frescura ou aroma frutado, outros por serem de guarda, ou até mesmo por serem tranquilos, perlados, espumantes ou efervescentes (Navarre, 2008).

De um modo geral, pode dizer-se que a elaboração de vinhos brancos é sempre mais delicada que a dos vinhos tintos, porque é feita a partir de uma matéria-prima mais sensível e origina produtos de constituição mais fraca e que resistem menos ao envelhecimento (Navarre, 2008).

CAPÍTULO II – CARACTERIZAÇÃO DA ZONA VITIVINÍCOLA DOS BISCOITOS

2.1 Localização geográfica

A zona vitivinícola dos Biscoitos está situada na freguesia dos Biscoitos (Fig.27), concelho da Praia da Vitória. Esta freguesia, situada no noroeste da ilha, mais concretamente entre as freguesias de Quatro Ribeiras e Altares, com uma extensão de 3 Km, foi fundada em 1568 e é uma das mais antigas da ilha Terceira.

Segundo o Decreto-Lei nº 17/94 de 25 de Janeiro, a área geográfica correspondente à Indicação de Proveniência Regulamentada (IPR) “Biscoitos” abrange a freguesia dos Biscoitos em áreas de altitude igual ou inferior a 100 m.



Figura 27 – Localização da freguesia dos Biscoitos na ilha Terceira. (Adapt. de Lopes *et al.*, 2009).

2.2 Características edafo-climáticas

As vinhas encontram-se na sua maioria instaladas em áreas relativamente jovens, formadas fundamentalmente por derrames lávicos e escórias vulcânicas, designados por “lagido” e “biscoito” (Madruga, 1996).

A vinha ocupa os solos com fraca aptidão cultural, sendo na sua maioria Litossolos e solos Litólicos, caracterizados por serem solos pouco espessos e com reduzida capacidade de retenção de humidade. Apesar de se tratar de solos muito incipientes, as covas onde se encontram plantadas as cepas

apresentam um teor relativamente elevado de matéria orgânica (Madruga, 1996).

O clima na Ilha Terceira, na sua generalidade, insere-se no padrão geral açoriano. É caracterizado por ser fortemente oceânico, de fraca amplitude térmica, elevada precipitação e humidade, no entanto, varia de forma significativa ao longo da Ilha. De forma particular, a zona vitivinícola dos Biscoitos é caracterizada por possuir um clima singular, fruto principalmente da influência dos fatores geográficos (Ermida, 2001).

2.3 Sistema cultural

Apesar de apresentarem algumas variantes em relação às diferentes Ilhas onde se cultiva a vinha, nomeadamente, Terceira, Pico e Graciosa, de uma forma geral as práticas culturais são muito semelhantes em todo o arquipélago dos Açores (Ermida, 2001).

As vinhas na zona vitivinícola dos Biscoitos são tradicionalmente divididas em parcelas, localmente chamadas de "tornas", e estas por sua vez divididas em "curraletas", pequenas áreas vedadas por um muro de pedra (Fig.28). Estas delimitações são feitas à base de muros de pedra e têm como função proteger a cultura do vento.



Figura 28 - Vinhas nos Biscoitos, ilha Terceira.
Adapt. de <http://commons.wikimedia.org/wiki>

As videiras são conduzidas em forma livre, com um tronco curto, aproximadamente, 20 a 30 cm, cujos braços, em número variável, se encontram distribuídos em todos os sentidos sobre o solo (Ermida, 2001).

As "curraletas" quando pedologicamente não são constituídas por Litossolos ou solos Litólicos, são normalmente cobertas com material pedregoso, cujo objetivo se prende não só com a arrumação da pedra, mas principalmente com a finalidade de proporcionar à videira um microclima mais favorável (Madruga, 1996).

CAPÍTULO III – PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS

3.1 Definição

Os produtos fitofarmacêuticos são definidos como as substâncias ativas e as preparações contendo uma ou mais destas substâncias que sejam apresentadas sob a forma em que são fornecidas ao utilizador e se destinem a:

- a)** proteger os vegetais ou os produtos vegetais de todos os organismos prejudiciais ou a impedir a sua ação, desde que essas substâncias ou preparações não estejam a seguir definidas de outro modo;
- b)** exercer uma ação sobre os processos vitais dos vegetais, com exceção das substâncias nutritivas, como por exemplo os reguladores de crescimento;
- c)** assegurar a conservação dos produtos vegetais, desde que tais substâncias ou preparações não sejam objeto de disposições comunitárias especiais relativas a conservantes;
- d)** destruir os vegetais indesejáveis;
- e)** destruir partes de vegetais e reduzir ou impedir o crescimento indesejável dos vegetais;
- f)** serem utilizados como adjuvantes.

Esta definição, abrangente e rigorosa, é adotada pela Diretiva 91/414/CEE do Conselho, de 15 de Julho, relativa à colocação de produtos fitofarmacêuticos no mercado, a qual foi transposta para a legislação nacional através do Decreto-Lei n.º 94/98, onde se adotam as normas técnicas de execução referentes à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado (Simões, 2005).

No entanto, há uma definição de produto fitofarmacêutico mais prática, simples e com largo uso, que os define como: produtos destinados à defesa das plantas e da produção agrícola, com exceção de adubos e corretivos. Na sua composição entra uma ou mais substâncias ativas responsáveis pela prevenção

ou controlo dos inimigos ou organismos nocivos e podem ter várias designações, consoante os inimigos que combatem (Simões, 2005).

3.2 Composição

Cada produto fitofarmacêutico tem na sua composição uma ou mais substâncias ativas (sa), que são o componente do produto fitofarmacêutico responsável pela sua atividade biológica e um conjunto variável de outras substâncias genericamente designadas por adjuvantes e as impurezas do processo de fabrico.

As substâncias adjuvantes (Quadro 1) não interferem com a substância ativa, tanto química como biologicamente, mas atribuem determinadas características e propriedades que são fundamentais ao conjunto, ou seja, ao produto formulado (pf), como a estabilidade, solubilidade, capacidade de suspensão, molhabilidade, poder absorvente, viscosidade, etc. (Amaro, 2003).

Quadro 1 - Exemplos de adjuvantes. (Adapt. de Simões, 2005).

Solventes ou Diluentes	Dissolvem as substâncias ativas noutras substâncias (como regra as substâncias ativas não são solúveis).
Tensioativos ou "surfatantes"	Têm por função a redução da tensão superficial e cumprir várias funções: <ul style="list-style-type: none"> a) Molhantes – favorecem a adesividade à superfície dos órgãos vegetais; b) Dispersantes – evitam a aglomeração das partículas; c) Emulsionantes – evitam a separação das fases aquosa e oleosa no caso das emulsões; d) Anti-espuma e outras – como anti-pó, adesivos, etc.
Cargas inertes	Reduzem a concentração da substância ativa e dão consistência, volume e forma física ao produto formulado.

3.3 Classificação

Existem diversos grupos de produtos fitofarmacêuticos (Quadro 2) que se designam de acordo com os inimigos que têm por fim combater (Oliveira & Henriques, 2011).

Cada um destes grupos possui uma designação básica que classifica-o consoante o seu objetivo. No entanto, dentro de cada tipo, os produtos são suscetíveis de se dividir de diversos modos, tendo por base alguns parâmetros comuns (Simões, 2005).

Quadro 2 – Tipos de produtos fitofarmacêuticos (Adapt. de Oliveira & Henriques, 2011).

Fungicidas	Combatem fungos
Inseticidas	Combatem insetos
Acaricidas	Combatem ácaros
Herbicidas	Combatem ervas infestantes
Nematodocida	Combatem nematodes
Moluscicidas	Combatem lesmas e caracóis
Rodenticidas	Combatem ratos
Algicidas	Combatem algas
Bactericidas	Combatem bactérias
Adjuvantes	Substâncias que se adicionam às caldas e lhes imprimem certas propriedades.

Segundo Leroux (2003), a nível prático, os fungicidas, os inseticidas e os herbicidas são os tipos de produtos fitossanitários mais representativos.

Neste trabalho abordar-se-á os fungicidas de forma mais pormenorizada, uma vez que é o tipo de produto fitossanitário mais utilizado em viticultura.

3.3.1 Fungicidas

a) Com base na origem ou no grupo químico

Tendo por base a sua origem, os fungicidas podem classificar-se em:

- **Inorgânicos** – onde se incluem os fungicidas com base em:
 - **cobre** de que são exemplos o oxiclureto e o sulfato de cobre;
 - **enxofre** nas formulações pó molhável e pó polvilhável.
- **Orgânicos (de síntese)** – onde está a maioria dos fungicidas homologados no nosso país.

b) Com base no seu posicionamento na superfície vegetal

- **de superfície (ou de contacto)** - aplicados na superfície das plantas, têm ação preventiva, impedem a germinação dos esporos

ou evitam a contaminação das plantas pelo fungo. (Ex: Produtos à base de cobre, ditiocarbamatos, ftalimidas);

- **penetrantes** - aplicados na superfície das plantas, atravessam a epiderme mas não são transportados no sistema vascular. Têm ação translaminar e alguma difusão lateral. (Ex: Produtos à base de cimoxanil);
- **sistêmicos** - aplicados na superfície das plantas, penetram na planta e são translocados no sistema vascular. Distribuem-se nos tecidos onde permanecem durante períodos variáveis e aí atuam sobre certos organismos. (Ex: Produtos à base de metalaxil);
- **mesostêmicos** - atuam na superfície das plantas, sendo absorvidos pela camada cerosa, a que se segue um movimento de redeposição por fase de vapor. Penetram nos tecidos e possuem ação translaminar. (Ex: Produtos à base de trifloxistrobina, zoxamida);

c) Com base na atuação no patogénio

- **preventivos ou protetores ou profiláticos** - impedem a germinação dos esporos e evitam a contaminação da planta pelo fungo;
- **curativos ou terapêuticos** - atuam após se ter dado a contaminação pelo fungo;
- **erradicantes ou anti-esporulantes** - destroem os esporos já formados e impedem a formação de novos esporos;

d) Com base no modo de ação

O modo de ação diz respeito à atuação fisiológica e bioquímica dos fungicidas no metabolismo celular do patogénio. O conhecimento destes mecanismos é fundamental para que se possam definir estratégias que evitem os fenómenos de resistência. Neste caso em particular, é necessário considerar os produtos “*multisite*” que oferecem maior segurança, em contraste com os específicos “*unisite*”.

Os processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos visam alterar:

- **a membrana celular** – os alvos são certas enzimas e provocam:
 - **perturbação da biossíntese do ergosterol**. (Ex: triazóis);
 - **alteração da permeabilidade e composição da membrana e inibição da respiração**. (Ex: dodina);
- **o núcleo** – os alvos são certas enzimas ou proteínas. (Ex: metalaxil);
- **a respiração** – os alvos são uma vez mais certas enzimas e provocam:
 - inibição do transporte de electrões na mitocôndria. (Ex: azoxistrobina e cresoxime-metilo);
- **a indução de resistência das plantas** – provoca a:
 - inibição da biossíntese da melanina das paredes dos apressórios. (Ex: triciclazol);
- **os modos de acção desconhecidos ou múltiplos** – onde se incluem:
 - a respiração "*multisite*" e a inibição da germinação dos esporos. (Ex: cobre, enxofre e ditiocarbamatos);
 - a inibição da germinação dos esporos e o alongamento das hifas do micélio. (Ex: iprodiona);
 - a inibição da biossíntese dos ácidos nucleicos, lípidos, ácidos aminados, modificador da permeabilidade celular e estímulo das defesas naturais. (Ex. cimoxanil);
 - inibição do alongamento do tubo germinativo das hifas. (Ex: ciprodinil, pirimetanil e fenehexamida);
 - inibição da germinação e formação de apressórios. (Ex: quinoxifena);
 - efeito antifosfato e defesas naturais. (Ex: fosetil).

(Amaro, 2003; Oliveira & Henriques, 2011); (Leroux *et al.*, 2002; Michel, 1999) (cit. por Simões, 2005).

3.3.2 Inseticidas

a) Com base na origem ou no grupo químico

Tendo por base a sua origem os inseticidas podem classificar-se em:

- Inorgânicos;
- Orgânicos;

b) Com base na via de penetração

- Ingestão;
- Contacto;
- Penetrantes;
- Sistémicos;
- Fumigantes;
- Residual;

c) Com base na atuação na praga

d) Com base no modo de ação

Os processos fisiológicos e bioquímicos possuem ação sobre:

- Cutícula;
- Sistema respiratório;
- Sistema nervoso;
- Ação de hormonas no desenvolvimento;
- Aparelho digestivo (Ex: infeção do trato intestinal com *Bacillus thuringiensis*);
- Alterações no comportamento (Ex: inibição da alimentação).

(Amaro, 2003; Oliveira & Henriques, 2011); (Delorme *et al.*, 2002) (cit. por Simões, 2005).

3.3.3 Herbicidas

a) Com base na origem ou no grupo químico

- Inorgânicos;

- Orgânicos:

b) Com base na via de penetração

- Contacto;
- Sistêmico;
- Residual;

c) Em relação à cultura

- Pré-sementeira ou pré-transplante;
- Pré-emergência;
- Pós-emergência.

d) Com base no modo de ação

- Fotossíntese;
- Divisão e desenvolvimento celular;
- Biossíntese de aminoácidos e lípidos.

(Amaro, 2003; Oliveira & Henriques, 2011); (Gaillardon *et al.*, 2001) (cit. por Simões, 2005).

3.4 Resíduos de produtos fitofarmacêuticos

Em consequência da aplicação dos produtos fitofarmacêuticos para combater os inimigos de uma cultura agrícola, permanecem no produto agrícola, mais concretamente na altura da colheita, resíduos que podem vir a ser consumidos na alimentação humana ou animal (Amaro, 2003).

Por resíduo de produtos fitofarmacêuticos, segundo o Decreto-Lei nº 341/98, de 4 de Novembro (1998), entende-se uma ou mais substâncias presentes no interior ou à superfície dos produtos agrícolas e resultantes da utilização de produtos fitofarmacêuticos, bem como os respetivos metabolitos e produtos de degradação ou reação.

Alguns produtos fitofarmacêuticos, que pela natureza da sua utilização, pela época da sua aplicação, que na maior parte dos casos ocorre ainda

bastante distante da colheita, ou por não contactarem com a cultura, não provocam normalmente a existência de resíduos (Amaro, 2003).

O nível de resíduos na altura da colheita é condicionado por fatores que afetam o depósito nas folhas ou nos frutos após a aplicação e que condicionam a degradação e conseqüente redução de resíduos da substância ativa ou dos seus metabolitos até à colheita (Amaro, 2003).

Entre os fatores relativos ao depósito e à degradação dos resíduos, destacam-se a natureza da substância ativa e dos seus metabolitos; o tipo de formulação; a dose ou concentração e a técnica e material de aplicação; as características da planta e do conseqüente produto agrícola a consumir, como por exemplo, tubérculos de batata, folhas de alface, laranjas, pêras, uvas e grãos de trigo; a natureza do inimigo da cultura, que condiciona o número de tratamentos, em particular, o intervalo de tempo entre o último tratamento e a colheita; as condições climatéricas, com realce para a precipitação, a humidade relativa, a temperatura, a exposição direta ao Sol e o vento, bem como as características do solo no caso do seu tratamento (Ferreira, 1991) (cit. por Amaro, 2003).

As boas práticas agrícolas são definidas em cada país e para as diversas culturas através do conhecimento acumulado e da evidência de ensaios de campo adequados. Pretendem esclarecer as condições que asseguram a eficácia do produto fitofarmacêutico, a redução ao mínimo do seu uso e a defesa do Homem e do ambiente (Ferreira, 1991) (cit. por Amaro, 2003).

