

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO

Mestrado em Engenharia Química

Ramo Tecnologias de Protecção Ambiental

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA A
DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM VINHOS DO
DOURO E VINHOS DO PORTO**

Joana Gomes Martins

Orientadora: Prof. Doutora Maria Manuela Barbosa Correia (ISEP)

Co-orientadora: Prof. Doutora Cristina Maria Fernandes Delerue Alvim de Matos (ISEP)

Porto

2009

Aos meus pais e ao meu irmão

Ao meu namorado Manuel

“Existe mais filosofia numa garrafa de vinho
que em todos os livros.” (Pasteur)

Agradecimentos

À Doutora Cristina Esteves pelo apoio e orientação prestado ao longo de todo o trabalho laboratorial desenvolvido, pela sua paciência, amizade, disponibilidade e bom humor. Agradeço ainda a partilha de conhecimentos e experiência, que de muito valeram ao longo da execução deste trabalho, e as sugestões para esta tese.

À Prof. Doutora Manuela Correia, em primeiro lugar, por ter acreditado em mim para a execução deste projecto. Agradeço pela enorme disponibilidade, pelo esclarecimento de dúvidas ao longo de todo o trabalho, pelas valiosas sugestões, pelo apoio, paciência e amizade demonstrados. Agradeço ainda pela orientação e correcção desta tese.

À Prof. Doutora Cristina Matos, agradeço todo o empenho e apoio para a realização deste projecto. Agradeço pela co-orientação deste trabalho, pela disponibilidade, amizade, optimismo e estímulo ao longo de todo o trabalho. Agradeço também correcção desta tese.

Ao Doutor Paulo Barros, pela disponibilidade, estímulo e orientação científica ao longo da execução deste trabalho.

Ao Instituto dos Vinhos do Douro e Porto, em particular, ao Doutor Paulo Barros, ao Engenheiro Tomás Simões, à Engenheira Ana Faria e à Engenheira Natália Ribeiro, pela oportunidade de realizar este projecto, disponibilizando todos os meios necessários para a execução do trabalho que se apresenta.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto pela oportunidade de realizar este trabalho, na qualidade de aluna do Mestrado em Engenharia Química, Ramo de Tecnologias de Protecção Ambiental.

A todos os colegas de laboratório do Instituto dos Vinhos do Douro e Porto, em particular à Ana Cidade e à Graça Barbosa, pela ajuda, paciência e carinho demonstrado.

Aos meus pais pela oportunidade que me concederam de chegar até aqui. A eles e ao meu irmão pelo apoio, carinho e compreensão demonstrados.

Ao meu namorado, pelo apoio, compreensão, estímulo e por todo o amor demonstrado.

Os custos associados a este trabalho foram totalmente suportados pelo Instituto dos Vinhos do Douro e Porto (IVDP).

Joana Gomes Martins agradece a bolsa concedida pelo IVDP, ao abrigo do protocolo de colaboração celebrado entre o Instituto dos Vinhos do Douro e Porto e o Instituto de Engenharia do Porto.

Resumo

A produção de vinho é uma actividade de elevada importância ao nível económico, ambiental e social. Como tal, a protecção da vinha e/ou da uva através da utilização de pesticidas assume um papel fundamental nesta actividade, permitindo um aumento no rendimento da produção. No entanto, a transferência destes compostos da uva para o vinho é inevitável, ocorrendo, na maioria dos casos, em quantidades reduzidas. Apesar de, geralmente, a quantidade de pesticidas que pode ser transferida para o vinho não apresentar problemas relevantes para a saúde pública, o desenvolvimento de metodologias que permitam garantir um controlo rigoroso da qualidade do vinho é de elevada importância. O controlo deste produto, assim como de qualquer produto alimentar, não deve ser de certa forma virtual, levando a uma desconfiança crescente do consumidor.

Ao longo deste trabalho foram desenvolvidos dois métodos para a determinação de pesticidas em diferentes tipos de vinhos, por SPME-GC-MS/MS. O primeiro método desenvolvido visa a determinação de 8 pesticidas organofosforados e o segundo método permite a determinação de 7 pesticidas, 4 organoclorados e 3 dicarboximidas. Foram estudadas quatro matrizes diferentes: vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro, vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto.

As metodologias adoptadas permitiram a obtenção de bons resultados, apesar das condições adoptadas não serem as mais vantajosas para alguns dos compostos estudados. Dada a complexidade das matrizes, a detecção por espectrometria de massa mostrou ser fundamental para a identificação inequívoca de cada um dos pesticidas.

Verificaram-se, de um modo geral, bons resultados ao nível da linearidade, para as gamas de concentrações escolhidas, para os dois métodos. Obtiveram-se também bons resultados para os limites de detecção e quantificação, cujos valores se situam abaixo dos limites máximos de resíduos para as uvas, impostos pela regulamentação europeia, para a maioria dos compostos. No caso dos organofosforados, os limites de detecção variam entre 0,05 µg/L e 13,00 µg/L para os pesticidas clorpirifos-metilo e metidatião, respectivamente. Os limites de quantificação variam entre 0,18 µg/L e 43,32 µg/L, também para os pesticidas clorpirifos-metilo e metidatião. No que se refere ao método para os pesticidas organoclorados e dicarboximidas, foram calculados vários limites de detecção para cada composto, em cada matriz estudada, a partir das rectas de calibração diárias, resultando num conjunto de valores com variações significativas entre cada um, para o mesmo pesticida e na mesma matriz. No entanto, apenas os limites de quantificação foram validados, recorrendo-se aos estudos de repetibilidade e precisão

intermédia. Obtiveram-se os seguintes limites de quantificação: captana 52,10 µg/L; clortalonil 20,95 µg/L; dicofol 4,37 µg/L; folpete 93,60 µg/L; iprodiona 274,70 µg/L; procimidona 76,04 µg/L e vinclozolina 10,03 µg/L.

Os pesticidas metidatião e captana apresentam-se como os compostos mais problemáticos, uma vez que os limites de quantificação obtidos não permitem a garantia do cumprimento dos limites máximos de resíduos regulamentados.

Demonstra-se também que, apesar do efeito de matriz ser significativo na determinação de todos os compostos analisados, o mesmo pode ser atenuado, procedendo-se às calibrações nas respectivas matrizes.

Observaram-se variações significativas ao nível da resposta do equipamento ao longo do tempo, quer pela alteração das condições operatórias, quer pela decomposição de alguns compostos ao longo do tempo. Este efeito, evidenciado nos estudos das precisões intermédias e repetibilidades, levou à adopção de um método de validação diferente para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas, recorrendo-se então a calibrações diárias e sequências de trabalho mais pequenas.

Palavras – Chave: Pesticidas, Vinhos, SPME, GC-MS/MS.

Abstract

Wine production represents a very important activity in economic, environmental and social terms. Thus, the use of pesticides for vineyard and/or grape protection is a fundamental contribution to this activity, allowing an increase on productivity. However, the transfer of these compounds from the grape to the wine is inevitable, occurring, in the most of the cases, in low quantities. Although the pesticide amount that can be transferred to the wine does not present a risk for the public health, the development of methodologies allowing the guarantee of a rigorous control of the wine quality is very important. The control of this product, as well as other food products should not occur in a virtual way, increasing the mistrust of the consumers.

During this work, two methodologies for the pesticides determination in different wines, by SPME-GC-MS/MS were developed. The first methodology allowed the determination of 8 organophosphorus pesticides and the second methodology enabled the determination of 7 pesticides: 4 organochlorines and 3 dicarboximides. Four different matrixes were studied: Douro white wine, Douro red wine, Porto white wine and Porto red wine.

The methodologies adopted allowed to achieve good results, despite of the conditions adopted were not the most advantageous for some of the studied compounds. Mass spectrometry shows to be a fundamental instrument for the unequivocal identification of each studied pesticide, in the presence of such complex matrixes.

Good linearity was achieved, in most of the cases, for the concentration ranges adopted, in all matrixes and for both methodologies. Acceptable limits of detection and quantification were obtained, the majority of them above of the limits established by EC Regulation for grapes.

For the organophosphorus, the lowest limit of detection value obtained was 0,05 µg/L for chlorpyrifos-methyl, and the highest value was 13,00 µg/L, for methidathion. The lowest limit of quantification value obtained was 0,18 µg/L and the highest value was 43,32 µg/L, for chlorpyrifos-methyl and for methidathion, respectively.

As regards to the methodology for the determination of organochlorine and dicarboximide pesticides, several limits of detection were calculated for each compound, in all matrixes, from the calibration curves obtained dairy, resulting in a set of values with a expressive difference between them, for each compound, in the same matrix. However, only the limits of quantification were validated, trough the repeatability and intermediate precision studies. The following limits of quantification were obtained: captan 52,10 µg/L; chlorotalonil 20,95 µg/L; dicofol 4,37 µg/L; folpet 93,60 µg/L; iprodione 274,70 µg/L; procymidone 76,04 µg/L e vinclozolin 10,03 µg/L.

Methidathion and captan were the most problematic pesticides due to their high limits of quantification, which do not allow the control of the limits of residues as established by the regulation.

The matrix effect on the determination of all compounds is very expressive. However it can be minimized with calibrations in the respective matrixes.

The equipment response presents considerable variations due to the continuing modification of the equipment conditions and /or to the decay of some compounds. This effect, shown by the repeatability and intermediate precision studies, contributed for the adoption of a different method of validation for the determination of organochlorine and dicarboximide pesticides, trough dairy calibrations and shorter sequences of work.

Keywords: Pesticides, Wines, SPME, GC-MS/MS.

Índice geral

Resumo	vi
Abstract	viii
1. Introdução	1
1.1 Pesticidas	1
1.1.1 Classificações possíveis	2
1.1.1.1 Classificação relativa à perigosidade	2
1.1.1.2 Classificação relativa à finalidade	3
1.1.1.3 Classificação relativa à origem	3
1.1.1.4 Classificação relativa à família química	3
1.1.2 Impacto ambiental	5
1.2 A vinha e o vinho	9
1.2.1 Breve história da videira e do vinho	9
1.2.2 Regiões vitivinícolas mundiais	10
1.2.2.1 Novo Mundo Vitícola	11
1.2.2.2 Velho Mundo Vitícola	12
1.2.2.2.1 Portugal	13
1.2.2.2.1.1 Região Demarcada do Douro	14
1.2.3 Doenças e pragas que afectam a videira	15
1.2.3.1 Acidentes e doenças não parasitárias	15
1.2.3.2 Doenças causadas por vírus	16
1.2.3.3 Doenças criptogâmicas	17
1.2.3.4 Doenças bacterianas e doenças causadas por fitoplasmas	19
1.2.3.5 Parasitas animais	20
1.2.3.6 Pesticidas homologados para a protecção da vinha e da uva	23
1.2.4 Importância socioeconómica do vinho – A viticultura em números	26
1.2.4.1 Importância da região do Douro e do Vinho do Porto	29
1.2.4.2 Limites máximos de resíduos de pesticidas	30
1.2.4.2.1 Limites máximos de resíduos de pesticidas nas uvas	32

1.2.4.2.2 Limites máximos de resíduos de pesticidas em vinho	32
1.3 Análise de resíduos de pesticidas	34
1.3.1 Técnicas de extracção	34
1.3.1.1 Microextracção em fase sólida (SPME)	35
1.3.1.1.1 Fundamentos teóricos	35
1.3.1.1.2 Optimização das condições de extracção	38
1.3.1.1.3 Aplicações	41
1.3.2 Métodos de análise e detecção	42
1.3.2.1 Cromatografia gasosa	42
1.3.2.1.1 Optimização das condições cromatográficas	42
1.3.3.2 Espectrometria de massa	43
1.3.3.2.1 Fundamentos teóricos	43
1.3.3.2.2 Optimização das condições de MS/MS	49
1.3.3.3 Aplicações da cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa	49
1.3.4 Análise de resíduos de pesticidas em vinhos	50
2 Parte Experimental	53
2.1 Reagentes e outros consumíveis	53
2.1.1. Preparação das soluções padrão	53
2.1.2 Preparação dos lotes de vinho	54
2.1.3 Preparação dos padrões de calibração	55
2.2 Método de extracção – SPME	55
2.3 Análise cromatográfica	57
2.4 Detecção por espectrometria de massa	57
3 Resultados e discussão	59
3.1 Desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organofosforados em vinhos do Douro e vinhos do Porto	61
3.1.1 Gama de concentrações e condições MS/MS adoptadas	61
3.1.2 Rectas de calibração e limites de detecção e quantificação obtidos	63
3.1.3 Efeito de matriz – Comparação entre as diferentes matrizes estudadas	71
3.1.4 Estudos de repetibilidade e precisão intermédia	78

3.2 Desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas em vinhos do Douro e vinhos do Porto	80
3.2.1 Gama de concentrações e condições MS/MS adoptadas	80
3.2.2 Rectas de calibração e limites de detecção e quantificação obtidos	83
3.2.3 Estudos de repetibilidade e precisão intermédia	110
4 Conclusões e sugestões para trabalho futuro	125
5 Bibliografia	129
Anexo A. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho branco do Douro.	137
Anexo B. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho tinto do Douro.	140
Anexo C. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho branco do Porto.	143
Anexo D. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho tinto do Porto.	146
Anexo E. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade nas quatro matrizes consideradas.	149
Anexo F. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos para os estudos de precisão intermédia nas quatro matrizes consideradas.	152
Anexo G. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho branco do Douro.	155
Anexo H. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho tinto do Douro.	161
Anexo I. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho branco do Porto.	167
Anexo J. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho tinto do Porto.	173
Anexo K. Propriedades físico-químicas de todos os pesticidas estudados: organofosforados, organoclorados e dicarboximidas.	180

Índice de figuras

Figura 1.1 – Mapa representativo da Região Demarcada do Douro [37].	14
Figura 1.2 – Ilustração das consequências do míldio na videira [38].	17
Figura 1.3 – Ilustração das consequências do oídio na videira [38].	17
Figura 1.4 – Ilustração das consequências da podridão cinzenta na videira [38].	18
Figura 1.5 – Ilustração das consequências da escoriose na videira [38].	18
Figura 1.6 – Ilustração das consequências do aranhão vermelho na videira [38].	21
Figura 1.7 – Ilustração das consequências da erinose na videira [38].	21
Figura 1.8 – Ilustração das consequências da cigarrinha verde na videira [38].	21
Figura 1.9 – Ilustração das consequências da traça da uva [38].	22
Figura 1.10 – Ilustração das consequências dos caracóis e lesmas, neste caso no morango [38].	23
Figura 1.11 – Representação da repartição da superfície mundial de vinha, pelos cinco continentes [adaptado de 40].	26
Figura 1.12 – Representação da repartição da produção mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].	27
Figura 1.13 – Representação da repartição do consumo mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].	28
Figura 1.14 – Representação da repartição da importação mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].	28
Figura 1.15 – Representação da repartição da exportação mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].	29
Figura 1.16 - Dispositivo de SPME comercialmente disponível [52].	36
Figura 1.17 - Representação das diferenças de polaridade e da capacidade de retenção para cada um dos tipos de filme polimérico comercialmente disponíveis [adaptado de 48].	37
Figura 1.18 – Representação esquemática da constituição de um espectrómetro de massa [68].	43
Figura 1.19 – Ilustração da constituição de um analisador de massas do tipo <i>Ion Trap</i> (armadilha de iões) [68].	47
Figura 2.1 – Fibra de SPME utilizada para a extracção.	56
Figura 2.2 – Ilustração de uma extracção no amostrador automático Combipal MH 01-00B CTC, com a fibra de SPME inserida no <i>vial</i> que contém a amostra.	57

Figura 2.3 – Imagem do equipamento utilizado: cromatógrafo gasoso FocusGC, espectrómetro de massa do tipo Ion Trap PolarisQ e amostrador automático Combipal MH 01-00B CTC, no momento em que decorre a dessorção da fibra, no injector do cromatógrafo.	58
Figura 3.1 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o azinfos-metilo, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 9,98 µg/L.	67
Figura 3.2 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o clorpirifos, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,20 µg/L.	68
Figura 3.3 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o clorpirifos-metilo, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,06 µg/L.	68
Figura 3.4 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o diazinão, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,15 µg/L.	68
Figura 3.5 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o fenitrotião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,30 µg/L.	69
Figura 3.6 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o fentião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,15 µg/L.	69
Figura 3.7 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o malatião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,75 µg/L.	69
Figura 3.8 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o metidatião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 12,47 µg/L.	70
Figura 3.9 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o azinfos-metilo.	72
Figura 3.10 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o clorpirifos.	72
Figura 3.11 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o clorpirifos-metilo.	73
Figura 3.12 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o diazinão.	73
Figura 3.13 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o fenitrotião.	74
Figura 3.14 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o fentião.	74
Figura 3.15 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o malatião.	75
Figura 3.16 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o metidatião.	75

