

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**RESÍDUOS DE FUNGICIDAS EM VINHOS DE
DIFERENTES PROPRIEDADES VITIVINÍCOLAS DO
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL, FRENTE AO USO DA
TECNOLOGIA *THERMAL PEST CONTROL* A CAMPO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Joseane de Oliveira Mozzaquatro

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

**RESÍDUOS DE FUNGICIDAS EM VINHOS DE DIFERENTES
PROPRIEDADES VITIVINÍCOLAS DO RIO GRANDE DO
SUL, BRASIL, FRENTE AO USO DA TECNOLOGIA
*THERMAL PEST CONTROL A CAMPO***

Joseane de Oliveira Mozzaquatro

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ijoni Hilda Costabeber

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

**RESÍDUOS DE FUNGICIDAS EM VINHOS DE DIFERENTES
PROPRIEDADES VITIVINÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL,
BRASIL, FRENTE AO USO DA TECNOLOGIA *THERMAL PEST
CONTROL A CAMPO***

elaborada por
Joseane de Oliveira Mozzaquatro

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Comissão Examinadora:

Ijoni Hilda Costabeber, Dr^a (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Osmar Damian Prestes, Dr (UFSM)
(Co-Orientador)

Cláudia Kaehler Sautter, Dr^a (UFSM)

Joice Sifuentes dos Santos, Dr^a (UNOPAR)

Santa Maria, 06 de Março de 2015

AGRADECIMENTOS

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

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, pela oportunidade.

Ao Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), por permitir a utilização de suas dependências e equipamentos, sem custo algum, para realização das análises cromatográficas na determinação dos fungicidas nas amostras de vinhos analisadas. Aos professores Osmar D. Prestes e Renato Zanella, o meu mais sincero obrigado!

Às vinícolas, pela cedência das amostras de uvas, e pela disponibilidade no fornecimento de informações necessárias para elaboração do trabalho.

À Prof. Ijoni Hilda Costabeber, não somente pela orientação deste trabalho, mas pelos ensinamentos ao longo dessa caminhada. Obrigada pela oportunidade, amizade e confiança depositada em mim.

À banca examinadora, composta pelas professoras Cláudia Sautter, Joice Sifuentes e Neidi Penna pela receptibilidade em aceitar o convite. Desde já agradeço as contribuições construtivas, que com certeza serão consideradas.

Ao grupo de pesquisas da Prof.^a Cláudia Sautter! Agradeço a todos que colaboraram com as coletas das uvas, com as vinificações até tarde da noite, e em especial, sou grata à querida colega Taísa Ceratti, pelo fornecimento das amostras de vinhos das safras anteriores, pelo acolhimento no grupo e amizade. Muito obrigada a todos!

Às amigas construídas no LAPP, desde o tempo de iniciação científica, em que tive a oportunidade de participar dos projetos e conviver com os queridos colegas Susana Mohr, Giane Pigatto, Vanusa Granella e Thiago Schwanz, e mais recentemente, Bárbara Reichert.

À minha amiga e colega Amanda R. Ruviaro, pelo companheirismo, amizade, atenção e carinho, e a todas as amigas que acompanharam essa caminhada, mesmo que de longe, sei que torcem por mim.

À turma de mestrado de 2013, pelas amigas construídas, parcerias e rodas de chimarrão nas aulas.

Aos meus pais; minha mãe, pela ajuda incansável nos momentos de correria, pelo carinho, dedicação e apoio incondicional; meu pai, pelo apoio, confiança e carinho. Para os quais dedico esse trabalho.

Aos demais familiares, que mesmo à distância, acompanham com boas vibrações, em especial, ao meu irmão pelo apoio e confiança depositada em mim.

Ao Álvaro, muito obrigada por tudo! Pelo apoio nos momentos de preocupação, pelo carinho, confiança, na verdade, por ser meu companheiro para todas as horas, mesmo que de longe.

“Apesar de nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existe são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles.”

(Augusto Cury)

“É do buscar e não do achar que nasce o que eu não conhecia.”

(Clarice Lispector)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

RESÍDUOS DE FUNGICIDAS EM VINHOS DE DIFERENTES PROPRIEDADES VITIVINÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL, FRENTE AO USO DA TECNOLOGIA *THERMAL PEST CONTROL* A CAMPO

AUTORA: JOSEANE DE OLIVEIRA MOZZAQUATRO

ORIENTADORA: IJONI HILDA COSTABEBER

CO-ORIENTADOR: OSMAR DAMIAN PRESTES

Local e Data de Defesa: Santa Maria, 06 de março de 2015.

O uso de compostos químicos em vitivinicultura é extremamente elevado. Neste sentido, torna-se oportuno identificar e quantificar resíduos de pesticidas em vinhos, pois as uvas figuram a lista de maior número de aplicações de pesticidas na agricultura do país. Com intuito de reduzir o uso de pesticidas, alguns vitivinicultores utilizam a tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC) no manejo de seus vinhedos, como forma alternativa no combate às pragas. Trata-se de uma tecnologia que gera e fornece elevadas temperaturas às videiras, conferindo uma maior resistência microbiana. O objetivo deste estudo foi identificar e quantificar fungicidas em vinhos brancos e tintos, oriundos de diferentes propriedades vitivinícolas do Rio Grande do Sul, produzidos a partir de uvas com e sem o emprego da tecnologia TPC durante o seu cultivo. Foram cedidas amostras das variedades Tannat, Chardonnay e Cabernet Sauvignon nas safras 2011/2012, 2012/2013 e 2013/2014. Realizaram-se vinificações em escala laboratorial e separadamente para aquelas uvas sem o emprego da tecnologia TPC (controle) daquelas que fizeram uso desta (com TPC). No preparo das amostras utilizou-se o método QuEChERS acetato modificado. Após, as análises procederam-se em UHPLC-MS/MS para determinação dos fungicidas. Boscalida, procimidona, piraclostrobina, pirimetanil, tetraconazol e tiofanato-metílico foram detectados acima do LOQ em ambos os tratamentos. Nos tratamentos, controle e com TPC, o pirimetanil obteve maior frequência (85,71%) e médias (26,33 e 30,16 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. Não houve diferença significativa para os dois tipos de vinhos (tintos e brancos). Nos vinhos da cv. Chardonnay, safra 2012/2013, o fungicida pirimetanil diferiu estatisticamente ($p=0,021$), com média de 64,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ (controle), e de 111,12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (com TPC), apresentando níveis superiores para os vinhos com a utilização da tecnologia TPC. Já nos vinhos da cv. Chardonnay, safra 2013/2014, o procimidona apresentou média superior no controle (6,47 $\mu\text{g L}^{-1}$), do que no tratamento com TPC (0,46 $\mu\text{g L}^{-1}$). E nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, safra 2013/2014, cujas uvas foram produzidas na propriedade vitivinícola 'C', o composto procimidona obteve média superior para o tratamento com TPC (129,73 $\mu\text{g L}^{-1}$), do que em relação ao controle (3,69 $\mu\text{g L}^{-1}$). Diante do exposto, a presença de resíduos de fungicidas foi confirmada neste estudo, porém nenhum dos compostos mostrou-se acima dos LMRs estabelecidos para as uvas, considerando suas correções de massa. Tais resultados demonstraram concentrações de resíduos superiores para aqueles vinhos produzidos a partir de uvas submetidas à tecnologia TPC. Não foram encontradas referências na literatura que abordem resíduos de fungicidas em vinhos, cujas uvas fossem submetidas a esta tecnologia, o que nos leva a deduzir que este seja o primeiro estudo realizado sobre o tema.

Palavras-chave: *Thermal Pest Control*, Fungicidas, Rio Grande do Sul, Vinhos.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Science and Food Technology
Federal University of Santa Maria

FUNGICIDE RESIDUES IN WINES OF WINE PROPERTIES OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL, REGARDING THE USE OF THERMAL PEST CONTROL TECHNOLOGY IN THE FIELDS

AUTHOR: JOSEANE DE OLIVEIRA MOZZAQUATRO

ADVISER: IJONI HILDA COSTABEBER

CO-ADVISER: OSMAR DAMIAN PRESTES

Place and Date of Defense: Santa Maria, March 6, 2015.

The use of chemical compounds in the wine industry is extremely high, thus, it is appropriate to identify and quantify pesticide residues in wine because grapes are one of the fruits with the highest number of pesticide applications in the country's agriculture. In order to reduce the use of pesticides, some winemakers have been using the Thermal Pest Control (TPC) technology in the management of their vineyards as an alternative to control pests. It is a technology that provides the high temperatures vines, providing a greater antimicrobial resistance. The objective of this study was to identify and quantify fungicides in white and red wines produced from grapes with and without the use of TPC technology for their cultivation in different wine properties of Rio Grande do Sul. Samples of Tannat, Chardonnay and Cabernet Sauvignon varieties from the 2011/2012, 2012/2013 and 2013/2014 harvests were collected in three wine properties of RS. Vinification process was performed in laboratory scale separately for grapes using no TPC technology (control) and grapes using TPC (TPC). The modified QuEChERS acetate method was used for sample preparation. Afterwards, analyzes were carried out using UHPLC-MS/MS for determination of fungicides. Boscalid, procymidone, pyraclostrobin, pyrimethanil, thiophanate-methyl and tetraconazole were detected above the LOQ in both treatments. In control and with TPC, pyrimethanil presented higher frequency (85.71%) and averages (26.33 and 30.16 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectively. There was no significant difference between the white and red wines. In Chardonnay wines, 2012/2013 harvests, the fungicide pyrimethanil was statistically different, with an average of 64.67 $\mu\text{g L}^{-1}$ (control), and 111.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (TPC), thus, higher levels for wines with the use of TPC technology were observed. In Chardonnay wines, 2013/2014 harvests, showed the higher average of procymidone in control (6.47 $\mu\text{g L}^{-1}$) than in treatment with TPC (0.46 $\mu\text{g L}^{-1}$). In Cabernet Sauvignon wines, 2013/2014 harvests, presented a higher average of procymidone in treatment with TPC (129.73 $\mu\text{g L}^{-1}$) than in control (3.69 $\mu\text{g L}^{-1}$). Therefore, the presence of fungicide residues was observed in this study, but none of the compounds presented levels above the MRL established for grapes considering their mass corrections. These results show higher concentrations of residues for those wines produced from grapes submitted to TPC technology. We found no references in literature about fungicide residues in wine whose grapes were submitted to this technology, which leads us to believe this is the first study on the subject.

Key words: Thermal Pest Control, Fungicides, Rio Grande do Sul, Wines

LISTA DE TABELAS

Manuscrito

Tabela 1- Fungicidas utilizados neste estudo; todos permitidos por legislação para cultivo da uva no Brasil.....	45
Tabela 2- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas que não foram submetidas à tecnologia Thermal Pest Control durante o seu cultivo (tratamento 1).....	46
Tabela 3- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas que foram submetidas à tecnologia Thermal Pest Control durante o seu cultivo (tratamento 2).....	47
Tabela 4- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Tannat, produzidos a partir de uvas colhidas nas safras 2011/2012 e 2012/2013, na propriedade vitivinícola A (Grupo 1).....	48
Tabela 5- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Tannat, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (Grupo 2).....	49
Tabela 6- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Chardonnay, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2012/2013, na propriedade vitivinícola A (Grupo 3).....	50
Tabela 7- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Chardonnay, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (Grupo 4).....	51
Tabela 8- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (Grupo 5).....	52
Tabela 9- Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola C (Grupo 6).....	53

LISTA DE QUADROS

Manuscrito

QUADRO 1 - Representação dos agrupamentos das unidades amostrais.....	54
-----------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABE – Associação Brasileira de Enologia

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

cv – Cultivar

DP – Desvio padrão

EUA – Estados Unidos da América

IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBRAVIN – Instituto Brasileiro do Vinho

IDA – Ingestão Diária Aceitável

IPAGRO – Instituto de Pesquisas Agropecuárias

L - Litro

LARP – Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas

LMR – Limite Máximo de Resíduos

LOD – Limite de Detecção

LOQ – Limite de Quantificação

MAPA – Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mL – Mililitro

mm – Milímetro

MS – Espectrometria de massas (*Mass spectrometry*)

MS/MS – Espectrometria de massas sequencial ou *tandem*

PSA - Amina primária secundária (*Primary secondary amine*)

QuEChERS - *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*

rpm – Rotações por minuto

RS – Rio Grande do Sul

TPC – Thermal Pest Control

UFES – Universidade Federal de Santa Maria

UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography

UVIBRA – União Brasileira de Vitivinicultura

µg – Micrograma

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Lista dos pesticidas permitidos para cultura da uva.....	63
ANEXO B - Talanta: Guide for Authors.....	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 Vitivinicultura brasileira	17
3.1.1 Produção de uvas e vinhos	17
3.1.2 Vinho	18
3.1.3 Regiões vitivinícolas do Rio Grande do Sul.....	20
3.2 Doenças fúngicas e seu controle	22
3.2.1 Principais doenças fúngicas.....	22
3.2.2 Fungicidas.....	25
3.2.3 Uso da tecnologia Thermal Pest Control.....	25
3.2.4 Resíduos de fungicidas em vinhos.....	27
4 ARTIGO CIENTÍFICO	30
4.1 Manuscrito	30
5 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXOS.....	63

1 INTRODUÇÃO

O consumo de vinhos brasileiros tem aumentado nos últimos anos, devido ao aumento do número de apreciadores, à qualidade elevada, com características particulares de cada região e diversificada, e também em virtude desta bebida estar relacionada a diversas propriedades benéficas à saúde, como por exemplo, ação antioxidante, antiplaquetária, prevenção de doenças cardiovasculares, dentre outras. Observa-se que há um crescente interesse em consumir alimentos e bebidas que apresentem tais propriedades como forma de promoção à qualidade de vida, bem estar e longevidade. Neste sentido, é imprescindível à garantia e certificação da qualidade dos vinhos brasileiros, qualidade esta, atrelada não apenas aos aspectos enológicos, como também, em relação às normas e condutas ligadas às práticas agrícolas no cultivo das uvas destinadas ao processamento, no uso adequado e não abusivo de pesticidas, bem como no respeito aos períodos de carência e aos limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela legislação vigente.

Comumente sabe-se que em vitivinicultura, um dos fatores a serem considerados quando se almeja garantir uma produção com qualidade, é o controle e prevenção de doenças fúngicas, que quando não controladas, podem levar a sérios prejuízos econômicos, e, sobretudo a obtenção da matéria-prima de qualidade inadequada, e conseqüentemente, do vinho. Como forma de garantia, os produtores fazem uso de uma ampla variedade de pesticidas, principalmente, dos fungicidas, já que as variedades *Vitis viniferas* são bastante suscetíveis às doenças.

Os fungicidas utilizados nas videiras, quando presentes nas uvas, poderão ser transferidos para o vinho ao longo do processo de vinificação. Surge, portanto, uma necessidade em identificar e quantificar resíduos de fungicidas em vinhos, uma vez que níveis elevados, acima dos LMR estabelecidos para uva, podem prejudicar a saúde dos consumidores, como também interferem na etapa de fermentação e na qualidade do vinho produzido.

Tecnologias que visem à redução do uso de pesticidas na cultura vitícola, são extremamente importantes, pois geram expectativas de reduzir o uso destes compostos nas uvas, assim como colaborar com menores impactos ambientais. A tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC) tem sido utilizada por viticultores do Rio Grande do Sul neste sentido. Porém, ainda não há uma comprovação de sua ação, delimitando-se uma grande necessidade de estudos nessa área. O presente trabalho tem como objetivo determinar resíduos de dez

fungicidas em vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas submetidas e não submetidas à tecnologia *Thermal Pest Control* a campo.

A presente dissertação está estruturada de forma a apresentar uma abordagem geral à respeito da produção de uvas e vinhos no cenário brasileiro, em especial, no Estado do Rio Grande do Sul; uma caracterização deste produto; dos processos que envolvem a vinificação; da tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC), como forma alternativa de prevenção de doenças fungicas; as principais doenças que acometem os vinhedos; e os fungicidas, bem como os seus níveis residuais no produto acabado. Os materiais e métodos empregados na pesquisa, bem como seus resultados e discussão estão inseridos em forma de manuscrito, o qual será submetido para publicação em periódico científico. Por fim, apresentam-se as conclusões obtidas na pesquisa desenvolvida.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar e quantificar resíduos de dez fungicidas em vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas cultivadas com e sem o emprego da tecnologia *Thermal Pest Control* a campo.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar resíduos dos seguintes fungicidas: boscalida, cimoxanil, difenoconazol, metconazol, procimidona, piraclostrobina, pirimetanil, tebuconazol, tetraconazol e tiofanato metílico; em vinhos brancos e tintos produzidos a partir de amostras de uvas oriundas de três propriedades vitivinícolas do Rio Grande do Sul.
- Identificar e quantificar resíduos dos fungicidas acima nominados em vinhos cujo cultivo das uvas empregou-se a tecnologia Thermal Pest Control e nos quais não houve o emprego desta durante o cultivo das uvas.
- Comparar as concentrações de resíduos de fungicidas em amostras de vinhos tintos e brancos produzidos a partir de uvas submetidas e não submetidas à tecnologia TPC.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Vitivinicultura brasileira

3.1.1 Produção de uvas e vinhos

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores de vinhos da América do Sul, com vinhedos estabelecidos desde o extremo sul do país (latitude de 31° Sul), até regiões situadas muito próximas a linha do Equador (latitude de 5° Sul). Ocupa a terceira posição com quase 85.000 ha de vinhedos plantados, atrás da Argentina (211.000 ha) e Chile (127.000 ha) (POUSSIER, 2012). De acordo com Mello (2013), o Brasil, em 2010, assumiu a 13ª posição mundial da produção de vinhos, a 14ª de maior produtor mundial de uvas e a 20ª posição mundial em área cultivada com videiras, com uma produção variando entre 1.400 a 1.500 mil toneladas. O Brasil apresenta uma vasta diversidade em suas regiões vitícolas, permitindo com isso, a obtenção de uvas e vinhos com características próprias e diversificadas de acordo com as condições climáticas de cada região vitivinícola.