Desta forma, é possível determinar, através dos ensaios referidos, de acordo com as boas práticas agrícolas de cada região, para cada cultura, dose e número de tratamentos a realizar com o produto fitofarmacêutico, os resíduos presentes no produto agrícola na altura da colheita (Ferreira, 1991) (cit. por Amaro, 2003).

De acordo com Ferreira (1991) (cit. por Amaro, 2003), procura-se estabelecer o máximo uso autorizado, correspondente:

- à dose máxima, se for aceite um intervalo de doses;
- ao número máximo de tratamentos devidamente justificado;
- aos tratamentos tardios permitidos pelo intervalo de segurança (IS).

Os estudos de degradação de resíduos, efetuados de acordo com as amostragens e métodos de análise adequados, permitem esclarecer o nível de resíduos na altura da colheita.

A avaliação dos riscos de exposição crónica aos resíduos nos alimentos é efetuada através do cálculo do produto fitofarmacêutico ingerido, segundo a equação:

$$\text{Produto fitofarmacêutico ingerido} = \sum \text{da concentração dos resíduos do produto fitofarmacêutico nos alimentos} \times \text{peso dos alimentos consumidos (média diária)}$$

Quando se efetua a avaliação do risco crónico, antes da adoção do Limite Máximo de Resíduos (LMR), as concentrações que se usam na fórmula são os próprios LMR necessários à prática fitossanitária, obtendo-se assim a Ingestão Máxima Diária Teórica (IMDT). Este valor é sempre sobreavaliado por se considerar que todo o produto agrícola ingerido foi tratado com o produto fitofarmacêutico em causa e que o resíduo presente é sempre idêntico ao LMR, o que não acontece na realidade (Santos, 2003) (cit. por Amaro, 2003).

3.4.1 Limite Máximo de Resíduos

A utilização de produtos fitofarmacêuticos na proteção das culturas pode gerar resíduos nos produtos agrícolas no momento da colheita, após o tratamento em armazém, ou nos produtos transformados, devendo a concentração desses resíduos, quando existentes, ser aceitável para os consumidores.

A avaliação do risco que o uso do produto fitofarmacêutico pode acarretar para os consumidores é realizada pela EFSA (European Food Safety Authority),

antes do estabelecimento comunitário do respetivo LMR (Oliveira & Henriques, 2011).

A autorização de uso é condicionada pelas condições de utilização inscritas no rótulo entre as quais se salientam, por serem determinantes para a concentração dos resíduos, as seguintes: doses de utilização; intervalo de segurança (IS); bem como o número de aplicações e o intervalo entre estas.

Estas condições correspondem, sempre que possível, às necessidades da prática fitossanitária e devem ser rigorosamente respeitadas para que a concentração de resíduo no momento da colheita não ultrapasse o valor que serviu de base à avaliação de risco e que foi considerado como aceitável o LMR (Oliveira & Henriques, 2011).

O LMR é definido para cada binómio produto agrícola/substância ativa e encontra-se publicado em legislação Comunitária, devendo ser respeitado pelos agentes económicos envolvidos no processo de produção e comercialização de produtos agrícolas (Oliveira & Henriques, 2011).

De acordo com o Decreto-Lei 341/98, de 4 de Novembro de 1998, o limite máximo de resíduos (LMR) define a quantidade máxima de resíduo de um produto fitofarmacêutico, expressa em miligramas por quilo (mg/kg), permitida por lei nos produtos agrícolas de origem vegetal destinados à alimentação humana ou ocasionalmente à alimentação animal, bem como nos mesmos produtos secados, transformados ou incorporados em alimentos compostos (Oliveira & Henriques, 2011).

Uma das condições de utilização referidas anteriormente é o **Intervalo de Segurança (IS)**. Este diz respeito ao período de tempo mínimo que deve decorrer entre a última aplicação do produto fitofarmacêutico na cultura e a colheita do correspondente produto agrícola de modo a garantir que, na altura da colheita, a concentração de resíduos neste não coloque em risco a saúde do consumidor (Oliveira & Henriques, 2011).

Já para produtos agrícolas armazenados, o Intervalo de Segurança é o período de tempo mínimo que deve decorrer entre o tratamento em armazém e o consumo ou venda desse produto, de modo a garantir, que na altura do consumo ou venda, a concentração de resíduos no produto agrícola tratado não ponha em risco a saúde do consumidor (Oliveira & Henriques, 2011).

O Regulamento (CE) n.º 396/2005, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Fevereiro, veio definir o quadro legal para o estabelecimento de limites máximos de resíduos de produtos fitofarmacêuticos no interior ou à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, discriminados no seu Anexo I (Regulamento CE n.º 178/2006, da Comissão, de 1 de Fevereiro de 2006) (Oliveira & Henriques, 2011).

Os Anexos II, III e IV do Regulamento (CE) n.º 396/2005, de 23 de Fevereiro foram publicados pelos Regulamentos (CE) n.º 149/2008, da Comissão, de 29 de Janeiro e n.º 839/2008 de 31 de Julho. Destes diplomas constam os limites máximos de resíduos harmonizados, até 1 de Setembro de 2008 (anexos II e III) e as substâncias ativas para as quais não é necessário estabelecer limite máximo de resíduos (anexo IV). As alterações nestes Anexos são de igual forma publicadas a nível Comunitário através de Regulamentos (Oliveira & Henriques, 2011).

Para as substâncias ativas de produtos fitofarmacêuticos sem limite máximo de resíduos na legislação (salvo algumas situações de exceção devidamente justificadas, especialmente, substâncias ativas isentas de limite máximo de resíduos incluídas no anexo IV) não é permitido em produtos agrícolas um resíduo de valor superior a 0,01 mg/kg, a não ser que sejam fixados outros limites máximos de resíduos, tendo em conta os métodos analíticos de rotina disponíveis (Oliveira & Henriques, 2011).

3.5 Resíduos de produtos fitofarmacêuticos em produtos vitivinícolas

A qualidade de um vinho define-se como o conjunto de propriedades que o tornam agradável e desejado para o consumidor. Depende, além das suas características organoléticas, do seu valor nutricional, do seu estado sanitário e autenticidade, isto é, segurança alimentar, a qual é traduzida pela ausência de elementos tóxicos em doses perigosas para a saúde do consumidor (Hitos, 1997; Torre-Boronat, 1997).

De um modo geral, os problemas toxicológicos relacionados com a presença de substâncias indesejáveis no vinho têm origem em compostos que são utilizados pelos viticultores e enólogos durante as fases de produção, incluindo coadjuvantes tecnológicos e aditivos alimentares permitidos, compostos endógenos que se formam durante a fermentação e envelhecimento do vinho e que podem ter uma incidência negativa sobre a saúde humana, nomeadamente, o carbamato de etilo e as aminas biogénicas (Tomera, 1999; Lonvaud-Funel, 1998) (Mafra, 1999) (cit. por Correia, 2003) e contaminantes exógenos, nomeadamente, substâncias provenientes de materiais em contacto, como os plásticos (Hitos, 1997; Torre-Boronat, 1997; Tomera, 1999) micotoxinas (Festas *et al.*, 2000) (cit. por Correia, 2003), metais pesados e resíduos de produtos fitofarmacêuticos (Angelova *et al.*, 1997).

Os primeiros trabalhos sobre a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos em produtos vitivinícolas foram realizados por Cantarelli *et al.* (1959) (cit. por Abreu, 2007) e consistiram na análise de diversas amostras onde foram encontrados resíduos do ditiocarbamato zinebe em uvas.

Através destes autores e de outros investigadores, a pesquisa de resíduos de produtos fitofarmacêuticos em vinhos adquiriu nos últimos anos uma enorme importância, revelando-se um parâmetro essencial na avaliação da sua qualidade e potencial de comercialização.

A utilização de produtos fitofarmacêuticos em viticultura tem por objetivo a melhoria quantitativa e qualitativa da produção. No entanto, a sua utilização pode apresentar como inconvenientes a contaminação ambiental, o desenvolvimento de fenómenos de resistência, a fitotoxicidade, o aumento desnecessário dos custos e o excesso de resíduos no fruto à data da colheita, com uma influência negativa sobre a fermentação dos mostos e a qualidade final do vinho (Becerra *et al.*, 1997; Cabras *et al.*, 1999; Cantagrel *et al.*, 1990; López *et al.*, 1998). Desta forma, a utilização consciente dos produtos fitofarmacêuticos implica o conhecimento e a avaliação criteriosa dos riscos de forma a minimizar os efeitos negativos no utilizador, no consumidor e no meio ambiente (Grinbaum, 1999).

Como resultado de aplicações mal efetuadas, especialmente quando se desrespeitam os intervalos de segurança e as doses máximas de tratamento, é possível encontrar resíduos indesejáveis de produtos fitofarmacêuticos em concentrações que variam entre alguns mg/L até várias centenas de mg/L, mesmo após a fermentação e em vinhos envelhecidos, devido à persistência de alguns compostos (Urruty *et al.*, 1997).

A presença de resíduos de produtos fitossanitários nos vinhos depende de um conjunto variado de fatores, dos quais, a natureza da molécula ativa, as condições de aplicação (as doses, o número de tratamentos, a época de intervenção e o método de aplicação), o intervalo de tempo decorrido entre o último tratamento e a vindima, o ambiente bioclimático e a sua relação com a natureza físico-química das moléculas (traduzida pela sua volatilidade, solubilidade em água e em álcool, lipossolubilidade e estabilidade), o tipo de formulação e a tecnologia enológica utilizada, bem como o tipo de vinificação, a temperatura de fermentação e as tecnologias de clarificação dos mostos e dos vinhos (Bazan, 1989) (cit. por Correia 2003).

Assim, a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos pode provocar:

- atraso ou paragem da fermentação, especialmente no caso dos fungicidas, dada a semelhança morfológica entre os organismos alvo e as leveduras (Cantagrel *et al.*, 1990; Hitos, 1997); (Viviani-Nauer *et al.*, 1997) (cit. por Correia 2003);
- defeitos organoléticos nos vinhos, como a presença de compostos responsáveis por maus aromas e sabores, provenientes da degradação de compostos sulfurados, como os ditiocarbamatos. Por vezes podem dever-se a solventes ou coadjuvantes usados na formulação do produto e não ao princípio ativo em si mesmo (Cantagrel *et al.*, 1990; Hitos, 1997);
- restrições ao livre comércio internacional (Cantagrel *et al.*, 1990; Gishen, 1997);
- potenciais efeitos tóxicos sobre a saúde humana quando em concentrações superiores aos limites máximos de resíduos.

3.5.1 Problemas enológicos associados à presença de resíduos

A presença de quantidades residuais de produtos fitofarmacêuticos pode provocar danos sobre a fermentação e as características organoléticas dos vinhos.

Sobre a fermentação, podem observar-se os seguintes danos: modificação seletiva do equilíbrio da flora levuriana, prejudicando espécies tipicamente fermentativas como a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces bayanus* relativamente a outras menos úteis como a *Kloeckera apiculata* e a *Hanseniaspora uvarum* devido à diferente composição das suas paredes celulares.

Esta situação ocorre quando se utilizam produtos fitofarmacêuticos que atuam por inibição da biossíntese dos esteróis (compostos constituintes das paredes celulares das leveduras, importantes para a realização de trocas gasosas em meios anaeróbios); alteração do equilíbrio da flora bacteriana (bactérias lácticas e acéticas), geralmente mais resistente e favorecida com o

enfraquecimento das leveduras, e em casos mais extremos, atrasos no arranque da fermentação ou provocando a sua paragem prematura, especialmente no caso de fermentações espontâneas (Becerra *et al.*, 1997; Calhella, *et al.*, 2005; Grinbaum, 1999; López *et al.*, 1998); (San Romão *et al.*, 1982) (cit. por Abreu 2007) conduzindo a alterações da composição final do vinho, provocando diminuição dos álcoois superiores; aumento dos açúcares residuais e da acidez volátil (Cantagrel *et al.*, 1990; Grinbaum, 1999; López *et al.*, 1998; Sarichvili *et al.*, 1997); (Fort *et al.*, 1999) (cit. por Correia 2003).

Aquando da realização de diferentes estudos sobre a influência de vários resíduos de produtos fitofarmacêuticos no equilíbrio da flora levuriana, destacaram-se algumas substâncias inibidoras do seu crescimento como: dicofol, dinocape, procimidona, triadimefão, triflurina, manebe, zinebe, mancozebe, benomil, captana, folpete, iprodiona, viclozolina e diclofluanida. Já como ligeiramente tóxicas foram referenciadas: oxiclreto de cobre, diurão e ácido 2,2-dicloropropanóico. Por outro lado, existem os produtos fitofarmacêuticos que não afetam o crescimento das leveduras como: glifosato, simazina, oxadiazão, terbutilazina, terbumetão, cobre, carbendazime, metiltiofanato, tiobendazol, propinebe, metirame-zinco, metalaxil e quinoxifena (Becerra *et al.*, 1997); (Cantagrel *et al.*, 1993; Conner, 1988) (cit. por Abreu 2007).

Na fermentação malolática, a presença de resíduos de mancozebe, metirame, benomil, iprodiona e vinclozolina provoca a inibição da atividade de bactérias lácticas, mais concretamente da estirpe *Oenococcus oeni*, favorecendo a atividade de bactérias acéticas (Cabras *et al.*, 1999); (San Romão *et al.*, 1982) (cit. por Abreu 2007). Segundo Cabras *et al.*, (1994) (cit. por Abreu 2007), as bactérias *Leuconostoc oenos* reduzem a sua atividade na presença de resíduos de diclofluanida, enquanto os resíduos desta substância são degradados por ação das bactérias *Lactobacillus plantarum*.

Os efeitos dos produtos fitofarmacêuticos sobre as características organolépticas dos vinhos podem resultar dos sabores e odores característicos dos mesmos, dos desequilíbrios da flora microbiana já referidos, bem como de possíveis reações químicas entre esses produtos e os diversos constituintes do vinho (Gribaum, 1999); (Oliva *et al.*, 1999) (cit. por Abreu 2007).

Além dos defeitos organolépticos, resultantes da presença de resíduos das substâncias ativas propriamente ditas, Natera (1997) associa outros defeitos à presença de solventes, tensioativos e adjuvantes que fazem parte do produto formulado.

A maior parte da investigação realizada nesta área diz respeito aos produtos fitofarmacêuticos que podem alterar o metabolismo das leveduras, provocando o aparecimento de odores a compostos de enxofre ou a produtos que contêm enxofre, como por exemplo ditiocarbamatos, metomil e acefato (Natera, 1997); (Cantagrel *et al.*, 1993) (cit. por Abreu 2007).

No entanto, é importante considerar que este tipo de odores a enxofre, em alguns casos, pode não resultar apenas da presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e vinhos, mas também de anomalias fermentativas (Colagrandre *et al.*, 1988) (cit. por Abreu 2007). Segundo estes autores a temperatura de fermentação, a presença de luz, a composição dos mostos, as estirpes de leveduras e seu estado, entre outros aspetos, podem influenciar a presença destes odores.

Como já foi referido, a atividade das leveduras e das bactérias é afetada pelos resíduos dos produtos fitofarmacêuticos nos diversos processos fermentativos. No entanto, segundo Cabras (1999), tanto as leveduras como as bactérias, têm a capacidade de contribuir para a sua diminuição através de mecanismos de degradação e adsorção.

3.5.2 Evolução da presença de resíduos desde as uvas até ao vinho

A utilização desadequada de produtos fitofarmacêuticos, principalmente, em quantidades excessivas ou em épocas de aplicação impróprias, potencia o aparecimento de resíduos no solo, na atmosfera, na água, nas videiras, nas uvas, e em menor quantidade, nos mostos e vinhos. Ao longo dos vários estados fenológicos da videira, vinificação, bem como durante a conservação e envelhecimento dos vinhos, a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos evolui (Ying *et al.*, 2000).