Figura 3.17 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho branco do Douro.	87
Figura 3.18 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.	87
Figura 3.19 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.	88
Figura 3.20 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho branco do Douro.	88
Figura 3.21 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.	89
Figura 3.22 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.	89
Figura 3.23 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.	90
Figura 3.24 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho tinto do Douro.	93
Figura 3.25 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.	93
Figura 3.26 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.	94
Figura 3.27 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.	94
Figura 3.28 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.	95

Figura 3.29 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.	95
Figura 3.30 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.	96
Figura 3.31 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho branco do Porto.	99
Figura 3.32 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.	100
Figura 3.33 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.	100
Figura 3.34 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho branco do Porto.	101
Figura 3.35 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.	101
Figura 3.36 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.	102
Figura 3.37 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.	102
Figura 3.38 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho tinto do Porto.	106
Figura 3.39 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.	107
Figura 3.40 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.	107

Figura 3.41 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.	108
Figura 3.42 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.	108
Figura 3.43 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.	109
Figura 3.44 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.	109

Índice de tabelas

Tabela 1.1 – Substâncias activas homologadas em protecção integrada (dados correspondentes ao ano de 2008), para o combate às principais doenças que afectam a vinha [39].	24
Tabela 1.2 - Pesticidas homologados para a protecção das principais doenças/pragas da vinha, mencionados nos avisos agrícolas da estação de avisos do Douro [39].	25
Tabela 1.3 - Produção de vinha na Região Demarcada do Douro (unidade: pipas de 550 litros) [36].	29
Tabela 1.4 – Pesticidas estudados ao longo deste trabalho e respectivos limites máximos de resíduos, publicados nos regulamentos (CE) nº 149/2008 da Comissão, de 29 de Janeiro de 2008 (Jornal Oficial da União Europeia, L58, 1 de Março de 2008) e nº 839/2008 da Comissão, de 31 de Julho de 2008 (Jornal Oficial da União Europeia, L234, 30 de Agosto de 2008).	32
Tabela 2.1 – Características de cada lote de vinho utilizado para a realização deste trabalho.	54
Tabela 3.1 - Condições de MS/MS adoptadas para o método proposto SPME-GC-MS/MS, para a determinação dos oito pesticidas organofosforados estudados.	62
Tabela 3.2 - Gamas de concentrações adoptadas para a determinação dos oito pesticidas organofosforados em todas as matrizes testadas, respectivos tempos de retenção e LMR's em uvas para vinho (Regulamento (CE) No 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho).	63
Tabela 3.3 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho branco do Porto.	64
Tabela 3.4 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho branco do Douro.	65
Tabela 3.5 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho tinto do Porto.	65

Tabela 3.6 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho tinto do Douro.	66
Tabela 3.7 - Valores de repetibilidade (R.) e precisão intermédia (P.I.), expressos em RSD (%), obtidos para os pesticidas organofosforados, em todos os vinhos testados, e respectiva concentração de cada pesticida.	78
Tabela 3.8 - Gama de concentrações usadas nas rectas de calibração para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas nos vinhos , respectivos tempos de retenção e LMR's em uvas para vinho (Regulamento (CE) No 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho).	81
Tabela 3.9 - Condições de MS/MS adoptadas para o método proposto SPME-GC-MS/MS, para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas estudados.	82
Tabela 3.10 - Rectas de calibração para cada pesticida organoclorado e dicarboximida e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho branco do Douro.	85
Tabela 3.11 - Rectas de calibração os pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho tinto do Douro.	91
Tabela 3.12 - Rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho branco do Porto.	97
Tabela 3.13 - Rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho tinto do Porto.	104
Tabela 3.14 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida captana, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	111
Tabela 3.15 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida captana, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	112
Tabela 3.16 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida clortalonil, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	113

Tabela 3.17 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida clortalonil, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	114
Tabela 3.18 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida dicofol, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	115
Tabela 3.19 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida dicofol, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	116
Tabela 3.20 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida folpete, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	117
Tabela 3.21 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida folpete, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	118
Tabela 3.22 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida iprodiona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	119
Tabela 3.23 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores das áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida iprodiona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	119
Tabela 3.24 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida procimidona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	120
Tabela 3.25 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida procimidona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	121
Tabela 3.26 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida vinclozolina, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	122
Tabela 3.27 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida vinclozolina, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.	123
Tabela A1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho branco do Douro.	137

Tabela A2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho branco do Douro.	137
Tabela A3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho branco do Douro.	137
Tabela A4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho branco do Douro.	138
Tabela A5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho branco do Douro.	138
Tabela A6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho branco do Douro.	138
Tabela A7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho branco do Douro	138
Tabela A8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho branco do Douro.	139
Tabela B1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho tinto do Douro.	140
Tabela B2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho tinto do Douro.	140
Tabela B3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Douro.	140
Tabela B4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho tinto do Douro.	141
Tabela B5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho tinto do Douro.	141
Tabela B6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho tinto do Douro.	141
Tabela B7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho tinto do Douro.	141
Tabela B8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho tinto do Douro.	142
Tabela C1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho branco do Porto.	143
Tabela C2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho branco do Porto.	143

Tabela C3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho branco do Porto.	143
Tabela C4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho branco do Porto.	144
Tabela C5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho branco do Porto.	144
Tabela C6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho branco do Porto.	144
Tabela C7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho branco do Porto.	144
Tabela C8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho branco do Porto.	145
Tabela D1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho tinto do Porto.	146
Tabela D2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho tinto do Porto.	146
Tabela D3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Porto.	146
Tabela D4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho tinto do Porto.	147
Tabela D5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho tinto do Porto.	147
Tabela D6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho tinto do Porto.	147
Tabela D7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho tinto do Porto.	147
Tabela D8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho tinto do Porto.	148
Tabela E1 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do azinfos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.	149
Tabela E2 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do clorpirifos, nas quatro matrizes consideradas.	149
Tabela E3 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do clorpirifos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.	150
Tabela E4 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do diazinão, nas quatro matrizes consideradas.	150

Tabela E5 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do fenitrotião, nas quatro matrizes consideradas.	150
Tabela E6 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do fentião, nas quatro matrizes consideradas.	151
Tabela E7 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do malatião, nas quatro matrizes consideradas.	151
Tabela E8 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do metidatião, nas quatro matrizes consideradas.	151
Tabela F1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do azinfos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.	152
Tabela F2 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do clorpirifos, nas quatro matrizes consideradas.	152
Tabela F3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do clorpirifos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.	152
Tabela F4 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do diazinão, nas quatro matrizes consideradas.	153
Tabela F5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do fenitrotião, nas quatro matrizes consideradas	153
Tabela F6 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do fentião, nas quatro matrizes consideradas.	153
Tabela F7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do malatião, nas quatro matrizes consideradas.	154
Tabela F8 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do metidatião, nas quatro matrizes consideradas.	154
Tabela G1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.	155
Tabela G2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.	155
Tabela G3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.	155
Tabela G4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.	156
Tabela G5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.	156

Tabela G6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.	156
Tabela G7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.	156
Tabela G8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.	157
Tabela G9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.	157
Tabela G10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.	157
Tabela G11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.	157
Tabela G12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.	158
Tabela G13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.	158
Tabela G14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.	158
Tabela G15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.	158
Tabela G16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.	159
Tabela G17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.	159
Tabela G18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.	159
Tabela G19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.	160
Tabela G20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.	160
Tabela G21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.	160

Tabela H1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captan, em vinho tinto do Douro.	161
Tabela H2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Douro.	161
Tabela H3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.	161
Tabela H4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.	162
Tabela H5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.	162
Tabela H6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.	162
Tabela H7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.	162
Tabela H8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.	163
Tabela H9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.	163
Tabela H10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.	163
Tabela H11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.	163
Tabela H12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.	164
Tabela H13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.	164
Tabela H14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.	164
Tabela H15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Douro.	164
Tabela H16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.	165

Tabela H17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.	165
Tabela H18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.	165
Tabela H19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.	166
Tabela H20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.	166
Tabela H21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.	166
Tabela I1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.	167
Tabela I2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.	167
Tabela I3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.	167
Tabela I4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.	168
Tabela I5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.	168
Tabela I6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.	168
Tabela I7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.	168
Tabela I8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.	169
Tabela I9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.	169
Tabela I10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.	169
Tabela I11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.	169

Tabela I12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.	170
Tabela I13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.	170
Tabela I14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.	170
Tabela I15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.	170
Tabela I16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.	171
Tabela I17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.	171
Tabela I18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.	171
Tabela I19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.	172
Tabela I20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.	172
Tabela I21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.	172
Tabela J1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.	173
Tabela J2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.	173
Tabela J3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.	173
Tabela J4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.	174
Tabela J5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.	174
Tabela J6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.	174
Tabela J7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.	174

Tabela J8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.	175
Tabela J9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.	175
Tabela J10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.	175
Tabela J11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.	175
Tabela J12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.	176
Tabela J13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.	176
Tabela J14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.	176
Tabela J15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.	177
Tabela J16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.	177
Tabela J17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.	177
Tabela J18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.	178
Tabela J19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.	178
Tabela J20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.	178
Tabela J21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.	179
Tabela K1 – Propriedades físico-químicas dos pesticidas organofosforados estudados [D].	180
Tabela K2 – Propriedades físico-químicas dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas estudados [D].	183

1 Introdução

As culturas e os géneros agrícolas são permanentemente ameaçados por inúmeros inimigos (ervas infestantes, pragas e doenças) que, ao desenvolverem-se, influenciam negativamente as colheitas, quer ao nível da quantidade, quer ao nível da qualidade.

Os registos históricos documentam a utilização de substâncias, há mais de dois mil anos, para evitar danos provocados por pestes, quer ao nível das colheitas, quer ao nível da saúde humana [1].

O poeta grego Homero (séc. IX – VIII a.C.) citou a utilidade do enxofre no combate a pestes. Os Romanos recorreram ao sal para destruir as colheitas dos seus inimigos e, mais tarde, os Chineses (900 D.C.) usavam arsénio como insecticida. As mais diversas substâncias, assim como possíveis combinações entre as mesmas, foram exploradas no sentido da eliminação e/ou prevenção de pestes [1].

Assegurar a boa sanidade das culturas agrícolas e proteger as colheitas são duas actividades que sempre assumiram grande importância na subsistência do Homem, com um papel crucial actualmente, na medida em que a escassez de alimentos atinge proporções cada vez maiores. O desenvolvimento económico de países densamente povoados, como é o caso da China e da Índia, que leva ao aumento do consumo de alimentos, as alterações climáticas, que originam perdas significativas nas culturas agrícolas, e a utilização de bens alimentícios para a produção de biocombustíveis são algumas das razões que fundamentam a importância da maximização do rendimento das produções agrícolas, na qual os pesticidas desempenham um papel importante.

Existem ainda produtos agrícolas e/ou derivados de produtos agrícolas que, apesar de não serem bens essenciais à alimentação, como o vinho, assumem uma elevada importância social e económica. Por tal facto, a protecção destas culturas e respectivas colheitas revelam-se de grande interesse.

1.1 Pesticidas

São várias as designações que podem ser atribuídas às substâncias ou grupo de substâncias conhecidas por pesticidas, tais como: agroquímicos/agrotóxicos, fitossanitários/fitofarmacêuticos, desinfestantes, entre outros. A escolha do termo adequado depende do país e/ou da entidade nacional ou internacional que avalia, aprova

e controla a utilização deste tipo de produtos. A nível europeu são mais comuns as designações: pesticidas e produtos fitofarmacêuticos.

De acordo com a Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos da América (U.S. EPA, *Environmental Protection Agency*), denomina-se por pesticida qualquer substância ou conjunto de substâncias cuja função é prevenir, destruir, repelir ou mitigar qualquer tipo de peste [2].

De acordo com a definição apresentada na **Directiva 91/414/CEE do Conselho, de 15 de Julho de 1991** (relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado), os produtos fitofarmacêuticos são substâncias activas ou preparações contendo uma ou mais substâncias activas que se destinam a [3]:

- Proteger os vegetais ou os produtos vegetais contra todos os organismos prejudiciais ou a impedir a sua acção;
- Exercer uma acção sobre os processos vitais dos vegetais, desde que não se tratem de substâncias nutritivas (por exemplo, os reguladores de crescimento);
- Assegurar a conservação dos produtos vegetais, desde que tais substâncias ou preparações não sejam objecto de disposições especiais do Conselho ou da Comissão relativas a conservantes;
- Reduzir, impedir o crescimento ou destruir os vegetais indesejáveis ou partes dos mesmos.

1.1.1 Classificações possíveis

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com a sua perigosidade, finalidade, origem e família química à qual pertencem, entre outras classificações possíveis.

1.1.1.1 Classificação relativa à perigosidade

A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica os pesticidas, desde 1975, baseando-se na sua toxicidade aguda dérmica e oral, como extremamente perigosos (classe Ia), altamente perigosos (classe Ib), moderadamente perigosos (classe II) e ligeiramente perigosos (classe III). Cada uma das classes está associada a uma gama de valores de LD50, isto é, o valor estimado para o número de mg de pesticida por kg de peso corporal do indivíduo, que provoca a morte de 50 % dos elementos de uma população, que varia

de acordo com o estado físico da substância activa do pesticida assim como da via de exposição ao composto em causa [4].

1.1.1.2 Classificação relativa à finalidade

Os pesticidas podem ser também classificados de acordo com o organismo alvo. Seguidamente enunciam-se as possíveis classificações e organismos alvo correspondentes [5]:

- Acaricidas, para controlo/eliminação de ácaros;
- Algicidas, para controlo/eliminação de algas;
- Avicidas, para controlo/eliminação de aves;
- Bactericidas, para controlo/eliminação de bactérias;
- Fungicidas, para controlo/eliminação de fungos;
- Herbicidas, para controlo/eliminação de plantas;
- Insecticidas, para controlo/eliminação de insectos;
- Moluscicidas, para controlo/eliminação de moluscos;
- Nematocidas, para controlo/eliminação de nematodes;
- Rodenticidas, para controlo/eliminação de roedores;
- Entre outros.

1.1.1.3 Classificação relativa à origem

Os pesticidas podem ser classificados, relativamente à origem, como [6]:

- Botânicos (obtidos a partir das plantas como é o caso das piretrinas e dos nicotinóides);
- Antibióticos (provenientes de produtos da fermentação);
- Sintéticos (produzidos pelo Homem).