Nos últimos anos, a vitivinicultura brasileira encontra-se em processo de transformação. Trata-se de uma atividade extremamente importante, social e culturalmente, que contribui para a economia, desenvolvimento e sustentabilidade de algumas regiões do país, em especial, à pequena propriedade, com geração de empregos, e com a produção de uvas de mesa e uvas para processamento (MELLO, 2013).

Segundo dados estatísticos disponíveis no portal do IBGE, em 2012, aconteceram algumas instabilidades relacionadas à produção de uvas em alguns Estados, com uma redução de 0,52% em relação ao ano de 2011. A maior redução ocorreu no Estado do Paraná (-32,86%), seguido da Bahia (-4,80%) e de São Paulo (-0,18%). Porém, nos Estados de Pernambuco, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, ocorreram aumentos de 7,71%, 3,09%, 4,64% e 1,29%, respectivamente, em relação ao ano de 2011. Em 2012, a produção de vinhos, sucos e derivados no Estado gaúcho foi 0,09% superior à quantidade produzida em 2011. Também houve um aumento na produção de vinhos finos de 4,60% e uma redução de 17,48% na produção de vinhos de mesa.

Tradicionalmente, sabe-se que a vitivinicultura brasileira concentra-se significativamente no Rio Grande do Sul. Segundo Mello (2013), o Estado responde por 90% da produção de vinho de todo o país, e, além disso, conta com aproximadamente vinte mil famílias de

agricultores direta e indiretamente ligados à produção de uva, bem como abriga as principais entidades que buscam melhorias e evoluções para o vinho brasileiro, como a UVIBRA (União Brasileira de Vitivinicultura) e a ABE (Associação Brasileira de Enologia).

No entanto, Protas & Camargo (2011) apontam que o setor vitivinícola gaúcho passa por uma fase de competição relevante com os vinhos estrangeiros, que devido à qualidade e ao baixo custo, começam a ameaçar o mercado de vinhos de mesa no Brasil. Segundo dados do IBRAVIN, em 2009, o Brasil importou 59,13 milhões de litros de vinho, sendo o Chile e a Argentina os principais fornecedores, chegando a responder por 63,12% desse total. Nos anos de 2010 e 2011, as importações chegaram a 75,32 e 77,6 milhões de litros, respectivamente, sendo que esses dois países responderam por mais da metade das importações brasileiras.

Além disso, outros problemas afetam o desenvolvimento da vitivinicultura brasileira, a saber: o restrito consumo de vinho no mercado interno de, aproximadamente, dois litros *per capita*/ano, a crise econômica mundial, que associada ao ingresso de outros países no mercado, dificultou exportações de uvas de mesa na região do Vale do São Francisco. Adicionalmente o aumento do poder aquisitivo dos brasileiros proporciona uma busca maior por vinhos internacionais (MELLO, 2013).

Porém é relevante e notável o desenvolvimento e investimento crescente dessa atividade, com a expansão em áreas cultivadas, à adesão de novas regiões propícias para o cultivo de uvas e elaboração de vinhos finos, o emprego de tecnologias modernas tanto para o cultivo das uvas quanto para a elaboração de vinhos e derivados, como também a qualidade reconhecida e certificada em concursos nacionais e internacionais de vinhos finos e espumantes produzidos no país, especialmente no Rio Grande do Sul.

3.1.2 Vinho

A busca por alimentos e bebidas capazes de tratar e prevenir doenças, bem como aumentar a longevidade, é crescente em nossa sociedade moderna, em especial, àqueles que propiciam benefícios à saúde, com ação comprovada cientificamente, como é o caso do vinho (MORAES & LOCATELLI, 2010).

O vinho é considerado a mais nobre e simbólica bebida alcoólica, a qual é definida pelo artigo 3º da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, como sendo a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples de uva sã, fresca e madura, sendo essa denominação privativa do produto a que se refere este artigo, e vedada sua utilização para produtos obtidos

de quaisquer outras matérias-primas (BRASIL, 1988a). A classificação dos vinhos no Brasil se dá em relação à classe (de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso e composto), à cor (tinto, rosado, *rosé* ou clarete e branco) e ao teor de açúcar (*nature*, *extrabrut*, *brut*, seco, *sec* ou *dry*, meio doce, meio seco ou *demi-sec*, suave e doce) (BRASIL, 2004).

A composição do vinho é bastante rica, destacando-se: os açúcares, álcoois, ácidos orgânicos, substâncias nitrogenadas, compostos fenólicos, compostos voláteis e aromáticos (aldeídos, cetonas e ésteres), vitaminas, sais, anidrido sulfuroso (SOUZA et al., 2006; ALI et al., 2010). Os compostos fenólicos apresentam um papel importante em relação à qualidade do vinho, pois conferem atributos fundamentais como a cor e o sabor, e possuem uma ação protetora contra fungos, bactérias, vírus e radiação solar (DAS, SANTANI & DHALLA, 2007), sendo encontrados na casca, polpa e sementes das uvas. Além disso, sua importância também está atrelada à ação benéfica em relação à saúde, por meio das propriedades antioxidantes, bactericidas e vitamínicas, possibilitando a prevenção de doenças cardiovasculares (RIBÉREAU-GAYON et al., 2006).

Embora o vinho apresente uma grande complexidade em sua composição, a maioria dos estudos direciona-se na determinação dos principais compostos fenólicos, em especial, o resveratrol, os flavonoides, a quercetina e a catequina, todos bastante encontrados. Segundo Sautter et al. (2005), o resveratrol é considerado o composto fenólico mais importante do vinho, por apresentar uma ação antiplaquetária, anti-inflamatória, além de regular o metabolismo das lipoproteínas e agir como quimiopreventivo. É encontrado em grandes quantidades nas cascas de espécies de uvas *Vitis viniferas* e *Vitis labrusca*, com maiores concentrações nos vinhos tintos do que nos brancos e rosados, pois o processo de vinificação em tinto requer um elevado tempo de contato com as cascas, o que não ocorre na elaboração dos vinhos brancos e rosados (PENNA & HECKTHEUER, 2004).

Diversas são as variedades, ou castas, de uvas utilizadas na elaboração de vinhos finos, como *Cabernet Sauvignon*, *Tannat*, *Chardonnay*, *Malbec*, *Merlot*, *Pinot noir*, dentre outras (FERREIRA et al., 2010). Os vinhos finos são aqueles produzidos a partir de espécies de uvas europeias, *Vitis vinifera*; já os vinhos de mesa ou comuns, têm sua origem a partir de espécies de uvas americanas, por exemplo, *Vitis labrusca*. Os fatores que irão influenciar nas características sensoriais e na composição química do vinho são, sobretudo, a variedade da uva empregada na sua elaboração, bem como as características edafoclimáticas da região em que foram cultivadas (FISCHER et al., 1999). Neste sentido, a qualidade de um vinho depende essencialmente da qualidade da matéria-prima, tanto em relação à sanidade das uvas,

como em relação à maturação adequada, e para isso, torna-se imprescindível a identificação do período ideal da vindima.

De acordo com Aquarone et al. (2001), vinificação é um conjunto de operações realizadas para transformar a uva madura em vinho, englobando as fases de fermentação e estabilização. Para cada tipo de vinho, utiliza-se um conjunto de operações específicas a ele, mas há também algumas etapas do processo que são comuns a todos os tipos de vinhos; brancos, tintos ou rosados. As etapas do processo de vinificação compreendem desde as fases pré-fermentativas até as pós-fermentativas. Os procedimentos iniciais têm a finalidade de reduzir eventuais deficiências e/ou potencializar a qualidade da matéria-prima; a fermentação corresponde à etapa enológica mais importante, na qual atuam as leveduras, que basicamente irão converter os açúcares presentes no mosto em álcool e dióxido de carbono. As etapas pós-fermentativas irão garantir a estabilização do vinho desejado.

Os requisitos tecnológicos para a produção de vinho, bem como os seus padrões de identidade, são regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O Ministério da Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988 (BRASIL, 1988b), monitora os aditivos utilizados na produção de vinho, com a preocupação voltada não para a qualidade do produto, mas para a saúde do consumidor.

3.1.3 Regiões vitivinícolas do Rio Grande do Sul

A vitivinicultura no Rio Grande do Sul está diretamente ligada à colonização italiana estabelecida no Estado a partir de 1875, principalmente na Serra Gaúcha e na região Central. Na segunda metade da década de 1970, iniciou-se na região da Serra Gaúcha e na região da Campanha a produção de vinhos finos e espumantes. A partir de 1980, devido à globalização da economia brasileira, estabeleceu-se nas regiões da Serra do Sudeste e da Campanha, uma nova vitivinicultura com investimento de tecnologias modernas.

Essa atividade ocupa um papel importante dentro do cenário agroindustrial do Estado gaúcho, pois representa uma cultura que engloba, aproximadamente, vinte mil famílias de agricultores, com 731 vinícolas legalmente cadastradas, segundo o Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN, 2013). Hoje, corresponde ao maior polo vitivinícola do país e estrutura-se em quatro regiões produtoras: Serra Gaúcha, Campanha, Serra do Sudeste e Região Central (PROTAS; CAMARGO, 2011).

A tradicional região da Serra Gaúcha, situada no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, encontra-se fortemente ligada ao turismo, sendo o maior polo vitivinícola brasileiro. Aproximadamente 80% da produção da região baseiam-se em cultivares de uvas americanas (*V. labrusca*, *V. bourquina*) e híbridas interespecíficas, sendo *Isabel*, *Bordô (Ives)*, *Niágara Branca*, *Concord*, *Niágara Rosada*, *Jacquez (Seibel Pica Longa)* e *Seibel 1077 (Couderc Tinto)* as cultivares de maior destaque neste grupo. Em relação às castas de *Vitis vinífera*, destacam-se as cultivares de uvas brancas *Moscato Branco*, *Riesling Itálico*, *Chardonnay* e *Trebbiano (Ugni Blanc)*; entre as tintas as principais são *Cabernet Sauvignon*, *Merlot*, *Cabernet Franc*, *Tannat*, *Pinot Noir*, *Ancellota* e *Pinotage* (PROTAS; CAMARGO, 2011).

A região da Serra Gaúcha possui um clima temperado, com inverno de temperaturas baixas, podendo até mesmo nevar (SCHNEIDER, 2006; TONIETTO et al., 2012). Devido a isto, as videiras da Serra Gaúcha estão sujeitas a alguns riscos, dentre os quais se destacam: geadas do final do inverno e início da primavera, podendo prejudicar a etapa de brotação da videira e causar graves prejuízos ao viticultor; o granizo, que embora seja um fenômeno ocasional, não se descarta a possibilidade de afetar as videiras em todas as estações do ano. Os danos podem ocorrer desde o início do período vegetativo, mas são mais graves quando ocorrem no período reprodutivo da videira. Assim, considerando às condições de precipitação bem distribuídas ao longo do ciclo da videira e de elevada umidade relativa do ar, o principal motivo de preocupação para os viticultores desta região, é a incidência de doenças fúngicas, as quais podem causar grande variabilidade na produção e na qualidade das uvas da Serra Gaúcha (SCHNEIDER, 2006; TONIETTO et al., 2012).

A vitivinicultura da região da Campanha Gaúcha teve seu início com o estudo de zoneamento vitícola do Instituto de Pesquisas Agrícolas da Secretaria de Agricultura do Rio Grande do Sul (IPAGRO), em 1970. A vinícola da empresa Almadém foi a pioneira em implantar seus vinhedos, instalada no município de Santana do Livramento. Somente a partir do ano 2000, que vários proprietários de terras de municípios desta região (Itaqui, Maçambará, Uruguaiana, Santana do Livramento, Rosário do Sul, Alegrete, Quaraí, Dom Pedrito, Bagé e Candiota) implantaram seus vinhedos, com objetivo de atender a crescente demanda por uvas viníferas e por estarem incentivados pelos bons preços pagos às mesmas (PROTAS; CAMARGO, 2011).

A região da Campanha localiza-se na Metade Sul do Estado, e faz fronteira com o Uruguai. Ao longo dos últimos anos, vem consolidando-se como região produtora de vinhos finos brasileiros com excelência em qualidade. Corresponde à área denominada pelas coxilhas-onduladas recobertas por campos, conhecida como região dos pampas gaúchos, a

qual apresenta grande potencial para produção de uvas viníferas, devido suas favoráveis condições climáticas. Possui um clima mais seco e com maior insolação durante o período de maturação das uvas e a vindima, quando comparado ao da Serra Gaúcha (TONIETTO et al., 2012). Esses fatores propiciam um maior acúmulo de açúcar nas bagas e um aumento na produção de compostos fenólicos, permitindo a elaboração de vinhos com qualidade superior. Além disso, a região apresenta grandes variações edafoclimáticas, o que permite a produção de uvas e, posteriormente de vinhos com tipicidade diferenciada dentro da própria região, dependendo das particularidades de cada zona de produção (IBRAVIN, 2009).

As principais variedades de uvas cultivadas nesta região são: Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Merlot, Tannat, Tempranillo e Pinot Noir, para elaboração de vinhos tintos, e Chardonnay, Sauvignon Blanc, Viognier e Pinot Gris, para vinhos brancos (TONIETTO et al., 2012).

Entretanto, pesquisas científicas na Campanha Gaúcha ainda são escassas, ressaltando a necessidade de mais estudos nesta região, a fim de caracterizar as uvas e os vinhos produzidos na mesma. Atualmente, os viticultores da região têm investido fortemente em tecnologias para intensificar e potencializar a qualidade de suas matérias-primas, considerando desde o cultivo das videiras até o processo enológico. Além disso, busca-se fortalecer o enoturismo, que até então, se encontra em fase de crescimento e transformação.

3.2 Doenças fúngicas e seu controle

3.2.1 Principais doenças fúngicas

Para obtenção de uma produção quantitativa, e principalmente, qualitativa em viticultura, uma série de cuidados e fatores deve ser considerada, dentre os quais, a necessidade da prevenção e controle de doenças fúngicas. A incidência dessas doenças constitui um dos maiores entraves do setor, podendo gerar grandes perdas econômicas, e em regiões de climas favoráveis ao seu desenvolvimento, os tratamentos fitossanitários podem chegar a 30% do custo de produção da uva (SÔNEGO et al., 2005).

O desenvolvimento e a qualidade do vinhedo estão submetidos às condições climáticas de cada região, que além de ter influência na ocorrência de pragas e doenças, também tem relação com a organização e realização das práticas de manejo como, por exemplo, adubação, irrigação, controle fitossanitário, e até mesmo na escolha adequada para a colheita. Conforme

Fogaça (2005), o clima irá influenciar na relação açúcar/ácido, acidez total e conteúdo de compostos fenólicos das uvas, entre outros fatores, registrados na vindima. Além disso, os fatores meteorológicos também interferem na composição química da casca, da polpa e semente das uvas, como também nas características sensoriais dos vinhos a serem produzidos (MONTEIRO; TONIETTO, 2013).

Em um país como o Brasil, diferentes tipos de agentes patógenos podem infectar as videiras, com maior ou menor importância de acordo com a região geográfica e com a resistência varietal. Na região Sul e Sudeste do país, onde comumente ocorrem maiores índices de precipitações, distribuídas ao longo do período vegetativo da videira, doenças como o míldio e podridões do cacho podem acarretar em grandes perdas de produção, caso medidas adequadas de controle não tenham sido tomadas (SÔNEGO et al., 2005).

Diante desse contexto, o ambiente apresenta um papel fundamental, podendo aumentar ou limitar a incidência de doenças. Segundo Midio & Martins (2000), doenças de plantas causadas por fungos são mais difíceis de serem controladas do que de insetos, uma vez que o fungo permanece em contato íntimo com o seu hospedeiro. Sendo assim, há uma dificuldade de eliminar o fungo sem causar dano à planta.

As principais doenças fúngicas da parte aérea da videira são o míldio (*Plasmopara viticola*), a antracnose (*Elsinoe ampelina*), a podridão cinzenta (*Botryotinia fuckeliana*), o oídio (*Uncinula necator*), as podridões do cacho causadas por *Melanconium fuligineum* e *Glomerella cingulata*, a escoriose (*Phomopsis viticola*), a mancha das folhas (*Isariopsis clavispora*) e a ferrugem (*Phakopsora euvtis*); no sistema radicular, a fusariose (*Fusarium oxysporum f. sp. herbemontis*) e o ‘pé-preto’ (*Cylindrocarpon destructans*) (SÔNEGO et al., 2005).