De um modo geral, o teor de resíduos nas uvas é proporcional ao número de tratamentos aplicados e inversamente proporcional ao intervalo de tempo decorrido entre o último tratamento e a vindima (Grinbaum *et al.*, 1998) (cit. por Correia 2003).

A dissipação destes resíduos depende essencialmente das suas propriedades físico-químicas e da matéria ou ambiente em que se encontram. Pode ocorrer por volatilização para a atmosfera, lavagem através da água da chuva ou da rega, degradação química, diluição resultante do crescimento das videiras e das uvas, metabolismo e excreção (Ying *et al.*, 2000).

Por conseguinte, a utilização de produtos fitofarmacêuticos de contacto deve ser estudada de forma diferente do uso de produtos fitofarmacêuticos sistémicos. Isto porque, ao contrário dos de contacto que ficam retidos nas películas das uvas e sofrem processos de degradação ambiental, nomeadamente, lixiviação, oxidação, hidrólise e degradação fotoquímica, os produtos sistémicos circulam através da seiva e degradam-se por via enzimática (Ying *et al.*, 2000).

Durante a fase de crescimento do fruto não existe a degradação dos resíduos, mas ocorre uma aparente diminuição da sua concentração (diluição por crescimento). A degradação do composto vai depender da ação combinada dos diversos fatores enunciados, normalmente segundo uma lei cinética de 1ª

ordem. Os tempos de semi-vida dos fungicidas e inseticidas utilizados na vinha são geralmente baixos, embora alguns compostos, apresentem valores mais elevados (Cabras *et al.*, 1999).

No Quadro 3 estão resumidos alguns resultados de vários trabalhos experimentais sobre a presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos em uvas, mostos centrifugados, mostos não centrifugados, vinhos brancos e vinhos tintos.

Quadro 3 - Resíduos de produtos fitofarmacêuticos encontrados em uvas, mostos e vinhos. n.d. - Não detetado (valor inferior ao limite de deteção).

Bibliografia	Produto fitofarmacêutico	Concentração (mg/Kg ou mg/L)
Fida <i>et al.</i> (1983) (adapt. de Cantagrel <i>et al.</i> , 1993 (cit. por Abreu 2007)	Folpete Mancozebe Metalaxil	Uvas: 0,49 Uvas: 0,65 Uvas: n.d.
Carles (1985) (adapt. de Cantagrel <i>et al.</i> , 1993 (cit. por Abreu 2007)	Cobre Mancozebe	Uvas: n.d. Uvas: n.d.
Chovancová (1985) (adapt. de Cantagrel <i>et al.</i> , 1993 (cit. por Abreu 2007)	Mancozebe	Uvas: 0,05; vinhos: n.d.
Casanova <i>et al.</i> (1988)	Mancozebe	Vinhos: n.d.
Lopez (1989) (adapt. de Cantagrel <i>et al.</i> , 1993 (cit. por Abreu 2007)	Folpete Metalaxil	Mostos: n.d.; vinhos: n.d. Mostos: 0,01; vinhos brancos: 0,01; vinhos tintos: 0,7
Flori <i>et al.</i> (1990) (adapt. de Cantagrel <i>et al.</i> , 1993 (cit. por Abreu 2007)	Metalaxil	Uvas: 1,69; mostos: 1,30; mostos centrifugados: 1,14
Otero <i>et al.</i> (2003)	Cimoxanil Metalaxil Fluodioxonil Ciprodinil	Uvas: nd Uvas: 0,14 a 0,21 Uvas: 0,17 a 0,61 Uvas: 0,14 a 1,45
Cus <i>et al.</i> (2010)	Ciprodinil Fluodioxonil Metalaxil	Vinhos: 0,01 a 0,44 Vinhos: 0,02 a 0,21 Vinhos: 0,03 a 0,06
Cus <i>et al.</i> (2010)	Folpete Ciprodinil	Uvas: 0,10 a 0,68; Mostos: n.d.; vinhos brancos: n.d. Uvas: 0,22; Mostos: n.d.; vinhos brancos: n.d.
Rodríguez <i>et al.</i> (2011)	Cimoxanil Ciprodinil Fluodioxonil	Uvas: 1,0; vinhos brancos: n.d. Uvas: 0,39 a 0,73; vinhos brancos: 0,0021 a 0,0042 Uvas: 0,26 a 0,50; vinhos brancos: 0,0076 a 0,017
Walorczyk <i>et al.</i> (2011)	Metalaxil	Vinhos tintos: 0,009 a 0,04

Observando o Quadro 3, é possível verificar que os mostos, especialmente se forem centrifugados, apresentam uma concentração em resíduos de produtos fitofarmacêuticos inferior à das uvas. No entanto, essa concentração é ainda menor nos vinhos, especialmente no caso dos vinhos brancos.

Segundo Cabras (2000), os níveis de resíduos no vinho, geralmente, são menores comparativamente aos encontrados nas uvas e no mosto. No entanto, segundo este autor, os níveis de resíduos encontrados no vinho e nas uvas de azoxistrobina, dimetoato e pirimetanil podem ser semelhantes devido ao facto de estes produtos não terem uma partição preferencial entre as fases líquida e sólida.

3.5.3 Influência das etapas de vinificação na variação dos teores de resíduos

As uvas brancas e tintas, como já foi referido no primeiro capítulo deste trabalho, passam por processos de vinificação diferentes.

Na vinificação em tinto, a transferência dos resíduos de produtos fitofarmacêuticos é mais acentuada do que na vinificação em branco, uma vez que a maioria dos resíduos é transferida para o vinho por extração durante a maceração, enquanto na vinificação em branco a sua transferência ocorre durante a prensagem (Grinbaum, 1999). Segundo Cabras & Farris (1999), a vinificação com maceração apenas em alguns casos conduz a níveis de resíduos inferiores aos obtidos para as vinificações em branco.

Na prensagem, os resíduos localizados à superfície do bago ficam em contacto com um meio ácido, aproximadamente a pH 3, e distribuídos entre uma fase líquida, constituída pelo mosto, e uma fase sólida, constituída pelo bagaço e pelas borras. As condições proporcionadas por este meio determinam a degradação rápida de alguns produtos fitofarmacêuticos, nomeadamente, o clozolinato, a diclofluanida, o folpete (Cabras & Farris, 1999); (Sala *et al.*, 1996) (cit. por Correia, 2003), o boscalide, a ciazofamida e o fluodioxonil (Rodríguez

et al. 2011). Por outro lado, de acordo com Rodríguez *et al.*, (2011), o cimoxanil, pode permanecer no mosto em teores elevados.

A clarificação dos mostos, os processos fermentativos, bem como as operações de filtração, contribuem de forma significativa para a redução dos resíduos ao longo da vinificação (Cantagrel., *et al.*, 1990); (Curvelo & Laureano, 1997) (cit. por Correia, 2003). De acordo com Rodríguez *et al.*, (2011), a clarificação, através da adição de enzimas pectolíticas, provoca a diminuição do teor de resíduos de compostos como o boscalide, o ciprodinil e a famoxadona, devido à sua adsorção pelas partes sólidas.

A clarificação do mosto por centrifugação, segundo (Cabras & Angioni, 2000), diminui os níveis de resíduos e em alguns casos contribui para a eliminação total de vários compostos. No entanto, a expressão “eliminação total” deve ser compreendida com alguma cautela, uma vez que ela depende da concentração inicialmente presente nas uvas e está intimamente relacionada com a sensibilidade do método analítico disponível para o doseamento dos resíduos.

Cabras *et al.*, (1995) (cit. por Correia, 2003) avaliaram o efeito de seis agentes clarificantes (caseinato de potássio, gelatina, polivinilpolipirrolidona (PVPP), bentonite, carvão e dióxido de silício coloidal), sobre os teores de 13 inseticidas organofosforados e verificaram que, na maioria dos casos, estes agentes apresentavam pouca ou nenhuma capacidade de redução dos teores de resíduos, com exceção do carvão, que permitiu obter reduções quase totais, especialmente no caso de concentrações mais baixas. Neste estudo, os autores observaram que a capacidade de remoção dos resíduos diminuía com a solubilidade dos compostos em água.

Num trabalho desenvolvido por Navarro *et al.*, (1999) (cit. por Correia, 2003) foi estudado o efeito da vinificação em tinto sobre as concentrações de clorpirifos. Neste trabalho a etapa de maceração, conduzida ao longo de 4 dias,

provocou uma redução de apenas 10 % nos resíduos deste composto. Por sua vez, nos mostos prensados, os teores de resíduos encontrados foram iguais ou inferiores a 13,5 %. A clarificação com bentonite e gelatina reduziu em 37,5 % os resíduos ainda presentes no vinho decantado.

Navarro *et al.*, (1999) (cit. por Correia, 2003), estudaram o efeito da vinificação em tinto sobre a concentração de seis produtos fitofarmacêuticos, incluindo a vinclozolina e o metalaxil. A etapa de maceração, conduzida ao longo de 4 dias, provocou uma redução de 30 % nos resíduos de vinclozolina e de 5% nos resíduos de metalaxil. Nos mostos prensados, os teores de resíduos de vinclozolina foram iguais ou inferiores a 26,9 % em relação aos teores iniciais, enquanto nos resíduos de metalaxil, provocou apenas uma redução de 5%, em relação aos teores iniciais.

No caso das partes sólidas serem utilizadas para a produção de álcool e bebidas destiladas, os resíduos até então adsorvidos poderão transferir-se para o produto final (Cabras & Farris, 1999).

Durante a conservação e o envelhecimento do vinho, os compostos que não foram eliminados durante a vinificação podem permanecer muito estáveis, enquanto outros, como por exemplo a procimidona e a vinclozolina, podem sofrer alterações. A velocidade de degradação dos compostos no vinho, será tanto maior quanto maior for o seu pH (Cabras & Farris, 1999).

CAPÍTULO IV – MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição ampelográfica das castas

a) Terrantez da Terceira

Segundo Dias *et al.*, (2006), esta casta é conhecida como Arinto na Ilha do Pico e por Terrantez na Ilha Terceira. Na Ilha Graciosa, umas vezes é designada por Arinto, outra por Terrantez.

A casta Terrantez da Terceira é morfologicamente caracterizada por apresentar a extremidade do ramo jovem com uma média densidade de pelos prostrados e uma folha jovem verde com zonas acobreadas e com uma média densidade de pelos prostrados na página inferior. A folha adulta é orbicular, trilobada, ligeiramente irregular, medianamente bolbosa e com uma média densidade de pelos prostrados na página inferior (Dias *et al.*, 2006).

Os pânpanos são ligeiramente estriados de vermelho e os gomos são verdes, sem pigmentação antociânica. O seio peciolar é pouco aberto, com a base em “V” e os seios laterais superiores em “V”. Os dentes são rectilíneos e as nervuras principais são avermelhadas junto ao ponto peciolar. O cacho é pequeno a médio e os bagos são pequenos e elípticos (Fig.29).



Figura 29 - Casta Terrantez da Terceira
Adapt. de <http://bagosdeuva.blogspot.com/2008/07/biscoitos-trs-castas-recomendadas.html>

O abrolhamento desta casta é tardio, daí a ser utilizada em locais mais próximos do mar, e produz em média 2 a 3 cachos por lançamento. Tem um porte ereto e um vigor baixo (Dias *et al.*, 2006).

b) Verdelho

A casta verdelho é a mais antiga, a mais típica do encepamento açoriano e a que mantém a mesma designação entre as Ilhas do Pico, Graciosa e Terceira (Dias *et al.*, 2006).

Esta casta, morfologicamente, é caracterizada por apresentar a extremidade do ramo jovem aberta, com orla carmim e fraca densidade de pelos prostrados. Quanto à folha jovem, esta apresenta-se verde com zonas acobreadas e com a página inferior sem pelos.

A folha adulta é orbicular, sub-inteira, com limbo verde médio, ligeiramente irregular e medianamente bolboso, página inferior com baixa densidade de pelos prostrados, dentes médios e convexos, seio peciolar fechado a pouco aberto, com a base em “U” e seios laterais abertos em “V”. As nervuras principais são ligeiramente avermelhadas junto ao ponto peciolar e o pecíolo é avermelhado.

Os pânpanos são estriados de vermelho e os gomos ligeiramente avermelhados. Por outro lado os sarmentos apresentam uma cor castanho-escura. A flor é hermafrodita, os bagos são elípticos, curtos, pequenos e de cor verde amarelada. O cacho é pequeno, cónico alado, medianamente compacto e com um pedúnculo de comprimento médio (Fig.30).



Figura 30 - Casta Verdelho. Adapt. de <http://bagosdeuva.blogspot.com/2008/07/biscoitos-trs-castas-recomendadas.html>

O abrolhamento ocorre em época média e a sua maturação é precoce. Produz facilmente dois cachos por lançamento, apresenta um vigor médio e um porte semi-erecto. É muito sensível à podridão cinzenta e propícia ao desavinho (Dias *et al.*, 2006).

4.2 Controlo de maturação

O controlo de maturação, segundo Cardoso (2007), consiste no acompanhamento das transformações que ocorrem nos bagos durante a maturação e baseia-se, essencialmente, na colheita de bagos, seguida da sua pesagem e análise físico-química.

Os ensaios de maturação, desenvolvidos no âmbito deste trabalho, tiveram início no dia 25 de Agosto de 2010 e basearam-se em 2 colheitas semanais (Segunda e Quinta – feira), durante o período matinal até à data da vindima.

As colheitas foram realizadas em cepas previamente marcadas através da técnica de amostragem em zig-zag, tendo-se de cada cepa marcada escolhido, ao acaso, um cacho, do qual foram retirados três bagos, um da base, um da zona intermédia e outro da extremidade. Os bagos colhidos foram colocados num saco de polietileno devidamente identificado e colocados numa caixa térmica com acumuladores de frio.

Posteriormente em laboratório procedeu-se à recontagem dos bagos e pesagem dos mesmos, de forma a obter o peso médio do bago de cada amostra. De seguida, as uvas foram prensadas manualmente e o respetivo mosto filtrado e preparado para as seguintes determinações analíticas:

- **Teor em açúcares** – método por refractometria, consistindo na utilização da natureza vibratória da luz que ao atravessar uma solução açucarada, sofre um desvio do plano de polarização. Por seu meio, deduzir o título alcoométrico latente no vinho (Grau álcool provável-GAP);
- **Açúcares redutores (OIV, 2009)** – Determinação do conjunto de açúcares com função aldeídica e cetónica que lhes confere poder redutor sobre uma solução cupro-alcálica;
- **pH (OIV, 2009)** – método por potenciometria;
- **Acidez total (NP-2139)** – método por volumetria. Consiste na neutralização dos ácidos até pH=7 por solução alcalina na presença de indicador apropriado.

4.3 Processo de vinificação

Os produtores que contribuíram para este trabalho realizam a vinificação em branco pelo processo de "bica aberta", no entanto, diferem entre si na utilização de alguns equipamentos, aditivos enológicos e operações do processo de vinificação, tal como pode ser observado nas Figuras 31 e 32 e no Quadro 4.

Para uma melhor compreensão ao longo deste trabalho, as explorações estudadas foram numeradas de 1 a 3.