1.1.1.4 Classificação relativa à família química

A classificação de pesticidas de acordo com o grupo químico activo é mais específica do que as anteriores pelo que a lista de famílias é mais extensa. Enumeram-se de seguida alguns exemplos de famílias químicas de pesticidas [1,5,6]:

- Organofosforados - São pesticidas que contêm fósforo na sua composição. Afectam o sistema nervoso por desactivação da enzima colinesterase, sendo na sua maioria insecticidas (exemplos: fosadona, dimetoato, fenitrotião e fosfamidão);

- Carbamatos – Pesticidas que englobam na sua composição ésteres de ácido metilcarbónico ou dimetilcarbónico. Afectam também o sistema nervoso, provocando, no entanto, um efeito reversível. Podem ser insecticidas, acaricidas, fungicidas e moluscicidas (exemplos: carbaril, aldicarbe e tirame);
- Organoclorados – São pesticidas que contêm cloro na sua composição. Muito utilizados no passado, a grande maioria foi retirada do mercado devido aos seus efeitos adversos na saúde humana e no ambiente (exemplo: DDT);
- Piretróides – versão sintética desenvolvida a partir do pesticida natural – piretrina (encontrado nas flores de *Tanacetum cinerariaefolium*), com o intuito de melhorar a sua estabilidade no meio ambiente. São, sobretudo, insecticidas e acaricidas (exemplos: cipermetrina, fenvalerato, cialotrina e deltametrina).
- Acilureias – actuam essencialmente como insecticidas. São reguladores do crescimento de insectos, interferindo com a síntese de quitina. São exemplos o flufenoxurão, teflubenzurão e triflumurão.
- Acetanilidas – actuam fundamentalmente como herbicidas, pela sua acção inibidora do crescimento meristemático (o tecido meristemático primário tem como função o crescimento longitudinal da planta).
- Dinitrofenóis – utilizados durante mais de 50 anos como herbicidas, ovicidas, fungicidas e insecticidas, impedem a fosforilação oxidativa, não só em plantas mas também em animais de sangue quente como o Homem.
- Triazóis – pertencem à classe de fungicidas sistemáticos, com propriedades protectoras e curativas. São pesticidas de largo espectro, muito utilizados em vegetais, cereais, uvas e plantas ornamentais. Neste grupo incluem-se compostos tais como hexaconazol, penconazol, tebuconazol, miclobutanil, fenbuconazol, tetraconazol, flusilazol, entre outros.
- Dicarboximidas – fungicidas particularmente eficazes contra *Botrytis*, *Monilinia* e *Sclerotinia*. Destacam-se a procimidona, que é um fungicida sistémico e a iprodiona e vinclozolina, que são fungicidas de contacto (ambos com funções preventivas e curativas).
- Estrobilurinas – nova classe de fungicidas incluídos no grupo QoI (Quinone outside Inhibitors). Têm um modo diferente de acção e são considerados seguros, numa perspectiva ambiental. Neste grupo de pesticidas incluem-se compostos sintéticos como azoxistrobina, cresoxime-metilo, trifloxistrobina, piraclostrobina, dimoxistrobina, que actuam de modo similar à estrobilurina natural A (produzida pelo fungo *Strobilurus tenacellus*). A eficácia das estrobilurinas está relacionada com a inibição da respiração mitocondrial dos fungos [7 - 9].

1.1.2 Impacto ambiental

Como foi referido anteriormente, o uso de pesticidas assume um papel de elevada importância no que respeita à optimização da produtividade agrícola, quer por razões de sustentabilidade (devido ao aumento da procura de bens alimentícios), quer por razões económicas.

No entanto, a utilização destas substâncias químicas estão associadas enormes desvantagens, relacionadas maioritariamente com a saúde pública e com danos ambientais.

Quando são utilizados pesticidas, independentemente do seu fim, estes podem ser distribuídos involuntariamente por quatro compartimentos ambientais diferentes: pela água, pelo ar, pelo solo e/ou pelos organismos vivos. Esta distribuição depende de vários factores, tais como, as propriedades físico-químicas de cada composto (solubilidade, coeficiente de partição, pressão de vapor, constante de Henry, Factor de Bioconcentração, entre outras propriedades) e as condições atmosféricas, entre outros factores. A distribuição destes compostos, no meio ambiente, pode ocorrer por diferentes processos físicos: sedimentação, adsorção e/ou volatilização. A sua degradação pode ocorrer por processos químicos (oxidação, redução, hidrólise e/ou fotólise) e/ou por processos biológicos (os mecanismos de degradação biológica são normalmente conjugados com processos químicos) [10].

Os efeitos adversos de um pesticida no Homem e no meio ambiente estão relacionados com vários factores: a quantidade em que é utilizado (é comum ser aplicado em excesso para garantir uma “margem de segurança”), o modo como é aplicado, as condições climáticas (na presença de chuva e vento é mais fácil a sua migração para zonas não pretendidas), a limpeza dos equipamentos de aplicação, a deposição de resíduos, a sua persistência, a acumulação na cadeia trófica, entre outros [11].

A problemática dos efeitos adversos dos pesticidas no ambiente e na saúde humana começou a ser discutida em 1960, quando Rachel Carson (escritora e cientista) expõe no seu livro “Silent Spring” (Primavera Silenciosa) como o DDT penetrava na cadeia alimentar e se acumulava nos tecidos adiposos dos animais, incluindo o Homem, podendo causar cancro ou danos genéticos [12].

Desde então, os debates sobre os riscos e benefícios da utilização destes compostos químicos têm continuado, demonstrando a crescente preocupação nesta área, quer por especialistas quer pelo cidadão comum. Esta preocupação é fundamentada pelo

aumento da investigação e conhecimento destes compostos, assim como dos respectivos impactos no ambiente [13].

Todos os anos são lançados milhões de toneladas de pesticidas para o ambiente, sendo que uma pequena parte destes compostos atinge os alvos pretendidos e a maior parte é distribuída pelo ambiente [13]. Esta grande parte que é desperdiçada acaba por atingir involuntariamente organismos que não deveriam ser atingidos, provocando assim efeitos indesejados. A título de exemplo pode referir-se a utilização indiscriminada de insecticidas como o DDT e o paratião, causando o desenvolvimento rápido de ácaros como o aranhaço vermelho, devido à morte dos seus inimigos naturais, a chamada fauna auxiliar [11].

O uso excessivo destas substâncias para garantir uma maior eficácia da sua função, provoca assim um aumento no impacto negativo inerente à sua utilização. Estes impactos negativos podem apresentar várias formas de expressão [11]:

- Contaminação das águas, do ar, e dos solos (por arrastamento dos produtos pulverizados pelo vento, por lixiviação ou escoamento superficial);
- Danos sobre a fauna auxiliar, originando o aparecimento de novas pragas, por eliminação dos seus predadores;
- Perda de eficácia dos pesticidas (aumento da resistência a estes produtos por parte das espécies-alvo);
- Diminuição da biodiversidade;
- Riscos para o Homem e animais domésticos por contacto directo aquando da sua aplicação.

Outra fonte de risco consiste no consumo de alimentos/géneros agrícolas tratados com pesticidas, os quais podem ainda conter resíduos destes compostos. Segundo alguns autores, há uma grande probabilidade de permanecerem resíduos de pesticidas nos produtos agrícolas após tratamento químico, assim como nos seus derivados, já que o processamento dos produtos agrícolas não é por si só uma garantia da inexistência destas substâncias químicas mas pode diminuir a sua concentração, no caso da sua existência [14, 15]. Mesmo quando os pesticidas são utilizados de acordo com as Boas Práticas Agrícolas (BPA), podem permanecer nos produtos agrícolas resíduos destes compostos [14].

A toxicidade e persistência dos pesticidas variam de composto para composto e provocam efeitos diferentes nas diversas espécies de seres vivos.

A título de exemplo, mencionar-se-ão algumas desvantagens que decorrem da aplicação de determinados pesticidas.

Os organofosforados são dos pesticidas mais aplicados a nível mundial e bem conhecidos como poluentes ambientais. A preferência por estas substâncias, relativamente aos organoclorados, mais persistentes, deve-se à sua rápida degradação no ambiente, apesar de serem encontrados resíduos em águas subterrâneas e superficiais e em géneros alimentícios [16-18]. Actuam principalmente como insecticidas e apesar de se degradarem facilmente, estes pesticidas são altamente tóxicos e de acção rápida. Das intoxicações atribuídas a estes pesticidas, estimam-se três milhões de casos de intoxicação anuais registados e cerca de 220000 mortes [19].

Os organoclorados, já referidos anteriormente pela sua persistência, são caracterizados também pela sua toxicidade para o ambiente [20]. Pesticidas organoclorados como o DDT, heptacloro, aldrina e dieldrina foram banidos pela sua persistência no ambiente assim como pela sua capacidade de bioacumulação em organismos vivos [21]. Muitos dos compostos organoclorados utilizados anteriormente, têm vindo a ser substituídos pelos organofosforados [22].

Um outro grupo de pesticidas que actuam também como insecticidas, e que surgiu mais recentemente, é o grupo dos piretróides (primeira comercialização em 1978). São amplamente usados, nos dias de hoje, devido à sua relativa segurança para os humanos, alto potencial insecticida em baixas dosagens e rápida acção [23]. No entanto, apesar de não serem facilmente absorvidos pela pele, são facilmente absorvidos pelo trato intestinal e pela membrana pulmonar [24]. Embora não tenham efeito acumulativo, os piretróides produzem efeitos nocivos em insectos não alvos, como o caso das abelhas responsáveis pela polinização, e afectam, principalmente, os ecossistemas aquáticos, apesar da sua reduzida solubilidade em água [25]. Muitos destes compostos são fortemente adsorvidos pelas partículas de solo, não se dispersando do local de aplicação, o que se deve ao facto de serem altamente lipossolúveis [22].

Muitas culturas agrícolas devem parte dos seus maiores estragos ao ataque de fungos, como é o caso da vinha. Nestes casos, os pesticidas com acção fungicida são os mais utilizados [26]. Muitos dos fungicidas utilizados são compostos não específicos, actuando em organismos que não os fungos pretendidos, incluindo organismos benéficos que desenvolvem actividades biológicas importantes (podem, por exemplo, influenciar a actividade metabólica de determinadas leveduras durante o processo de fermentação). Devido à sua natureza química, podem ser tóxicos e não biodegradáveis [27]. Alguns fungicidas, como a vinclozolina, procimidona e iprodiona (pertencentes à família química das dicarboximidas, como foi referido anteriormente) são fungicidas muito usados na indústria vitivinícola, devido ao facto da sua utilização correcta não originar resíduos com

concentrações superiores às concentrações impostas legalmente [28]. No entanto, nos últimos anos, com a crescente preocupação com a segurança alimentar, verificou-se um aumento no interesse por um novo conjunto de pesticidas. Estes compostos são caracterizados pelo seu baixo risco para humanos, organismos não alvos e ambiente. São exemplos desta nova geração de pesticidas os seguintes compostos: famoxadona, fenehexamida e trifloxistrobina. A fenehexamida pertence à família química das hidroxilanilidas, não apresentando toxicidade para abelhas e outros insectos benéficos (homologada para utilização em protecção integrada). A trifloxistrobina pertence ao grupo das estrobilurinas, caracterizadas pelo seu novo modo de acção relativamente a fungicidas de gerações anteriores. A famoxadona pertence à família química das oxazolidonas mas actua de modo semelhante às estrubilurinas [29].

Outro grupo de pesticidas de elevada importância, são os herbicidas. São compostos largamente utilizados na agricultura a nível mundial, relativamente baratos e bastante eficazes, mesmo em baixas concentrações, devido à sua estabilidade. São, normalmente aplicados directamente no solo ou pulverizados sobre as culturas. Estes pesticidas assim como os seus metabolitos contaminam os solos e as águas de riachos, rios e/ou lagos através, principalmente, da drenagem de águas dos terrenos agrícolas [30, 31].

Para além de todo o impacto negativo associado a estes compostos, ainda que alguns se degradem em relativamente pouco tempo, é importante ter em atenção que os seus produtos de degradação também podem apresentar toxicidade para o Homem e para o ambiente. Por tal facto, é também necessário o estudo destes mesmos produtos de degradação, com vista a uma monitorização mais rigorosa dos resíduos de pesticidas no ambiente.

De acordo com as estatísticas agrícolas de 2008, em Portugal, a maior quantidade de produtos fitofarmacêuticos vendida correspondeu aos fungicidas (aproximadamente 11 500 toneladas de substância activa, sendo que 9000 toneladas estão associadas ao enxofre), seguidos dos herbicidas (com cerca de 2 100 toneladas por substância activa). Os insecticidas e acaricidas não apresentam valores tão relevantes mas também contribuem com um total de 627 toneladas de substâncias activas. De um modo global, verificou-se um aumento da venda de produtos fitofarmacêuticos por superfície agrícola utilizada, entre 2006 e 2008. Este valor aumentou de 4,3 para 4,5 kg de substância activa por hectare [32].

As desvantagens no uso de pesticidas, para o ambiente e para o Homem, podem ser minimizadas, se forem encaradas de uma forma mais consciente e se houver mais

informação e formação das pessoas que os utilizam (quer a nível da sua função quer a nível da sua perigosidade), assim como a aposta na utilização de pesticidas biodegradáveis e mais selectivos, com a mínima toxicidade possível para o ambiente e para o Homem.

1.2 A vinha e o vinho

“O vinho, a mais gentil das bebidas, devido quer a Noé, que plantou a vinha, quer a Baco, que espremeu o sumo da uva, data da infância do mundo”, assim se explicou Brillant-Savarin, no início do século XIX [33].

A vinha e o trigo são duas das culturas mais antigas com origem, há mais de quatro mil anos, na parte oriental do mar Negro, na Transcaucásia, territórios que hoje correspondem à Geórgia, à Arménia e ao Azerbaijão [34].

Todos os estudos arqueológicos, investigações botânicas, vestígios históricos, conduzem a estes berços de civilizações indo-europeias, fundamentando a íntima ligação do vinho à história das civilizações e respectiva evolução até aos dias de hoje [33; 35].

1.2.1 Breve história da videira e do vinho

Muitos investigadores acreditam que o processo de vinificação foi descoberto, ou pelo menos, evoluiu no sul da Caucásia (região hoje ocupada por parte da Turquia, parte do Iraque, Azerbaijão e Geórgia). Pensa-se que a domesticação da vinha (*Vitis vinifera*) teve origem na mesma região, podendo ter ocorrido independentemente, também, na actual região ocupada por Espanha [35].

A evolução da vinificação de um período esporádico para uma ocorrência cultural comum, pressupôs o desenvolvimento de um novo estilo de vida. Os hábitos nómadas seriam incompatíveis com todo o processo de produção de vinho, desde a plantação da videira até à colheita, para além de que as videiras só atingem uma produção razoável quando alcançam a idade de 3 a 5 anos. No entanto, um aprovisionamento de uvas razoável começou a assumir importância quando se começou a associar o vinho a ritos religiosos [35].

Da Caucásia, o cultivo da uva e a produção de vinho difundiram-se pela Palestina, Síria, Egipto e Mesopotânea. A partir daqui, o consumo do vinho e as conexões sócio-

religiosas promoveram a difusão do processo de vinificação pela Região Mediterrânea [35]. Conta a história que Gregos e Romanos consumiam vinho, contribuindo para a propagação da cultura da videira. Dionísio, na Grécia, e Baco, em Roma, foram os deuses do vinho [34].

Assim, a colonização da Região Este Mediterrânea é vista como a fonte predominante do conhecimento da cultura da vinha e produção de vinho. Em tempos mais recentes, a exploração e colonização europeia tem promovido a difusão da cultura da vinha para regiões do globo com climas mais temperados [35].

Nos tempos mais antigos, os vinhos bebiam-se novos devido à sua rápida degradação [33]. A protecção contra a oxidação era pobre, sendo o uso do dióxido de enxofre desconhecido [35].

1.2.2 Regiões vitivinícolas mundiais

Como já foi referido anteriormente, a vinha está intimamente ligada à cultura europeia, desde a Antiguidade. No entanto, a partir da época dos Descobrimentos, verifica-se uma expansão desta cultura pelo continente americano, zona mais meridional da África do Sul, Austrália e Nova Zelândia. O mundo vitícola passa assim a dividir-se em duas partes: o “Velho Mundo” e o “Novo Mundo”, com técnicas e filosofias de produção e comercialização diferentes, em certos aspectos [36].

De seguida enumeram-se as principais regiões vitícolas internacionais do “Novo Mundo” e do “Velho Mundo” vitícola.

1.2.2.1 Novo Mundo Vitícola

O Novo Mundo Vitícola é constituído, essencialmente, pelos seguintes países:

- **África do Sul**

É dos países mais importantes do Novo Mundo Vitícola e as suas denominações de origem dividem-se segundo cinco regiões: Coastal Region, Breede River Valley Region, Olifants River Region, Klein Karroo Region e Boberg Region [36].

- **Argentina**

A Argentina é um dos maiores produtores de vinho a nível mundial, com uma elevada produtividade por hectare. A sua área de produção divide-se fundamentalmente pelas seguintes regiões: Salta e Catamarca, na zona mais setentrional; La Rioja, San Juan e Mendoza, no sentido sul; Neuquen e Rio Negro, já na Patagónia [36].