O míldio é o maior responsável pelos danos na viticultura do Sul do Brasil, assim como em outras regiões vitícolas do mundo (CZERMAINSKI; SÔNEGO, 2004). Também conhecido como mufa, mofo ou peronóspora, esta doença é extremamente grave em safras com elevados índices de precipitação, seguido de umidade relativa alta e longos períodos de umidade sobre folhas e frutos, podendo chegar a uma perda total da produção (MADDEN et al., 2000).

De acordo com Naves et al. (2005), os maiores prejuízos causados por essa doença estão relacionados à destruição total ou parcial das inflorescências e/ou frutos e à queda prematura das folhas. Todos os fatores que contribuem para aumentar o teor de água no solo, ar e planta favorecem o desenvolvimento do míldio da videira. Portanto, a chuva é considerada o principal fator epidemiológico por propiciar tais condições (SÔNEGO et al., 2005).

A podridão cinzenta da uva, também conhecida como mofo cinzento (*Botritis cinerea*), é a mais importante das podridões de cacho. Acarreta danos relacionados tanto à produtividade como à qualidade da matéria prima. A presença de substâncias indesejáveis prejudica o processo de vinificação e conservação, pois as uvas com *Botritis* contêm enzimas responsáveis pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos, produzindo a *casse oxidásica* contribuindo negativamente com os aspectos sensoriais do vinho (SÔNEGO et al., 2005).

Os viticultores, com o propósito de evitar possíveis danos em sua produção, podem fazer uso de uma vasta quantidade e variedade de compostos químicos com registro permitido para aplicação em uvas. Porém para obter eficácia dos tratamentos, a identificação correta do agente patógeno e sua biologia, as condições climáticas favoráveis à sua proliferação fornecem subsídios importantes para escolha adequada das medidas de controle.

O tratamento convencional no controle das doenças fúngicas ao longo do ciclo vegetativo da videira é realizado de maneira praticamente semelhante em todas as regiões. Naves et al. (2005) ressaltam que o controle com fungicidas deverá ser realizado logo após a brotação, pois nesse período as videiras encontram-se mais suscetíveis às principais doenças. Também informam que para a escolha adequada do fungicida devem-se considerar as questões relacionadas ao custo da produção, como por exemplo, dar preferência para àqueles que atingem mais de um patógeno, com isso, reduzirá o número de aplicações. De acordo com Freire (1992), é necessária a realização, em média, de 14 pulverizações com fungicidas no cultivo convencional de uvas viníferas no Estado do Rio Grande do Sul. Destas 14 aplicações, 8 a 10 são efetuadas apenas para o controle do míldio da videira (*Plasmopara vitícola*) (MENDES, 2002). Mesmo assim, o produtor continuamente realiza pulverizações semanais (pelo método do calendário), as quais, em algumas situações, podem nem haver uma real necessidade de aplicação, mas trata-se de garantir a produção. Segundo Souza & Palladini (2007), são necessárias de 15 a 50 aplicações de agrotóxicos ao ano. Cabe ressaltar que o uso deverá ser feito de forma racional com os pesticidas permitidos por legislação (ANEXO A).

Sendo assim, surgem possíveis desvantagens, os custos da produção elevam-se, bem como os riscos de contaminação ambiental e humana (SANTOS et al., 2008). Além disso, ocorre o surgimento de cepas resistentes aos fungicidas, preocupações relacionadas à saúde dos consumidores e à contaminação ambiental diante do amplo uso de compostos químicos que podem contribuir para limitar a sua aplicação no futuro (MASSART; HM, 2007; TOURNO et al., 2005).

Em meio a isto, a preocupação por parte dos viticultores é frequente, o que estimula à adesão e investigação de novas alternativas tecnológicas. No Rio Grande do Sul, alguns

produtores investiram em tecnologias no controle de doenças das videiras, estimulados pela sua proposta de redução ao uso de compostos químicos. Assim, é crescente a intenção em dispor ao consumidor maior segurança e confiabilidade, além de contar com uma excelente matéria-prima.

3.2.2 Fungicidas

No Brasil, três esferas governamentais estão envolvidas no processo de registro dos pesticidas. A ANVISA que estabelece o Limite Máximo de Resíduo (LMR), a Ingestão Diária Aceitável (IDA) dos ingredientes ativos e a classificação toxicológica dos produtos formulados; o MAPA que avalia a eficiência agrônômica e aprova o rótulo do produto; e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) o qual avalia o impacto do pesticida no meio ambiente e em outros organismos vivos (BRASIL, 2002).

A classe de pesticidas com maior relevância em viticultura é representada pelos fungicidas. Estes, por sua vez, representam o maior número de compostos utilizados em vinhedos, devido sua grande importância e eficiência na prevenção e controle de doenças e pragas que acometem as videiras. A aplicação é feita diretamente sobre uvas e folhas a fim de garantir a produção e a sanidade das uvas (OTERO, GRANDE & GÁNDARA, 2002).

Os fungicidas podem ter ação protetora (ou de contato), a ação de profundidade ou sistêmica. Os primeiros protegem a superfície recoberta pela aplicação, não tendo ação sobre o fungo no interior dos tecidos. Caracterizam-se por pouca persistência na planta, sendo facilmente destruídos pelas altas temperaturas, radiação solar e precipitação. Já os fungicidas sistêmicos se deslocam através do sistema vascular da planta, podendo eliminar o fungo até três dias após a infecção (MIDIO & MARTINS, 2000). Contudo, apesar dos fungicidas sistêmicos serem mais eficazes que os de contato, por apresentarem um sítio de ação específico, estes podem induzir a geração de cepas resistentes na população de patógenos (NAVES et al., 2005). Além do modo de ação, estes compostos classificam-se conforme a toxicidade, que variam desde os mais tóxicos (classe I) até os menos tóxicos (classe IV), e em relação à sua estrutura química, dentre eles destacam-se os ditiocarbamatos, triazólicos, ftalamídicos, entre outros (LARINI, 1999).

Para manter a eficiência de fungicidas e para evitar resistências fúngicas nas práticas de viticultura, é necessário alternar, regularmente, os tratamentos fitossanitários, ou com

diferentes mecanismos de ação ou de diferentes produtos comerciais, como os fungicidas de nova geração, tais como o benalaxil e benalaxil-M (GONZÁLEZ-RODRIGUEZ; CANCHO-GRANDE; SIMAL-GANDARA, 2009).

Embora o uso correto dos fungicidas não cause problemas de interesse público nas áreas de saúde e ambientais, os tratamentos inadequados como a aplicação excessiva sem respeitar os períodos de carência e as recomendações de segurança, podem levar a presença de resíduos indesejáveis nas uvas após a colheita. Sendo assim, estes resíduos de fungicidas podem passar da uva para o mosto e, por sua vez, para o vinho, resultando em riscos para a saúde do consumidor, bem como um decréscimo na qualidade do vinho (CABRAS et al., 2000).

3.2.3 Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*

Algumas vinícolas do Rio Grande do Sul, em especial àquelas localizadas nas regiões da serra e campanha gaúcha, fazem uso da tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC), durante o cultivo das uvas. A TPC foi desenvolvida no Chile, ao final da década de 1990, com o intuito de dissipar o ar frio e minimizar os danos causados pelas frequentes geadas, e começou a ser testada no Brasil a partir de 2008. Trata-se de um equipamento, que acoplado a um trator, tem a capacidade de gerar e distribuir ar quente diretamente nas plantas, com temperaturas que variam de 30°C a 300°C a uma velocidade de 30 a 200 Km/h (LAZO, 2011).

As elevadas temperaturas de ar aplicadas diretamente na planta provocam um choque térmico e uma condição de estresse, as quais levam à estimulação do metabolismo secundário da videira, e por sua vez, a formação de mecanismos de defesa da planta, conferindo a esta, uma resistência microbiana. Segundo Carraro (2010), a videira desenvolve substâncias denominadas fitoalexinas, que evitam a proliferação de fungos e bactérias. Além disso, possibilitar uma ação direta no agente patógeno, por meio das elevadas temperaturas de ar quente aplicadas na planta.

De acordo com uma pesquisa de cunho exploratória, os principais requisitos que levariam os viticultores a aderirem à tecnologia térmica em suas culturas, é fundamentalmente, a promissora proposta de redução do uso de pesticidas no manejo de pragas. Outro fator determinante para sua utilização é a necessidade de estudos que comprovem a ação e aperfeiçoem o uso da tecnologia TPC (EBERT et al., 2013). Certamente reduzir ou minimizar o uso de pesticidas implicaria em uvas e vinhos com maior segurança

alimentar, redução do impacto ambiental, menor exposição de trabalhadores às substâncias químicas, além da diminuição nos custos de produção.

Surge, portanto, a necessidade de avaliar as influências que esta tecnologia pode gerar nas uvas e nos vinhos do qual este se fez presente. Principalmente no que diz respeito à redução ou substituição dos pesticidas nas vinhas, pois sabemos que é extremamente difícil o controle dessas doenças fúngicas.

3.2.4 Resíduos de Fungicidas em Vinhos

Os resíduos de pesticidas são definidos pela Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, a qual define resíduo de pesticida como sendo uma “substância ou mistura de substâncias remanescente ou existente em alimentos ou no meio ambiente decorrente do uso ou da presença de agrotóxicos e afins, inclusive, quaisquer derivados específicos, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, consideradas toxicológica e ambientalmente importantes”. Assim como estabelece a seguinte definição para LMR: “a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afim oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do agrotóxico e afim ou seus resíduos por milhão de partes de alimento ppm ou mg/kg” (BRASIL, 2002).

Os fungicidas que forem aplicados nas videiras podem estar presentes na uvas em suas diferentes partes, como casca, polpa e sementes; em concentrações residuais, e estas podem ser transferidas para o vinho durante o processo de vinificação (OLIVA et al., 2008). Uma série de fatores pode ocasionar a presença desses resíduos nas uvas, dentre eles destacam-se: o tipo de doença ocorrida no vinhedo; o tipo de cultivo das uvas (tradicional, integrada ou orgânica) (CUS et al., 2010); o sistema de condução (em espaldeira ou latada); a tecnologia empregada; a dose aplicada; o intervalo entre a aplicação de campo e a colheita; as operações envolvidas no processo de vinificação e, particularmente, as propriedades físico-químicas de cada composto (CABRAS et al., 2001; NAVARRO et al., 2001). Uma importante redução desses compostos ocorre durante o processo de vinificação, principalmente após a fermentação, quando se separam as fases sólida (borras) e líquida (mosto, vinho) (CABRAS & ANGIONE, 2000; SALA et al., 1996).

Vários estudos de outros países têm sido publicados sobre a determinação de fungicidas em vinhos, com emprego de métodos sensíveis e seletivos, mostrando que, em alguns casos, essas substâncias aplicadas no solo ou na matéria-prima podem ser encontradas no produto acabado. No processo de vinificação, especialmente, na etapa de fermentação, foi observado que a fermentação alcoólica e malolática tornaram-se lentas (CUS & RASPOR, 2008); uma explicação para isso seria a influência negativa desses resíduos sobre o crescimento de leveduras e bactérias lácticas. Além disso, estes efeitos podem alterar a concentração de certos compostos responsáveis pela qualidade sensorial do vinho, como os compostos fenólicos (DUGO et al., 2004), e / ou os compostos aromáticos (GARCIA et al., 2004; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al., 2011).

No estudo de Garcia et al. (2004) foram avaliados os efeitos causados por três resíduos de fungicidas (ciprodinil, fludioxonil e pirimetanil) em vinhos brancos de *Vitis vinífera*, sendo constatada uma diferença significativa na fração ácida do aroma, além do mais, um aumento na produção de acetato de etila e acetado de isoamila foi observado, proporcionando uma redução na qualidade sensorial do vinho.

Também em relação aos compostos voláteis, Oliva et al. (2009) analisaram os efeitos dos resíduos de seis fungicidas (famoxadona, fenehexamida, fluquinconazol, metil-cresoxima, quinoxifena e trifloxistrobina) em vinhos Monastrell, e observaram que todos os tratamentos com estes compostos afetaram significativamente o aroma do vinho. Mais recentemente, estes mesmos seis fungicidas foram investigados com relação à atividade antioxidante dos vinhos de uvas tratadas com os mesmos compostos. Dois experimentos em triplicata foram desenvolvidos para cada composto, na dose recomendada pelo fabricante, porém o primeiro respeitando os períodos de carência e o segundo não respeitando esse intervalo. Os autores verificaram que, durante o processo de vinificação, de 40% a 100% dos resíduos foram eliminados, resultando não haver diminuição na atividade antioxidante em ambos os vinhos. Porém, constatou-se que a presença de famoxadona, metil-cresoxima e quinoxifena promoveram um incremento na atividade antioxidante (OLIVA et al., 2009).

Basa Cesnik, Gregorcic & Cus (2008) monitoraram os resíduos de pesticidas em 47 amostras de uvas viníferas e os resultados mostraram que o folpete (97,9%), ciprodinil (51,1%), ditiocarbamatos (44,7%), clorotalonil (23,4%), clorpirifos (19,1%) e pirimetanil (14,9%) foram os pesticidas mais frequentemente encontrados nas uvas.

Os consumidores em todo o mundo estão cada vez mais conscientes do potencial ambiental e problemas de saúde (BRUYNZEEL et al., 1995; DRAPER et al., 2003) associado com o acúmulo de substâncias tóxicas, particularmente em produtos alimentícios

(MUKHERJEE et al., 2003; LOPEZ & RIBA, 1999). Embora ocorra uma redução significativa da maioria dos pesticidas no processo de vinificação, ainda há resíduos na bebida pronta para o consumo (CABONI & CABRAS, 2010). Portanto, faz-se necessário maior investigação e monitoramento desses compostos no vinho, bem como o respeito das boas práticas agrícolas e a busca de sistemas alternativos e tecnologias apropriadas para a substituição ou redução do uso de agroquímicos.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

4.1 Manuscrito

Os resultados obtidos nas análises de resíduos de fungicidas em vinhos estão contidos no manuscrito intitulado “Resíduos de fungicidas em vinhos de diferentes propriedades vitivinícolas do Rio Grande do Sul, Brasil”.

O artigo está em revisão pelos autores para submissão ao periódico *Talanta*, e sua estruturação segue parcialmente, até o presente momento, o respectivo guia para autores, incluído como Anexo B.

‘Resíduos de fungicidas em vinhos de diferentes propriedades vitivinícolas do Rio Grande do Sul, Brasil, frente ao uso da tecnologia *Thermal Pest Control* a campo’

Joseane de Oliveira Mozzaquatro ^{a, b}; Ijoni Hilda Costabeber ^{c*}

^a Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000/42, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil

^b Fundação CAPES, Ministério da Educação do Brasil, Brasília-DF 70040-020, Brasil

^c Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Roraima 1000/19, 97105-900 Santa Maria, RS, Brasil

*Autor correspondente: Ijoni Hilda Costabeber
Telefone: (55)3220 8340
Endereço de e-mail: ijonicostabeber@gmail.com

HIGHLIGHTS

- Presença de resíduos de fungicidas em vinhos brancos e tintos do RS/Brasil;
- Utilização da tecnologia térmica *Thermal Pest Control* (TPC) em vitivinicultura;
- Fungicida pirimetanil obteve maior frequência (85,71%) nos vinhos analisados;
- Procimidona apresentou maior concentração (146,06 $\mu\text{g L}^{-1}$) em vinhos Cabernet Sauvignon.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo identificar e quantificar resíduos de dez fungicidas em vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas cultivadas com e sem o emprego da tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC) a campo. Foram cedidas amostras de uvas da cv. Tannat, obtidas nas safras 2011/2012, 2012/2013 e 2013/2014; da cv. Chardonnay nas duas últimas safras, e da cv. Cabernet Sauvignon apenas na safra 2013/2014; oriundas de três diferentes propriedades vitivinícolas do RS. As vinificações foram feitas em escala laboratorial, separadamente para aquelas uvas que não foram submetidas à tecnologia TPC (controle) daquelas que a utilizaram durante o seu cultivo (com TPC). No preparo das amostras foi empregado o método QuEChERS acetato modificado. Após, as análises procederam em UHPLC-MS/MS para determinação dos fungicidas. Boscalida, procimidona, piraclostrobina, pirimetanil, tetraconazol e tiofanato-metílico foram detectados acima do LOQ em ambos os tratamentos. Nos tratamentos, controle e com TPC, o pirimetanil obteve maior frequência (85,71%) e médias (26,33 e 30,16 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. Não houve diferença significativa entre vinhos brancos e tintos. Nos vinhos da cv. Chardonnay, safra 2012/2013, o fungicida pirimetanil diferiu estatisticamente ($p=0,021$), com média de 64,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ (controle), e de 111,12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (com TPC), apresentando níveis superiores para os vinhos com a utilização da tecnologia TPC. Já nos vinhos da cv. Chardonnay, safra 2013/2014, o procimidona apresentou média superior no controle (6,47 $\mu\text{g L}^{-1}$), do que no tratamento com TPC (0,46 $\mu\text{g L}^{-1}$). E nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, safra 2013/2014, cujas uvas foram produzidas na propriedade vitivinícola 'C', o composto procimidona obteve média superior para o tratamento com TPC (129,73 $\mu\text{g L}^{-1}$), do que em relação ao controle (3,69 $\mu\text{g L}^{-1}$). Diante do exposto, a presença de resíduos de fungicidas foi confirmada neste estudo, porém nenhum dos compostos mostrou-se acima dos LMR estabelecidos para as uvas, considerando suas correções de massa. Tais resultados demonstraram concentrações de resíduos superiores para aqueles vinhos produzidos a partir de uvas submetidas à tecnologia TPC, evidenciando a necessidade de otimização quanto ao uso eficaz da tecnologia. Mais estudos são necessários para uma melhor avaliação da tecnologia TPC, bem como uma comprovação de sua eficácia frente às doenças fúngicas. Não foram encontradas referências na literatura que abordem resíduos de fungicidas em vinhos, cujas uvas fossem submetidas a esta tecnologia, o que nos leva a deduzir que este seja o primeiro estudo realizado sobre o tema.