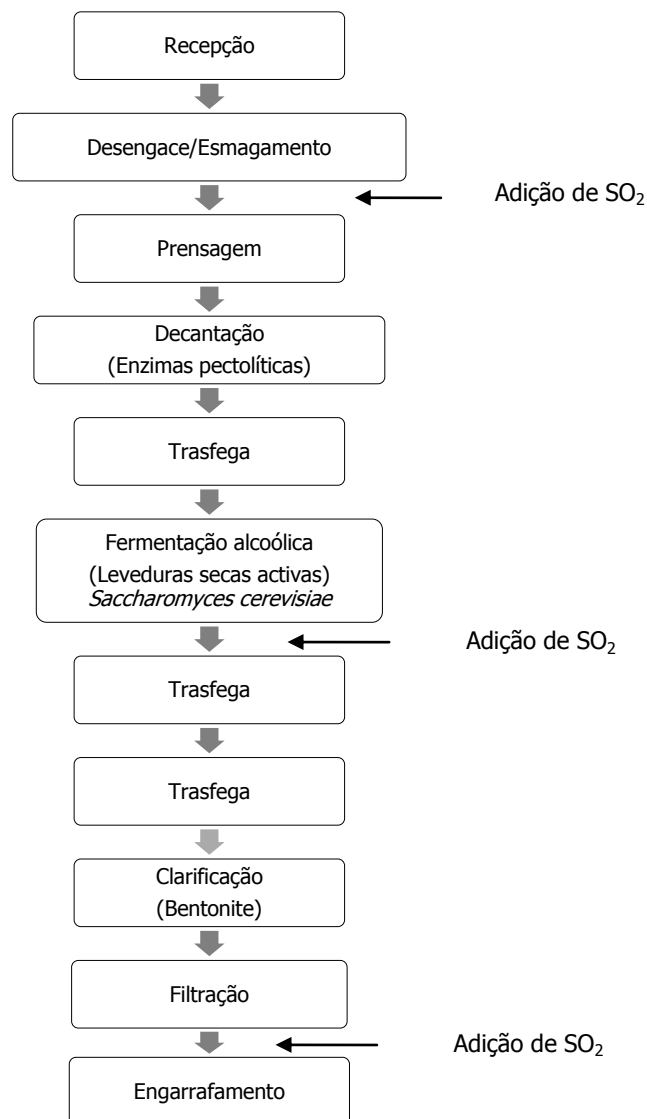


Figura 31 - Etapas da produção de vinho branco pelo processo de "bica aberta" nas explorações nº 1 e nº2.

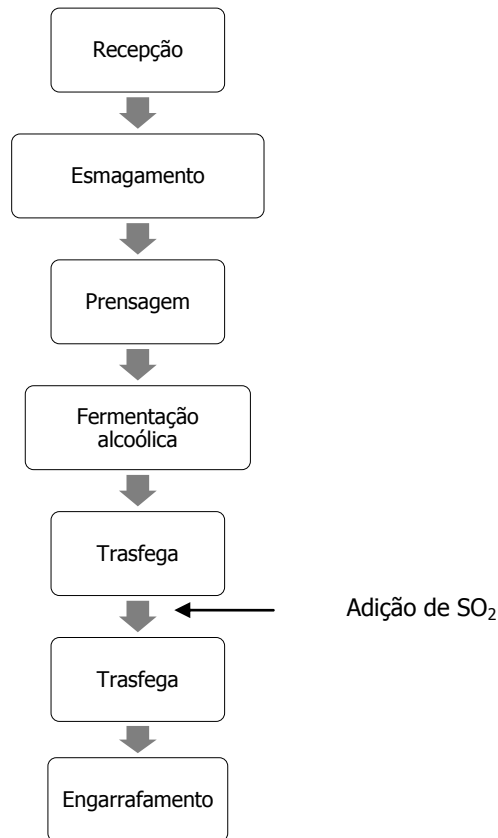


Figura 32 - Etapas da produção de vinho branco pelo processo de "bica aberta" na exploração nº 3.

Quadro 4 – Equipamentos e técnicas utilizadas em algumas operações do processo de vinificação.

Operação	Exploração nº 1	Exploração nº 2	Exploração nº 3
Desengace/ Esmagamento	Desengaçador/ Esmagador mecânico	Desengaçador/ Esmagador mecânico	Esmagador de rolos manual
Prensagem	Prensa pneumática	Prensa manual	Prensa manual
Fermentação alcoólica	Cuba de aço inoxidável (550 L)	Cuba de aço inoxidável (550 L)	Barrica de madeira (250 L)
Arrefecimento do mosto em fermentação	Escorrimento superficial de água	Escorrimento superficial de água	Não é realizado

4.4 Controlo da fermentação alcoólica

O acompanhamento da fermentação alcoólica nas três explorações estudadas realizou-se através do registo diário da temperatura do mosto no interior das cubas de aço inoxidável ou barricas de madeira através de uma sonda, bem como da sua massa volúmica por aerometria e sua correção em função da temperatura.

4.5 Produtos fitossanitários aplicados na vinha

Para o registo dos produtos fitossanitários aplicados nas vinhas (Quadros 5 a 7) das explorações estudadas, foi facultado aos seus responsáveis uma ficha de campo com os seguintes parâmetros: data, finalidade da aplicação e produtos aplicados.

Quadro 5 – Lista de substâncias ativas aplicadas na exploração nº 1 no ano 2010.

Aplicação	Data	Finalidade da aplicação	Substância activa
1	13-4-2010	Míldio/Escuriose	Propinebe + Enxofre
2	27-4-2010	Míldio/Escuriose	Mancozebe + Enxofre
3	7-5-2010	Míldio/Oídio	Dimetomorfe + Mancozebe + Penconazol
4	19-5-2010	Míldio/Oídio	Dimetomorfe + Mancozebe + Penconazol
5	28-5-2010	Oídio	Enxofre
6	3-6-2010	Míldio/Oídio	Dimetomorfe + Mancozebe + Penconazol
7	17-6-2010	Míldio/Oídio	Dimetomorfe + Mancozebe + Enxofre
8	2-7-2010	Míldio/Oídio/Podridão Cinzenta	Hidróxido de cobre + Enxofre + Ciprodinil + Fludioxonil
9	15-7-2010	Míldio/Oídio/Podridão Cinzenta	Hidróxido de cobre + Enxofre + Ciprodinil + Fludioxonil
10	29-7-2010	Míldio/Oídio	Oxicloreto de cobre + Enxofre

Quadro 6 - Lista de substâncias ativas aplicadas na exploração nº 2 no ano 2010.

Aplicação	Data	Finalidade da aplicação	Substância activa
1	5-4-2010	Míldio/Escuriose	Propinebe + Enxofre
2	15-4-2010	Míldio/Escuriose	Propinebe + Enxofre
3	27-4-2010	Míldio/Oídio	Folpete + Fosetil de alumínio + Enxofre
4	6-5-2010	Míldio/Oídio	Mancozebe + Metalaxil + Enxofre
5	20-5-2010	Míldio/Oídio	Cimoxanil + Propinebe + Enxofre
6	2-6-2010	Míldio/Oídio	Hidróxido de cobre + Enxofre
7	11-6-2010	Míldio/Oídio	Hidróxido de cobre + Enxofre
8	22-6-2010	Míldio/Oídio	Penconazol + Oxicloreto de cobre
9	2-7-2010	Míldio/Oídio	Penconazol + Oxicloreto de cobre
10	16-7-2010	Míldio/Oídio	Penconazol + Oxicloreto de cobre
11	6-8-2010	Míldio/Oídio	Penconazol + Oxicloreto de cobre

Quadro 7 - Lista de substâncias ativas aplicadas na exploração nº 3 no ano 2010.

Aplicação	Data	Finalidade da aplicação	Substância activa
1	18-4-2010	Míldio	Propinebe
2	30-4-2010	Míldio	Cimoxanil + Propinebe
3	9-5-2010	Míldio	Dimetomorfe + Mancozebe
4	17-5-2010	Míldio	Fosetil de alumínio + Mancozebe
5	26-5-2010	Míldio	Folpete + Fosetil de alumínio
6	8-6-2010	Míldio	Cimoxanil + Propinebe
7	12-6-2010	Míldio	Cimoxanil + Folpete
8	23-6-2010	Míldio	Hidróxido de cobre

Os produtos fitofarmacêuticos aplicados nas vinhas (Quadros 5 a 7) fazem parte da listagem de produtos com venda autorizada, presente no Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos, divulgada pela Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR).

4.6 Produtos fitofarmacêuticos alvo de análise de resíduos

No Quadro 8 indicam-se as substâncias ativas que foram pesquisadas nas amostras recolhidas, tendo em conta os métodos analíticos disponíveis, e algumas das suas características.

Quadro 8 – Informação relativa às substâncias ativas alvo de análise de resíduos (Adapt. de Oliveira & Henriques, 2011)

Substância activa	Família química	Finalidade	Sistémico
Cimoxanil	Acetamida	Míldio/Oídio	Não
Ciprodinil	Anilino pirimidina	Podridão Cinzenta	Sim
Fludioxonil	Fenilpirrole	Podridão Cinzenta	Não
Folpete	N-tiotrihalometilo	Míldio/Oídio	Não
Metalaxil	Fenilamidas	Míldio	Sim

4.7 Determinação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos mostos e nos vinhos

4.7.1 Recolha de amostras para determinação de resíduos

Para a determinação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos foram recolhidas três amostras por exploração, exatamente, uma de mosto no dia da vindima, uma amostra de vinho no período intermédio entre o fim da

fermentação e o engarrafamento e por fim uma amostra de vinho antes do engarrafamento.

4.7.2 Métodos analíticos utilizados na determinação de resíduos

Tal como já foi referido anteriormente (Quadros 5 a 7), as substâncias ativas aplicadas nas explorações em estudo foram as seguintes: cimoxanil, ciprodinil, dimetomorfe, enxofre, fludioxonil, folpete, fosetil de alumínio, hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre, mancozebe, metalaxil, penconazole e propinebe. Contudo, a análise de resíduos efetuada não envolveu todas as substâncias ativas, por limitações dos métodos analíticos disponíveis.

As substâncias cujos resíduos foram pesquisadas nas amostras foram: cimoxanil, ciprodinil, fludioxonil, folpete e metalaxil. Foram ainda determinados os teores totais de três metais: manganês, zinco e cobre. Embora estes metais sejam constituintes minerais naturais das uvas, estando portanto presentes também nos mostos e vinhos, o seu teor pode ser aumentado por efeito da presença de resíduos de produtos fitofarmacêuticos, tal como no caso da utilização de compostos de cobre, como o hidróxido de cobre e o oxiclreto de cobre, ou de ditiocarbamatos, como no caso do mancozebe, que contém na sua formulação cerca de 20% de manganês e 2,55% de zinco ou do propinebe que contém entre 21,2 e 23,9% de zinco na sua formulação (Tomlin, 1997; FAO, 1980).

Os resíduos das substâncias ativas orgânicas foram determinados usando um método de extração por QuEChERS (método *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*) e posterior análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com deteção por matriz de díodos (PAD). Os ensaios foram realizados num sistema Waters composto por um HPLC 2795 Alliance HT equipado com um injetor automático (40,0 µL) e um detetor 2996 *Photodiode Array Detector*. A separação dos analitos foi realizada, a 25 °C, numa coluna de fase reversa C₁₈ (Spherisorb ODS2, 250x4,6 mm; 5 µm, Waters). A fase móvel consistiu numa

mistura de água e metanol (*gradient grade*, Sigma-Aldrich) a um caudal de 0,6 mL/min. O programa de gradiente usado é apresentado no Quadro 9.

Quadro 9 – Programa de gradiente utilizado na separação dos produtos fitofarmacêuticos.

Tempo (min)	Água (%)	Metanol (%)
0	40	60
15	0	100
20	0	100
22	40	60
25	40	60

Foram preparadas soluções padrão de cada uma das substâncias ativas adquiridas à Sigma–Aldrich e com pureza >98%, com uma concentração de 1 g/L, em metanol. As soluções foram guardadas em frascos de vidro escuro a - 18°C.

Para a extração usaram-se tubos QuEChERS de 50 mL contendo sulfato de magnésio/acetato de sódio anidro (6 g/1,5 g) da UCT. As amostras de mosto ou os vinhos foram descongelados até à temperatura ambiente. Foram retiradas alíquotas de 10 g de mosto (ou 10 mL de vinho) que foram colocadas no tubo QuEChERS, adicionando-se 10 mL de acetonitrilo (*HPLC grade ACS*, Scharlau). A mistura foi agitada num *vortex* durante 2 minutos e centrifugada durante 5 minutos a 2575 *g*.

Retirou-se uma porção da fase orgânica que foi filtrada através de um filtro de seringa OlimPeak (0,20 µm, Teknokroma) e analisada por HPLC. As recuperações do método de análise foram calculadas para amostras fortificadas com padrão, tendo-se verificado que se encontravam dentro dos valores normalmente aceites na análise de resíduos de produtos fitofarmacêuticos, isto é entre 70 e 120% para todos os compostos.

No Quadro 10 são apresentados alguns dos parâmetros que caracterizam o método analítico, nomeadamente, o tempo de retenção, o comprimento de onda de deteção, o declive da curva de calibração e os limites de deteção (LOD) e de quantificação (LOQ), para cada uma das substâncias ativas

analisadas. Na Figura 33 apresenta-se um cromatograma obtido para uma solução de padrão misto contendo as cinco substâncias ativas.

Quadro 10 – Tempo de retenção (t_r), comprimento de onda de detecção e dados de calibração para os fungicidas estudados.

Composto	t_r (min)	λ_{det} (nm)	Declive	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
Cimoxanil	6,91	243,8	175351	0,05	0,15
Metalaxil	10,79	215,0	129124	0,19	0,58
Fludioxonil	12,34	266,2	132442	0,27	0,82
Folpete	13,67	223,8	384342	0,30	0,91
Ciprodinil	17,05	270,9	349144	0,14	0,42

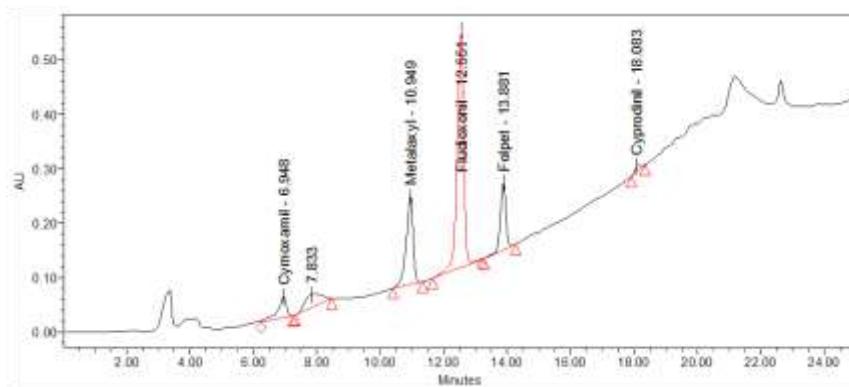
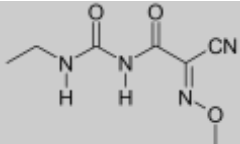
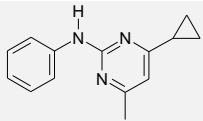
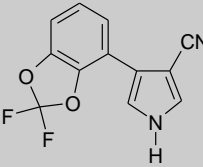
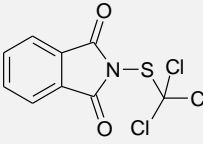
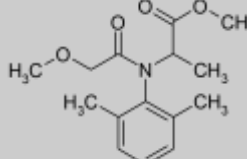


Figura 33 – Cromatograma de uma solução padrão de produtos fitofarmacêuticos (~ 10 mg/L, $\lambda_{det} = 205$ nm).

As determinações de manganês, zinco e cobre foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica de chama num espectrofotômetro de fonte contínua Zeenit 650 Analytik Jena equipado com um sistema de injeção automática MPE 60 Analytik Jena e com sistema de correção de fundo por efeito Zeeman. As soluções de calibração foram preparadas em água ultra-pura (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) contendo 0,5% de HNO_3 e 0,1% de cloreto de cério CsCl como modificador de fase. As amostras foram diluídas nas mesmas condições que as soluções padrão, tendo sido usados fatores de diluição na gama 1,3 – 2,5. Todas as leituras foram efetuadas em triplicado.

As propriedades físico-químicas de cada uma das substâncias ativas estudadas, assim como os valores dos respectivos LMR em uvas de mesa e para vinho são apresentados no Quadro 11.