- **Austrália**

Sendo um dos países do Novo Mundo onde a vitivinicultura mais tem progredido nas últimas décadas, produz quer vinhos correntes quer vinhos topo de gama. A maioria das áreas produtoras de vinho situa-se no Sudoeste Australiano e correspondem às seguintes regiões: Vitória, Nova Gales do Sul, Coonawarra, Barossa, Clare Valley, Tasmânia e Queensland [36].

- **Chile**

O Chile é um país com condições privilegiadas para a viticultura devido, em parte, à sua enorme variedade de mesoclimas. Esta produção abrange tanto as uvas para consumo fresco como as uvas para elaboração de vinhos de qualidade, tintos e brancos [36].

- **Estados Unidos da América**

A viticultura nos Estados Unidos da América é praticada desde a sua colonização e divide-se nas seguintes regiões: Estado de Nova Iorque, Washington, Oregon, Idaho, Califórnia, Costa Norte, Costa Central, Central Valley e Costa Sul [36].

- **Nova Zelândia**

A viticultura na Nova Zelândia remonta aos inícios do séc. XIX, numa área pequena onde se produziam vinhos brancos, leves e sem qualidade. A falta de conhecimentos, na altura, não permitia o aproveitamento das condições favoráveis à cultura da vinha. A moderna indústria vitivinícola não tem mais de vinte e cinco anos tendo quadruplicado a área de vinha relativamente ao passado [36].

1.2.2.2 Velho Mundo Vitícola

O Velho Mundo Vitícola é constituído pelos seguintes países:

- **Alemanha**

A viticultura alemã é das mais setentrionais da Europa, repartindo-se pelas seguintes regiões: Mosel-Saar-Ruwer, Ahr, Mittelrhein, Rheingau, Nahe, Rheinhessen, Rheinpfalz (ou Palatinado), Franken (ou Francónia), Württemberg, Baden, Hessische-Bergstrass e Saale-Unstrut e Sachsen [36].

- **Áustria**

É um país com grande tradição vitícola desde a Idade Média, em especial na produção de vinhos brancos enriquecidos pela podridão nobre. A área vitícola expande-se fundamentalmente por quatro zonas geográficas: Baixa Áustria, Região de Viena, Burgenland e Estíria [36].

- **Espanha**

Apesar de ser o país com a maior superfície vitícola do Mundo, não é o maior produtor, devido à natureza do clima existente. As principais regiões vitícolas espanholas são: Galiza, Castilla-Léon, País Basco, Navarra, Aragão, Rioja, Catalunha, Penedés, Costers del Segre, Tarragona, Priorato, Castilla-La Mancha, Múrcia e Valença, Andaluzia e Canárias [36].

- **Portugal**

Portugal é um dos países de mais forte e longínqua tradição vitivinícola, sendo o país com maior densidade de vinha e um dos maiores consumidores de vinho [36]. No entanto, será feita uma abordagem mais detalhada desta região vitícola no tópico 1.2.2.2.1.

- **França**

A França é um dos países com maior tradição e importância vitivinícola, a nível mundial e daí nascem inclusivamente algumas das principais regiões vitícolas da actualidade: Bordéus, Loire, Alsácia e Lorena, Jura e Sabóia, Champagne, Borgonha, Cotes du Rhone, Languedoc Rousillon, Centro, Provença e Sudoeste [36].

- **Itália**

Juntamente com a França, Itália constitui um dos dois países com maior produção de vinho a nível mundial. As suas vinhas dividem-se por várias regiões: Piemonte, Ligúria, Lombardia, Veneto, Trentino-Alto-Ádige, Friuli-Veneza Giulia, Emília-Romagna, Umbria, Marche, Abruzzo, Molise, Toscana, Lazio, Campânia, Basilicata e Sicília [36].

1.2.2.2.1 Portugal

A cultura da vinha na área que hoje corresponde a Portugal, é muito anterior à sua fundação. A expansão da cultura da vinha dá-se, então progressivamente, de sul para norte. Já nos séculos XII e XIII, o vinho constituía o principal artigo agrícola de exportação, ocupando posteriormente o Algarve (no séc. XIV) a província de maior relevo, juntamente com os vinhos dos arredores do Porto e Douro [36].

No século XVII, as maiores áreas de vinha do Continente cabiam à Beira, Estremadura e Alentejo (Elvas, Beja, Borba, Vidigueira, Viana e Avis), sendo então famosos os vinhos de Monção e os de Lamego. No mesmo século surge, pela primeira vez, a designação de vinho do Porto (1675), para os vinhos exportados para Inglaterra a partir da região do Douro, os quais ganharam fama e produção crescentes, culminando na primeira demarcação vitícola de uma região – Região Demarcada do Douro – pelo Marquês de Pombal, em 1756 [36].

Em 1907 e 1908, surgem mais regiões com especificação legalmente conhecida, no reinado de D. Carlos, através das demarcações, respectivamente, do Moscatel de Setúbal, primeiro, e dos Vinhos Verdes, Colares, Carcavelos e Dão, depois. Após a Implantação da República, surge a demarcação de Bucelas (1911) e da Madeira (1913). Algumas décadas mais tarde, ocorre a criação da Região Demarcada da Bairrada (1979) e das Denominações Algarvias (1980) [36].

Em 1988 e 1989 delimitam-se 27 Indicações de Proveniência Regulamentada – IPR, ou seja, zonas consideradas com potencial vitivinícola específico para produção de Vinho de Qualidade Produzido em Região Determinada (VQPRD), passando por um período transitório para que satisfaçam as condições exigidas à sua elevação a Denominação de Origem Controlada (DOC), nomeadamente pelo reconhecimento da qualidade dos seus vinhos e pela constituição de Comissões Vitivinícolas Regionais [36].

Actualmente estão consagradas 26 DOC (Vinhos Verdes, Porto e Douro, Trás-os-Montes, Távora-Varosa, Dão, Bairrada, Beira Interior, Encostas de Aire, Lourinhã, Óbidos, Alenquer, Arruda dos Vinhos, Torres Vedras, Bucelas, Carcavelos, Colares, Ribatejo, Palmela, Setúbal, Alentejo, Lagos, Lagoa, Portimão, Tavira e Madeira) e 4 IPR (Lafões, Biscoitos da Terceira, Graciosa e Pico), incluídas em 10 indicações geográficas (Minho,

Trás-os-Montes, Beiras, Ribatejo, Estremadura, Península de Setúbal, Alentejo, Algarve, Madeira e Açores) [36].

Destacar-se-á, de todas as regiões demarcadas e mencionadas anteriormente, a Região do Douro, uma vez que os vinhos abordados ao longo deste trabalho são provenientes desta região.

1.2.2.2.1.1 Região Demarcada do Douro

A Região do Douro foi a primeira região vitícola a ser demarcada, introduzindo, a nível mundial, o conceito de denominação de origem. A área actual abrange 250 000 hectares que incluem cerca de 45 000 hectares de vinha instalada (cerca de 18% da área total). Situa-se no nordeste do país, ao longo do rio Douro numa extensão de 100 km. Devido às grandes diferenças mesoclimáticas, quer por diferentes altitudes, quer pelo maior ou menor afastamento do mar, é subdividida em três sub-regiões: Baixo-Corgo (sub-região com menor área mas com maior densidade de vinha), Cima-Corgo e Douro Superior (sub-região mais extensa) (Figura 1.1). Actualmente, o número de viticultores nesta região é superior a 30 000, com 90 000 parcelas de vinha cadastradas [36, 37].



Figura 1.1 – Mapa representativo da Região Demarcada do Douro [37].

Na Região Demarcada do Douro produzem-se basicamente dois importantes tipos de vinhos: os vinhos do Porto (DOC Porto) e os vinhos de consumo, com denominação DOC Douro sempre que tenham direito à designação de VQPRD. Em cada um destes tipos de vinho, os vinhos tintos são os predominantes, enquanto os vinhos brancos (Porto ou Douro) são produzidos, principalmente, a partir das uvas das zonas mais altas. Da produção total de uvas, 50% é destinada para a produção de Vinho do Porto, quantidade esta fixada anualmente pelo Conselho Interprofissional do Instituto dos Vinhos do Douro e Porto, I.P. (IVDP) [36].

Os vinhos do Porto são vinhos licorosos, cujo processo de vinificação difere do processo seguido pelos vinhos tranquilos, como é o caso dos vinhos do Douro. O processo de vinificação dos vinhos do Porto é mais curto (2 a 3 dias), pois este é interrompido pela adição de aguardente vínica. Os vinhos do Douro são de fermentação alcoólica completa, originando vinhos secos (baixa percentagem de açúcar) [37].

Num vinho do Porto, a percentagem de álcool pode variar, de um modo geral, entre 19 e 22 %, e a quantidade de açúcar pode variar entre 40 a 130 g/L, podendo ser classificado de acordo com a doçura: extra seco (<40 g/L), seco (40-65 g/L), meio-seco (65-90 g/L), doce (90-130 g/L) ou muito-doce (>130 g/L). Num vinho do Douro, a percentagem de álcool pode variar entre 11 a 14%, aproximadamente, e a quantidade de açúcar pode variar entre 2 a 4 g/L [37].

1.2.3 Doenças e pragas que afectam a videira

A protecção da vinha visa garantir a sanidade da planta e prevenir declínios na produção de vinho, quer a nível quantitativo, quer a nível qualitativo, assumindo um elevado peso relativamente aos trabalhos de manutenção desta cultura.

São várias as causas que afectam a saúde dos vinhedos e conseqüentemente a produção de vinho: acidentes e doenças não parasitárias, doenças causadas por vírus, doenças criptogâmicas, doenças bacterianas e doenças causadas por microplasma e pragas [34, 36].

1.2.3.1 Acidentes e doenças não parasitárias

Os acidentes são os estragos que se devem a factores abióticos ambientais tais como as geadas, escaldão das folhas e cachos (queima pelos raios solares), granizos, raios, vento e contaminações atmosféricas (gases, partículas industriais e de escapes de automóveis). Durante muitos anos, as principais causas de contaminação atmosférica provieram da emissão de ácido fluorídrico e de dióxido de enxofre; actualmente os estragos produzidos por oxidantes fotoquímicos, como ozono, são os mais preocupantes [34, 36].

As doenças não parasitárias englobam várias doenças fisiológicas que se devem essencialmente a três factores [36]:

- *Redistribuição dos açúcares*: nestas perturbações, derivadas de anomalias na redistribuição dos fotoassimilados, incluem-se o desavinho, a bagoinha, o escaldão fisiológico e vermelhões de origem diversa.
- *Perturbações na economia da água*: nestas perturbações incluem-se a asfixia, emurchecimento fisiológico e tiloses.
- *Distúrbios da alimentação mineral*: estes inserem-se na problemática de carências e toxicidades de elementos minerais.

Os acidentes e doenças acima mencionados são de pouca importância no que toca à protecção desta cultura com recurso aos produtos fitofarmacêuticos [34].

1.2.3.2 Doenças causadas por vírus

As doenças causadas por vírus são doenças infecciosas presentes desde há muito tempo em numerosos vinhedos. Estão actualmente identificadas algumas dezenas de viroses da videira, das quais apenas algumas afectam a sua produtividade, maturação e perenidade [36]. São exemplos de doenças causadas por vírus:

- **Degenerescência infecciosa ou nó curto**, que deprime progressivamente o vigor e a produtividade da videira, reduzindo conseqüentemente a sua longevidade. A sintomatologia manifesta-se em todos os órgãos da videira, folhas, cachos e raízes [36].
- **Enrolamento foliar da videira**, que é a virose mais largamente expandida nas vinhas portuguesas. A sua propagação faz-se sobretudo através de enxertia, sendo comprovada, actualmente, a existência de cochonilhas como agentes vectores. Manifesta-se por um enrolamento das folhas e por uma pigmentação anormal [34, 36].
- **Mármore**, que, sendo uma virose muito comum a nível mundial, o seu despiste é obrigatório para a certificação de porta-enxertos. Considera-se um vírus perigoso, uma vez que se encontra em estado latente em quase todas as variedades de porta-enxertos e de castas, sem que se manifestem sintomas, aumentando assim a probabilidade de propagação [36].
- **Complexo do lenho rugoso**, é uma doença cujo agente causal está ainda em estudo e caracteriza-se fundamentalmente por alterações no lenho do tronco da videira, abaixo e/ou acima da zona de enxertia. No campo, a individualização destas doenças não é possível, por ausência de sintomatologias específicas [36].

- **Doença das enações**, cuja sintomatologia é raramente identificável e o seu agente causal desconhecido (muitas vezes associado ao vírus do Urticado) [36].

Os meios de luta contra estas doenças assumem, normalmente, duas estratégias em simultâneo: na propagação de plantas sãs, porta-enxertos e castas, através de selecção assim como no combate aos nematodes vectores em solos infestados [36].

1.2.3.3 Doenças criptogâmicas

As doenças criptogâmicas são doenças originadas por fungos, das quais se enumeram as mais comuns:

- **Míldio**, que se deve ao desenvolvimento do fungo *Plasmopara viticola*. Desenvolve-se em todos os órgãos verdes da planta (figura 1.2) e esteve na origem de perdas de colheitas catastróficas. Encontra as condições adequadas para se desenvolver quando a temperatura ultrapassa os 11°C e depois de uma chuvada. A humidade e o calor são indispensáveis ao desenvolvimento do míldio [34, 36].

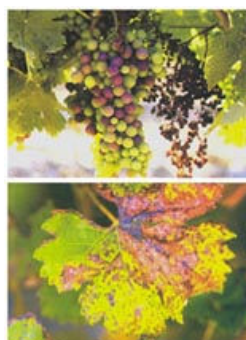


Figura 1.2 – Ilustração das consequências do míldio na videira [38].

- **Oídio**, que se deve ao desenvolvimento do fungo *Uncinula necator*. Assim como o míldio, desenvolve-se também em todos os órgãos verdes da planta (figura 1.3), mas ao contrário do míldio, que se desenvolve no interior, o oídio desenvolve-se à superfície dos órgãos afectados. O desenvolvimento do oídio inicia-se aos 5 °C em atmosfera húmida e a contaminação é intensa entre 25 e 28 °C [34, 36].



Figura 1.3 – Ilustração das consequências do oídio na videira [38].

- **Podridão acética e outras podridões do cacho da videira.** A podridão acética é uma doença relativamente comum, que ocorre próximo da vindima, deteriorando a qualidade das uvas. Esta doença é causada por bactérias e leveduras acéticas que penetram nas feridas anteriormente abertas por outros agentes (tais como oídio, traça, pássaros, etc.). A disseminação da doença é então efectuada pela *Drosophila melanogaster*, pequena mosca que é atraída pelos aromas de substâncias em fermentação. A doença é favorecida pelo aumento dos açúcares nos bagos, por temperatura e humidade elevadas, sendo agravada em castas cujo cacho é compacto e/ou sensível à traça da uva (como por exemplo a Touriga Franca, na região do Douro) [36].
- **Podridão cinzenta**, que se deve ao desenvolvimento do fungo *Botrytis cinerea*. É uma doença que preocupa bastante os agricultores pois afecta uma grande variedade de plantas: videira, roseira, tulipa, figueira, gerânio, etc. Na videira, a podridão cinzenta manifesta-se nos órgãos herbáceos, nas estacas em câmara quente de estratificação e nos cachos (figura 1.4) [34, 36].



Figura 1.4 – Ilustração das consequências da podridão cinzenta na videira [38].

- **Escoriose**, que se deve ao desenvolvimento de dois fungos *Macrophoma flacida* e *Phomopsis viticola*, sendo o primeiro responsável pela escoriose europeia. É uma doença muito antiga e considerada, actualmente, uma das mais graves da vinha. Os sintomas característicos da escoriose surgem nos ramos (figura 1.5). O desenvolvimento da doença está sujeito à frequência das chuvas no início da vegetação uma vez que os corpos germinam exclusivamente na água [34, 36].



Figura 1.5 – Ilustração das consequências da escoriose na videira [38].