PALAVRAS-CHAVE: Fungicidas, vinhos, *Thermal Pest Control*, vitivinicultura, pirimetanil, Brasil

1 INTRODUÇÃO

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores de vinhos no mundo, ocupando a 13ª posição, sendo o Estado do Rio Grande do Sul, responsável por aproximadamente 90% da produção dos vinhos brasileiros [1], cuja qualidade ganha destaque ao longo dos anos, fazendo deste, um importante produto de exportação do país. A complexidade desta bebida, bem como seus benefícios e ações relacionados à saúde; como por exemplo, suas propriedades antioxidantes, antiplaquetárias, a prevenção de doenças cardiovasculares; fazem do vinho um constante foco de estudo e pesquisas. Adicionalmente, é crescente o interesse, por parte dos consumidores e de pesquisadores da área, na certificação da qualidade deste produto, não apenas em termos enológicos, como também em relação às condutas relacionadas às práticas agrícolas durante o cultivo das uvas, já que estas figuram a lista de maior aplicação de pesticidas na agricultura [2].

A obtenção de vinhos com qualidade e excelência necessita de uvas com qualidade; e para isso os produtores devem prevenir e controlar doenças e pragas que atingem as videiras, as quais podem gerar perdas na produção, danos econômicos e qualitativos, caso o controle fitossanitário não seja aplicado. As variedades *Vitis viniferas* são bastante suscetíveis às doenças fúngicas, dentre as quais se destacam: o míldio (*Plasmopara viticola*), a antracnose (*Elsinoe ampelina*), a podridão cinzenta (*Botryotinia fuckeliana*), o oídio (*Uncinula necator*), as podridões do cacho causadas por *Melanconium fuligineum* e *Glomerella cingulata*, dentre outras [3].

Em meio a isto, a utilização de fungicidas em vitivinicultura é uma prática cada vez mais intensa. Cabe ressaltar que a legislação brasileira não estabelece limites máximos de resíduos (LMR) para o vinho [4], somente para as uvas, e embora o uso adequado dos fungicidas não cause violação aos LMRs [5], pesquisas apontam que, apesar de grande parte dos fungicidas serem destruídos durante o processo de vinificação, há presença de resíduos no vinho como contaminantes indesejados [6; 7; 8]. A ocorrência e as concentrações residuais de pesticidas nas uvas, e consequentemente nos vinhos depende do tipo de pragas que atingem a cultura vitícola, das variedades produzidas, das condições climáticas de cada região, das

concentrações aplicadas, bem como do tempo de colheita após a última aplicação de pesticida [8].

Tecnologias que visem à redução do uso de pesticidas são de extrema importância, tanto no sentido de proporcionar maior segurança ao consumidor, quanto na diminuição dos impactos ambientais. Produtores do Estado do Rio Grande do Sul, motivados pela proposta de redução do uso de pesticidas durante a cultura da uva, aderiram à tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC) para o manejo de seus vinhedos. Esta tecnologia gera e fornece jatos de ar quente nas videiras, com temperaturas de 30°C a 300°C; com ação direta no patógeno; e indiretamente, através da estimulação de mecanismos de defesa da planta, tornando-a mais resistente às doenças [9]. Porém, há carência de estudos a respeito da ação da tecnologia TPC, tanto em relação ao seu modo de uso, à sua eficácia, às características das uvas e vinhos produzidos, e principalmente no que se refere à redução dos compostos químicos.

Sendo assim, torna-se oportuno e de extrema relevância investigar a presença de resíduos de pesticidas em vinhos, a fim de identificar e quantificar suas concentrações [10]. Tal presença deve ser considerada como um fator importante que afeta a qualidade do vinho, e principalmente pode causar risco aos consumidores, caso os níveis encontrem-se acima do LMR, que são atualmente relativos à uva.

Diante deste contexto, o presente estudo teve como objetivo identificar e quantificar resíduos de dez fungicidas em vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas cultivadas com e sem o emprego da tecnologia TPC durante seu cultivo.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Reagentes e materiais

Acetonitrila, grau HPLC (99,9%), adquirida de Mallinckrodt (NJ, EUA), sulfato de magnésio anidro p.a. de J. T. Baker (Japão), ácido acético glacial (100%) e acetato de sódio anidro foram obtidos de J. T. Baker (EUA). C18 (40 µm) e amina primária secundária (PSA) também com d.p. de 40 µm, foram adquiridas da Agilent (EUA). Metanol grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, EUA), formiato de amônio e ácido fórmico foram obtidos de Sigma Aldrich (EUA). Durante a vinificação utilizaram-se as enzimas Lafazym[®] CL, Lafazym[®] extract, Lafase[®] He Grand Cru e Lafase[®] fruit; as leveduras Zymaflore X5[®], Zymaflore FX10[®] e; os ativantes, Superstart[®] e Bioactiv[®], adquiridas de Laffort EUA, e o clarificante bentonita sódica (Vêneto, Brasil). Os compostos selecionados para este estudo encontram-se

descritos na TABELA 1, os quais foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstorfer (Ausburg, Alemanha).

2.2 Instrumentação

Sistema UHPLC-MS/MS, modelo Xevo TQ (Waters, EUA), contendo analisador TQ MS, amostrador automático sample manager (Acquity); Coluna analítica ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 μm - 2,1 x 50 mm. Sistema de aquisição de dados MassLynx V 4.1. Sistema gerador de nitrogênio, modelo SF2FF (Atlas Copco, EUA). Gás argônio 6.0 usado como gás de colisão no sistema UHPLC-MS/MS.

2.2.1. Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS

Os parâmetros utilizados no sistema UHPLC-MS/MS foram otimizados previamente no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), através de planejamento experimental. As condições utilizadas para a otimização do método e análise dos fungicidas em amostras de vinho foram as seguintes: temperatura da coluna de 40 °C; pressão de 15000 psi; voltagem capilar de 2,0 kV; temperatura de dessolvatação de 500 °C; vazão do gás de dessolvatação (N_2) de 600 L h^{-1} ; vazão do spray de 80 L h^{-1} ; vazão do gás de colisão de 0,15 mL min^{-1} ; temperatura da fonte de 150 °C; volume de injeção de 10 μL ; tempo de residência (dwell time) de 0,01 s.

2.3. Preparo das soluções analíticas dos compostos selecionados

Preparou-se 10 mL das soluções estoque individuais de cada composto, na concentração de 1000 mg L^{-1} em acetonitrila. A partir destas soluções, preparou-se uma mistura na concentração 5 mg L^{-1} . As soluções estoque foram armazenadas em frascos âmbar a temperatura abaixo de -4 °C. A partir da mistura 5,0 mg L^{-1} , foram preparadas as soluções de trabalho nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em acetonitrila e no extrato da matriz (vinho). Para injeção no sistema UHPLC-MS/MS, foram realizadas diluições na proporção 1:4 (v/v) destas soluções em água ultrapura, de modo que as concentrações finais das soluções foram 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 e 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

2.4. Amostragem

Foram doadas amostras de uvas produzidas em três diferentes propriedades vitivinícolas do Estado do Rio Grande do Sul, das variedades *Vitis vinifera* Tannat, Chardonnay e Cabernet Sauvignon, das quais, uma parte foi submetida à tecnologia *Thermal Pest Control* a campo (com TPC), e a outra, não houve o emprego desta durante o seu cultivo (controle). As cultivares tintas Tannat foram obtidas nas safras de 2011/2012, 2012/2013 e 2013/2014; as cultivares brancas Chardonnay nas safras 2012/2013 e 2013/2014, e as cultivares tintas Cabernet Sauvignon apenas na safra de 2013/2014. O Quadro 1 representa a forma como foram agrupadas as unidades amostrais (grupos 1, 2, 3, 4, 5 e 6), considerando as cultivares, as safras, as propriedades vitivinícolas, os tratamentos empregados (controle e com TPC), os fungicidas aplicados; com seu respectivo número de aplicações por safra, bem como o número de aplicações da tecnologia TPC a campo, para posteriores análises estatísticas e avaliações dos tratamentos dentro de cada grupo.

A colheita e a vinificação das uvas procederam-se separadamente, ou seja, àquelas uvas em que houve o emprego da tecnologia TPC foram vinificadas separadamente daquelas que não a utilizaram. Os vinhos prontos foram armazenados em temperatura ambiente e ao abrigo da luz até a realização das análises.

2.5. Vinificações laboratoriais

A vinificação procedeu-se em escala laboratorial, ou seja, após a colheita, as uvas foram transportadas diretamente ao laboratório para posterior fermentação. Iniciou-se com o desengace e esmagamento manual das bagas. O mosto formado foi mensurado e colocado em micro fermentador (de 2 litros), o qual foi sulfitado na razão de 50mg/L para as três cultivares. Após uma hora, para a cv. Chardonnay foram adicionadas ao mosto as enzimas previamente ativadas (Lafazym[®] CL e Lafazym[®] extract) e três horas depois, realizou-se a descuba com adição de leveduras (Zymaflore X5[®], ativadas com Superstart[®]). Para as cultivares tintas (Tannat e Cabernet Sauvignon) adicionaram-se as enzimas, Lafase[®] He Grand Cru e Lafase[®] fruit, previamente ativadas, e logo em seguida inocularam-se as leveduras Zymaflore FX10[®], ativadas com Superstart[®]. Realizou-se a descuba após sete dias.

A fermentação foi realizada em ambiente com temperatura controlada, sendo 16° C para a cv. Chardonnay e 20° para Tannat e Cabernet Sauvignon. Um dia após o início da fermentação, adicionou-se o ativante Bioactiv[®], para as três cultivares. Sete dias depois,

fizeram-se as descubas para as cultivares tintas, que continuaram com o processo fermentativo. Realizou-se o monitoramento dos vinhos, por meio de mensuração colorimétrica dos açúcares totais, até atingirem 5 g/ L, como também a estabilização dos sólidos solúveis totais. Sendo assim, realizaram-se três trasfegas para os vinhos brancos e duas para os tintos. Para os vinhos Chardonnay realizou-se o processo de clarificação, com a adição de bentonita sódica (na proporção 1:20). Os vinhos prontos foram armazenados em temperatura ambiente, em frascos de 30 mL para as posteriores análises cromatográficas.

2.6. Processo de extração dos fungicidas

Para construção das curvas analíticas na etapa de quantificação dos compostos, foram adquiridas no comércio local, amostras “branco”; isentas dos fungicidas pesquisados; de vinhos tinto e brancos. Durante o preparo das amostras foi empregado o método QuEChERS acetato modificado [11], com adaptações adotadas por Walorczyk (2011) [12], o qual baseia-se na execução de três etapas; a primeira é a extração com acetonitrila acidificada 1% (v/v), seguida da etapa de partição, com a adição de $MgSO_4$ e Acetato de sódio, e por fim a etapa de limpeza ou de *clean up*. Na etapa de extração, em 10 mL de amostra de vinho, adicionou-se 10 mL de acetonitrila acidificada (1% CH_3COOH), e agitou-se em vortex por 1 minuto. Após, foi acrescentado 4 g de $MgSO_4$ e 1,7 g de CH_3COONa , em que agitou-se manualmente por 1 minuto e centrifugou-se por 8 minutos a 3400 rpm. Para o *clean up*, retirou-se 4 mL de sobrenadante e transferiu-se para tubo falcon de 15 mL, contendo 400 mg de $MgSO_4$, 100 mg de PSA e 350 mg de C_{18} , e novamente agitou-se por 1 minuto, centrifugou-se por mais 8 minutos a 3400 rpm. Após, diluiu-se 5 vezes em água destilada, e em seguida, procederam-se as análises cromatográficas. O mesmo procedimento foi realizado para os vinhos tintos e brancos.

2.7. Controle de qualidade

Foram avaliados os seguintes parâmetros: linearidade, recuperação, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ). A linearidade mostrou-se superior a 0,99 para todos os fungicidas de interesse. As recuperações médias dos fungicidas apresentaram-se entre 70–120%. Os LOD e LOQ foram, respectivamente, de 0,15 e 0,5 $\mu g L^{-1}$ para todos os compostos analisados. Todos os parâmetros encontram-se em conformidade com as normas estabelecidas pela legislação vigente [13].

2.8. Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados através do programa Statistica 7[®]. Como as concentrações dos fungicidas não apresentam distribuição normal, o teste não paramétrico Mann-Whitney foi utilizado para avaliar as diferenças dos contaminantes entre vinhos brancos e tintos, como também entre os tratamentos, controle e com TPC, dentro de cada grupo. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1. Fungicidas em vinhos brancos e tintos com e sem o emprego da tecnologia *Thermal Pest Control*

Na Tabela 2 apresentam-se as concentrações (média, desvio-padrão, mínimo e máximo), bem como a frequência de determinação de fungicidas em amostras de vinhos brancos e tintos, os quais foram produzidos a partir de uvas não submetidas à tecnologia *Thermal Pest Control* (TPC) durante o seu cultivo (controle).

Dos dez compostos pesquisados, seis foram detectados acima do LOQ nas 28 amostras analisadas, dentre eles: boscalida, procimidona, piraclostrobina, pirimetanil, tetraconazol e tiofanato-metílico. O fungicida pirimetanil foi o que obteve a maior média ($26,33 \mu\text{g L}^{-1}$) e maior frequência (85,71%), seguido do composto procimidona, com concentração média de $1,45 \mu\text{g L}^{-1}$ e frequência de 28,57%. Os fungicidas boscalida e tetraconazol apresentaram-se com concentrações médias semelhantes ($0,76 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,77 \mu\text{g L}^{-1}$), frequentes em 25% e 17,86% das amostras, respectivamente. O piraclostrobina (média= $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$) e tiofanato-metílico (média= $0,37 \mu\text{g L}^{-1}$) obtiveram valores médios inferiores em relação aos anteriores, detectados em 3,57 e 14,28% dos vinhos, respectivamente.

Em relação aos vinhos brancos (N=8), quatro fungicidas apresentaram valores superiores ao LOQ: boscalida, procimidona, pirimetanil e tetraconazol. O fungicida pirimetanil obteve a maior média ($36,21 \mu\text{g L}^{-1}$), a maior concentração (máximo= $81,30 \mu\text{g L}^{-1}$) e também a maior frequência (100%). Já os fungicidas procimidona, boscalida e tetraconazol, foram detectados com as seguintes médias e frequências, respectivamente: $3,24 \mu\text{g L}^{-1}$ e 50%; $1,28 \mu\text{g L}^{-1}$ e 25%; $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$ e 12,5% das amostras. Nos vinhos tintos, foram encontrados seis dos fungicidas estudados, e novamente, o composto pirimetanil obteve a

maior média (22,38 $\mu\text{g L}^{-1}$) e concentração (máximo=55,58 $\mu\text{g L}^{-1}$), com frequência de 80% nas amostras. Tal composto é utilizado pelos vitivinicultores no controle da podridão cinzenta do cacho (*Botrytis cinerea*). Reichert et al (2015) [14] analisaram uma série de pesticidas em doces de uvas do Brasil, nas quais o fungicida pirimetanil foi detectado com a maior frequência, de 33% (n=12) e maior concentração, de 81 $\mu\text{g Kg}^{-1}$. Cabras & Angione (2000) [5] constataram que a dissipação do pirimetanil, da uva para o vinho, é considerada baixa em relação a outros compostos, logo, esse fungicida não apresenta uma diminuição relevante na sua concentração, após o processamento. Os demais fungicidas (tetraconazol, procimidona, boscalida e tiofanato-metílico) mostraram-se com valores inferiores em relação ao composto anterior, com médias e frequências, respectivamente de: 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 20%; 0,74 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 20%; 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 25% e de 0,52 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 20% desses vinhos tintos. Não houve diferença significativa, entre os vinhos tintos e brancos, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney para todos os compostos detectados.