Quadro 11 – Propriedades físico-químicas dos produtos fitofarmacêuticos estudados e limites máximos de resíduos (LMR) em uvas de mesa e para vinho de acordo com o Regulamento (CE) 396/2005 (Tomlin, 1987; EU Pesticides Database, 2012).

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	LMR uvas de mesa (mg/kg)	LMR uvas para vinho (mg/kg)
Cimoxanil		198,2	890 ^{a, β}	1,5 × 10 ^{-1 a}	3,8 × 10 ⁻¹⁰	0,59 ^β	0,2	0,2
Ciprodinil		225,3	20 ^{a, β}	5,1 × 10 ^{-1 b}	7 × 10 ⁻³	3,9 ^b	5	5
Fludioxonil		248,2	1,8 ^b	3,9 × 10 ^{-4 b}	5,4 × 10 ⁻⁵	4,12 ^b	5	4
Folpete		296,6	0,8	2,1 × 10 ^{-2 b}	7,8 × 10 ⁻³	3,11	0,02	5
Metalaxil		279,3	8400 ^c	7,5 × 10 ^{-1 b}	1,6 × 10 ⁻⁵	1,75 ^b	2	1

Notas: ^a a 20 °C, ^b a 25 °C, ^c a 22 °C, ^d a 15 °C, ^e a 30 °C, ^f a 23,5 °C; ^α a pH 7, ^β a pH 5, ^φ a pH 7,8, ^ψ a pH 8, ^ζ a pH 5,7, ^φ a pH 6,1;

4.8 Análises físico-químicas aos vinhos estudados

Os vinhos das diversas explorações foram analisados de acordo com as seguintes determinações analíticas:

- **Massa volúmica** (método:Densimetria Electrónica);
- **Título Alcoométrico Volúmico a 20°C** (método: R. (CEE) 2676/90);
- **Extrato Seco Total** (método: Cálculo);
- **Acidez Total** (método:R. (CEE) 2676/90);
- **Acidez Fixa** (método: Cálculo);
- **Acidez Volátil** (método: R. (CEE) 2676/90);
- **pH** (método: Potenciometria);
- **Dióxido de Enxofre Livre** (método:Iodo-Amperométrico);
- **Dióxido de Enxofre Total** (método:Iodo-Amperométrico);
- **Açúcares Redutores** (método:R. (CEE) 2676/90).

CAPÍTULO V – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Controlo de maturação

Para uma melhor interpretação dos resultados, apresento a Figura 34 com as evoluções da precipitação diária e das temperaturas médias diárias registadas durante o período de controlo da maturação. Apesar de a estação não estar localizada na zona vitivinícola dos Biscoitos, os seus registos possibilitam que tenhamos uma ideia aproximada das condições meteorológicas registadas durante o período referido.

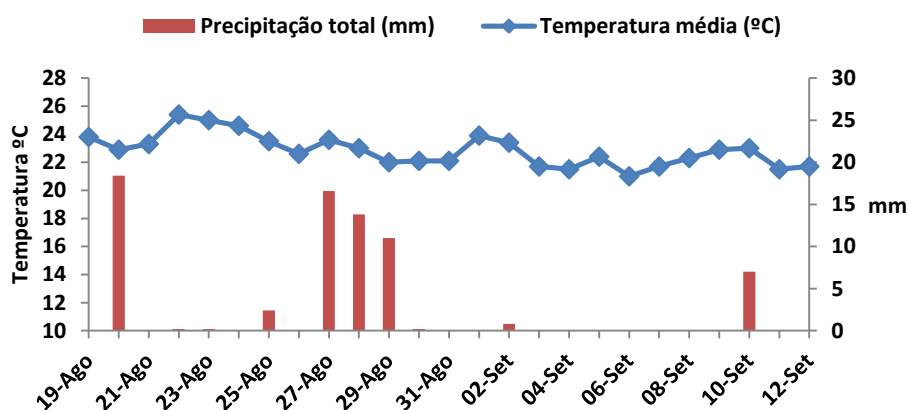


Figura 34 – Climograma da estação meteorológica do Porto da Praia da Vitória, Ilha Terceira. (Adapt. de <http://www.climaat.angra.uac.pt/index.htm>).

5.1.1 Evolução do peso médio do bago

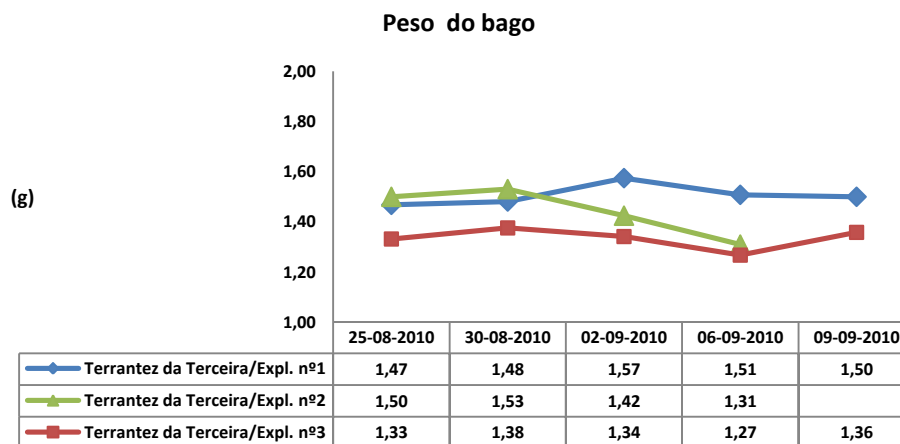


Figura 35 - Evolução do peso médio do bago ao longo da maturação em 2010 para a casta Terrantez da Terceira.

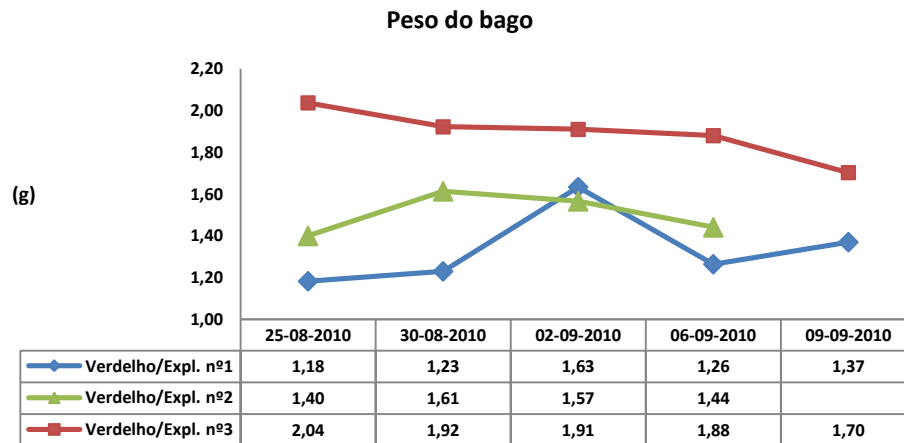


Figura 36 - Evolução do peso médio do bago ao longo da maturação em 2010 para a casta Verdelho.

Os valores assinalados para a casta Terrantez da Terceira (Fig.35) aproximam-se dos valores registados por Machado (1998) na zona vitivinícola do Pico. Para a casta Verdelho (Fig.36), os valores assinalados aproximam-se dos registados por Ermida (2001) para a zona vitivinícola dos Biscoitos.

5.1.2 Evolução do teor de açúcares

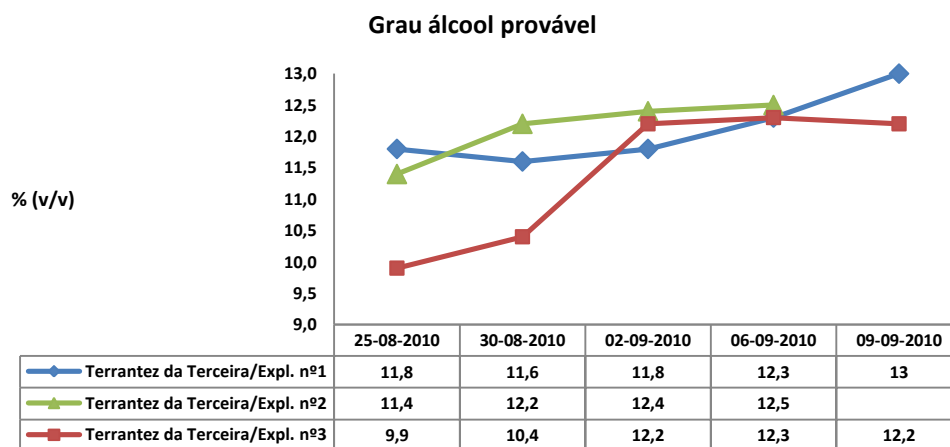


Figura 37 - Evolução do grau álcool provável ao longo da maturação em 2010 para a casta Terrantez da Terceira.

De acordo com as Figuras 37 e 38, à data da vindima, na casta Terrantez da Terceira os valores do GAP estavam compreendidos entre 12,2 % v/v (exploração nº3) e 13 % v/v (exploração nº1). Na casta Verdelho os valores do GAP estavam compreendidos entre 11,6 %v/v (exploração nº1) e 12,2 % v/v

(exploração nº3). Os valores assinalados aproximam-se dos registados por Machado (1998).

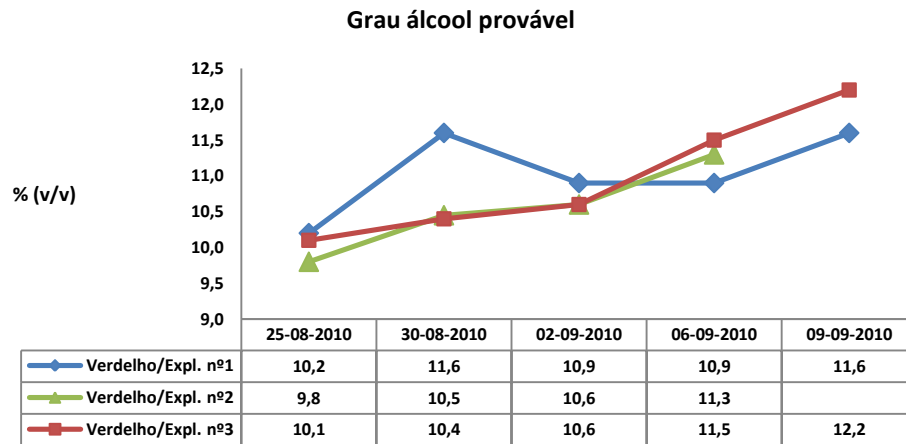


Figura 38 - Evolução do grau álcool provável ao longo da maturação em 2010 para casta Verdelho.

5.1.3 Evolução do pH

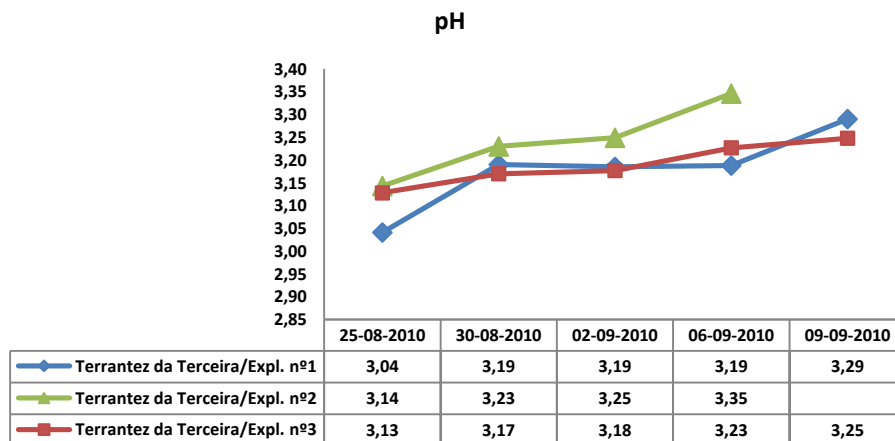


Figura 39 - Evolução do pH ao longo da maturação em 2010 para a casta Terrantez da Terceira.

Através das Figuras 39 e 40 é possível verificar que a casta Terrantez da Terceira, à data da vindima, apresentava valores de pH compreendidos entre 3,25 (exploração nº3) e 3,35 (exploração nº2). Para a casta Verdelho, os valores de pH estavam compreendidos entre 3,24 (exploração nº1) e 3,28 (exploração nº3). Os valores assinalados para a casta Verdelho aproximam-se dos registados por Ermida (2001).

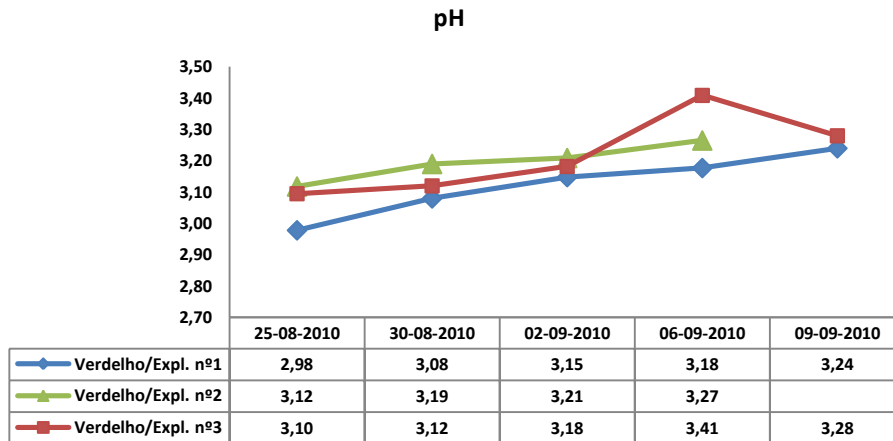


Figura 40 - Evolução do pH ao longo da maturação em 2010 para a casta Verdelho

5.1.4 Evolução da Acidez total

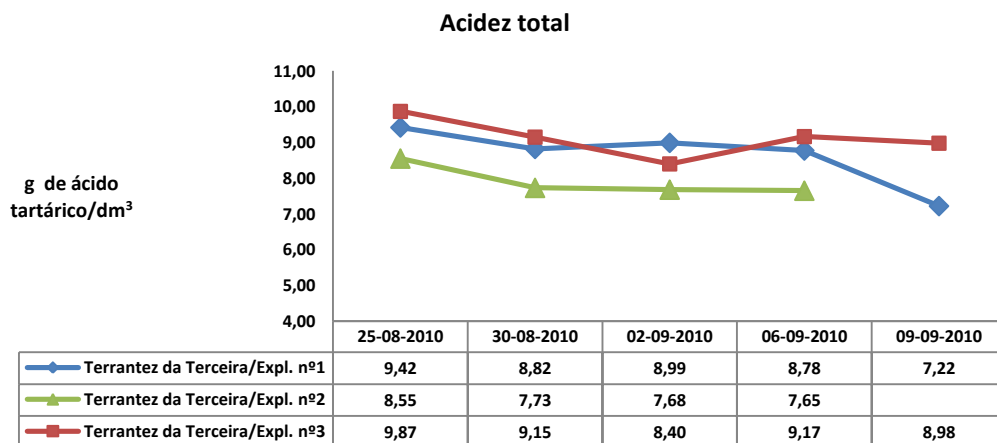


Figura 41 - Evolução da acidez total ao longo da maturação em 2010 para a casta Terrantez da Terceira.

Constata-se através das Figuras 41 e 42 que a casta Terrantez da Terceira, à data da vindima, apresentava valores de acidez total compreendidos entre 7,22 g de ácido tartárico/dm³ (exploração nº 1) e 8,98 g de ácido tartárico/dm³ (exploração nº3). Para a casta verdelho os valores de acidez total estavam compreendidos entre 8,05 g de ácido tartárico/dm³ (exploração nº1) e 8,7 g de ácido tartárico/dm³ (exploração nº2). Os valores assinalados para as duas castas aproximam-se dos valores registados por Ermida (2001) e Machado (1998).