- **Esca**, que se deve ao desenvolvimento de vários fungos como o *Stereum hirsutum* e o *Phellinus igniarius*. Há muito conhecida, manifesta-se pelo enfraquecimento da cepa ou pela morte brutal que lhe deu o nome de apoplexia. A humidade da Primavera provoca um crescimento activo dos ramos e favorece o desenvolvimento do parasita [34, 36].
- **Eutipiose**, que se deve ao desenvolvimento do fungo *Eutypa lata*. É uma doença do lenho da videira, difundida pela maioria dos vinhedos do mundo. É, também, uma doença antiga cujo fungo responsável foi identificado nas últimas décadas e provoca o definhamento e a morte da cepa. Tem contribuído para graves prejuízos, sobretudo em castas particularmente sensíveis. A doença propaga-se por ascósporos produzidos por peritécas presentes nos lenhos em definhamento [34, 36].
- **Podridão das raízes**, que se deve ao desenvolvimento de vários fungos, sendo os mais comuns *Armillariella mellea* e *Rosellinia necatrix*. Como o próprio nome indica é uma doença que se desenvolve nas raízes, nomeadamente nas raízes da luzerna e do carvalho, afectando outras culturas através do solo, sobretudo depois do desbravamento de matas [34].
- **Podridão branca das uvas**, que se deve ao desenvolvimento do fungo *Coniothyrium diplodiella*. Esta doença é susceptível de aparecer depois de uma queda de granizo, em particular durante o período de maturação. A podridão branca das uvas dificilmente aparece em vinhas tratadas contra o míldio, embora o fungo possa persistir em certos solos durante muitos anos [34].

1.2.3.4 Doenças bacterianas e doenças causadas por fitoplasmas

As doenças da vinha causadas por bactérias apresentam um desenvolvimento esporádico e localizado. Actualmente distinguem-se três doenças com esta origem: cancro vegetal (provocado por *Agrobacterium tumefaciens*), doença de Pierce (devido a uma bactéria do tipo *Rickettsia*) e necrose bacteriana ou doença de Oléron (provocada por *Xanthomonas ampelina*). Esta última doença bacteriana é a mais preocupante, actualmente. Desenvolve-se nos lenhos vivos e, durante cinco meses, nos lenhos existentes nos solos e derivados dos cortes da poda [34, 36].

O combate às doenças bacterianas é sobretudo preventivo, pelo impedimento da difusão do inóculo através da queima de órgãos doentes, pela eliminação de cepas afectadas e pela desinfecção das ferramentas de poda [36].

A flavescência dourada é uma doença causada por um fitoplasma cujo principal vector é a cigarrinha branca (hemíptero *Schaphoideus littoralis* Ball). Surgiu em Armagnac (França) em 1950 e provocou prejuízos importantes, alastrando-se por outras regiões e países. Os sintomas podem localizar-se em determinados ramos ou cepa ou atingir mesmo toda a planta. O aparecimento da flavescência dourada tem duas causas sucessivas: a importação do agente patogénico e a importação do agente vector. Este agente vector vive apenas na videira e propaga a doença na zona [34]. Em Portugal tem sido identificado o seu vector de forma esporádica, desde 2000, nas regiões dos vinhos verdes [36].

1.2.3.5 Parasitas animais

Referem-se seguidamente alguns dos parasitas animais da vinha mais importantes:

- **Filoxera:** inimigo mais temível da vinha. Este pulgão (*Phylloxera vastatrix*) provocou o desaparecimento da maior parte das vinhas à base de castas autóctones da espécie *Vitis vinifera*, em França, em finais do século XIX, progredindo pelo resto da Europa e Norte de África. Actualmente, encontra-se em quase todos os vinhedos do mundo. A filoxera alimenta-se do líquido celular dos órgãos que pica por intermédio de um rostro. A sua biologia não é a mesma nas videiras europeias e nas videiras americanas. A luta química neste caso não é a opção mais eficaz. O verdadeiro meio de luta consiste na enxertia das castas sensíveis em porta-enxertos resistentes. A *Riparia*, a *Rupestris*, a *Berlandieri*, puras ou híbridas entre si, oferecem resistência a este parasita [34].
- **Acariose:** os ácaros que atacam a videira em Portugal pertencem principalmente aos eriofídeos e aos tetraniquídeos, podendo assumir maior ou menor importância, em função de algumas regiões e a nível dos estragos causados. Provoca danos nos lançamentos, perturbando o seu crescimento e originando folhas pequenas e frisadas e meritalos curtos [34, 36].

Seguem-se alguns exemplos de ácaros que atacam a videira:

- **Aranhões vermelhos e aranhões amarelos:** são minúsculos ácaros parasitas da videira, provocando prejuízos consideráveis (figura 1.6) [34]. O aranhão amarelo é o mais frequente nas vinhas portuguesas, tendo vindo a

revelar alguma importância no Alentejo, no Algarve e em alguns locais da região demarcada dos Vinhos Verdes [36].



Figura 1.6 – Ilustração das consequências do aranhão vermelho na videira [38].

- **Erinose:** trata-se de um outro ácaro, *Colomerus vitis*. É muito frequente na maioria das regiões vitícolas, sem provocar, no entanto, prejuízos significativos. Provoca galhas irregulares na página superior das folhas. Na página inferior verifica-se a presença de uma vilosidade branca, por vezes rosada (figura 1.7). Os prejuízos devido a este parasita não são graves [34, 36].



Figura 1.7 – Ilustração das consequências da erinose na videira [38].

- **Cigarrinha verde:** constitui uma praga cuja expansão se vem registando, nos últimos vinte anos, desde o sul (Alentejo) até às regiões do Dão e do Douro, com particular incidência na sub-região do Douro Superior, provocando estragos na folhagem, sobretudo em castas mais sensíveis, Tinta Roriz e Tinto Cão (figura 1.8) [36].



Figura 1.8 – Ilustração das consequências da cigarrinha verde na videira [38].

- **Traça da uva:** denominação sob a qual se incluem duas espécies de lepidópteros, a cochilis *Eupoecilia ambiguella* e a eudémis *Lobesia botrana*. Provocam estragos consideráveis na produção, em condições favoráveis e em castas particularmente mais sensíveis. Embora se possam encontrar as duas espécies, a eudémis é a mais comum (figura 1.9) [36].



Figura 1.9 – Ilustração das consequências da traça da uva [38].

- **Lagartas da uva:** *Cochylis* e *Eudemis* são duas borboletas que têm modos de vida semelhantes e as suas lagartas atacam directamente os cachos [34].
- **Piral da vinha:** é uma borboleta cuja lagarta devora as folhas e os cachos jovens. É menos nociva do que a lagarta da uva [34].
- **Cochonilhas:** constituem uma praga ocasional da videira, através de diferentes espécies como as de algodão (*Planococcus citri* e *Planococcus ficus*), a pulvinária (*Pulvinaria vitis*) e as lapas (*Parthenolecanium corni* e *Parthenolecanium persicae*), sendo a cochonilha-algodão, em particular a *Planococcus ficus*, a mais comum [36].
- **Pulgão da vinha:** é um coleóptero da família *Chrysomelidae*. Os estragos causados podem ser preocupantes no estado fenológico, quando atingem as folhas incipientes nos gomos, chegando a destruir os cachos recém-formados, com consequentes prejuízos na produção [36].
- **Formiga branca ou térmita:** praga ocasional e pontual que surge sobretudo no interior do lenho de vinhas decrépitas [36].
- **Caracóis e lesmas:** constituem uma praga pontual na vinha, destruindo as folhas e inflorescências (figura 1.10) [36].



Figura 1.10 – Ilustração das consequências dos caracóis e lesmas, neste caso no morango [38].

1.2.3.6 Pesticidas homologados para a protecção da vinha e da uva

Na tabela 1.1, enumeram-se as substâncias activas homologadas em Protecção Integrada, de acordo com a Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR), para o combate às principais doenças que afectam a vinha. A legislação portuguesa define a Protecção Integrada das culturas como o sistema agrícola que tem como objectivo contribuir para o equilíbrio dos ecossistemas agrários, através da limitação natural dos organismos nocivos e de outros meios de luta apropriados, com o fim de impedir que os inimigos das culturas ultrapassem intensidades de ataque que acarretem significativos prejuízos económicos (Decreto de Lei nº 180/95, de 26 de Julho). Isto significa que a Protecção Integrada é uma estratégia de protecção de plantas que procura combater os inimigos das culturas de forma económica, eficaz e com menos inconvenientes para o Homem e para o ambiente.

Tabela 1.1 – Substâncias activas homologadas em protecção integrada (dados correspondentes ao ano de 2008), para o combate às principais doenças que afectam a vinha [39].

Substância activa	Função	Doença/praga
Óleo de Verão	Insecticidas e acaricidas	Formas hibernantes de insectos e ácaros (tratamento de Inverno)
Óleo de Verão, cihexaestanho, dicofol, enxofre		ácaros
Cihexaestanho, dicofol, fenepiroximato, hexitiazox, óleo de Verão, espiroclifofena		Aranhinho vermelho ou outros tetraniquídeos
Fenepiroximato, flufenoxurão, imidaclopride, indoxacarbe, tiametoxame		Cicadela ou Cigarrinha Verde
Clorpirifos, óleo de Verão		Cochonilhas e Cochonilha Algodão
Dicofol, enxofre, óleo de Verão, spiroclifofena		Erinose
Lambda-cialotrina, lufenurão		Mosca da fruta (<i>Ceratititis capitata</i>)
Fenoxicarbe, lufenurão, indoxacarbe, óleo de Verão, tebufenozida		Pirale
<i>Bacillus thuringiensis</i> , fenoxicarbe, lufenurão, flufenoxurão, indoxacarbe, metoxifenozida, espinosade, tebufenozida		Traças
Azoxistrobina, folpete, enxofre, fosetil-alumínio, mancozebe, metirame, piraclostrobina, propinebe	Fungicidas	Escoriose
Azoxistrobina, folpete, benalaxil, mancozebe, benalaxil-M, ciazofamida, cimoxanil, cobre (oxicloreto, sulfato de cobre e cálcio, oxicloreto+sulfato), propinebe, famoxadona, fosetil-alumínio, metalaxil, metirame, tebuconazol, iprovalicarbe, metalaxil-M, piraclostrobina, zoxamida		Míldio
Azoxistrobina, folpete, cimoxanil, tebuconazol, propinebe, cresoxime-metilo, enxofre, quinoxifena, espiroxamina, fenebuconazol, piraclostrobina, miclobutanil, penconazol, tetraconazol, trifloxistrobina		Oídio
Ciprodinil, fludioxonil, fenehexamida, iprodiona, mepanipirime, pirimetanil		Podridão dos cachos
Cicloxidime, fluazifope-P-butilo, quizalofope-P-etilo	Herbicidas	Monocotiledóneas
Amitrol, diurão, tiocianato de amónio, terbutilazina, diclobenil, diflufenicão, glifosato (sal de isopropilamónio, sal de amónio, sal de potássio), oxifluorfena, glufosinato de amónio, isoxabena, pendimetalina		Monocotiledóneas e dicotiledóneas
Tiodicarbe	Moluscicidas	Caracóis e lesmas
Ácido giberélico, ácido indol-3-ilacético, ciszeatina, cianamida hidrogenada	Reguladores de crescimento de plantas	

Listam-se na tabela 1.2 os pesticidas homologados para a protecção das principais doenças/pragas da vinha, mencionados nos avisos agrícolas da estação de avisos da região do Douro.

Tabela 1.2 - Pesticidas homologados para a protecção das principais doenças/pragas da vinha, mencionados nos avisos agrícolas da estação de avisos do Douro [39].

Substância activa	Função	Protecção Integrada	Doença/praga da vinha
Alfa-cipermetrina	Insecticidas	Não aconselhado	Traça-da-uva
Azadiractina		Não aconselhado	
<i>Bacillus thuringiensis</i>		Aconselhado	
Beta-ciflutrina		Não aconselhado	
Ciflutrina		Não aconselhado	
Cipermetrina		Não aconselhado	
Clorpirifos		Não aconselhado	
Clorpirifos-metilo		Não aconselhado	
Deltametrina		Não aconselhado	
Espinosade		Aconselhado	
Fenoxicarbe		Aconselhado	
Lufenurão		Aconselhado	
Flufenoxurão		Aconselhado	
Indoxacarbe		Aconselhado	
Lambda-cialotrina		Não aconselhado	
Metomil		Não aconselhado	
Metoxifenoazida		Aconselhado	
Tebufenozida		Aconselhado	
Acrinatrina	Insecticidas	Não aconselhado	Cigarrinha verde
Beta-ciflutrina		Não aconselhado	
Cipermetrina		Não aconselhado	
Clorpirifos		Não aconselhado	
Deltametrina		Não aconselhado	
Feneproximato		Aconselhado	
Flufenoxurão		Aconselhado	
Imidaclopride		Aconselhado	
Indoxacarbe		Aconselhado	
Tau-fluvalinato		Não aconselhado	
Tiametoxame		Aconselhado	
Boscalide	Fungicidas sistémicos	Aconselhado	Oídio
Cresoxime-metilo		Aconselhado	
Dinocape		Não aconselhado	
Fenebuconazol		Aconselhado	
Miclobutanil		Aconselhado	
Espiroxamina		Aconselhado	
Flusilazol		Não aconselhado	
Quinoxifena		Aconselhado	
Penconazol		Aconselhado	
Tebuconazol		Aconselhado	
Tetraconazol		Aconselhado	
Azoxistrobina		Aconselhado	
Folpete		Aconselhado	
Cresoxime-metilo		Aconselhado	
Enxofre	Fungicidas penetrantes	Aconselhado	
Quinoxifena		Aconselhado	
Proquinazida		Aconselhado	
Trifloxistrobina		Aconselhado	
Dinocape		Não aconselhado	
Enxofre	Fungicidas de superfície	Aconselhado	
Azoxistrobina	Fungicidas mistos	Aconselhado	Míldio e Oídio
Folpete		Aconselhado	
Cimoxanil		Aconselhado	
Flusilazol		Não aconselhado	
Propinebe		Aconselhado	
Tebuconazol		Aconselhado	
Piraclostrobina		Aconselhado	

1.2.4 Importância socioeconómica do vinho – A viticultura em números

Em 2008, a área mundial cultivada com vinha rondava os 7,742 milhões de hectares, sendo a Europa a região com a maior percentagem. Na figura 1.11, encontra-se representada a percentagem de área mundial de vinha atribuída a cada continente [40].

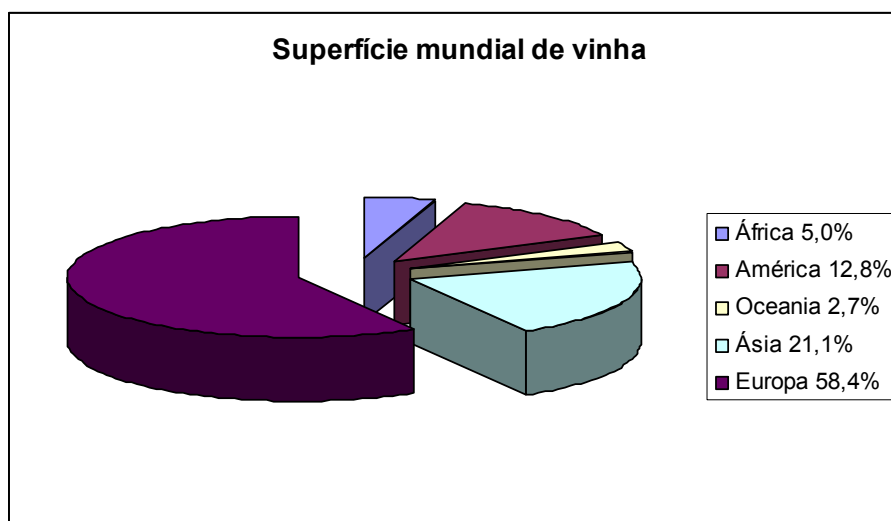


Figura 1.11 – Representação da repartição da superfície mundial de vinha, pelos cinco continentes [adaptado de 40].

Desde os anos 50 até ao início da década de 80 verificou-se um incremento da área mundial de vinha, seguindo-se posteriormente um decréscimo, sobretudo devido às medidas económicas de incentivo ao arranque de videiras recomendado pela União Europeia, onde o vinho passou a ser excedentário, e à conjuntura político-social na Federação Russa (reflectindo-se num abandono parcial da cultura). No entanto, recentemente tem-se verificado uma estabilização destes números. Apesar do decréscimo se manter a nível europeu, há uma compensação com o incremento da área cultivada noutras regiões (EUA, África do Sul, Chile, China, Irão, Austrália e Nova Zelândia) [36].