Na Tabela 3 encontram-se as concentrações (média, desvio-padrão, mínimo e máximo), e a frequência de determinação dos dez compostos relatados acima, porém em vinhos brancos e tintos produzidos a partir de uvas que foram submetidas à tecnologia (com TPC). Foram detectados seis fungicidas, com médias e frequências semelhantes ao tratamento 1, destacando-se, mais uma vez, o pirimetanil, com maior frequência (85,71%), e maior média (30,16 $\mu\text{g L}^{-1}$). Conforme ilustrado na Tabela 1, este fungicida é o único entre os estudados cujo modo de ação é do tipo contato, quando aplicado, adere-se na superfície das folhas e das bagas, não havendo penetração no interior da planta. Fato que poderia explicar, além de outros fatores, sua concentração residual apresentar-se superior em relação aos demais compostos que possuem uma ação sistêmica. Cus et al (2010) [8] demonstraram em seus estudos em uvas, mostos e vinhos, que os níveis de pesticidas são reduzidos após a fermentação, com exceção para àqueles compostos que não apresentam preferência entre as fases sólida e líquida após o processo de vinificação, como é o caso do zoxistrobina, dimetoato e o pirimetanil [5]. Sendo assim, esses compostos apresentam-se nos vinhos com concentrações semelhantes às das uvas [5; 15]. O fungicida procimidona obteve uma média de 18,79 $\mu\text{g L}^{-1}$ e frequência de 25%; seguido de boscalida (média=0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$), tetraconazol (média=0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$), tiofanato-metílico (média=0,38 $\mu\text{g L}^{-1}$) e piraclostrobina (média=0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Para os vinhos brancos, foram detectados apenas três dos dez fungicidas pesquisados; pirimetanil, boscalida e procimidona. O pirimetanil apresentou concentração média de 60,02 $\mu\text{g L}^{-1}$, e os demais obtiveram valores inferiores: boscalida (média=0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$) e procimidona

(média=0,23 $\mu\text{g L}^{-1}$), em 25 e 30%, respectivamente. Em relação aos vinhos tintos do tratamento 2, o fungicida procimidona foi o que obteve a maior média (26,21 $\mu\text{g L}^{-1}$) e concentração (máximo=146,06 $\mu\text{g L}^{-1}$). Já o pirimetanil foi o mais frequente (80%), com concentração média de 18,21 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os demais compostos fizeram-se presentes em níveis residuais inferiores, de 0,58, 0,56, 0,54 e 0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente para: boscalida, tetraconazol, tiofanato- metílico e piraclostrobina. Os resíduos desses compostos nos vinhos brancos e tintos não diferiram estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

No Brasil, até o presente momento, há apenas um trabalho que relata concentrações de pesticidas em vinhos brancos e rosés, as quais variaram de ND a 65,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, para o vinho branco, e de ND a 17,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, para o vinho rosado. Porém as amostras dos vinhos foram adquiridas no comércio e os pesticidas analisados, bem como os procedimentos de extração e determinação, foram diferentes do presente trabalho [16]. Sendo assim, torna-se difícil uma comparação entre as concentrações de fungicidas em vinhos, uma vez que os resíduos estão diretamente ligados às condições climáticas de cada região e aos tipos de patógenos mais frequentes que atingem as videiras [8]. Adicionalmente a isso, não há pesquisas que abordem esses resíduos mediante o uso da tecnologia TPC.

3.2. *Concentrações dos fungicidas nos grupos*

3.2.1. *Resíduos de fungicidas em vinhos da cv. Tannat*

A Tabela 4 apresenta as concentrações dos fungicidas presentes nos vinhos da cv. Tannat, produzidos a partir de uvas submetidas (com TPC) e não submetidas (controle) à tecnologia TPC, cultivadas nas safras de 2011/2012 e 2012/2013 de uma mesma propriedade vitivinícola (A) (Grupo 1). Podemos observar que diante dos seis fungicidas empregados durante o cultivo dessas uvas (quadro 1), três foram detectados nos vinhos, sendo o pirimetanil o mais frequente (100%), com média (20,19 $\mu\text{g L}^{-1}$) e concentração máxima (37,03 $\mu\text{g L}^{-1}$) superiores em relação aos demais. Também estavam presentes os fungicidas tetraconazol, em 43,75% dos vinhos, com média de 1,96 $\mu\text{g L}^{-1}$; e piraclostrobina, que obteve uma média inferior em relação aos dois anteriores (0,17 $\mu\text{g L}^{-1}$). Sendo assim, os vinhos deste grupo, obtiveram um somatório de 22,32 $\mu\text{g L}^{-1}$. Não houve diferenças significativas das concentrações desses compostos em relação aos dois tratamentos, porém em relação às safras, as médias diferiram para o composto pirimetanil ($p < 0,01$) e tetraconazol ($p < 0,01$),

encontrados em maiores concentrações na safra de 2012/2013. Conforme as informações contidas no Quadro 1, o número de aplicações do fungicida pirimetanil (2 vezes), foi equivalente para ambas as safras, assim como a concentração utilizada. Contudo a precipitação total de 2012/2013 foi superior em relação à 2011/2012, o que sugere uma maior necessidade de controle de pragas também nas outras variedades produzidas nesta propriedade, fato que poderia explicar uma eventual contaminação cruzada deste composto. Já as aplicações de tetraconazol foram superiores em 2012/2013 (quadro 1), justificando a diferença em questão.

Certamente, a influência das condições climáticas de cada ano diversifica amplamente o manejo no cultivo de uvas, bem como os níveis residuais de compostos químicos, pois índices pluviométricos elevados em uma determinada época de cultivo indicam a necessidade de cuidado e atenção redobrada na prevenção de doenças fúngicas, e conseqüentemente eleva-se o número de aplicações de fungicidas. Também se observa neste grupo, que a tecnologia TPC foi aplicada apenas 5 vezes ao longo de cada safra, além de ter sido utilizada as mesmas concentrações dos fungicidas em ambos os tratamentos (controle e com TPC). Segundo informações fornecidas pelo vitivinicultor dessa propriedade, não havia um conhecimento preciso da funcionalidade e eficácia do equipamento quanto ao combate de pragas, e por este motivo, a tentativa de redução do uso de compostos químicos não foi estabelecida.

A Tabela 5 representa as amostras de vinho da cv. Tannat, que também passaram pelos dois tratamentos (controle e com TPC), porém na safra de 2013/2014 e de outra propriedade vitivinícola (B) (Grupo 2). Podemos observar que dos oito fungicidas aplicados durante o manejo dessas uvas, três deles foram detectados nos vinhos deste grupo (boscalida, procimidona e pirimetanil), com destaque para o pirimetanil, presente em 100% das amostras, o qual apresentou uma concentração média superior em relação aos demais ($43,32 \mu\text{g L}^{-1}$), com mínimo e máximo de 26,6 e $55,58 \mu\text{g L}^{-1}$. O composto boscalida, apesar de apresentar uma frequência de 75%, teve concentração média de apenas $1,79 \mu\text{g L}^{-1}$. Já o fungicida procimidona se fez presente em apenas uma amostra (12,5%), com menor valor residual (média= $0,18 \mu\text{g L}^{-1}$). O somatório das médias foi de $45,29 \mu\text{g L}^{-1}$, e não houve diferença estatística entre os tratamentos, uma vez que foram utilizadas as mesmas concentrações dos compostos químicos para ambos os tratamentos. Contudo, a utilização da tecnologia TPC foi mais intensa, pois o tratamento térmico foi utilizado 21 vezes ao longo da produção dessas uvas. Sendo assim, houve um maior interesse na tentativa de avaliar a eficácia da tecnologia.

3.2.2. Resíduos de fungicidas em vinhos da cv. Chardonnay

As Tabelas 6 e 7 apresentam as concentrações dos fungicidas encontrados em vinhos da cv. Chardonnay, porém de safras e propriedades vitivinícolas distintas (Grupos 3 e 4). Na safra 2012/2013, propriedade vitivinícola A (Grupo 3), observou-se elevadas concentrações do composto pirimetanil, com média de $87,89 \mu\text{g L}^{-1}$, frequente em 100% das amostras. Em relação aos tratamentos, sabe-se que foram aplicadas quantidades semelhantes do fungicida durante a produção das uvas, e mesmo assim houve diferença significativa para o pirimetanil ($p < 0,05$), que apresentou uma média de $64,67 \mu\text{g L}^{-1}$ no controle, e de $111,12 \mu\text{g L}^{-1}$ no tratamento com TPC. Através das informações fornecidas nos cadernos de campo desta propriedade, soube-se que a tecnologia TPC foi utilizada dois a três dias antes das aplicações do fungicida, e não após. Logo, não foram dadas as condições oportunas para que ocorresse a degradação do composto pelas elevadas temperaturas da tecnologia, uma vez que esta não foi utilizada com a intenção de degradar os pesticidas já aplicados na cultura, e sim, com o intuito de sua ação conferir uma resistência maior às videiras. Os valores médios para o tetraconazol foram bem menores (média= $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$), presente apenas em uma amostra (12,5%) e não diferindo entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (Grupo 4), foram detectadas concentrações residuais de três fungicidas: pirimetanil, boscalida e procimidona. Mesmo não sendo utilizado durante o cultivo, o pirimetanil, apresentou uma média de $8,34 \mu\text{g L}^{-1}$ e frequência de 100%. Logo, pode-se inferir que ocorreu uma possível contaminação cruzada por pirimetanil, já que no mesmo local de coleta (propriedade vitivinícola B) e safra (2013/2014), foram também cultivadas as uvas Tannat (Grupo 2) e as uvas Cabernet Sauvignon (Grupo 5) onde foi utilizado este composto (Quadro 1). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o fungicida sistêmico procimidona, que apresentou uma média superior para o controle ($6,47 \mu\text{g L}^{-1}$), comparado ao tratamento com TPC ($0,46 \mu\text{g L}^{-1}$), embora as concentrações aplicadas nas uvas tenham sido as mesmas para ambos os tratamentos. Neste caso, pode ter ocorrido uma degradação do composto pelas elevadas temperaturas da tecnologia, pois após a última aplicação de procimidona, foram aplicadas mais três vezes o tratamento TPC, sendo o primeiro deles, dois dias após a aplicação do fungicida. Contudo, mais estudos são necessários para uma efetiva comprovação, pois se a redução dos níveis de pesticidas ocorrerem através da degradação térmica, não há uma diminuição no uso de agroquímicos, e assim, a tecnologia TPC funcionaria para degradá-los.

3.2.3. Resíduos de fungicidas em vinhos da cv. Cabernet Sauvignon

Os resíduos de fungicidas para os vinhos tintos da cv. Cabernet Sauvignon encontram-se nas Tabelas 8 (Grupo 5) e 9 (Grupo 6). Na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (Grupo 5), diante dos oito fungicidas aplicados nos vinhedos, três deles foram detectados. O composto pirimetanil obteve a maior média ($17,87 \mu\text{g L}^{-1}$) e frequência (100%), com valores de mínimo e máximo de $14,39$ e $22,74 \mu\text{g L}^{-1}$, seguido do boscalida, com média de $1,07 \mu\text{g L}^{-1}$; frequente em 50% das amostras. Por último, com a menor média, o procimidona ($0,49 \mu\text{g L}^{-1}$), detectado em apenas uma amostra (12,5%). Não houve diferença significativa para ambos os tratamentos ($p > 0,05$). As amostras de vinhos tintos do Grupo 6 (Tabela 9), apresentaram resíduos do composto tiofanato-metílico, com uma média de $2,64 \mu\text{g L}^{-1}$. Adicionalmente a este, foi detectado a presença de procimidona, com média de $67,71 \mu\text{g L}^{-1}$, ambos com a mesma frequência (100%). Embora as concentrações dos fungicidas aplicados nos vinhedos tenham sido equivalentes para ambos os tratamentos, o fungicida procimidona diferiu estatisticamente ($p < 0,05$), apresentando concentrações superiores para o tratamento com TPC (média= $129,73 \mu\text{g L}^{-1}$), do que para o controle (média= $3,69 \mu\text{g L}^{-1}$). Em meio a isto, sabe-se que ao longo de todo o cultivo e produção das uvas, a tecnologia TPC foi empregada apenas duas vezes. Como também, após a última aplicação de procimidona não houve mais o emprego do tratamento térmico.

Garcia-Cazorla & Xirau-Vayreda (1994) [17] monitoraram a persistência de resíduos de fungicidas pertencentes à classe dicarboximida, à qual se classifica o procimidona, e observaram que os níveis dos compostos iprodiona, procimidona e vinclozolin reduziram-se durante o processo de vinificação, porém relataram a presença destes no vinho. Tal persistência também foi confirmada por Sala (1996) [18] durante a vinificação de uvas brancas e tintas para estes mesmos fungicidas. Certamente, investigações mais aprofundadas são necessárias.

Como mencionado por Martins et al. (2011) [19], a concentração de pesticidas em vinhos geralmente deve ser menor do que em uvas, o que indica que as concentrações de pesticidas na bebida deve estar abaixo dos limites estabelecidos por lei para as uvas, uma vez que não existe legislação para estas substâncias em vinhos. Assim, verificou-se que nenhum dos fungicidas encontrados nas amostras analisadas neste estudo foi maior do que os limites recomendados para as uvas, considerando suas relações de massa.

4. CONCLUSÕES

A presença de resíduos de fungicidas nas amostras sem e com a aplicação da tecnologia TPC mostraram-se bem próximas, com destaque para o fungicida de contato pirimetanil, o qual apresentou a maior média e frequência em ambos os tratamentos. Nos vinhos brancos e tintos de ambos os tratamentos, não houve diferença significativa para os dois tipos de vinhos. Dentre as diferentes variedades de uvas, safras e propriedades (seis grupos), dois grupos apresentaram níveis residuais superiores para os vinhos produzidos a partir de uvas que empregaram a tecnologia TPC, ou seja, não houve redução desses fungicidas durante o seu cultivo. Entretanto, um grupo apresentou níveis inferiores com a utilização desta. Tais resultados demonstraram que não houve uma padronização quanto ao número de aplicações desta tecnologia, a qual poderia garantir uma prevenção e proteção eficaz contra as doenças, e conseqüentemente uma redução no uso de pesticidas.

Em relação à presença desses resíduos, vale lembrar que tanto no Brasil, quanto na União Europeia não há Limite Máximo de Resíduos estabelecido para o vinho, ou seja, torna-se difícil estimar algo relacionado à segurança na ingestão dessa bebida. Contudo, a presença de fungicidas foi demonstrada neste estudo, e, portanto, torna-se necessário o controle da ocorrência de resíduos nesse produto. Adicionalmente, há a necessidade de mais estudos, para se obter uma melhor avaliação desta tecnologia, tanto no que se refere ao uso adequado, como também em relação à sua eficácia no combate às pragas, e principalmente em relação à redução do uso de compostos químicos em vitivinicultura, o que certamente garantiria ao vitivinicultor uma matéria-prima sem interferentes químicos, bem como, ao consumidor, uma maior confiabilidade em termos de qualidade e segurança.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos vitivinicultores pelo fornecimento das amostras de uvas para este estudo, bem como a CAPES e CNPq pelo fomento fornecido.

REFERÊNCIAS

- [1] L. M. R. Mello, Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012. Comunicado Técnico. *ISSN 1808-6802, Bento Gonçalves*, 2013.
- [2] A.N.O. Jardim, E.D. Caldas, *Food Control* 25 (2012) 607-616.
- [3] O.R. Sônego, A.B.C. Czermainski; Eficácia de fungicidas para o controle do míldio da videira cv. Isabel. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, (1999) 16p. (Boletim).
- [4] **ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Agrotóxicos e Toxicologia, Legislação, 2011** (http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotóxico_toxicologia/) (acessado em 23/06/14).

- [5] P. Cabras, A. Angioni, J, *Agric. Food Chemistry* 48 (2000) 967–973.
- [6] J. Oliva, P. Paya, M.A. Camara, A. Barba; *J. Environ. Sci. Health Part B* 42 (2007) 775.
- [7] P. Caboni, P. Cabras; *Adv. Food Nutr. Res.* 59 (2010) 43–62.
- [8] F. Cus, H. B. Cesnik, S. V. Bolta, A. Gregorcic, *Food Control* 21 (2010)1512-1518.
- [9] F. M. Lazo Barra. Equipamento de geração e distribuição de calor para controle térmico de pragas, PCT/BR/2011/000023, 14 de janeiro de 2011.
- [10] A. M. González-Rodríguez et al., *Food Chemistry* 129 (2011) 890–898.
- [11] M. Anastassiades, S. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck, *Journal of AOAC Int.* 86 (2003) 412–431.
- [12] S. Walorczyk, D. Drodzynski, G. Boguslaw, *Talanta* 85 (2011) 1856–1870.
- [13] **INMETRO** (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). **DOQ-CGCRE-008**, Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos. Revisão: 03 – fevereiro/2010. 35 p.
- [14] Reichert, I. R. Pizzutti, I. H. Costabeber. A. Uclés, S. Herrera, A. R. Fernández-Alba, *Talanta* 134 (2015) 415-424.
- [15] P. Cabras, V.L. Garau, M. Melis, F.M. Pirisi, L. Spanedda, *J. Food Sci.* 7 (1995), pp. 133–145.
- [16] J. P. Anjos, J. B. Andrade, *Microchemical Journal*, Manuscrito aceito (2015).
- [17] Garcia-Cazorla, J. & Xirau-Vayreda, M. (1994), *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(3) 338–340.
- [18] Sala, C., Fort, F., Busto, O., Zamora, F., Arola, L., & Guasch, J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (1996) 3668–3671.
- [19] J. Martins, C. Esteves, T. Simões, M. Correia, C. Delerue-Matos, *J. Agric. Food Chemistry* 59 (2011) 6847–6855.
- [20] **EUROPEAN UNION. Pesticide EU-MRLs. Regulation (EC) n° 396/2005.** (http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max_residue_levels/eu_rules/index_en.htm) (acessado em 09/12/14).