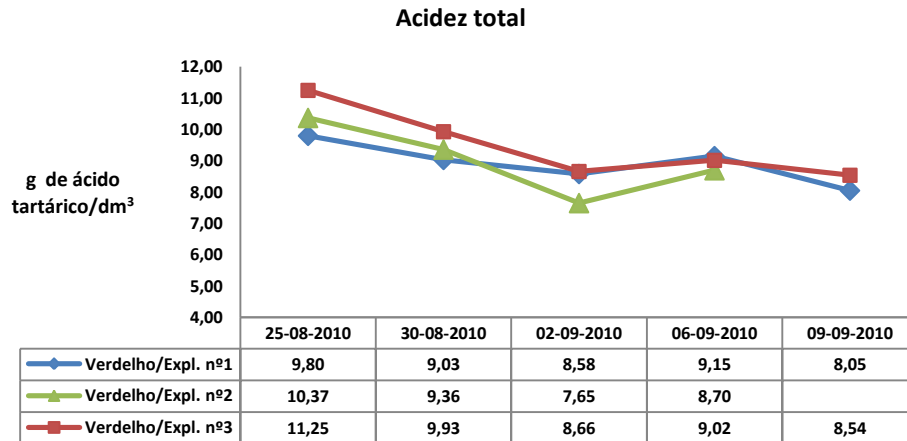


Figura 42 - Evolução da acidez total ao longo da maturação em 2010 para a casta Verdelho.

As variações registadas ao longo do controlo de maturação, nos vários parâmetros apresentados (Figura 35 à 42), poderão estar relacionadas com as condições meteorológicas dos períodos que antecederam as colheitas, principalmente a queda de precipitação (Figura 34).

Segundo Champagnol (1984), em situações de precipitação elevada, ou pelo menos mais abundante, uma absorção repentina de água pelas raízes pode levar ao aumento do volume dos bagos e conseqüentemente do seu peso, em detrimento dos teores de açúcares e de acidez total como resultado da sua diluição.

De acordo com Cardoso (2007) as diversas variáveis de maturação dependem não só da disponibilidade hídrica, mas também das características genéticas inerentes a cada casta, do solo, do porta-enxerto e da técnica cultural.

5.1.5 Índices de maturação

A forma mais simples de expressar a evolução da maturação é através da relação açúcares/acidez, obtendo-se o chamado *índice de maturação* (Figuras 43 e 44).

Este parâmetro permite encontrar uma situação de compromisso entre os teores de acidez e de açúcares razoáveis, para o cumprimento dos objetivos de

uma vinificação adequada. Geralmente os valores mais elevados correspondem às melhores maturações (Cardoso, 2007).

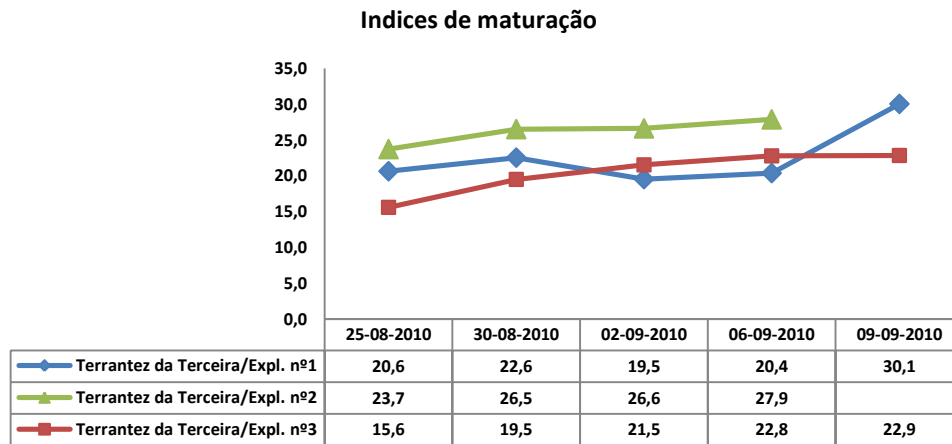


Figura 43 - Evolução dos índices de maturação em 2010 para a casta Terrantez da Terceira.

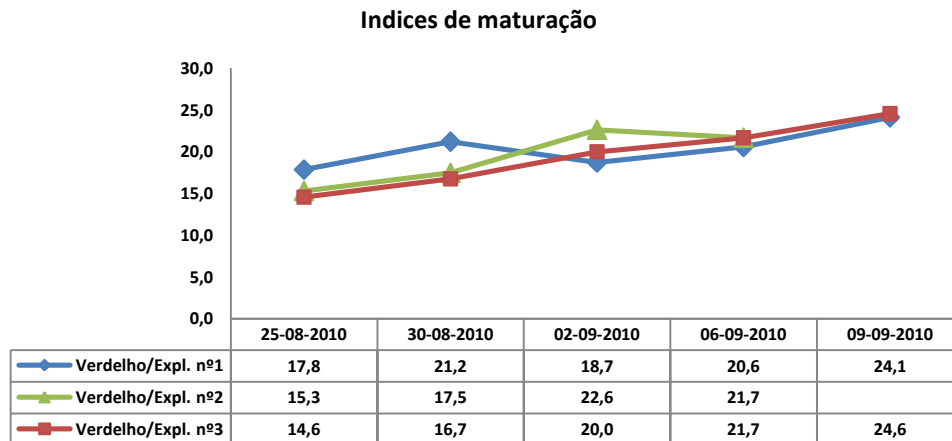


Figura 44 - Evolução dos índices de maturação em 2010 para a casta Verdelho.

Observando as Figuras 43 e 44, é possível constatar que para a casta Terrantez da Terceira os índices de maturação estavam compreendidos entre 22,9 (exploração nº3) e 30,1 (exploração nº1). Para a casta Verdelho estavam compreendidos entre 21,7 (exploração nº2) e 24,6 (exploração nº3). Os valores assinalados são superiores aos registados por Ermida (2001), mas inferiores aos registados por Machado (1998).

A evolução dos índices de maturação é geralmente positiva, com exceção das situações condicionadas pela precipitação, umas pela diminuição dos

açúcares, nos casos de precipitação elevada, outras pelo aumento da acidez total, em condições de falta de humidade no solo (Machado, 1998).

5.2 Evolução da fermentação alcoólica

Numa cuba ou barrica de madeira com mosto em fermentação, observa-se um aumento de volume, um aumento da temperatura no interior da massa em fermentação, uma diminuição da massa volúmica e uma modificação do sabor do mosto (Navarre, 2008).

Durante o processo de vinificação estabelece-se uma troca de calor entre o recipiente onde se realiza a fermentação e o ambiente circundante. Esta troca depende da diferença de temperatura entre os dois meios, assim como do material de que são construídos os recipientes onde se realiza a fermentação, da libertação do CO₂, bem como dos meios de arrefecimento artificiais usados pelo vitivinicultor. Fatores como a temperatura inicial da vindima, a riqueza do mosto em açúcar e a velocidade de fermentação contribuem para o aumento da temperatura do recipiente onde se realiza a fermentação (Navarre, 2008).

Na vinificação em branco a temperatura de fermentação deverá estar compreendida entre os 16°C e os 22°C, com um ótimo entre os 18°C e os 20°C. Se a temperatura for muito elevada poderá provocar uma diminuição dos aromas e alterações na cor. Por outro lado, se for muito baixa poderá impedir o início da fermentação ou mesmo a sua paragem o que levaria ao aparecimento do travo acético ou láctico, ao aumento da acidez volátil e à redução das qualidades organolépticas (Navarre, 2008).

Relativamente às explorações estudadas, a fermentação alcoólica nas explorações nº1 e nº2 (Figuras 45 e 46) (Quadros 12 e 13) decorreu de forma regular, provavelmente devido ao fato de decorrerem sob refrigeração. Por outro lado, é de realçar a temperatura um pouco elevada sob a qual decorreu a fermentação na exploração nº3, mais concretamente entre o 5º e o 9º dia (Figura 47) (Quadro 14), provavelmente devido à ausência de refrigeração.

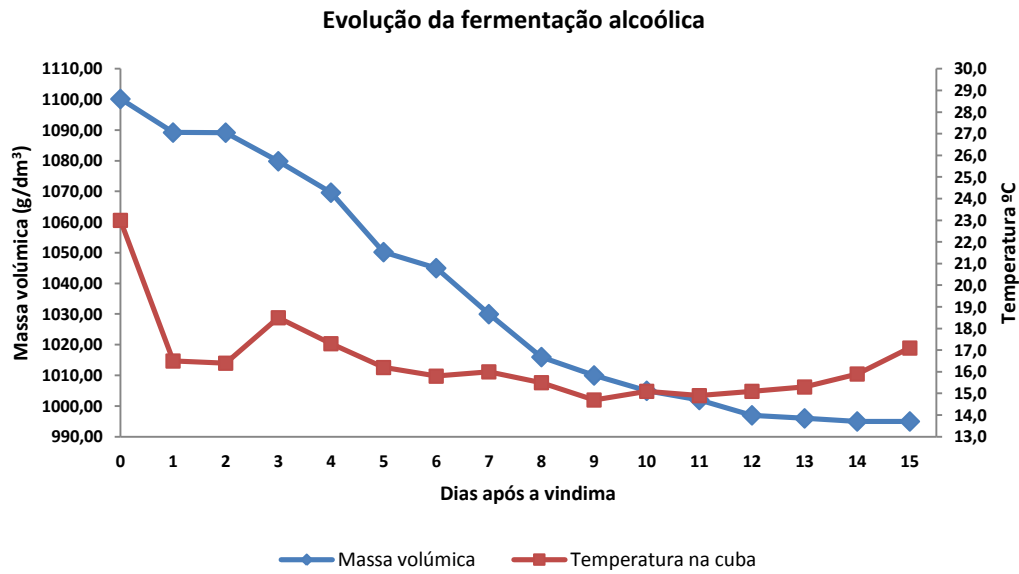


Figura 45 - Evolução da fermentação alcoólica no ano de 2010 para a exploração nº 1.

Quadro 12 – Registos referentes ao controlo da fermentação alcoólica para a exploração nº 1.

Dias após vindima	Massa volúmica (g/dm ³)	Temperatura na cuba (°C)
0	1100,18	23,0
1	1089,23	16,5
2	1089,20	16,4
3	1079,87	18,5
4	1069,63	17,3
5	1050,23	16,2
6	1045,00	15,8
7	1030,00	16,0
8	1016,00	15,5
9	1010,00	14,7
10	1005,00	15,1
11	1002,00	14,9
12	997,00	15,1
13	996,00	15,3
14	995,00	15,9
15	995,00	17,1

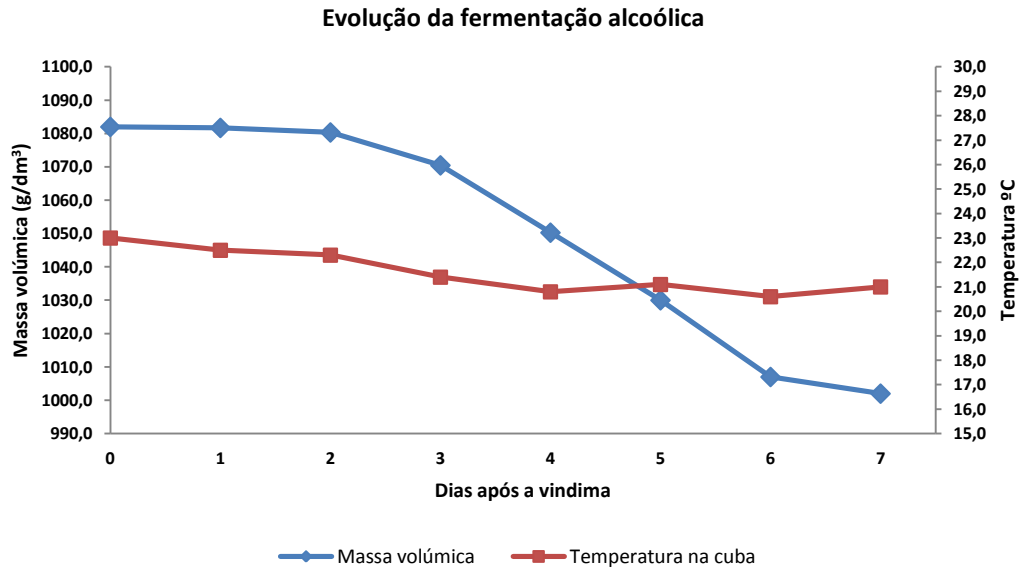


Figura 46 – Evolução da fermentação alcoólica no ano de 2010 para a exploração nº 2.

Quadro 13 - Registos referentes ao controlo da fermentação alcoólica para a exploração nº 2.

Dias após a vindima	Massa volúmica (g/dm ³)	Temperatura na cuba (°C)
0	1082,00	23,00
1	1081,70	22,5
2	1080,34	22,3
3	1070,46	21,4
4	1050,28	20,8
5	1030,00	21,1
6	1007,00	20,6
7	1002,00	21,0

Segundo Cardoso (2007), as vasilhas de madeira de pequena capacidade (200 a 250 litros) limitam a elevação da temperatura e dispensam o recurso a meios de arrefecimento, no entanto, para que esta condição se verifique, as uvas deverão chegar à adega a uma temperatura inferior a 20°C, caso contrário será necessário utilizar dispositivos de refrigeração.

A fermentação alcoólica deve ser controlada e orientada ao longo de todo o seu desenvolvimento, a fim de ser o mais regular e a mais completa possível de forma a anular os riscos da sua paragem ou de alteração da matéria-prima (Navarre, 2008).

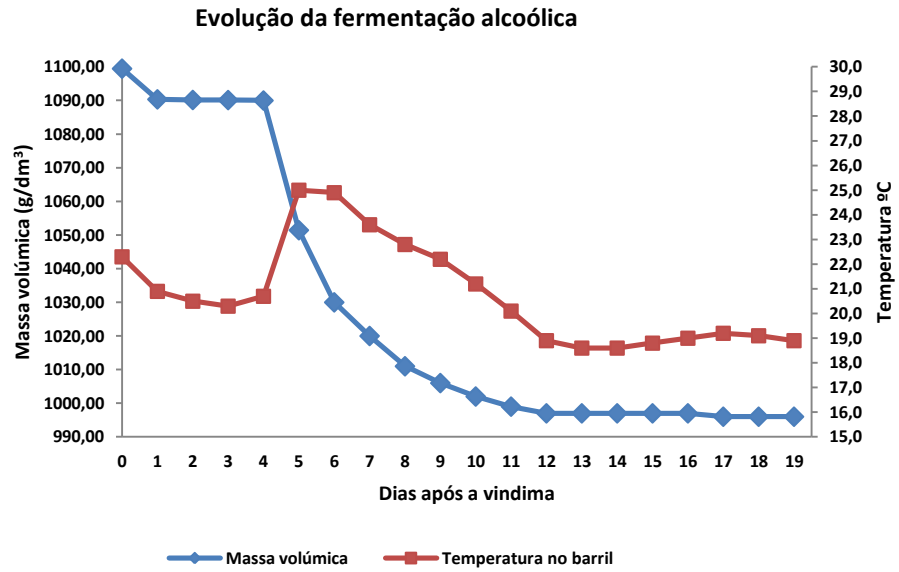


Figura 47 - Evolução da fermentação alcoólica no ano de 2010 para a exploração nº 3.

Quadro 14 - Registos referentes ao controlo da fermentação alcoólica para a exploração nº 3.