De um modo geral, 74% das uvas produzidas destinam-se à produção de vinho, 23% ao consumo em fresco (21% sob a forma de uva de mesa e 2% sob a forma de uva passa) e 3% para a elaboração de sumos de uva. Em Portugal, a produção de uvas de mesa e uvas passas tem uma expressão ainda reduzida [36].

Segundo dados de 2008, a produção mundial de vinho ronda os 269 milhões de hectolitros e a sua repartição pelos cinco continentes encontra-se representada na figura 1.12 [40].

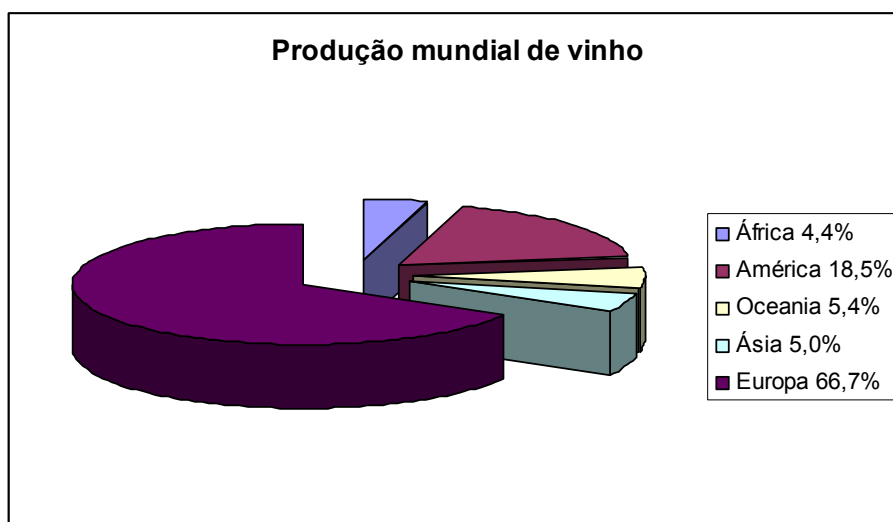


Figura 1.12 – Representação da repartição da produção mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].

A produção de vinho, em Portugal, tem variado nos últimos 10 anos, em função de flutuações climáticas e do comportamento vitícola, apresentando entre 2005 e 2006 um valor de 7,2 milhões de hectolitros, repartidos por VQPRD (34%), Vinho Licoroso de Qualidade Produzido em Região Demarcada (VLQPRD) (13%), Vinhos Regionais (19%) e Vinhos de Mesa (34%) [36].

O consumo *per capita* para os diferentes países tem sofrido alterações diversas. Nos países europeus, tradicionalmente produtores de vinho, verifica-se uma diminuição no consumo. Em Portugal, o consumo decresceu de 54,8 para 46,7 L per capita [36].

Ilustra-se seguidamente o consumo de vinho a nível mundial, repartido por cada um dos cinco continentes (figura 1.13).

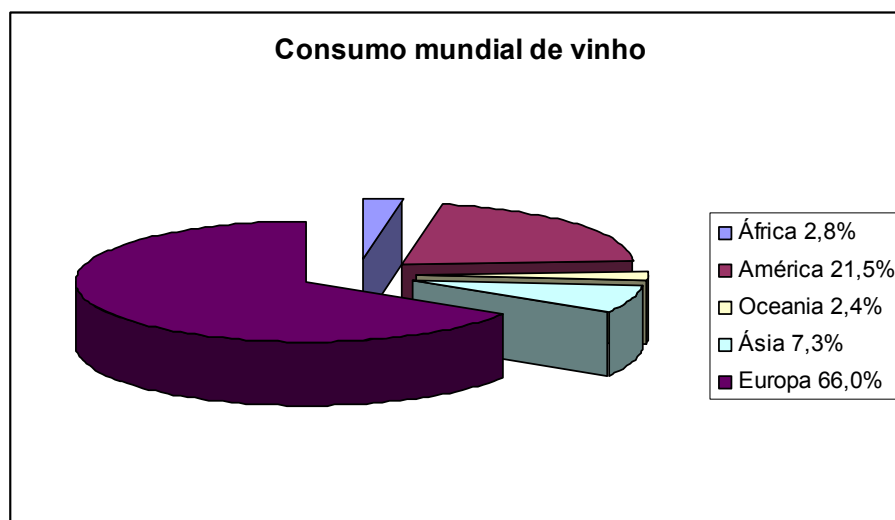


Figura 1.13 – Representação da repartição do consumo mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].

Ao nível das importações, a Europa é também o continente que apresenta o maior valor, importando cerca de 83,6 milhões de hectolitros [40]. Na figura 1.14, encontra-se representado o panorama mundial ao nível das importações de vinho.

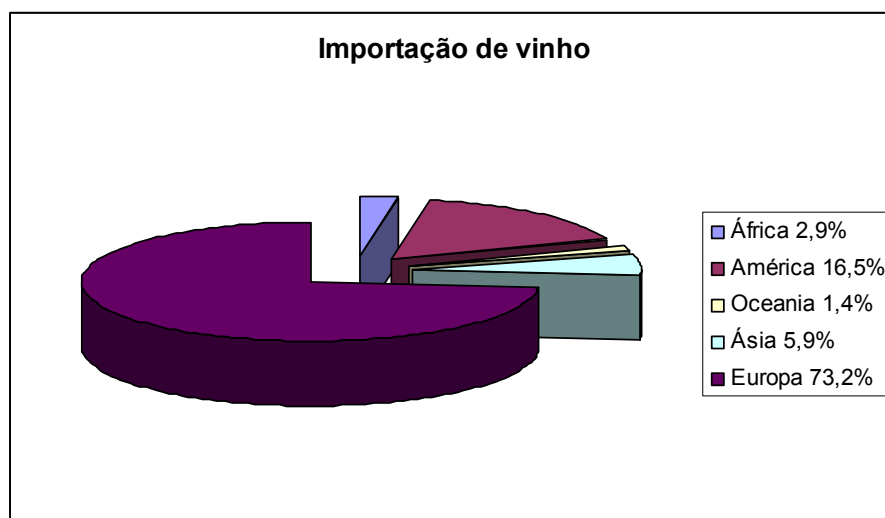


Figura 1.14 – Representação da repartição da importação mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].

Relativamente a exportações, os países com maiores produções de vinho correspondem, de um modo geral, aos maiores exportadores deste produto (como se pode observar pela figura 1.15), sendo a França, a Itália e a Espanha os países que mais exportam. Portugal ocupa a décima posição (dados de 2008), exportando 2,9 milhões de hectolitros de vinho [40]. No entanto, e de uma forma geral, o aumento mais significativo das exportações verifica-se nos países do Novo Mundo [36].

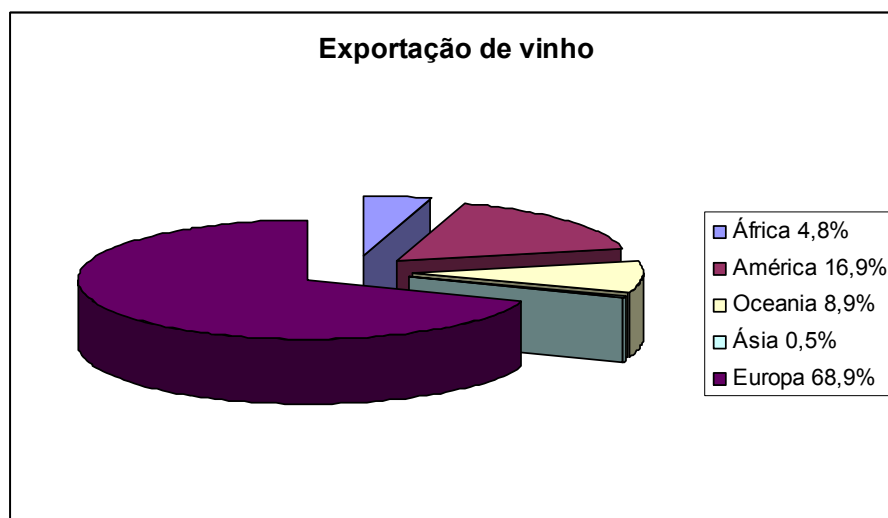


Figura 1.15 – Representação da repartição da exportação mundial de vinho, pelos cinco continentes [adaptado de 40].

1.2.4.1 Importância da região do Douro e do Vinho do Porto

Relativamente à Região Demarcada do Douro, há que considerar a separação entre Vinho do Porto e vinhos não beneficiados (DOC Douro e outros), cuja proporção varia anualmente em função das produções, existências e comercialização. Na tabela 1.3 encontra-se representada a evolução da produção de vinho na Região Demarcada do Douro, entre 2003 e 2007.

Tabela 1.3 - Produção de vinha na Região Demarcada do Douro (unidade: pipas de 550 litros) [36].

Anos	Vinho do Porto	Vinho não beneficiado	Produção duriense
2003	138415	172969	311384
2004	158117	134845	292962
2005	155125	158818	313943
2006	157656	154685	312341
2007	159446	100284	259730

Ao nível das exportações de vinhos portugueses, é de referir que o Vinho do Porto corresponde ao maior valor de mercado de vinhos, cujo volume, em 2006, foi de 916000 hectolitros para exportação e 130000 hectolitros para o mercado interno, com um valor total de 396 milhões de euros, aproximadamente. Os principais mercados para o Vinho do Porto correspondem aos seguintes países, por ordem decrescente de volume

exportado: França, Portugal (mercado interno mas referido aqui para uma melhor visualização da sua importância), Reino Unido, Holanda, Bélgica, EUA, Canadá, Alemanha, Dinamarca, Espanha, Suíça, Itália, Brasil, Irlanda, Suécia, Japão, Luxemburgo, República Checa, Noruega, México, entre outros com menos expressão [36].

1.2.4.2 Limites máximos de resíduos de pesticidas

Como foi referido anteriormente, o uso de pesticidas na protecção de culturas pode dar origem a resíduos nos produtos agrícolas no momento da colheita, após tratamento em armazém ou nos produtos processados. Assim sendo, é de elevada importância garantir que tais resíduos não apresentem concentrações que ponham em risco a saúde humana e animal. A avaliação do risco inerente ao uso de pesticidas é realizada pela EFSA (*European Food Safety Authority*), antes do estabelecimento comunitário do respectivo Limite Máximo de Resíduo (LMR) [41].

A legislação comunitária regulamenta a comercialização e a utilização dos produtos fitofarmacêuticos e os seus resíduos nos alimentos. A autorização do uso está condicionada pelas condições de utilização escritas no rótulo (condições determinantes para a concentração dos resíduos nos produtos agrícolas), das quais se salientam: doses de utilização, Intervalo de Segurança (SI), número de aplicações, intervalo de aplicações. Estas condições correspondem, normalmente, às necessidades de protecção fitofarmacêutica em causa. Devem ser respeitadas de modo a que a concentração do resíduo no momento da colheita não ultrapasse o LMR estipulado, cujo valor serviu de base à avaliação de risco e foi considerado aceitável para o composto ou compostos em causa [39].

Os LMRs são estabelecidos após uma avaliação de eventuais riscos para os consumidores, não constituindo, no entanto, teores limites toxicológicos. O facto de um Limite Máximo ser excedido é mais uma indicação de que os pesticidas podem não estar a ser utilizados do modo mais correcto e não de que apresentam risco para o consumidor. No entanto, o caso de um excesso é sempre vigiado de perto, avaliado e comunicado às autoridades dos Estados Membros, sempre que haja um potencial risco para os consumidores [41].

Uma das condições, referida anteriormente, para a utilização dos produtos fitofarmacêuticos, o Intervalo de Segurança, consiste no intervalo de tempo mínimo que deve decorrer desde a última aplicação do pesticida na cultura até à data da colheita do respectivo produto. Deste modo, pretende-se garantir que, na altura da colheita, a concentração de resíduos de pesticidas nos respectivos produtos agrícolas não

apresente riscos para a saúde humana e animal. No caso do tratamento fitofarmacêutico ocorrer durante a armazenagem, o intervalo de segurança compreende o intervalo de tempo que decorre desde a aplicação em armazém até ao consumo ou venda desse produto [39].

A avaliação, comércio e uso de pesticidas na protecção de culturas na Comunidade Europeia são regulamentados pela Directiva 91/414/CEE do Conselho. Segundo esta directiva, as substâncias activas não podem ser usadas em produtos fitofarmacêuticos se não estiverem incluídas numa lista positiva comunitária [3].

Os resíduos de pesticidas nos alimentos são regulamentados por quatro directivas do Conselho: 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE e 90/642/CE. O Regulamento (CE) N° 396/2005, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Fevereiro vem consolidar e alterar estas directivas [42]. Este último regulamento define o quadro legal para o estabelecimento de LMRs de pesticidas no interior ou à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal discriminados no seu Anexo I (Regulamento CE N° 178/2006, da Comissão, de 1 de Fevereiro de 2006). Os Anexos II, III e IV do mesmo Regulamento foram publicados pelos Regulamentos (CE) N° 149/2008, da Comissão, de 29 de Janeiro e N° 839/2008 de 31 de Julho. Nestes diplomas constam os LMR harmonizados até 1 de Setembro de 2008 (anexos II e III) e as substâncias activas para as quais não é necessário estabelecer LMR (anexo IV). Qualquer alteração a estes Anexos é publicada também a nível comunitário, através de regulamentos.

Desde 1 de Setembro de 2008, os LMR em vigor são os que constam nos Anexos II, III e IV de Regulamento (CE) N° 396/2005 [41].

No dia 13 de Janeiro do presente ano foi aprovada, pelo Parlamento Europeu, uma nova legislação sobre pesticidas. Este novo regulamento proíbe a utilização de certas substâncias químicas altamente tóxicas na produção de pesticidas e obriga a que outras substâncias de risco sejam substituídas por alternativas mais seguras. Foi adoptada, simultaneamente, pelo Parlamento Europeu, uma directiva que proíbe as pulverizações aéreas (com possibilidade de derrogações), prevê medidas específicas de protecção do ambiente aquático, como o estabelecimento de zonas tampão e de salvaguarda ou a plantação de sebes ao longo das águas de superfície, e define zonas onde o uso de pesticidas será reduzido ao mínimo ou mesmo proibido (como parques públicos, campos desportivos e recreativos, recintos escolares, parques infantis e na proximidade de estabelecimentos de saúde pública). Os Estados-Membros têm dois anos para transpor esta directiva para a legislação nacional [42].

1.2.4.2.1 Limites máximos de resíduos de pesticidas nas uvas

O Limite Máximo de Resíduo (LMR) é definido para cada binómio produto agrícola/substância activa e encontra-se publicado na legislação comunitária acima referida.

Na tabela 1.4 enumeram-se os compostos estudados ao longo deste trabalho e respectivos LMRs.

Tabela 1.4 – Pesticidas estudados ao longo deste trabalho e respectivos limites máximos de resíduos, publicados nos regulamentos (CE) nº 149/2008 da Comissão, de 29 de Janeiro de 2008 (Jornal Oficial da União Europeia, L58, 1 de Março de 2008) e nº 839/2008 da Comissão, de 31 de Julho de 2008 (Jornal Oficial da União Europeia, L234, 30 de Agosto de 2008).

Pesticida	LMR (□g/kg uva)
Azinfos-metilo	50
Clorpirifos	500
Clorpirifos-metilo	200
Diazinão	10
Fenitrotião	10
Fentião	10
Malatião	5000
Metidatião	20
Captana	20
Clortalonil	3000
Dicofol	2000
Folpete	5000
Procimidona	5000
Vinclozolina	5000
Iprodiona	10000

1.2.4.2.2 Limites máximos de resíduos de pesticidas em vinho

Actualmente não existe legislação relativa aos resíduos de pesticidas em vinho, recorrendo-se a uma aproximação dos limites de resíduos de pesticidas legislados para as uvas. No entanto, alguns países têm vindo a apresentar as suas sugestões.