Tabela 1 - Fungicidas utilizados neste estudo; todos permitidos por legislação para cultivo da uva no Brasil.

Fungicida	Grupo Químico	Modo de Ação	Classe Toxicológica	LMR (mg/Kg)	Intervalo de Segurança
Boscalida	Anilida	S	Classe II	3,0	21 dias
Cimoxanil	Acetamida	S	Classe III	0,2	7 dias
Difenoconazol	Triazol	S	Classe I	0,2	21 dias
Metconazol	Triazol	S	Classe I	1,0	7 dias
Procimidona	Dicarboximida	S	Classe IV	5,0	7 dias
Piraclostrobina	Estrobilurina	S	Classe II	2,0	7 dias
Pirimetanil	Anilinopirimidina	C	Classe III	5	21 dias
Tebuconazol	Triazol	S	Classe IV	2,0	14 dias
Tetraconazol	Triazol	S	Classe II	0,3	7 dias
Tiofanato-Metílico	Benzimidazol	S	Classe IV	0,7	14 dias

S: Sistêmico; C: Contato; LMR: Limite máximo de resíduo permitido na uva. Fonte: Agroquímicos registrados para cultura da videira. Disponível em www.uvibra.com.br, acesso em maio/2014.

Tabela 2 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas que não foram submetidas à tecnologia Thermal Pest Control durante o seu cultivo (controle).

Fungicida	Amostras positivas (N=28)			Vinhos Brancos (N=8)			Vinhos Tintos (N=20)		
	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)
Boscalida	0,76 (1,55)	<LOQ – 5,20	7 (25)	1,28 ^a (2,37)	<LOQ – 5,20	2 (25)	0,56 ^a (1,09)	<LOQ – 3,56	5 (25)
Cimoxanil	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Difenoconazol	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Metconazol	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Procimidona	1,45 (2,63)	<LOQ – 8,56	8 (28,57)	3,24 ^a (3,64)	<LOQ – 8,56	4 (50)	0,74 ^a (1,76)	<LOQ – 6,31	4 (20)
Piraclostrobina	0,03 (0,16)	<LOQ – 0,87	1 (3,57)	ND ^a	ND	0 (0)	0,04 ^a (0,19)	<LOQ – 0,87	1 (5)
Pirimetanil	26,33 (21,87)	<LOQ – 81,30	24 (85,71)	36,21 ^a	<LOQ – 81,30	8 (100)	22,38 ^a (16,09)	<LOQ – 55,58	16 (80)
Tebuconazol	ND	ND	0%	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Tetraconazol	0,77 (1,80)	<LOQ – 6,28	5 (17,86)	0,21 ^a (0,59)	<LOQ – 1,67	1 (12,5)	1,00 ^a (2,08)	<LOQ – 6,28	4 (20)
Tiofanato- metílico	0,37 (0,96)	<LOQ – 3,58	4 (14,28)	ND ^a	ND	0 (0)	0,52 ^a (1,10)	<LOQ – 3,58	4 (20)
∑ fungicidas	29,71	-	-	41,31	-	-	25,24	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; ND: não detectado acima do LOQ; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos de média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas em vinhos brancos e tintos com a mesma letra ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 3 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) em amostras de vinhos brancos e tintos, produzidos a partir de uvas que foram submetidas à tecnologia Thermal Pest Control durante o seu cultivo (com TPC).

Fungicida	Amostras positivas (N=28)			Vinhos Brancos (N=8)			Vinhos Tintos (N=20)		
	Média (DP)	Mín. – Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín. – Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín. – Máx.	Frequência (%)
Boscalida	0,63 (1,19)	<LOQ – 3,44	7 (25)	0,75 ^a (1,39)	<LOQ – 3,34	2 (25)	0,58 ^a (1,13)	<LOQ – 3,44	5 (25)
Cimoxanil	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Difenoconazol	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Metconazol	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Procimidona	18,79 (46,30)	<LOQ – 146,06	7 (25)	0,23 ^a (0,65)	<LOQ – 1,85	1 (12,5)	26,21 ^a (53,32)	<LOQ – 146,06	6 (30)
Piraclostrobina	0,06 (0,34)	<LOQ – 1,82	1 (3,57)	ND ^a	ND	0 (0)	0,09 ^a (0,41)	<LOQ – 1,82	1 (5)
Pirimetanil	30,16 (37,07)	<LOQ – 146,60	24 (85,71)	60,02 ^a (57,22)	7,90 – 146,60	8 (100)	18,21 ^a (14,88)	<LOQ – 55,42	16 (80)
Tebuconazol	ND	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)	ND ^a	ND	0 (0)
Tetraconazol	0,40 (1,19)	<LOQ – 4,17	3 (10,71)	ND ^a	ND	0 (0)	0,56 ^a (1,38)	<LOQ – 4,17	3 (15)
Tiofanato- metílico	0,38 (1,03)	<LOQ – 4,35	4 (14,28)	ND ^a	ND	0 (0)	0,54 ^a (1,19)	<LOQ – 4,35	4 (20)
Σ fungicidas	50,42	-	-	61,00	-	-	46,19	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; ND: não detectado acima do LOQ; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos de média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas em vinhos brancos e tintos com a mesma letra ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 4 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Tannat, produzidos a partir de uvas colhidas nas safras 2011/2012 e 2012/2013, na propriedade vitivinícola A (grupo 1).

Fungicida	Grupo 1 (N=16)			Controle (N=8)			Com TPC (N=8)		
	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)
Piraclostrobina	0,17 (0,49)	<LOQ - 1,42	2 (12,5)	0,11 ^a (0,31)	<LOQ - 0,87	1 (12,5)	0,23 ^a (0,64)	<LOQ - 1,82	1 (12,5)
Pirimetamil	20,19 (8,54)	7,33 – 37,03	16 (100)	24,17 ^a (7,85)	13,93 – 37,03	8 (100)	16,21 ^a (7,65)	7,33 – 26,73	8 (100)
Tetraconazol	1,96 (2,36)	<LOQ - 6,28	7 (43,75)	2,50 ^a (2,73)	<LOQ - 6,28	4 (50)	1,41 ^a (1,96)	<LOQ - 4,17	3 (37,5)
Σ Fungicidas	22,32	-	-	26,78	-	-	17,85	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos tintos Tannat com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 5 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Tannat produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (grupo 2).

Fungicida	Grupo 2 (N=8)			Controle (N=4)			Com TPC (N=4)		
	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)
Boscalida	1,79 (1,41)	<LOQ – 3,56	6 (75)	2,05 ^a (1,56)	<LOQ – 3,56	3 (75)	1,53 ^a (1,43)	<LOQ – 3,44	3 (75)
Procimidona	0,18 (0,51)	<LOQ – 1,45	1 (12,5)	ND ^a	ND	0 (0)	0,36 ^a (0,72)	<LOQ – 1,45	1 (12,5)
Pirimetanil	43,32 (9,35)	26,6 – 55,58	8 (100)	46,15 ^a (6,60)	26,6 – 55,58	4 (100)	40,49 ^a (11,79)	26,6 – 55,42	4 (100)
ΣFungicidas	45,29	-	-	48,20	-	-	42,38	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; ND: não detectado acima do LOQ; Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos tintos Tannat com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 6 - Fungicidas encontrados nos vinhos da cv. Chardonnay ($\mu\text{g L}^{-1}$), produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2012/2013, na propriedade vitivinícola A (grupo 3).

Fungicida	Grupo 3 (N=8)			Controle (N=4)			Com TPC (N=4)		
	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)
Pirimetanil	87,89 (31,06)	53,87 – 146,6	8 (100)	64,67 ^b (11,78)	53,87 – 81,30	4 (100)	111,12 ^a (25,98)	90,54 – 146,6	4 (100)
Tetraconazol	0,20 (0,59)	<LOQ – 1,67	1 (12,5)	0,42 ^a (0,83)	<LOQ – 1,67	1 (25)	ND ^a	ND	0 (0)
Σ Fungicidas	88,09	-	-	65,09	-	-	111,12	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; ND: não detectado acima do LOQ; Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos brancos Chardonnay com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 7- Fungicidas encontrados nos vinhos da cv. Chardonnay (em $\mu\text{g L}^{-1}$), produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (grupo 4).

Fungicida	Grupo 4 (N=8)			Controle (N=4)			Com TPC (N=4)		
	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)
Boscalida	2,02 (2,31)	<LOQ – 5,20	4 (50)	2,56 ^a (2,95)	<LOQ – 5,20	2 (50)	1,49 ^a (1,75)	<LOQ – 3,34	2 (50)
Procimidona	3,47 (3,46)	<LOQ – 8,56	5 (62,5)	6,47 ^a (1,72)	4,60 – 8,56	4 (100)	0,46 ^b (3,46)	<LOQ – 1,85	1 (25)
Pirimetanil	8,34 (1,37)	5,76 – 10,17	8 (100)	7,75 ^a (1,47)	5,76 – 9,31	4 (100)	8,92 ^a (1,37)	7,90 – 10,17	4 (100)
ΣFungicidas	13,83	-	-	16,78	-	-	10,87	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos brancos Chardonnay com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 8 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, produzidos a partir de uvas colhidas na safra 2013/2014, na propriedade vitivinícola B (grupo 5).

Fungicida	Grupo 5 (N=8)			Controle (N=4)			Com TPC (N=4)		
	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.-Máx.	Frequência (%)
Boscalida	1,07 (2,31)	<LOQ – 2,86	4 (50)	0,73 ^a (0,92)	<LOQ – 1,91	2 (50)	1,41 ^a (1,63)	<LOQ – 2,86	2 (50)
Procimidona	0,49 (3,46)	<LOQ – 3,94	1 (12,5)	ND ^a	ND	0 (0)	0,98 ^a (1,97)	<LOQ – 3,94	1 (25)
Pirimetanil	17,87 (1,37)	14,39 – 22,74	8 (100)	17,58 ^b (1,45)	15,83 – 19,14	4 (100)	18,16 ^a (3,94)	14,39 – 22,74	4 (100)
ΣFungicidas	19,43	-	-	18,31	-	-	20,55	-	-

DP: desvio padrão. LOQ: limite de quantificação. ND: não detectado acima do LOQ. Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos tintos Cabernet Sauvignon com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Tabela 9 - Fungicidas ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nos vinhos da cv. Cabernet Sauvignon ($\mu\text{g L}^{-1}$), produzidos a partir de uvas colhidas na safra de 2013/2014, na propriedade vitivinícola C (grupo 6).

Fungicida	Grupo 6 (N=8)			Controle (N=4)			Com TPC (N=4)		
	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)	Média (DP)	Mín.- Máx.	Frequência (%)
Procimidona	67,71 (67,84)	1,31 – 146,06	8 (100)	3,69 ^b (2,28)	1,31– 6,31	4 (100)	129,73 ^a (11,98)	117,64– 146,06	4 (100)
Tiofanato – metílico	2,64 (0,91)	1,65– 4,35	8 (100)	2,58 ^a (0,76)	1,77 – 3,57	4 (100)	2,69 ^a (1,17)	1,65 – 4,35	4 (100)
Σ Fungicidas	88,09	-	-	6,27	-	-	132,42	-	-

DP: desvio padrão; LOQ: limite de quantificação; Com TPC: Uso da tecnologia *Thermal Pest Control*; Valores < LOQ foram considerados como zero para os cálculos da média. Não há diferença significativa para as médias dos fungicidas nos vinhos tintos Cabernet Sauvignon com a mesma letra, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Mann-Whitney.

Quadro 1 - Representação dos agrupamentos das unidades amostrais

Grupo	Cultivar	Safras (Precipitação total em mm)	Propriedade Vitivinícola	Tratamentos		Fungicidas utilizados	
				T1 (N)	T2 (N)/n° aplicações de TPC	Fungicidas em T1/n° aplicações por safra (s)	Fungicidas em T2/n° aplicações por safra (s)
1	Tannat	2011/2012 (1.316,8) e 2012/2013 (1.697,2)	A	T1 (8)	T2 (8)/5	Cimoxanil/2 e 2 Metconazol/1 e 0 Piraclostrobina/2 e 2 Pirimetanil/2 e 2 Tetraconazol/1 e 3 Tiofanato metfílico/4 e 3	Cimoxanil/3 e 2 Metconazol/1 e 0 Piraclostrobina/2 e 2 Pirimetanil/2 e 2 Tetraconazol/1 e 3 Tiofanato metfílico/4 e 3
2	Tannat	2013/2014 (981,5)	B	T1 (4)	T2 (4)/21	Boscalida/1 Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Procimidona/2 Piraclostrobina/2 Pirimetanil/2 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1	Boscalida/1 Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Procimidona/2 Piraclostrobina/2 Pirimetanil/2 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1
3	Chardonnay	2012/2013 (1.697,2)	A	T1 (4)	T2 (4)/5	Cimoxanil/4 Pirimetanil/2 Piraclostrobina/2 Tetraconazol/2 Tiofanato metfílico/3	Cimoxanil/3 Pirimetanil/2 Piraclostrobina/2 Tetraconazol/2 Tiofanato metfílico/4
4	Chardonnay	2013/2014 (584,5)	B	T1 (4)	T2 (4)/21	Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Boscalida/1 Procimidona/2 Pirimetanil/0 Piraclostrobina/1 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1	Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Boscalida/1 Procimidona/2 Pirimetanil/0 Piraclostrobina/1 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1

5	Cabernet Sauvignon	2013/2014 (981,5)	B	T1 (4)	T2 (4)/21	Boscalida/1 Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Procimidona/2 Piraclostrobina/2 Pirimetanil/2 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1	Boscalida/1 Cimoxanil/2 Difenoconazol/1 Procimidona/2 Piraclostrobina/2 Pirimetanil/2 Tebuconazol/2 Tiofanato metfílico/1
6	Cabernet Sauvignon	2013/2014 (-)*	C	T1 (4)	T2 (4)/2	Cimoxanil/1 Difenoconazol/2 Procimidona/3 Piraclostrobina/2 Tebuconazol/2 Tiofanato Metfílico/2	Cimoxanil/1 Difenoconazol/2 Procimidona/3 Piraclostrobina/2 Tebuconazol/2 Tiofanato Metfílico/2

T1: Controle; T2: Com aplicação de TPC a campo; N: número de amostras de vinhos; *Dados de precipitação não fornecidos pela propriedade vitivinícola C.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- A ocorrência de contaminação por fungicidas em vinhos brancos e tintos de diferentes propriedades vitivinícolas do Estado do Rio Grande do Sul foi observada neste estudo, porém nenhum dos compostos detectados esteve-se acima dos LMRs estabelecidos para as uvas.
- Nas amostras de vinhos brancos e tintos, sem o emprego da tecnologia TPC, foram detectados seis fungicidas: boscalida, procimidona, piraclostrobina, pirimetanil, tetraconazol e tiofanato-metílico. O fungicida pirimetanil obteve a maior média ($26,33 \mu\text{g L}^{-1}$) e também a maior frequência (85,71%); o procimidona obteve uma média de $1,45 \mu\text{g L}^{-1}$ em 28,57%; os demais: tetraconazol, boscalida, tiofanato metílico e piraclostrobina obtiveram médias e frequências inferiores em relação aos anteriores: $0,77 \mu\text{g L}^{-1}$ em 17,86%; $0,76 \mu\text{g L}^{-1}$ em 25%; $0,37$ em 14,28% e $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ em 3,57%, respectivamente.
- Em relação aos vinhos produzidos a partir de uvas submetidas à tecnologia TPC, foram detectados os mesmos seis fungicidas presentes nos vinhos produzidos com uvas não submetidas à tecnologia TPC, com médias e frequências próximas, destacando-se, mais uma vez, o pirimetanil, com maior frequência (85,17%), e maior média ($30,16 \mu\text{g L}^{-1}$), seguido de procimidona com média e frequência de: $18,79 \mu\text{g L}^{-1}$ e 25%. Os demais fungicidas: boscalida (média= $0,63 \mu\text{g L}^{-1}$), tetraconazol (média= $0,40 \mu\text{g L}^{-1}$), tiofanato-metílico (média= $0,38 \mu\text{g L}^{-1}$) e piraclostrobina (média= $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$), obtiveram valores médios inferiores.
- Não houve diferenças significativas para as concentrações residuais encontradas nos dois tipos de vinhos (tintos e brancos), em ambos os tratamentos (controle e com TPC).
- As amostras de vinhos da cv. Chardonnay, safra 2012/2013, cujas uvas foram obtidas da propriedade vitivinícola A (Grupo 3), diferiram estatisticamente para o fungicida pirimetanil, o qual apresentou uma média de $64,67 \mu\text{g L}^{-1}$ (controle), e de $111,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (com TPC). Sendo assim, os vinhos submetidos ao tratamento térmico TPC apresentaram maiores valores residuais do fungicida em questão.
- As amostras de vinhos da cv. Chardonnay, safra 2013/2014, cujas uvas foram obtidas da propriedade vitivinícola B (Grupo 4), apresentaram diferença estatística para o fungicida procimidona, cuja média foi superior para o controle ($6,47 \mu\text{g L}^{-1}$), do que para o tratamento com TPC ($0,46 \mu\text{g L}^{-1}$). Neste sentido, observaram-se níveis residuais inferiores com o emprego da tecnologia TPC, uma vez que, nesta propriedade a utilização do equipamento TPC foi maior (21 aplicações de TPC) em relação aos outros grupos que diferiram (Grupos 3 e 6).
- As amostras de vinhos da cv. Cabernet Sauvignon, safra 2013/2014, cujas uvas têm origem da propriedade vitivinícola C (Grupo 6); diferiram estatisticamente para o fungicida procimidona, o qual apresentou concentrações superiores para o tratamento com TPC (média = $129,73 \mu\text{g L}^{-1}$), do que para o controle (média = $3,69 \mu\text{g L}^{-1}$). Tal grupo apresentou a maior variação entre os tratamentos, sendo superior a concentração residual para os vinhos produzidos a partir de uvas submetidas à tecnologia TPC, a qual foi empregada apenas duas vezes ao longo de toda a safra.
- Observou-se que o número de aplicações da tecnologia TPC nas videiras foi diferente nas três propriedades, e também, o número das aplicações de fungicidas foram

semelhantes mesmo quando se utilizava a tecnologia TPC, ou seja, não havia uma redução do número de aplicações com o uso desta.