Dias após vindima	Massa volúmica (g/dm ³)	Temperatura na barrica (°C)
0	1099,48	22,3
1	1090,35	20,9
2	1090,17	20,5
3	1090,14	20,3
4	1090,00	20,7
5	1051,45	25,0
6	1030,00	24,9
7	1020,00	23,6
8	1011,00	22,8
9	1006,00	22,2
10	1002,00	21,2
11	999,00	20,1
12	997,00	18,9
13	997,00	18,6
14	997,00	18,6
15	997,00	18,8
16	997,00	19,0
17	996,00	19,2
18	996,00	19,1
19	996,00	18,9

5.3 Determinação de resíduos

5.3.1 Metais

A palavra “terroir” designa a associação entre a geografia, geologia, clima e práticas vinícolas que promovem no vinho características singulares e que são apreciadas pelo consumidor (Gladstones *et al.*, 1994) (cit. por Fabani *et al.*, 2009).

O solo, pela sua estrutura física e composição química, interfere diretamente no desenvolvimento das raízes e conseqüentemente no transporte de água e substâncias minerais para as uvas.

A água transporta os minerais e outros elementos necessários ao crescimento da vinha desde o solo até à planta, no entanto, a concentração iônica desta solução depende da natureza dos solos onde a vinha está instalada e da sua fertilidade (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003) (cit. por Fabani *et al.*, 2009).

Os minerais estão localizados principalmente nas partes sólidas das uvas, nomeadamente, películas (1 a 2%), paredes celulares da polpa (0,8 a 2,8%), sementes (2 a 4%) e engaço (2 a 3%). Tanto os catiões, como os aniões estão presentes no mosto sob a forma de sais orgânicos ou inorgânicos (sulfatos, fosfatos, tartaratos, malatos, etc.). (Cabanis, 2003) (cit. por Fabani *et al.*, 2009).

A concentração de metais no vinho é por vezes alterada devido à utilização de fertilizantes, produtos fitofarmacêuticos inorgânicos e aditivos enológicos, particularmente, durante o processo de vinificação pela adição de bentonite e enzimas pectolíticas, utilizados na clarificação do vinho (Castiñeira-Gomez *et al.*, 2004; Kment *et al.*, 2005; Rusjan *et al.*, 2006; Coetzee *et al.*, 2005) (cit. por Fabani *et al.*, 2009).

De seguida é feita uma pequena abordagem aos metais estudados, nomeadamente, o manganês, o zinco e o cobre, bem como aos seus teores nos mostos e vinhos das explorações estudadas.

a) Manganês

O manganês (Mn) é um constituinte normal dos vinhos, presente em teores bastante baixos e característicos dos solos da região de onde provém os vinhos (Curvelo, 1988).

As grainhas são relativamente ricas neste metal, comparativamente com as películas e sobretudo com a polpa dos bagos. A vinificação em tinto conduz a teores mais elevados deste metal nos vinhos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982) (cit por Curvelo, 1988).

A natureza exógena deste elemento é associada à utilização de produtos fitossanitários contendo sais de Mn, conservação em alguns tipos de inox, bentonites e enzimas pectolíticas (Cabrera-Vique *et al.*, 2000) (cit por Catarino, 2006).

O Mn é um oligoelemento com intervenção a vários níveis no organismo humano. A sua deficiência, bem como a sua toxicidade quando em excesso, podem afetar o metabolismo cerebral (Cabrera-Vique *et al.*, 2000) (cit por Catarino, 2006).

Quadro 15 – Teores de Manganês no mosto e no vinho da exploração nº 1.

Amostra	[Mn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	0,680 ± 0,005
Vinho ²	1,578 ± 0,005
Vinho ³	1,557 ± 0,002

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 16 – Teores de Manganês no mosto e no vinho da exploração nº 2.

Amostra	[Mn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	0,688 ± 0,003
Vinho ²	1,293 ± 0,005
Vinho ³	1,229 ± 0,017

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 17 – Teores de Manganês no mosto e no vinho da exploração nº 3.

Amostra	[Mn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	2,125 ± 0,013
Vinho ²	1,749 ± 0,005
Vinho ³	1,952 ± 0,031

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Os teores de manganês, presentes nas amostras de mosto provenientes das explorações estudadas (Quadros 15 a 17), apresentam-se no intervalo compreendido entre 0,680 mg/L (exploração nº1 - Quadro 15) e 2,125 mg/Lm (exploração nº3 - Quadro 17). Relativamente aos vinhos (Quadros 15 a 17), os teores estão compreendidos entre 1,229 mg/L (exploração nº2 – Quadro 16) e 1,952 mg/L (exploração nº3 – Quadro 17).

Apesar da grande variabilidade dos valores extremos e médios o teor de manganês nos vinhos é normalmente inferior a 3 mg/L (Fabani, 2009; Manfroi, 2006; González, 2009; Galgano, 2008).

b) Zinco

O zinco (Zn) encontra-se na natureza sob a forma de minerais combinados com enxofre, numa mistura de sulfuretos de Zn e Pb, sendo um elemento essencial ao desenvolvimento e crescimento vegetal (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998) (cit por Catarino, 2006). Ao contrário do que se verifica para o cobre (Cu), parece não haver uma acumulação significativa deste elemento nos solos (Magalhães *et al.*, 1985) (cit por Catarino, 2006).

Para além da presença endógena, como resultado da sua assimilação pela videira, é também de realçar, como significativa, a resultante da aplicação de fungicidas, mais especificamente os pertencentes à família dos ditiocarbamatos (Salvo *et al.*, 2003) (cit por Catarino, 2006).

O contacto com materiais à base de ligas metálicas contendo Zn (ferro galvanizado, latão) e da utilização de produtos enológicos podem constituir

formas de introdução de Zn no vinho. Durante a fermentação alcoólica uma parte significativa deste metal é eliminada (Curvelo, 1988)

À semelhança de outros metais, o teor total de Zn nos vinhos depende da intensidade dos fenómenos de maceração, extração e solubilização ocorridos durante a fermentação, uma vez que se localiza preferencialmente nas películas e nas grainhas. Fermentações que decorrem a temperaturas mais elevadas, em igualdade das restantes condições, originam normalmente vinhos com maior teor de Zn (Fournier *et al.*, 1998a) (cit por Catarino, 2006).

Quadro 18 - Teores de Zinco no mosto e no vinho da exploração nº 1.

Amostra	[Zn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	0,146 ± 0,005
Vinho ²	0,683 ± 0,008
Vinho ³	0,870 ± 0,010

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 19 - Teores de Zinco no mosto e no vinho da exploração nº 2.

Amostra	[Zn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	3,143 ± 0,070
Vinho ²	2,315 ± 0,012
Vinho ³	2,223 ± 0,009

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 20 - Teores de Zinco no mosto e no vinho da exploração nº 3.

Amostra	[Zn ²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	0,291 ± 0,006
Vinho ²	1,333 ± 0,008
Vinho ³	1,555 ± 0,006

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Os teores de zinco, presentes nas amostras de mosto provenientes das explorações estudadas (Quadros 18 a 20), apresentam-se no intervalo compreendido entre 0,146 mg/L (exploração nº1 - Quadro 18) e 3,143 mg/L (exploração nº2 - Quadro 19).

Relativamente aos vinhos (Quadros 18 a 20), os teores estão compreendidos entre 0,683 mg/L (exploração nº1 – Quadro 18) e 2,315 ppm

(exploração nº2 – Quadro 19) estando dentro do limite máximo admissível de 5 mg/L pelo OIV (2012).

Como já foi referido, o zinco presente no vinho pode ter múltiplas origens. Apesar do vinho proveniente da exploração nº2 (Quadro 19) apresentar o teor de zinco dentro do limite máximo admissível, o seu valor é o mais alto das explorações estudadas. A riqueza do solo neste metal e a aplicação de produtos fitofarmacêuticos à base de propinebe, que segundo FAO (1980), podem apresentar teores entre 21,2 e 23,9% de zinco, poderão contribuir para um aumento dos teores deste metal no vinho. As explorações nº2 (Quadro 6) e nº3 (Quadro 7) foram as que realizaram o maior número de tratamentos com produtos à base de propinebe, mais concretamente três.

c) Cobre

O cobre (Cu) é um elemento indispensável para o normal funcionamento dos tecidos sendo co-factor em numerosas reações enzimáticas.

Os mostos contêm em alguns casos quantidades apreciáveis de cobre. Parte deste metal provém da própria constituição das uvas, mas a maior parte é originada pelos tratamentos cúpricos anticriptogâmicos, o que explica a grande variabilidade e aparente aleatoriedade desses teores (Curvelo, 1988).

Durante a fermentação alcoólica, grande parte do cobre precipita sob a forma de sulfureto, sendo dessa forma eliminado naturalmente do meio e levando a que os teores nos vinhos sejam relativamente baixos, normalmente da ordem de 0,1 a 0,2 mg/L (Curvelo, 1988).

Por vezes a eliminação deste metal é ligeiramente favorecida pela presença de dióxido de enxofre, sendo claramente acelerada quando o pH e o teor em sulfatos são elevados (Pato, 1964) (cit. por Curvelo, 1988). O contacto com material de cobre, latão ou bronze, também poderá ser uma causa para a presença deste metal nos vinhos (Curvelo, 1988).

O cobre quando está presente nos vinhos em teores superiores a 1 mg/L, na presença de proteínas e em ambiente redutor, pode originar uma turvação, denominada “casca cúprica” (Curvelo, 1988), bem como provocar toxicidade, daí a recomendação do OIV (2012) do teor referido como limite máximo admissível.

Quadro 21 - Teores de Cobre no mosto e no vinho da exploração nº 1.

Amostra	[Cu²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	0,698 ± 0,010
Vinho ²	0,047 ± 0,001
Vinho ³	0,065 ± 0,001

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 22 - Teores de Cobre no mosto e no vinho da exploração nº 2.

Amostra	[Cu²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	5,045 ± 0,020
Vinho ²	0,106 ± 0,001
Vinho ³	0,108 ± 0,001

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Quadro 23 - Teores de Cobre no mosto e no vinho da exploração nº 3.

Amostra	[Cu²⁺] (mg/L)
Mosto ¹	2,942 ± 0,029
Vinho ²	0,124 ± 0,001
Vinho ³	0,129 ± 0,005

1- Mosto do dia da vindima; **2**- Vinho no período intermédio entre o fim da fermentação e o engarrafamento; **3** -Vinho antes do engarrafamento.

Relativamente aos teores de cobre presentes nas amostras de mosto provenientes das explorações estudadas (Quadros 21 a 23), estes estão compreendidos entre 0,698 mg/L (exploração nº1 – Quadro 21) e 5,045 mg/L (exploração nº2 – Quadro 22).

Relativamente aos vinhos (Quadros 21 a 23), os teores estão compreendidos entre 0,047 mg/L (exploração nº1 – Quadro 21) e 0,124 mg/L (exploração nº2 – Quadro 22) estando dentro do limite máximo admissível de 1 mg/L estabelecido pelo OIV (2012). A nível comunitário, através do

Regulamento (CE) nº 396/2005 o teor de cobre está apenas contemplado para as uvas destinadas à produção de vinho com um limite máximo admissível de 50 mg/Kg.

No que diz respeito aos teores encontrados no mosto, merece relevo o valor determinado no mosto da exploração nº 2 (Quadro 22), mais concretamente 5,045 mg/L, o mais elevado das três explorações. Para a determinação deste valor de cobre no mosto, poderão ter contribuído os seis tratamentos fitossanitários efetuados com produtos à base de cobre antes da vindima.

Machado (1998), verificou que na Ilha do Pico, em zonas onde são cultivadas as castas Arinto e Verdelho em moldes tradicionais há dezenas de anos, os teores de cobre no solo, a uma profundidade entre os 0 e 20 cm, podem estar compreendidos entre 178 e 192 ppm. Segundo Galet (1983) (cit por Machado, 1998), em zonas sujeitas a intensos tratamentos cúpricos é possível encontrar valores da ordem dos 250 ppm.

Apesar da maior parte do cobre ser eliminado durante a fermentação alcoólica, segundo Vidal *et al.* (2001) (cit por Catarino, 2006), no caso de existir a adsorção de cobre pelas leveduras a sua atividade poderá ficar afetada e conseqüentemente a normal evolução da fermentação alcoólica em detrimento da qualidade do vinho.

5.3.2 Produtos fitofarmacêuticos

A vindima realizou-se em todas as explorações estudadas de acordo com os intervalos de segurança estabelecidos pela Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, para os produtos fitofarmacêuticos aplicados no último tratamento.

Após a pesquisa de resíduos das substâncias ativas, cimoxanil, ciprodinil, fludioxonil, folpete e metalaxil nas amostras de mosto e de vinho das três explorações estudadas, verificou-se que todas estavam abaixo dos limites de

deteção do método analítico, os quais são inferiores aos LMR definidos para cada uma das substâncias ativas (Quadros 10 e 11). De acordo com a legislação europeia em vigor, Regulamento (CE) nº 396/2005, apenas as uvas para vinho fazem parte dos produtos ao qual se aplicam os limites máximos de resíduos.

De acordo com Jiménez, *et al.* (2007) depois da vinificação a concentração de metalaxil diminui consideravelmente, principalmente nos vinhos que são mais clarificados, como é o caso dos brancos. No entanto, por vezes os seus metabolitos secundários podem ser encontrados no vinho. Em vinhos tintos, bem como em vinhos brancos, Cus *et al.* (2010) e Walorczyk *et al.* (2011) encontraram resíduos de metalaxil.

O Folpete, segundo Cabras & Farris (1999), durante a prensagem, devido ao facto de entrar em contacto com o mosto, que por natureza é ácido, pode degradar-se rapidamente e não ser detetado nos vinhos.

Rodríguez *et al.* (2011) detetou cimoxanil nas uvas, mas nos vinhos brancos destas não. Por outro lado, Otero *et al.* (2003) não detetaram cimoxanil nas uvas.

Segundo Rodríguez *et al.* (2011), a adição de enzimas pectolíticas leva a uma diminuição do teor de resíduos de ciprodinil devido à sua adsorção pelas partes sólidas. Otero *et al.* (2003) detetaram ciprodinil e fludioxonil em uvas. No entanto, Cus *et al.* (2010) não detetaram a presença de ciprodinil nem nos mostos, nem nos vinhos brancos.

5.4 Análises físico-químicas dos vinhos estudados

O título alcoométrico volúmico dos vinhos provenientes das explorações estudadas (Quadro 24) está compreendido entre 11,44 % v/v (exploração nº2) e 13,47 % v/v (exploração nº3)

Os valores de acidez total (Quadro 24) estão compreendidos entre 6,0 g/l (exploração nº1) e 7,3 g/l (exploração nº2) e os de acidez volátil entre 0,33 g/l (exploração nº1) e 0,63 g/l (exploração nº 3). Ambos os parâmetros estão de acordo com a legislação em vigor, designadamente, o Regulamento (CE) nº 491/2009, Anexo III- 1 d e o Regulamento (CE) nº 606/2009, Anexo I C- 1 b.

Quadro 24 – Resultados das análises físico-químicas aos vinhos estudados.

Determinações	Exploração nº1	Exploração nº2	Exploração nº3
Massa volúmica (g/cm ³)	0,9930	0,9952	0,9918
Título Alcoométrico Volúmico a 20°C (%v/v)	13,34	11,44	13,47
Extrato Seco Total (g/l)	26,6	26,8	26,4
Acidez Total (g/l exp.ác.tartárico)	6,0	7,3	6,8
Acidez Fixa (g/l exp.ác.tartárico)	5,5	6,7	6,0
Acidez volátil (g/l exp.ác.acético)	0,33	0,44	0,63
pH	3,42	3,21	3,10
SO ₂ livre (mg/l)	33	0	0
SO ₂ total (mg/l)	233	184	59
Açúcares Redutores (g/l)	2,6	2,3	1,5

Os valores de dióxido de enxofre total registados na exploração nº 2 (184 mg/l) e na exploração nº3 (59 mg/l) encontram-se abaixo do limite máximo de 200 mg/l estabelecido pelo Regulamento (CE) nº 606/2009, Anexo I B – A. 1.b) ao contrário dos registados na exploração nº1 (233 mg/l).