Apesar do esforço desenvolvido neste sentido, nem todas as opiniões convergem para o mesmo objectivo. Otteneder *et al.* apresentam algumas razões que vão contra a

estipulação de quantidades máximas de resíduos em vinhos para cada um destes compostos. De acordo com estes autores [43]:

- ✓ Devido ao processo de fabrico, as quantidades de pesticidas transferidas das uvas para o vinho são, de um modo geral, irrelevantes do ponto de vista toxicológico;
- ✓ Os limites máximos estipulados para uvas são adequados. Limites máximos estipulados para o vinho não garantiriam boas práticas agrícolas;
- ✓ As objecções à regulamentação dos LMRs para o vinho podem ser refutadas. Estas aumentam a confiança do consumidor no produto. As análises possíveis são rápidas e simples. No entanto, os esforços para determinar os pesticidas aprovados para a viticultura, no mundo inteiro, são extremamente elevados;
- ✓ Relativamente a uma possível quantificação, os resíduos de pesticidas em vinho baseados na minimização do risco devem ser mais baixos do que nas uvas. A redução destes resíduos no vinho deve ser a maior possível, sendo monitorizada por análises ao vinho. Um limite possível corresponderia a 90% de redução dos resíduos de pesticidas, no vinho. Ou seja, um limite de pesticidas no vinho correspondente a 1/10 do respectivo limite para uvas, seria aceitável.

Apesar dos resíduos de pesticidas no vinho não apresentarem um problema relevante para a saúde pública, de uma forma geral, devido à presença de baixas concentrações destes compostos, o controlo deste produto assim como de qualquer produto alimentar não deve ser de certa forma virtual, levando assim a uma desconfiança crescente do consumidor [43].

1.3 Análise de resíduos de pesticidas

Todas as etapas de um trabalho analítico são fundamentais para a correcta determinação de substâncias químicas presentes numa determinada matriz: recolha e preparação da amostra, separação dos analitos da matriz e quantificação da substância química alvo, tratamento dos resultados obtidos (análise estatística) e respectiva interpretação [44]. De todas estas etapas, são mais susceptíveis a erros, aquelas que necessitam de intervenção directa por parte do analista, tais como amostragem, preparação da amostra e tratamento dos dados.

Estudos demonstram que mais de 80% do tempo necessário para uma análise corresponde às etapas de amostragem e preparação da amostra. Tal acontece pelo facto de não ser possível a introdução da amostra a analisar, sem uma preparação prévia, nos instrumentos analíticos [45]. Outro factor importante é a condicionante que muitos equipamentos apresentam, não possibilitando a extracção automatizada do analito pretendido.

Assim sendo, a escolha dos métodos de extracção, análise e detecção é de extrema importância, condicionando toda a análise a nível de custos, tempo dispendido e credibilidade dos resultados.

1.3.1 Técnicas de extracção

As técnicas de extracção têm vindo a sofrer uma evolução no sentido de uma diminuição da utilização de solventes, do tempo dispendido e da complexidade dos passos necessários.

Das técnicas de extracção convencionais para a determinação de resíduos de pesticidas, a extracção líquido-líquido (LLE) é uma das menos vantajosas. É uma técnica que consome muito tempo, necessita de trabalho intensivo e envolve muitas operações. Cada operação, pode introduzir erros e levar a perdas de analito, especialmente no caso da análise de compostos voláteis. A utilização de solventes orgânicos é outro problema considerável desta técnica, devido aos custos e à produção de resíduos associados. Estes resíduos apresentam, de um modo geral, elevado risco para o ambiente e para a saúde humana [18, 45, 46].

Com a adopção da técnica de extracção em fase sólida (SPE), algumas das limitações da extracção líquido-líquido são ultrapassadas. Na extracção em fase sólida são necessários menores volumes de solventes, diminuindo os riscos para o ambiente e saúde humana,

assim como os custos associados. No entanto, esta técnica não apresenta vantagens relevantes no que respeita ao número de operações necessárias e ao tempo dispendido, quando comparada com a extracção líquido-líquido [18, 45, 46].

Outras técnicas de extracção utilizadas na determinação de pesticidas em matrizes complexas são: extracção de Soxhlet, extracção assistida por microondas (MAE), extracção com fluidos supercríticos (SFE), extracção com líquido pressurizado (PLE) ou extracção com ultra-sons (USE). No entanto, a eliminação total de solventes orgânicos extractivos só é possível com a utilização da microextracção em fase sólida (SPME) [22].

1.3.1.1 Microextracção em fase sólida (SPME)

A microextracção em fase sólida (SPME) é uma técnica de extracção relativamente recente e bem sucedida, desenvolvida por Pawliszyn, juntamente com a sua equipa de investigadores, por volta de 1990 [47]. Desenvolvida com o objectivo de superar as limitações da extracção líquido-líquido (LLE) e da extracção em fase sólida (SPE), é uma técnica que integra extracção, concentração e introdução da amostra, num só passo, sem necessidade de utilização de solventes [45, 48]. Foi desenvolvida não só com o intuito de facilitar a rápida preparação de amostras em laboratório mas também para permitir as análises no terreno, quando tal for necessário [49].

A microextracção em fase sólida permite a redução dos tempos de extracção, a redução dos custos associados e o alcance de limites de detecção menores [44, 45, 50]. É uma técnica de fácil automatização e vulgarmente utilizada em combinação com a cromatografia gasosa ou também com a cromatografia líquida [45, 50].

Esta técnica de extracção foi inicialmente introduzida para a análise de compostos relativamente voláteis em amostras ambientais, mas o seu uso foi alargado a uma enorme variedade de matrizes (gases, líquidos e sólidos) e uma diversificada gama de analitos, desde compostos voláteis a não voláteis [50].

1.3.1.1.1 Fundamentos teóricos

O conceito da microextracção em fase sólida pode ter surgido da ideia de uma coluna capilar de cromatografia gasosa imersa. Esta técnica de extracção pode ser implementada de várias formas, sendo uma delas sob a forma de fibra coberta com um filme polimérico [49]. Este dispositivo de SPME é muito simples, assemelhando-se a uma seringa modificada [45]. Consiste, em parte, numa seringa convencional (que serve de suporte para a fibra), incluindo uma agulha oca que protege a fibra de SPME propriamente dita. Esta última é composta por uma fibra óptica de sílica fundida, coberta

por uma fina camada de filme polimérico [51]. Na figura 1.16 ilustra-se um dispositivo de SPME comercialmente disponível.

Considerar-se-á, a partir de agora, o dispositivo descrito anteriormente sempre que se mencionar a técnica de microextração em fase sólida.

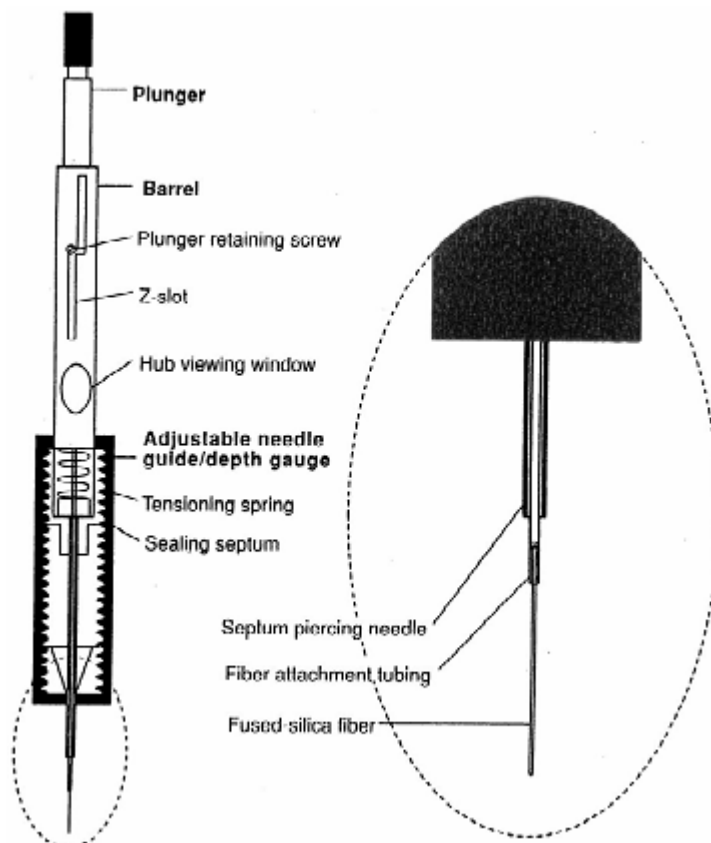


Figura 1.16 - Dispositivo de SPME comercialmente disponível [52].

Existem tipos distintos de filmes poliméricos utilizados no dispositivo de SPME, tais como o polidimetilsiloxano (PDMS) e o poliacrilato (PA). O primeiro é o mais utilizado e, apesar de parecer sólido, é um líquido altamente viscoso. O poliacrilato é um sólido cristalino mas torna-se líquido à temperatura de dessorção. Assim sendo, ambos os filmes poliméricos extraem os analitos através de um mecanismo de absorção [53].

Para além destes dois tipos de filmes poliméricos existem outros tipos de filmes mistos, incluindo PDMS-DVB (divinilbenzeno), Carbowax-DVB, Carbowax-TR (*template resin* – resina padrão), PDMS/Carboxen e DVB/CAR/PDMS nos quais a fase primária responsável pela extração é um sólido poroso. Com este tipo de filmes, a extração ocorre segundo um mecanismo de adsorção [52, 53].

Na figura 1.17 encontram-se representadas as diferenças de polaridade e a capacidade de retenção para cada um dos tipos de filme polimérico comercialmente disponíveis.

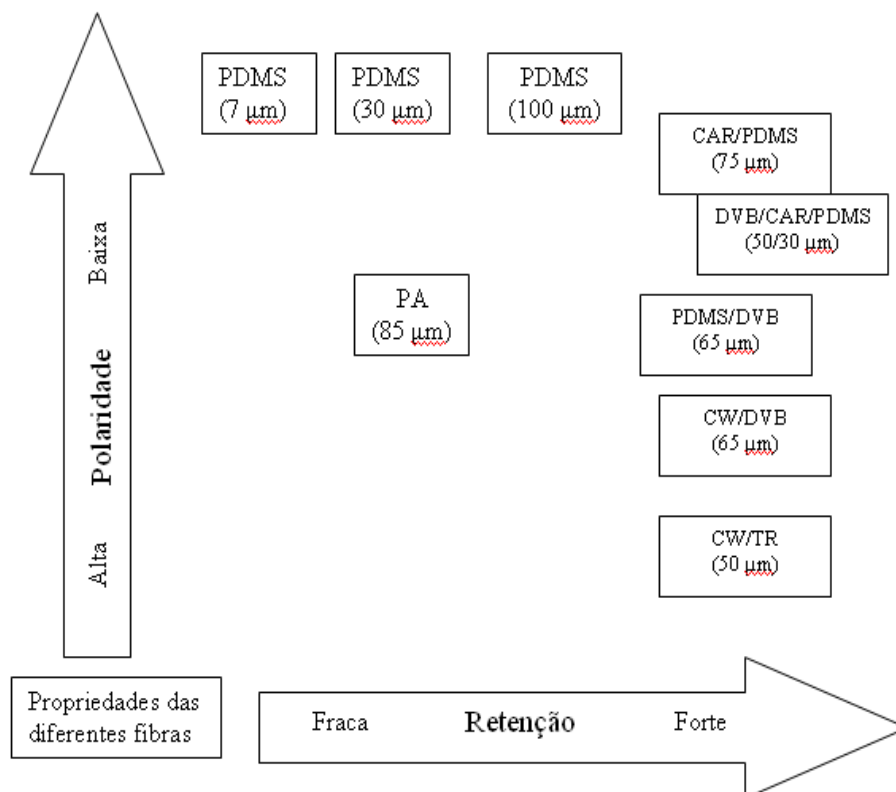


Figura 1.17- Representação das diferenças de polaridade e da capacidade de retenção para cada um dos tipos de filme polimérico comercialmente disponíveis [adaptado de 48].

Na microextração em fase sólida, a fibra coberta com o filme polimérico é colocada em contacto com a matriz, durante um período de tempo pré-determinado. Se o tempo de extração for suficientemente longo, é estabelecido o equilíbrio entre a concentração na matriz e a concentração na fase extractiva. A partir do momento em que o equilíbrio é atingido, não há mais acumulação de analitos na fibra [49]. As condições de equilíbrio podem ser descritas pela seguinte equação [47]:

$$n = \frac{K_{fs} * V_f * V_s * C_0}{K_{fs} * V_f + V_s} \quad (1)$$

onde n é o número de moles extraídas pela fibra, K_{fs} a constante de distribuição fibra/matriz, V_f o volume do filme polimérico da fibra, V_s o volume da amostra e C_0 a concentração inicial do analito na amostra.

Esta equação é limitada a fases poliméricas líquidas, como é o caso de PDMS e considera que a matriz da amostra pode ser representada por uma mistura homogénea. No caso de fases poliméricas sólidas, a teoria aplica-se para baixas concentrações, desde que a área superficial total disponível para adsorção seja proporcional ao volume do filme polimérico (considerando uma porosidade constante). Para altas concentrações

de analito, a saturação da superfície pode ocorrer resultando em isotérmicas não lineares [49].

O processo de extracção de uma amostra pode também ser interrompido antes de se atingir o equilíbrio. No entanto, para se obterem dados reprodutíveis são necessárias condições de extracção idênticas (como, por exemplo, tempo de extracção, agitação, entre outras) [49].

Quando o volume da amostra é elevado, a equação (1) pode ser simplificada ($V_s \gg K_{fs}V_s$) [54]:

$$n = K_{fs} * V_f * C_0 \quad (2)$$

Neste caso, a quantidade do analito extraída é independente do volume da amostra.

A microextracção em fase sólida é fundamentalmente uma técnica de extracção baseada na concentração de equilíbrio, não sendo uma técnica de extracção exaustiva. A concentração do analito na amostra é determinada pela relação linear com a quantidade de analito extraída pela fibra [54].

O processo de extracção recorrendo a SPME poder ocorrer de três modos diferentes: imersão directa (em que a fibra é mergulhada directamente no amostra), extracção no “espaço de cabeça” - *headspace* (a fibra encontra-se fora da matriz da amostra e os analitos têm que ultrapassar a barreira do ar até atingir a fibra, permitindo uma protecção da fibra no caso de matrizes complexas e agressivas) e extracção com membrana de protecção [49].

1.3.1.1.2 Optimização das condições de extracção

São vários os parâmetros que devem ser considerados na optimização da microextracção em fase sólida.

➤ *Seleção do modo de extracção*

Como foi já referido anteriormente, existem dois modos de extracção principais: a extracção no “espaço de cabeça” – *headspace* (HS-SPME) e a imersão directa (DI-SPME). A eficiência da extracção de cada uma destas técnicas depende das propriedades dos analitos em causa, assim como da matriz da amostra [52].

De um modo geral, a extracção directa é mais sensível do que a extracção em *headspace*, para analitos predominantemente presentes no líquido. No entanto, este

último modo de extracção, extracção em *headspace*, apresenta menos interferências do que o primeiro e é adequado para analitos mais voláteis, na maioria das matrizes líquidas, sólidas e gasosas. A imersão directa adequa-se mais a compostos pouco ou semi-voláteis [52].

➤ *Seleção do revestimento da fibra*

Como se pode verificar na figura 1.17, são vários os tipos de revestimento possíveis para a extracção de analitos, utilizando a microextracção em fase sólida. A afinidade da fibra para com um analito depende do tipo de revestimento desta e das características do próprio analito. A título de exemplo, a fibra apolar de PDMS é preferível para a extracção de analitos apolares. No entanto, pode ser também utilizada para analitos polares, particularmente depois de optimizadas as condições de extracção. A fibra de PDMS é bastante resistente, suportando altas temperaturas no injector [52].

De um modo geral, os compostos voláteis requerem revestimentos de fibra mais espessos, ao contrário dos compostos semi-voláteis, para os quais os revestimentos de espessura fina são eficientes. Para além disso, as fibras revestidas com filmes espessos necessitam de um tempo maior para atingir o equilíbrio, apresentando, no entanto, maior sensibilidade devido à maior quantidade de analito que pode ser extraído [52].

➤ *Outros factores que influenciam a extracção*

A quantidade de analito extraído não depende apenas do modo de extracção e do tipo de revestimento da fibra. Factores como o tempo de extracção, a agitação, a adição de sal, o pH e a temperatura são igualmente importantes neste processo de extracção.