- Sugerem-se mais estudos a fim de estabelecer uma maior avaliação da tecnologia TPC, assim como a otimização de seu uso, a obtenção de comprovação de sua eficácia frente às doenças fúngicas e, sobretudo em relação à redução do uso de fungicidas durante o cultivo das uvas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, K. et al. Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 357-378, 2010.
- AQUARONE, E. *Biocologia Industrial*. São Paulo: Edgar Blücher, 2001.
- BASA CESNIK, H.; GREGORCIC, A. & CUS, F. Pesticide residues in grapes from vineyards included in integrated pest management in Slovenia. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, p. 438-445, 2008.
- BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 8 jan. 2002. Acesso em dezembro de 2014.
- BRASIL. Lei 10.970, de 12 de nov. 2004. Altera a lei 7.678, de 08 de nov. de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Acesso em dezembro de 2014.
- BRASIL. Lei nº 7.678 de 8 de novembro de 1988a. Dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 9 nov. 1988a. Acesso em novembro de 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988b. Acesso em novembro de 2014.
- BRUYNZEEL, D.P., TAFELKRUIJER, J., WILKS, M.F. Contact dermatitis due to a new fungicide used in the tulip bulb industry. **Contact Dermatitis**, v. 33, p. 8-11, 1995.
- CABONI P.; CABRAS; **Adv. Food Nutr.** v. 59, p. 43-62, 2010.
- CABRAS, P. et al. Fenhexamid residues in grapes and wine. **Food Additives and Contaminants**, v.18, p. 625-629, 2001.
- CABRAS, P.; ANGIONI, A. Pesticides residues in grapes, wine, and their processing products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, 967-973, 2000.
- CARRARO, G. O uso do sistema Lazo TPC em videiras viníferas. Monografia (graduação no curso superior em enologia). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul/Campus Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, 2010.
- CUS, F. et al. Pesticide residues in grapes and during vinification process. **Food Control**, v. 21 p. 1512-1518, 2010.

CUS, F.; RASPOR, P. The effect of pyrimethanil on the growth of wine yeasts. **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, p. 54–59, 2008.

CZERMAINSKI, A. B. C.; SÔNEGO, O. R. Influencia das condições climáticas sobre a eficácia de fungicidas empregados para o controle do míldio em *Vitis vinifera*. **Ciência Rural**, v. 34, p. 5-11, 2004.

DAS, S.; SANTANI, D. D.; DHALLA, N. S. Experimental evidence for the cardioprotective effects of red wine. **Experimental Clinical Cardiology**, v. 12, p. 5-10, 2007.

DRAPER, A.; CULLINAN, P.; JONES, M.; NEWMAN TAYLOR, A. Occupational asthma from fungicides fluazinam and chlorothalonil. **Occup. Environ.** v. 60, p. 76–77, 2003.

DUGO, G. et al. Determination of resveratrol and other phenolic compounds in experimental wines from grapes subjected to different pesticide treatments. **Italian Journal of Food Science**, v. 16, p. 305–321, 2004.

EBERT et al. Percepções e expectativas sobre a tecnologia Thermal Pest Control na vitivinicultura brasileira. *Rev. Bras. Vitic. End.* n. 5, p. 34-40, 2013.

FERREIRA, E.T.D.; ROSINA, C.D.; MOCHIUTTI, F.G. Processo de produção de vinho fino tinto. IV Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial. Campo Mourão. 2010.

FISCHER, U.; ROTH, D.; CHRISTMANN, M. The impact of geographic origin, vintage and wine estate on sensory properties of *Vitis vinifera* cv. Riesling wines. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 281-288, 1999.

FOGAÇA, A. O. **Avaliação do estado nutricional de vinhedos e sua correlação com a produção de uvas viníferas de qualidade**. 2005. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2005.

FREIRE, L.M.M.; FREIRE, J.M.; CALDART, V.Z. Transformação na estrutura produtiva dos viticultores da Serra Gaúcha: 1985- 1991. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV (Documento 7), p. 44, 1992.

GARCIA M. A. et al. Effect of fungicide residues on the aromatic composition of white wine inoculated with three *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1241-1247, 2004.

GONZÁLEZ-RODRIGUEZ A. M. et al., Relationships between Godello white wine sensory properties and its aromatic fingerprinting obtained by GC–MS. **Food Chemistry**, 129, 890–898, 2011.

GONZÁLEZ-RODRIGUEZ, R. M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GANDARA, J. Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid-liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 6033-6042, 2009.

IBGE, Dados de 2012, disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201202.pdf
Acesso em 16/10/2013.

IBRAVIN, Dados de 2013, disponível em: <http://www.ibravin.org.br/pt>. Acesso em 21/10/2013.

IBRAVIN. Dados estatísticos, 2009. Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/dados-estatisticos>. Acesso em 2013.

IBRAVIN. **Principais Regiões Produtoras.** Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br/regioesprodutoras.php>> Acesso em: 26 jan. 2013

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas.** São Paulo: Manole Ltda, 1999.

LAZO BARRA F. M. Equipamento de geração e distribuição de calor para controle térmico de pragas, PCT/BR/2011/000023, 14 de janeiro de 2011.

LOPEZ, M.L.; RIBA, M. Residue levels of ethoxyquin, imazalil, and iprodione in pears under cold-storage conditions. **J. Agric. Food Chem.** v. 47, p. 3228–3236, 1999.

MADDEN, L.V. et al. Evaluation of a disease warning system for downy mildew of grapes. **Plant Disease**, v.84, p.549-554, 2000.

MASSART S; HM, J. Use of molecular techniques to elucidate the mechanisms of action of fungal biocontrol agents: A review. **J. Microbiol. Methods**, v. 69, p. 229–241, 2007.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012. **Comunicado Técnico.** ISSN 1808-6802, Bento Gonçalves, 2013.

MENDES, C.S. Flutuação de inóculo no ar, desenvolvimento e validação de um sistema de previsão do míldio-da-videira. 2002. 123 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2002.

MIDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de Alimentos.** São Paulo: Varela, 2000.

MONTEIRO, J. E. B. A.; TONIETTO, J. Condições meteorológicas e sua influência na vindima de 2013 em regiões vitivinícolas sul brasileiras. **Comunicado Técnico** (ISSN 1808-6802) Bento Gonçalves, 2013.

MORAES, V.; LOCATELLI, C.; Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. **Evidência**, v. 10, p. 57-68, 2010.

MUKHERJEE, I.; GOPAL, M., CHATTERJEE, S.C. Persistence and effectiveness of iprodione against Alternaria blight in mustard. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 70, p. 586–591, 2003.

NAVARRO, S. et al. Dissipation of chlorpyrifos, fenarimol, mancozeb, metalaxyl, penconazole, and vinclozolin in grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, p. 35–40, 2001.

NAVES, R. DE L.; TESMAN, D.J.; GARIDO, L. DA R.; SÔNEGO, R.O. **Sistema de produção de uva de mesa no Norte do Paraná: doenças e seu controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. (Embrapa Uva e Vinho. Sistemas de produção, 10). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/MesaNorteParana/doencas.htm>>. Acesso em: 28 jul. 2014.

OLIVA, J.; MULERO, J.; PAYA, P.; CAMARA, M. A.; BARBA, A. Influence of several fungicides on the antioxidant activity of red wines (var. Monastrell). **Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes**, New York, v. 44, n. 6, p. 546-552, 2009.

OLIVA, J. et al. Effect of the use of recent commercial fungicides (under good and critical agricultural practices) on the aroma composition of Monastrell red wines. **Analytica Chimica Acta**, v. 617, p. 107-118, 2008.

OTERO R. R.; GRANDE B. C.; GÁNDARA J. S. Solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of the fungicides cyprodinil and fludioxonil in white wines. **Journal of Chromatography A**, v. 942 (1-2), p. 41-52, 2002.

PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. R. Vinho e Saúde: uma revisão. **Infarma**, v. 16, p. 64-67, 2004.

POUSSIER, O. Grande Larousse do vinho. São Paulo: Lafonte, 2012.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, U. A. Vitivinicultura Brasileira: Panorama Setorial de 2010. 2011. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/livro/vitivinicultura.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2014.

RIBÉREAU-GAYON, P. et al. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments**. England: John Wiley & Sons, 2006.

SALA, C. et al. Fate of some common pesticides during vinification process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3668–3671, 1996.

SANTOS, M. et al. Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. **Bioresour. Technol.** v. 99, 9040–9043, 2008.

SAUTTER, C. K. et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 437-442, 2005.

SCHNEIDER, L. Dinâmica locacional da vitivinicultura: novas regiões do Rio Grande do Sul e Vale do São Francisco. **Dissertação de mestrado**. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

SÔNEGO, O. R. et al. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho (Circular Técnica). p. 32, 2005.

SOUZA, G. G. et al. A uva roxa, *Vitis vinífera* L. (Vitaceae) – seus sucos e vinhos na prevenção de doenças vasculares. **Natureza on-line**, v. 4, p. 80-86, 2006.

SOUZA, R. T.; PALLADINI, L. A. **Tecnologia para aplicação de produtos fitossanitários em videira**. Bento Gonçalves: Circular Técnica - Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2007. Disponível em www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir073.pdf. Acesso em 08 de setembro de 2012.

TONIETTO, J. et al. O Clima Vitícola das Regiões Produtoras de Uva para Vinhos Finos no Brasil. p. 105-144, 2012.

TOURNU, H.; SERNEELS, J.; DIJCK, P.V. Fungal Pathogens Research: Novel and Improved Molecular Approaches for the Discovery of Antifungal Drug Targets. *Curr. Drug Targets* **2005**, 909–922.

ANEXOS

ANEXO A – Fungicidas registrados para cultura da uva

FUNGICIDAS REGISTRADOS PARA A CULTURA DA UVA - Junho de 2013

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENCIA
AMISTAR WG	AZOXISTROBINA	01305	ÓLEOS EM GERAL	WG	IV	S	ESTROBILURINA	500	24	7
VANTIGO	AZOXISTROBINA	10199	ÓLEOS EM GERAL	WG	IV	S	ESTROBILURINA	500	24	7
GALBEN-M	BENALAXIL + MANCOZEBE	4601	-	WP	I	S	ACILALINATO + DITIOCARBAMATO	80 + 660	200 a 250	7
TAIREL M	BENALAXIL + MANCOZEBE	2405	-	WP	I	S	ACILALINATO + DITIOCARBAMATO	80 + 660	200 a 250	7
TRECATOL	BENALAXIL + MANCOZEBE	9706	-	WP	I	S	ACILALANINATO + DITIOCARBAMATO	80 + 660	200 a 250	7
COLLIS	BOSCALIDA + CRESOXIM METÍLICO	1804	-	SC	III	S	ANILIDA + ESTROBILURINA	200 + 100	60	21
CAPTAN 500 WP	CAPTAN	548700	-	WP	I	C	DICARBOXÍMIDA	500	240	1
CAPTAN 8C	CAPTAN	1908305	-	SC	I	C	DICARBOXÍMIDA	480	250	1
ORTHOCLIDE 500	CAPTAN	1986	PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	C	DICARBOXÍMIDA	500	240	1
RANMAN	CLAZOFAMIDA			SC	III	C	IMIDAZOL	400	25 A 30	
ZETANIL	CIMOXANIL + CLOROTALONIL	6606	-	SC	I	S + C	ACETAMIDA + ISOPTALONTRILA	60 + 375	250 a 300	7
ZETANIL WG	CIMOXANIL + CLOROTALONIL	15708	-	WG	I	S + C	ACETAMIDA + ISOPTALONTRILA	100 + 750	100 a 150	7
DUETTO WG	CIMOXANIL + CLOROTALONIL	12509	-	WG	I	S	ACETAMIDA + ISOPTALONTRILA	100 + 750	100 a 150	7
EQUATION	CIMOXANIL + FAMOXADONA	1499	PRODUTOS ALCALINOS	WG	III	S + C	ACETAMIDA + OXAZOLIDINADIONA	300 + 225	60	7
ACADEMIC	CIMOXANIL + MANCOZEBE	1205	-	WP	II	S + C	ACETAMIDA + DITIOCARBAMATO	60 + 700	200 a 300	7
CIMOX WP Helm	CIMOXANIL + MANCOZEBE	1010	-	WP	I	S + C	ACETAMIDA + DITIOCARBAMATO	60 + 640	250	7
CURATHANE	CIMOXANIL + MANCOZEBE	1902	-	WP	III	S + C	ACETAMIDA + DITIOCARBAMATO	60 + 640	250 a 350	7
CURZATE BR	CIMOXANIL + MANCOZEBE	5601	PRODUTOS DE REAÇÃO ALCALINA	WP	III	S + C	ACETAMIDA + DITIOCARBAMATO	60 + 640	250	7
MICENE	CIMOXANIL + MANCOZEBE	15608	-	WP	II	S + C	ACETAMIDA + DITIOCARBAMATO	60 + 700	200 a 300	7
HARPCN WG	CIMOXANIL + ZOXAMIDA	903	-	WG	III	S + C	ACETAMIDA + BENZAMIDA	331 + 331	30 a 35	7
ALTO 100	CIPROCONAZOL	991	SULFATO DE ZINCO E MANGANÊS	SL	III	S + C	TRIAZOL	100	20	6

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENÇA
BRAVONIL 500	CLOROTALONIL	1188491	ÓLEOS EM GERAL	SC	II	C	ISOFTALONITRILA	500	400	7
BRAVONIL 750 WP	CLOROTALONIL	1418895	ÓLEOS EM GERAL	WG	II	C	ISOFTALONITRILA	750	200	7
BRAVONIL ULTREX	CLOROTALONIL	4896	ÓLEOS EM GERAL	WG	I	C	ISOFTALONITRILA	825	150	7
DACONIL 500	CLOROTALONIL	1788591	ÓLEO MINERAL	SC	III	C	ISOFTANTRILA	500	300	7
DACONIL WG	CLOROTALONIL	7025	-	WG	I	C	ISOFTANTRILA	825	150	7
DACOSTAR 500	CLOROTALONIL	428504	ÓLEO MINERAL	SE	I	C	ISOFTANTRILA	500	400	7
DACOSTAR 750	CLOROTALONIL	778603	-	WP	III	C	ISOFTANTRILA	750	200	7
DACOSTAR WG	CLOROTALONIL	505	-	WG	I	C	ISOFTANTRILA	825	150	7
ISATALONIL	CLOROTALONIL	2048789	-	WP	I	C	ISOFTALONITRILA	750	200	7
VANOX 500 SC	CLOROTALONIL	8788	ÓLEO MINERAL	SC	III	C	ISOFTALONITRILA	500	400	7
CERCONIL SC	CLOROTALONIL + TIOFANATTO METÍLICO	1478799	-	SC	III	S + C	ISOFTALONITRILA + BENZIMIDAZOL	350 + 140	200	14
CERCONIL WP	CLOROTALONIL + TIOFANATTO METÍLICO	2188605	ÓLEO MINERAL	WP	I	S + C	ISOFTALONITRILA + BENZIMIDAZOL	500 + 200	200	14
TIOFANIL	CLOROTALONIL + TIOFANATTO METÍLICO	3728310	ÓLEO MINERAL	WP	I	S	ISOFTALONITRILA + BENZIMIDAZOL	500 + 200	200	14
STROBY SC	CRESOXIN METÍLICO	3158	-	SC	III	C	ESTROBIRULINA	500	20	21
ARCÁDIA	CRESOXIN METÍLICO + TEBUCONAZOLE	8511	-	SC	III	S + C	ESTROBIRULINA + TRIAZOL	100 + 125	80 A 100	21
FLARE	DIFENCONAZOL	9808	-	CE	I	S	TRIAZOL	250	8 a 12	21
SCORE	DIFENCONAZOL	2884	-	CE	I	S	TRIAZOL	250	8 a 12	21
FORUM	DIMETOMORFE	1386	PRODUTOS ALCALINOS PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WP	III	S	MORFOLINA	500	450 a 675	21
DELAN	DITIANONA	1818604	PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WP	I	C	QUINONA	750	125	28
COVER	ENKOPRE	7197	PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WP	IV	C	INORGÂNICO	800	200 a 400	ND
KUMULUS DF	ENKOPRE	2418592	PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WP	IV	C	INORGÂNICO	800	200 a 400	ND
KUMULUS DF-AG	ENKOPRE	6997	PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WG	IV	C	INORGÂNICO	800	200 a 400	ND
SULFICAMP	ENKOPRE	2068605	PRODUTOS ALCALINOS E ÓLEO MINERAL	WP	IV	C	INORGÂNICO	800	500	ND
SULFURE 750	ENKOPRE	1793	-	SC	IV	C	INORGÂNICO	750	200	ND
GRASTER	FAMOXADONA + MANCOZEBE	19308	-	WG	I	C	OXAZOLIDINADIONA + DITIOCARBAMATO	62,5 + 625	120	7