CAPÍTULO VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS

O presente trabalho cumpriu o objetivo a que se propôs, tendo sido realizada a avaliação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos em mostos e vinhos das castas Terrantez da Terceira e Verdelho da zona vitivinícola dos Biscoitos.

Relativamente ao controlo de maturação, como já foi referido, a forma mais simples de expressar a evolução da maturação é através da relação do *índice de maturação*. Relativamente aos valores registados, penso que se as vindimas se realizassem um pouco mais tarde, conseguir-se-ia índices de maturação ligeiramente mais elevados e conseqüentemente melhores maturações.

A fermentação alcoólica sob refrigeração deverá ser um critério para a produção de vinhos de qualidade na zona vitivinícola dos Biscoitos. No entanto, na sua ausência, como é o caso da fermentação em barricas de madeira, a temperatura das uvas à chegada da adega, bem como a temperatura desta, deverão ser controladas.

Dos produtos fitofarmacêuticos propostos a despiste: cimoxanil, ciprodinil, fludioxonil, folpete e metalaxil, nenhum foi detetado pelo método analítico utilizado, cujos limites de deteção são inferiores aos LMR definidos para as uvas. Todos os teores de metais determinados encontravam-se abaixo dos limites máximos admissíveis previstos na legislação associada.

Relativamente às determinações físico-químicas realizadas aos vinhos provenientes das explorações estudadas, convém realçar a transposição do limite máximo permitido de dióxido de enxofre total no vinho da exploração nº1. Esta situação poderá depreciar qualitativamente o vinho, bem como provocar algum desconforto ao consumidor.

Apesar dos resultados obtidos serem favoráveis quer aos produtores, quer ao consumidor final, é necessário desenvolver mais trabalhos relacionados com a determinação de resíduos de produtos fitofarmacêuticos em vinhos, uma vez que estes, além de provocarem problemas enológicos, muitas das vezes graves, podem colocar em causa a saúde pública.

Com as mudanças climáticas que se fazem sentir globalmente, a diferença entre estações do ano será cada vez menor, principalmente em regiões como o arquipélago dos Açores. Tal situação levará ao aparecimento de novos problemas fitossanitários nas culturas e um possível agravamento dos atuais, provocando uma tendência crescente para a utilização de produtos fitofarmacêuticos. No entanto, cabe aos técnicos da área agrícola apoiar no campo os produtores nas suas tomadas de decisão e sensibilizá-los para o uso ótimo dos recursos naturais, as práticas agrícolas sem impacto negativo nos ecossistemas agrários, bem como a proteção e o aumento dos auxiliares.

CAPÍTULO VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, S. M. F. M. (2007). *Estudo dos Fungicidas QoI na Vinha e nos Vinhos Portugueses*. Tese de Doutoramento em Ciências da Engenharia. Faculdade de Engenharia - Universidade do Porto. Porto. 196 pp.

AESB (2008). *Especialização em Produção Enológica - Vinhos Brancos*
<http://www.aesbuc.pt/twt/ETGI/MyFiles/MeusSites/Enologia/brancos.html>.
Consultado a 2011-10-20.

Aline (2010). *Casa Gospel*
<http://casagospelalineraza.blogspot.pt/2010/10/videira-de-perto-2-o-periodo-do-choro.html>. Consultado a 2012-03-27.

Amaro, P. (2003). *A Protecção Integrada*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. Portugal, 446 pp.

Angelova, V.; Ivanov, A.& Braikov, D. (1997). Heavy metals (Pb, Cu, Zn and Cd) in the system soil-grapevine-grape-wine, *XXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Buenos Aires, Argentina. 6 pp.

Anónimo A. (2009). *Bagos de Uva*.
<http://bagosdeuva.blogspot.com/2008/07/biscoitos-trs-castas-recomendadas.html>. Consultado a 2011-06-18.

Anónimo B. (2009). *Wikimedia commons*.
http://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page. Consultado a 2011-06-18

Anónimo C. (2008). *Aprender na Vinha*.
<http://aprendernavinha.blogspot.pt>. Consultado a 2012-03-27

Anónimo D. (2006). *Wikimedia*
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9b/UncinulaNecatorOnGrapes.jpg>. Consultado a 2012-03-27

Base de Dados de Pesticidas da UE (2012)

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=activesubstance.selection. Consultado a 20-03-2012

BAYER. (1998). *A linha BAYER para a Proteção Integrada da Vinha*. Departamento Técnico e Marketing. Divisão Proteção de Plantas. BAYER Portugal S.A. Carnaxide. Portugal, 66 pp.

BAYER. (2001). *Auxiliares Bayer – Manual de Proteção Integrada em Vinha*. Departamento Técnico e Marketing. Divisão Proteção de Plantas. Bayer Portugal S.A. Carnaxide. Portugal, 76 pp.

Becerra, V.; Navarro, R.; Catania, C.; Avagnina del onte, S. (1997). Influencia de pesticidas en la vinificacion y en la calidad final del vino, *XXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Buenos Aires, Argentina. 6PP.

Berkowitz, M. (1996). *World's Earliest Wine*. Archaeological Institute of America. <http://www.archaeology.org/9609/newsbriefs/wine.html>. Consultado a 2011-07-05.

Cabras, P. & Farris, G.A. (1999). Residui di fitofarmaci nell'uva e nel vino, *Vignevini*, **7/8**: 38-41.

Cabras, P.& Angioni, A. (2000). Pesticides residues in grapes, wine, and their processing products (Review), *J. Agric. Food Chem.*, **48** (4): 967-973.

Cabras, P.; Angioni, A.; Garau, V.L.; Pirisi, F.M.; Farris, G.A.; Madau, G.& Emonti, G.(1999). Pesticides in fermentative processes of wine, *J. Agric. Food Chem.*, **47** (9): 3854-3857.

Calhelha, R. C.; Andrade, J. V.; Ferreira, C.& Estevinho, L. M. 2005. Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process, *Food Microbiology*, **23**: 393-398.

- Cardoso, A. D.. (2007). *O vinho, da Uva à Garrafa*. Âncora Editora. Portugal, 423 pp
- Catarino, S. C. G. (2006). *Metais contaminantes nos vinhos. Ocorrência por influência das bentonites*. Tese de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 158 pp.
- COTHN (2009) Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional, *InfoAgro Online* <http://infoagro.cothn.pt/portal>. Consultado a 2011-06-08.
- COTHN (2009) Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional, *InfoAgroOnline* http://infoagro.cothn.pt/pic/curvatura_em_S_43b8fdd3ba145.jpg Consultado a 2011-06-08
- Champagnol, F. (1984). *Elements de physiologie de la vigne e de viticulture generale*. Montpellier, 372 pp.
- (CLIMAAT). Centro do Clima, Meteorologia e Mudanças Globais da Universidade dos Açores <http://www.climaat.angra.uac.pt/index.htm>. Consultado a 2011-10-21.
- Correia, M. M. B. (2003). *Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para a Determinação de Resíduos de Produtos Fitossanitários em Vinhos*. Tese de Doutoramento em Ciências da Engenharia. Faculdade de Engenharia - Universidade do Porto. Porto. 268 pp.
- Curvelo, G. A.S. (1988). *Controlo de qualidade dos vinhos : química enológica, métodos analíticos*. Instituto da Vinha e do Vinho. Lisboa. Portugal, 420 pp.
- Cus, F.; Cesnik, H.; Bolta, S. V.& Gregorcic, A. (2010). Pesticide residues and microbiological quality of bottled wines, *Food Control*, **21**: 150-154.

- Cus, F.; Cesnik, H.; Bolta, S. V.& Gregorcic, A. (2010). Pesticide residues in grapes and during vinification process, *Food Control*, **21**: 1512-1518.
- D.G.A.D.R (Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural). <http://www.dgadr.pt/> . Consultado a 2010-09-20.
- Dias, J. E. E.; Paulo, V.; Mestre, S.; Martins, J. T. & Goulart, I. (2006). *O encepamento do arquipélago dos Açores*. Estação Vitivinícola Nacional. Serviços de Desenvolvimento Agrário. Secretaria Regional da Agricultura e Florestas. Região Autónoma dos Açores, Portugal, 14 pp.
- Ermida, L, M, R. (2001). *A casta Verdelho na Região Vitivinícola dos Biscoitos. Contributo para a Caracterização dos Processos de Maturação e Fermentação*. Relatório final da Licenciatura em Engenharia Agrícola. Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo. Açores. Portugal, 109 pp.
- Fabani, M.; Toro, M.; Vásquez; Diaz, M.& Wunderlin, D. (2009). Differential Absorption of Metals from Soil to Diverse Vine Varieties from the Valley of Tulum (Argentina): Consequences To Evaluate Wine Provenance, *J. Agric. Food Chem.*, **57**: 7409-7416.
- FAO, (1980) *FAO Tentative Specifications for Plant Protection Products – Propineb*, Rome, 14 pp.
- Félix, A. P., Freitas, J.& Ramadas, I. (2006). *Métodos de previsão e evolução dos inimigos das culturas -Vinha*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Serviço Nacional de Avisos Agrícolas. Direcção-Geral de Protecção das Culturas. Oeiras. Portugal, 69 pp.
- Galgano, F.; Favati, F.; Caruso, M; Scarpa, T.& Palma, A. (2008). Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *LWT - Food Science and Technology*. **41**: 1808-1815.

- Gomes, R, M. (1999). *Estudo dos problemas fitossanitários de três diferentes castas de vinhas, Verdelho (Vitis vinífera L.), Seara Nova (Vitis vinífera L.) e Isabella (Vitis labrusca L.), na zona de aptidão vitivinícola dos Biscoitos*. Relatório final da Licenciatura em Engenharia Agrícola. Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo. Açores. Portugal, 145 pp.
- González, A.; Llorens, M.; Cervera, S.& Guardia, M. (2009). Elemental fingerprint of wines from protected designation of origin. *Food Chem.*, **112**: 26-34
- Grinbaum, M. (1999). I residui dei prodotti agroarmaceutici nel vino, *Vignevini.*, **7/8**:36-37.
- Grinbaum, M. (1999). Prodotti antiparassitari e fermentazione alcolica, *Vignevini.*, **7/8**: 45-48.
- Hitos Natera, P. (1997). Residuos de Pesticidas en el Vino: Determinación por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas, *XXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Buenos Aires, Argentina. 7 pp.
- Ibero Americana Radio Chile, 2008. *SAG redobla combate contra la polilla de la vid*. <http://www.adnradio.cl/nota.aspx?id=605647>. Consultado a 2012-01-10
- I.V.V, I.P. (2009). *A Produção de Vinho em Portugal, Campanhas 2000/2001 a 2008/2009*. Instituto da Vinha e do Vinho. Portugal. 35 pp.
- Jiménez, J.J.; Bernal, M.J.; Nozal, M.J.; Bernal, J.& Toribio, L. (2007). Persistence and degradation of metalaxyl, lindane, fenvalerate and deltamethrin during the wine making process, *Food Chemistry*, **104**: 216-223.
- Leroux, P. (2003). Modes d`action des produits phytosanitaires sur les organisms pathogens des plantes. *C. R. Biologies.*, **326**: 9-21.

- Lonvaud-Funel, A.; Coton, E.; Torlois, S. & Bertrand, A. (1998). Amines biogenes et bacteries lactiques du vin, *XXIII Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Lisboa, Portugal, **II**: 29-33.
- Lopes, H, D., Cabrera, Perez, R., Borges, P, A, V., Aguin, P, D., Pereira, A, M, N., Mumford, J, D. & Mexia, A, M, M. (2009). *Folhas Divulgativas*. Centro de Biotecnologia dos Açores. Portugal, 192 pp.
- López, R.; Santamaría, P.; Epifanio, S.; Gutiérrez, A.R.& Martínez, J. (1998). Influencia de un nuevo pesticida antibotrófico aplicado en la viña sobre el desarrollo y resultado de la fermentación alcohólica, *XXIII Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Lisboa, Portugal, **II**: 441-446.
- M.A.P.A. (1992). *Los parasitos de la vid. Estrategias de Protección Razonada*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. España, 304 pp.
- Madruga, J. (1996). *O Verdelho dos Biscoitos e a sua técnica cultural. Boletim da confraria do vinho dos Biscoitos*. Ilha Terceira, Açores. Ano I. Nº 1, 12-13 pp.
- Manfroi, L.; Miele, A.; Rizzon, L.& Barradas, C. (2006). Composição química do mosto da uva "Cabernet Franc" conduzida no sistema lira aberta. *Ciênc. Agrotec., Lavras*, **30**: 787-792.
- Navarre, C. (2008). *Enologia - Técnicas de Produção do Vinho*. 2ª Edição. Publicações Europa-América. Portugal, 309 pp.
- O.I.V. (2009). *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Volume I. International Organization of Vine and Wine. Paris, 417 pp.
- Oliveira, A. B.& Henriques, M. (2011). *Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos - Lista dos Produtos com Venda Autorizada*. Direcção-Geral de Protecção das Culturas. Oeiras, 220 pp

Simões, J. S. (2005). *Utilização de Produtos Fitofarmacêuticos na Agricultura*. 1ª Edição. SPI – Sociedade Portuguesa de Inovação Consultadoria Empresarial e Fomento da Inovação, S.A. Portugal, 104 pp.

Stone Pages. (2003) *Archaeo News*.

<http://www.stonepages.com/news/archives/000498.html> . Consultado a 2011-06-15.

Tomera, J.F. (1999). Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption, *Trends in Food Science & Technology*: **10**, 129-138.

Tomlin, C. D. S (Ed.) (1997) *The Pesticide Manual*, 11th Ed, British Crop Protection Council, 1606 pp

Torre-Boronat, M.C. (1997). Dentro del marco vino y salud ¿Qué posturas se deberían tomar frente a los problemas toxicológicos y de seguridad alimentaria?, *XXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin*, Buenos Aires, Argentina. 9 pp

Urruty, L.; Montury, M.; Braci, M.; Fournier, J. & Dournel, J.-M. (1997). Comparison of two recent solventless methods for the determination of procymidone residues in wine: SPME/GC/MS and ELISA tests, *J. Agric. Food Chem.*, **45** (5): 1519-1522.

Walorczyk, S.; Drozdzyński, D. & Gnusowski, B. (2011). Multiresidue determination of 160 pesticides in wines employing mixed-mode dispersive-solid phase extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Talanta*, **85**: 1856-1870.

Ying, G. & Williams, B. (2000). Dissipation of herbicides in soil and grapes in a South Australian vineyard. *Agric. Ecosys. Environm.*, **78**: 283-289.

CAPÍTULO VIII – LEGISLAÇÃO

Decreto-Lei nº 17/94, de 25 de Janeiro (1994) – *Zonas Vitivinícolas na Região Autónoma dos Açores*.

Decreto-Lei nº 341/98, de 4 de Novembro (1998) – *Princípios uniformes para a avaliação e a autorização dos produtos fitofarmacêuticos* (transposição para o direito interno da Diretiva 91/414/CEE).

Regulamento (CE) Nº 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Fevereiro de 2005 relativo aos limites máximos de resíduos de pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, e que altera a Diretiva 91/414/CEE do Conselho.

Regulamento (CE) Nº 491/2009 do Conselho de 25 de Maio de 2009 que altera o Regulamento (CE) Nº 1234/2007 que estabelece uma organização comum dos mercados agrícolas e disposições específicas para certos produtos agrícolas (Regulamento «OCM única»).

Regulamento (CE) Nº 606/2009 da Comissão de 10 de Julho de 2009 que estabelece regras de execução do Regulamento (CE) N.º 479/2008 do Conselho no que respeita às categorias de produtos vitivinícolas, às práticas enológicas e às restrições que lhes são aplicáveis.