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENCIA
CUPURAN 500 PM	OXICLORETO DE COBRE	898	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	840	220	7
DIFERE	OXICLORETO DE COBRE	10508	-	WP	III	C	INORGÂNICO	588	75 a 250	7
FANAVID FLOWABLE	OXICLORETO DE COBRE	12007	-	SC	IV	C	INORGÂNICO	680	400	1
FUNGITOL AZUL	OXICLORETO DE COBRE	1538491	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	588	275	7
FUNGITOL VERDE	OXICLORETO DE COBRE	258491	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	840	220	7
RAMEXANE 850 PM	OXICLORETO DE COBRE	3228104	TMTD, DICLORAM, CARBAMATOS E CLOROPROPI	WP	IV	C	INORGÂNICO	850	250	7
RECONIL	OXICLORETO DE COBRE	1548698	TMTD, ENOC, ENXOFRE CÁLCIO E DITIOCARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	588	300	7
RECOP	OXICLORETO DE COBRE	1308704	-	WP	IV	C	INORGÂNICO	840	250 a 300	7
STATUS	OXICLORETO DE COBRE	6210	-	SC	III	C	INORGÂNICO	588	150 a 200	7
COMET	PIRACLOSTROBINA	8801	-	CE	II	S	ESTROBILINA	250	40	7
MYTHOS	PIRIMETANIL	9358	-	SC	III	C	ANILINOPIRIMIDINA	300	200	21
QERTUS	PIRIMETANIL + IPRONIA	2407	-	SC	III	C	ANILINOPIRIMIDINA + DICARBOXIMIDA	150 + 250	100 a 150	21
SIALEX 500	PROCCIMIDONA	3954	-	WP	II	S	DICARBOXIMIDA	500	150 a 200	7
SUMLEX 500 WP	PROCCIMIDONA	4054	-	WP	II	S	DICARBOXIMIDA	500	150 a 200	7
ANTRACOL 700 WP	PROPINEB	501	-	WP	II	C	DITIOCARBAMATO	700	250 a 300	7
STARKY	SULFATO TRIBÁSICO DE COBRE	1110	-	WP	I	C	INORGÂNICO	738	300	7
SULFATO DE COBRE AGRIMAR	SULFATO DE COBRE	1796	-	GR	II	C	INORGÂNICO	990	1000	7
SULFATO DE COBRE MICROBAL	SULFATO DE COBRE	1402	-	SG	IV	C	INORGÂNICO	985	600 a 700	7
SULFATO DE COBRE INDERCO	SULFATO DE COBRE	3748310	-	SG	IV		INORGÂNICO	980	600	7

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENCIA
CENSOR	FENAMIDONA	2202	-	SC	III	S	IMIDAZOLINONA	500	30	7
MIDAS BR	FAMOXADONA + MANCOZEBE	2800	PRODUTOS ALCALINOS	WG	I	C	OKAZOLIDINADONA + DITIOCARBAMATO	62,5 + 625	120	7
RUBIGAN 120 EC	FENARIMOL	3438203	PRODUTOS ALCALINOS	CE	III	S	PIRIMIDIL CARBINOL	120	15 a 20	16
XAVANTE	FLUPICOLIDE	16508	-	SC	I	S	BENZIMIDAMIDA	480	20 a 35	7
FOLPAN AGRICUR 500 WP	FOLPET	3848304	PRODUTOS ALCALINOS	WP	IV	C	DICARBOXIMIDA	500	135	1
FOLPET FERSOL 500 WP	FOLPET	3303	-	WP	IV	C	DICARBOXIMIDA	500	250	1
ALIETTE	FOSFETIL	108700	ÓXIDO CLIFROSO, FERTILIZANTES FOLIARES MAP E DAP	WP	IV	S	FOSFONATO	800	250	16
AUXE	HIDRÓXIDO DE COBRE	12008	-	SC	III	C	INORGÂNICO	537,44	150 a 250	7
CONTACT	HIDRÓXIDO DE COBRE	698	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	691	200	7
ELLECT	HIDRÓXIDO DE COBRE	2210	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	I	C	INORGÂNICO	691	200 a 250	7
GARANT	HIDRÓXIDO DE COBRE	1278791	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	IV	C	INORGÂNICO	691	200	7
GARANT BR	HIDRÓXIDO DE COBRE	4701	ZIRAM, DICLORAM E DITIOCARBAMATOS	WP	III	C	INORGÂNICO	691	200	7
GARRA 450 WP	HIDRÓXIDO DE COBRE	2103	-	WP	I	C	INORGÂNICO	691	200 a 250	7
KOCIDE WDG BIOACTIVE	HIDRÓXIDO DE COBRE	2400	ZIRAM E DICLORAM	WG	III	C	INORGÂNICO	538	180	7
SUPERA	HIDRÓXIDO DE COBRE	2203	-	SC	III	C	INORGÂNICO	537,44	70 a 250	7
MANAGE 150	IMBENCONAZOL	7299	-	WP	II	S	TRIAZOL	150	100	14
ROVRAL	IPROCONIA	878600	-	WP	I	C	DICARBOXIMIDA	500	200	14
ROVRAL SC	IPROCONIA	2208691	-	SC	II	C	DICARBOXIMIDA	500	150 a 200	14
DITHANE NT	MANCOZEBE	2438798	PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	C	DITIOCARBAMATO	800	250 a 350	7
EMZEB 800 WP	MANCOZEBE	5610	PRODUTOS ALCALINOS	WP	II	C	DITIOCARBAMATO	800	250	7

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENCIA
FORTUNA 800 WP	MANCOZEBE	310	PRODUTOS ALCALINOS	WP	III	C	DITIOCARBAMATO	800	250	7
MANCOZEBE SIPCAM	MANCOZEBE	1468289	PRODUTOS ALCALINOS	WP	III	C	DITIOCARBAMATO	800	300	7
MANZATE 800	MANCOZEBE	638589	PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	C	DITIOCARBAMATO	800	250 a 300	7
MANZATE WG	MANCOZEBE	1030	PRODUTOS ALCALINOS	WG	I	C	DITIOCARBAMATO	750	250 a 350	7
PENCOZEBE 800 WP	MANCOZEBE	18207	PRODUTOS ALCALINOS	WP	IV	C	DITIOCARBAMATO	800	250 a 350	7
PERSIST SC	MANCOZEBE	1168704	PRODUTOS ALCALINOS	SC	III	C	DITIOCARBAMATO	445	630	7
UNIZEB 800 WP	MANCOZEBE	7909	PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	C	DITIOCARBAMATO	800	250 a 350	7
UNIZEB GOLD	MANCOZEBE	18007	PRODUTOS ALCALINOS	WG	IV	C	DITIOCARBAMATO	750	260 A 350	7
VONDOZEB 800 WP	MANCOZEBE	2104	PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	C	DITIOCARBAMATO	800	250 a 350	7
RIDOMIL GOLD MZ	MANCOZEBE + METALAXIL	9599	-	WP	III	S + C	ACILANINATO + DITIOCARBAMATO	40 + 640	250	7
CUPROZEB	MANCOZEBE + OXICLORETO DE COBRE	2108704	PRODUTOS ALCALINOS	WP	IV	C	INORGÂNICO + DITIOCARBAMATO	300 + 440	350	21
STIMO	MANCOZEBE + ZOXAMIDA	19008	-	WP	I	C	DITIOCARBAMATO + BENZAMIDA	727 + 73	140 a 180	7
STIMO WP	MANCOZEBE + ZOXAMIDA	7800	-	WP	III	C	DITIOCARBAMATO + BENZAMIDA	727 + 73	140 a 180	7
CARAMBA 90	METCONAZOL	1601	-	SL	III	S	TRIAZOL	90	50 a 100	7
POLYRAM DF	METIRAN	1603	-	WG	III	C	DITIOCARBAMATO	700	300	30
CABRIO TOP	METIRAN + PIRACLOSTROBINA	1303	-	WG	III	S	DITIOCARBAMATO + ESTROBILURINA	550 + 50	200	30
SYSTHANE 400 WP	MICLOBUTANIL	13407	-	WP	II	S	TRIAZOL	400	20	7
SYSTHANE WP	MICLOBUTANIL	6594	-	WP	III	S	TRIAZOL	400	20	7
AGRINOSE	OXICLORETO DE COBRE	2699707	CALDA SULFOCÁLCICA E CARBAMATOS	WP	III	C	INORGÂNICO	600	300 a 350	20
COPRUPER	OXICLORETO DE COBRE	6310	-	SC	III	C	INORGÂNICO	588	150 a 200	7
CUPRAVIT AZUL BR	OXICLORETO DE COBRE	1188793	-	WP	IV	C	INORGÂNICO	588	300	7
CUPROGAR 500	OXICLORETO DE COBRE	2788792	-	WP	IV	C	INORGÂNICO	840	250	7

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	Nº Registro	INCOMPATIBILIDADE	FORMULAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA	MODO DE AÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CONCENTRAÇÃO DE INGREDIENTE ATIVO (g/kg ou ml/l)	Dosagem comercial (g ou mL/100L)	CARENCIA
CONSTANT	TEBUCONAZOL	9299	-	CE	III	S	TRIAZOL	200	100	14
EGAN	TEBUCONAZOL	3409	-	CE	I	S	TRIAZOL	200	100	14
ELITE	TEBUCONAZOL	10499	-	CE	III	S	TRIAZOL	200	100	14
FOLICUR 200 EC	TEBUCONAZOL	2896	-	WP	III	S	TRIAZOL	200	100	14
FOLICUR PM	TEBUCONAZOL	390	-	WP	III	S	TRIAZOL	250	100	14
RIVAL	TEBUCONAZOL	6203	-	CE	I	S	TRIAZOL	200	100	14
TRIADE	TEBUCONAZOL	2600	-	CE	III	S	TRIAZOL	200	100	14
DOMARK 100 EC	TETRACONAZOL	6099	-	CE	I	S	TRIAZOL	100	30 a 50	7
CERCOBIN 700 WP	TIOFANATO METÍLICO	1248399	CUPRÍCOS E PRODUTOS ALCALINOS	WP	I	S	BENZIMIDAZOL	700	70	14
METILTIOFAN	TIOFANATO METÍLICO	1228389	PRODUTOS ALCALINOS E COBRE	WP	III	S	BENZIMIDAZOL	700	70	14
TOPSIN 700	TIOFANATO METÍLICO	8711	PRODUTOS ALCALINOS E COBRE	WP	I	S	BENZIMIDAZOL	700	70	14
VIPER 700	TIOFANATO METÍLICO	5608	PRODUTOS ALCALINOS	WP	IV	S	BENZIMIDAZOL	700	70	14
VIPER 500 SC	TIOFANATO METÍLICO	3888	PRODUTOS ALCALINOS	SC	IV	S	BENZIMIDAZOL	500	100	14
SHAVIT AGRICUR 250 EC	TRIADIMENOL	6401	-	CE	I	S	TRIAZOL	250	50 a 100	16
TRIFMINE	TRIFLUMIZOL	2993	-	WP	IV	S	IMIDAZOL	300	40 a 80	7

Classificação toxicológica
I- extremamente tóxico= vermelho
II- altamente tóxico= amarelo
III- moderadamente tóxico= azul
IV- pouco tóxico= verde

Modo de ação
C- contato
I- ingestão
S- sistêmico
T- translinar

ANEXO B – Talanta: Guide for authors

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Talanta provides a forum for the publication of original research papers, preliminary communications, and critical reviews in all branches of pure and applied analytical chemistry. Papers are evaluated based on established guidelines, including the fundamental nature of the study, scientific novelty, substantial improvement or advantage over existing technology or methods, and demonstrated analytical applicability. Original research papers on fundamental studies, and novel sensor and instrumentation development, are especially encouraged. Novel or improved applications in areas such as clinical and biological chemistry, environmental analysis, geochemistry, and materials science and engineering are welcome. Analytical performance of methods should be determined, including interference and matrix effects, and methods should be validated by comparison with a standard method, or analysis of a certified reference material. The developed method should especially comprise information on selectivity, sensitivity, detection limits, accuracy, and reliability. However, applying official validation or robustness studies to a routine method or technique does not necessarily constitute novelty. Proper statistical treatment of the data should be provided. Relevant literature should be cited, including related publications by the authors, and authors should discuss how their proposed methodology compares with previously reported methods. Since classical spectrophotometric measurements and applications (including derivative spectrophotometry), fluorimetry, solvent extraction, titrimetry, chemometrics, etc. are well established and are considered routine analytical methods, studies in such areas should demonstrate a unique and substantial advantage over presently known systems. New reagents or systems should demonstrate clear advantage, and their presentation should be comprehensive rather than generating a series of similar papers for several analytes or similar reagents. Modifications of reagents should demonstrate significant improvements. Obvious application of known chemistries or methods to established instrumental techniques are discouraged. Application of established analytical approaches to relatively simple matrices having no major interferences, such as pharmaceutical preparations, are discouraged unless considerable improvements over other methods in the literature are demonstrated. Papers dealing with analytical data such as stability constants, pKa values, etc. should be submitted to more specific journals, unless novel analytical methodology is demonstrated, or important analytical data are provided which could be useful in the development of analytical procedures.

Types of paper

Talanta provides a forum for the publication of *original research papers, preliminary communications and reviews* in all branches of pure and applied analytical chemistry. *Letters to the Editors* will be considered for publication. Data should be submitted only if they are clearly related to analytical measurements.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and http://www.elsevier.com/journal_authors/ethics.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/sharingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your

article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts: *Before the accepted manuscript is published in an online issue*: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed. *After the accepted manuscript is published in an online issue*: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information about this can be found here: <http://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations

(please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information see <http://www.elsevier.com/copyright>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

AUTHOR INFORMATION PACK 27 Mar 2015 www.elsevier.com/locate/talanta 6

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors

to comply with their funder's open access policies. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. To learn more about existing agreements please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf e.g. by their research funder or institution

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs (<http://www.elsevier.com/access>).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivs (CC BY-NC-ND) For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article. The open access publication fee for this journal is **USD 2600**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail. **Please note that a Novelty Statement is required for submission. This statement should provide information in one or two sentences as to what is new and novel in the manuscript in relation to prior related work, including the authors' own.** Please submit your article via <http://www.elsevier.com/locate/talanta>

Referees

Refereeing of Papers

All papers submitted are refereed by experts who advise the Editors-in-Chief on the matter of acceptance in accordance with the high standards required and on the understanding that the subject matter has not been previously published and that the authors accept full responsibility for the factual accuracy of the data presented and have obtained any necessary authority to publish. Referees will be encouraged to present critical and unbiased reports which are designed to assist the author in presenting material in the clearest and most unequivocal way possible. At the discretion of the Editors-in-Chief, and if referees agree, the names of referees may be disclosed if thereby agreement between author and referee is likely to result. Authors should appreciate

that the comments of referees are presented in a constructive spirit, and that agreement between the views of author and referee must result in a higher standard of publication.

When submitting their paper authors are requested to provide names and addresses (including email addresses) of three competent but independent referees, although the choice of referees used will be made by the Editor.

Preliminary communications will be refereed urgently and will be accorded priority in publication. Letters to the editors will not be refereed, but will be published at the discretion of the Editors-in-Chief. If accepted, they will also be given priority. All papers accepted are subject to editorial amendment if necessary.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when crossreferencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address.

Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's

name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is mandatory for this journal. It should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature

All nomenclature, abbreviation, and units should conform as closely as possible to the rules established by IUPAC (available online at <http://www.iupac.org/>.)

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of

the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have a standard template available in key reference management packages. This covers packages using the Citation Style Language, such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and also others like EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to word processing packages which are available from the above sites, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style as described in this Guide. The process of including templates in these packages is constantly ongoing. If the journal you are looking for does not have a template available yet, please see the list of sample references and citations provided in this Guide to help you format these according to the journal style.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Our policy now requires listing of the title of a cited article. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the

electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, highresolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Interactive plots

This journal encourages you to include data and quantitative results as interactive plots with your publication. To make use of this feature, please include your data as a CSV (comma-separated values) file when you submit your manuscript. Please refer to <http://www.elsevier.com/interactiveplots> for further details and formatting instructions.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
 - References are in the correct format for this journal
 - All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
 - Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white
- Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required.
 - For reproduction in black-and-white, please supply black-and-white versions of the figures for printing purposes. For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document,

particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*): <http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059> When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/89/p/8045/.

You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.