O tempo de extracção é largamente influenciado pelo factor agitação e pelo coeficiente de partição do analito entre a matriz e a fibra. Apesar de se atingir a sensibilidade máxima no ponto de equilíbrio, na microextracção em fase sólida, não é necessário que este seja atingido para se obterem análises rigorosas, devido à relação linear entre a quantidade de amostra adsorvida/absorvida pela fibra e a concentração inicial na matriz em condições de não – equilíbrio, como foi referido anteriormente [52].

A agitação magnética é o principal modo de agitação, quer em extracção em *headspace* quer em extracção directa. A agitação acelera a transferência de massa do analito da matriz para o revestimento da fibra. O aumento na velocidade de agitação leva à diminuição do tempo necessário para que se atinja o equilíbrio. No entanto, uma velocidade de agitação demasiado elevada pode provocar o efeito contrário [52].

A eficiência da extracção pode também ser melhorada através da adição de um sal solúvel, à amostra. Os sais mais utilizados para este propósito são o cloreto de sódio, o hidrogenocarbonato de sódio, o carbonato de potássio e o sulfato de amónio. A

supersaturação da amostra com sais leva a uma maior migração de analito da matriz para o revestimento da fibra. Tal pode não ser relevante no caso de analitos pouco solúveis na matriz em análise. A adição de um sal à amostra a analisar é preferível, normalmente, quando se recorre à extracção em *headspace*, devido à probabilidade de danos no revestimento da fibra, no caso da extracção através de injeção directa [52].

O pH, parâmetro que também influencia a eficiência da extracção, é normalmente acertado de acordo com o tipo de analitos: a matriz é acidificada quando os analitos são ácidos ou alcalinizada quando os analitos são alcalinos. São utilizados ácidos ou bases não voláteis quando a extracção é efectuada em *headspace*, contrariamente à extracção efectuada por injeção directa, para a qual se devem utilizar ácidos e bases voláteis. Na microextracção em fase sólida por injeção directa, o pH elevado ou reduzido pode provocar danos no revestimento da fibra [52].

Outro parâmetro importante no processo de extracção é a temperatura. Um aumento na temperatura traduz-se, normalmente, em melhorias ao nível da extracção, até certo ponto. Deve ser então estudada a temperatura óptima para o processo de extracção em causa. O tamanho dos frascos utilizados deve ser o mesmo para todas as amostras, assim como o respectivo volume [52].

Todos estes parâmetros variam de acordo com as combinações entre si, com o analito em causa e com a matriz em estudo. Assim sendo, num conjunto de vários analitos, é difícil adoptar condições que sejam óptimas para todos, em simultâneo. Assume-se assim uma situação de compromisso, onde as condições poderão ser óptimas apenas para alguns, mas permitindo uma análise rigorosa para todos em simultâneo.

➤ *Optimização da dessorção*

A eficiência da dessorção térmica no injector do cromatógrafo gasoso depende da volatilidade do analito, da espessura do revestimento da fibra, da profundidade do injector, da temperatura do injector e do tempo de exposição. A profundidade de injeção da seringa deve ser ajustada de modo a que a fibra fique exposta no centro da zona quente do injector. O volume do *liner* afecta a forma dos picos cromatográficos, por exemplo, volumes maiores provocam o alargamento da base do pico. Os injectores *split/splitless* devem operar em modo *splitless*. A temperatura óptima de dessorção deve ser, de uma forma geral, aproximadamente igual ao ponto de ebulição do analito menos volátil. A temperatura inicial do cromatógrafo deve ser baixa de modo a prevenir o alargamento dos picos. Assim, é possível a concentração dos analitos na cabeça da coluna. O tempo de dessorção depende da temperatura e do fluxo, no injector [52].

Na dessorção líquida, utilizando a interface SPME – HPLC, podem ser usadas duas técnicas de dessorção: dessorção dinâmica e e dessorção estática [52]. Estas técnicas não são, no entanto, relevantes para o trabalho que se apresenta.

1.3.1.1.3 Aplicações

Desde o seu desenvolvimento, a microextracção em fase sólida tem sido amplamente aplicada em análises forenses, farmacêuticas, análises de amostras ambientais (ar, água, solos), alimentos, compostos aromáticos e compostos metálicos [54]. O interesse nesta técnica para a análise de pesticidas, tem crescido dia após dia [18], sendo muito utilizada para a análise destes compostos em diferentes matrizes.

Muitos autores têm focado o seu estudo na determinação de pesticidas em águas superficiais e subterrâneas, utilizando a microextracção em fase sólida [16, 20, 56, 55-58]. Esta técnica tem sido também usada para a determinação de compostos orgânicos voláteis em águas subterrâneas [59] assim como para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em águas da chuva [60].

Para além das análises de água, a microextracção em fase sólida tem sido igualmente utilizada na análise de pesticidas em amostras de ar [61].

Têm, também, vindo a ser elaboradas pesquisas com vista a otimizar a técnica de SPME na análise de diversos compostos em amostras de solos, entre eles pesticidas [22] e hidrocarbonetos aromáticos voláteis [62].

São cada vez mais os estudos efectuados no sentido de um aumento da aplicabilidade da microextracção em fase sólida na análise de pesticidas em amostras biológicas, tais como sangue [63], urina e soro humano [64]. Tal facto deve-se sobretudo à complexidade das matrizes em causa e à simplicidade de aplicação da técnica de SPME.

Outra aplicação da técnica de SPME é na análise de pesticidas em produtos agrícolas e seus derivados, de que são exemplos, os sumos de morango e cereja [18], azeite [48], frutas e vegetais [17] e comida para bebé [7].

1.3.2 Métodos de análise e detecção

São várias as diferentes técnicas cromatográficas disponíveis para a análise de pesticidas. No entanto, a cromatografia em fase gasosa (GC) e a cromatografia em fase líquida (LC) são as técnicas mais utilizadas para a determinação de resíduos de pesticidas [65].

Relativamente aos métodos de detecção, são várias as opções disponíveis, cuja escolha dependerá do composto ou dos compostos em si, entre outras razões. A espectrometria de massa (MS) e a detecção por captura electrónica (ECD) são métodos muito utilizados na análise de pesticidas.

As escolhas adequadas do método cromatográfico, do método de detecção e do método de extracção, reúnem, no seu conjunto, todas as condições para que se consiga boa sensibilidade e selectividade.

1.3.2.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica particular do conjunto de técnicas analíticas cromatográficas. Todas as técnicas cromatográficas envolvem a partição de compostos entre duas fases diferentes, transportados por intermédio de uma fase móvel através de uma fase estacionária (não miscível com a anterior). Em cromatografia gás-líquido, a fase móvel é um gás inerte (gás transportador ou de arraste) e a fase estacionária é um líquido de elevado peso molecular, depositado à superfície de partículas finamente divididas (colunas de empacotamento) ou sobre as paredes de um longo tubo fino aberto (colunas capilares). Normalmente são utilizados como gás de arraste azoto, hélio ou hidrogénio comprimidos em cilindros [66].

1.3.2.1.1 Optimização das condições cromatográficas

São vários os parâmetros que podem ser optimizados num cromatógrafo gasoso, nomeadamente o tipo de fase estacionária da coluna, o programa de temperatura do forno e o fluxo do gás de arraste. A optimização destes parâmetros varia de analito para analito. Quando se pretendem analisar vários analitos em simultâneo, é assumida uma situação de compromisso, estabelecendo as mesmas condições para todos os analitos, ainda que não sejam as melhores para alguns deles.

1.3.3.2 Espectrometria de massa

Devido às características que apresenta, a espectrometria de massa ocupa um lugar privilegiado no que respeita a métodos de detecção analítica: sensibilidade e limites de detecção inigualáveis e diversidade nas suas aplicações, tais como física atómica, reacções cinéticas, geocronologia, todas as formas de análises químicas e determinação de parâmetros termodinâmicos [67]. Segue-se, na figura 1.18, uma representação esquemática da constituição de um espectrómetro de massa.

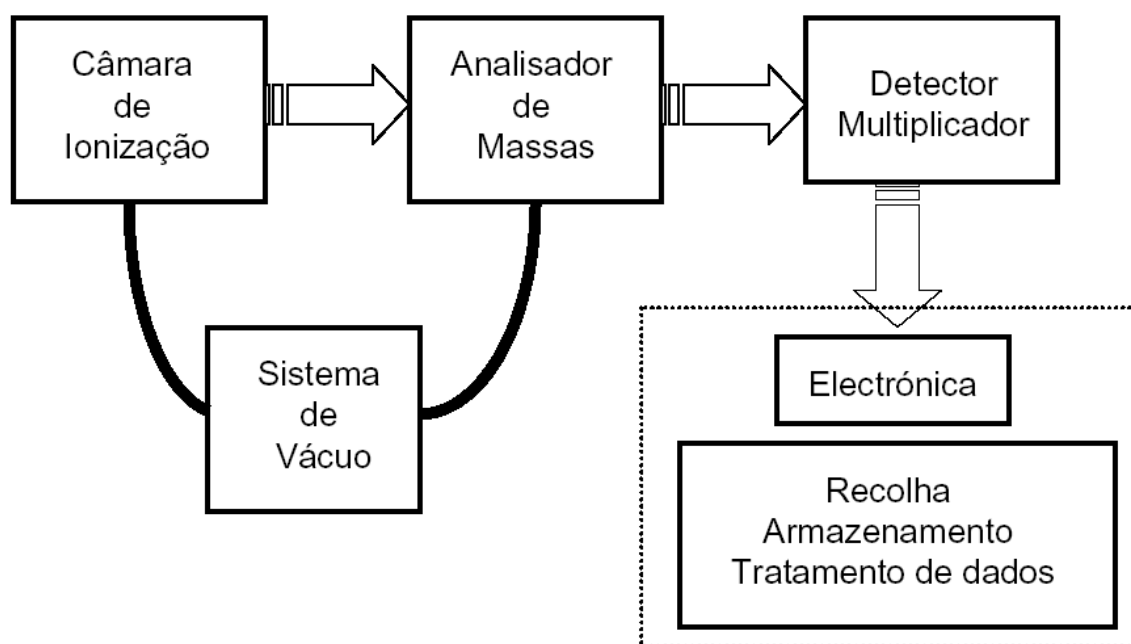


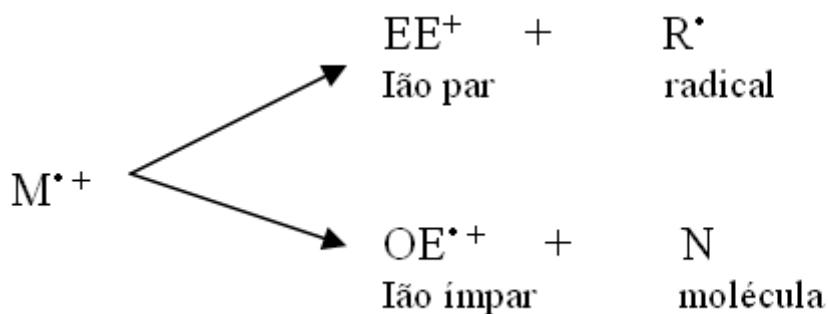
Figura 1.18 – Representação esquemática da constituição de um espectrómetro de massa [68].

1.3.3.2.1 Fundamentos teóricos

O primeiro passo que ocorre na análise de compostos através da espectrometria de massa é a produção de iões desse composto, na fase gasosa. Segue-se um exemplo relativo à ionização por impacto electrónico:



O ião molecular produzido sofre, normalmente, fragmentações. Como é um catião radical com número ímpar de electrões, pode fragmentar-se dando origem a um radical mais um ião com número par de electrões ou a uma molécula mais um novo catião radical [67].



Estes dois tipos de iões que podem ser produzidos têm diferentes propriedades químicas. Cada ião produto resultante da fragmentação do ião molecular pode, por sua vez, sofrer também fragmentação e assim sucessivamente. Todos estes iões são, posteriormente, separados no espectrómetro de acordo com a respectiva razão massa/carga, sendo detectados em proporção à sua abundância. O espectro de massa da molécula do composto em causa é assim produzido, podendo ser representado em gráfico (abundância relativa (%) *versus* razão massa carga) ou em tabela [67].

Todos os espectrómetros de massa têm que funcionar sob condições de alto vácuo (baixas pressões), permitindo assim que os iões atinjam o detector sem sofrerem colisões com outros gases moleculares. Se tal ocorresse, as colisões produziriam um desvio da trajectória e o ião poderia perder a carga contra as paredes do instrumento [67].

➤ Técnicas de ionização

Na fonte de iões, a amostra analisada é ionizada previamente à detecção no espectrómetro de massa. São várias as técnicas de ionização que podem ser utilizadas em espectrometria de massa. As considerações mais importantes a ter em conta são a energia interna transferida durante o processo de ionização e as propriedades físico-químicas do analito a ser ionizado. Algumas técnicas de ionização são muito energéticas e causam fragmentação extensiva, enquanto outras são mais leves, produzindo apenas espécies moleculares. A ionização electrónica e a ionização química são compatíveis apenas para ionização em fase gasosa, sendo assim limitada a compostos suficientemente voláteis e termicamente estáveis. Dar-se-á mais ênfase aos aspectos teóricos da ionização electrónica uma vez que foi a técnica utilizada no estudo que se apresenta [67].

Ionização por impacto electrónico

A ionização por impacto electrónico é também formalmente conhecida por ionização electrónica. É amplamente utilizada em espectrometria de massa orgânica e apresenta bons resultados para muitas moléculas na fase gasosa. Induz, no entanto, uma fragmentação extensiva, levando a que nem sempre se observem os iões moleculares [67].

Nas condições usuais dos espectrómetros, energia a 70 eV, é produzido, em média, 1 ião por cada 1000 moléculas que entram na fonte. Para além disso, 10 a 20 eV são transferidos para as moléculas durante o processo de ionização. Como 10 eV são suficientes para ionizar a maioria das moléculas orgânicas, o excesso de energia é gasto na fragmentação extensiva. Esta fragmentação pode ser útil no sentido em que fornece informação estrutural para a elucidação da estrutura de compostos desconhecidos [67].

Outras técnicas de ionização

Os compostos termolábeis ou pouco voláteis necessitam de ser transferidos directamente da fase condensada para a fase gasosa. Estas fontes directas de ionização podem ser de dois tipos: fontes de iões na fase líquida e fontes de iões na fase sólida. Seguem-se alguns exemplos e respectivas aplicações [67]:

- Espectrometria de massa de iões secundários (SIMS – *Secondary Ion Mass Spectrometry*) - técnica de ionização maioritariamente utilizada para sólidos (ex.: superfícies condutoras).
- Bombardeamento rápido de átomos (FAB – *Fast Atom Bombardment*) e espectrometria de massa de iões secundários na fase líquida (LSIMS- *Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry*) são técnicas utilizadas quando a amostra está dissolvida em matrizes líquidas não voláteis (ex.: glicerol).
- Dessorção por campo (FD – *Field Desorption*) – desenvolvida por Beckey, é uma excelente técnica para a ionização de moléculas apolares com elevada massa molecular.
- Dessorção de plasma (PD - *Plasma Desorption*) – técnica introduzida por Mcfarlane e Torgesson, permite a observação de iões com massas superiores a 10 000 Daltons. Actualmente apresenta uma utilização limitada, tendo sido substituída pela ionização por dessorção a laser assistido por uma matriz.
- Dessorção por laser (LD – *Laser desorption*) e Ionização por dessorção a laser assistido por uma matriz (MALDI – *Matrix-assisted Laser Desorption Ionization*) – técnica utilizada para o estudo de superfícies e análise local da composição de

amostras, permite uma ionização selectiva ajustando o comprimento de onda laser.

- Termospray (TSP - *Thermospray*) – técnica proposta por Blakney e Vestal, é aplicada em líquidos.
- Ionização à pressão atmosférica (API – *Atmosferic Pressure Ionization*) – dois exemplos deste tipo de ionização são a ionização electrospray (ESI – *Electrospray Ionization*) e a ionização química à pressão atmosférica (APCI – *Atmosferic Pressure Chemical Ionization*), usualmente acoplados à cromatografia líquida de alta eficiência.

A espectrometria de massa é indispensável, não só nas análises orgânicas e bioquímicas mas também nas análises inorgânicas. No entanto, não serão abordadas, neste trabalho, as fontes de ionização utilizadas para as análises inorgânicas.

➤ **Analísadores de massa**

Depois da ionização, é necessária a separação dos iões produzidos de acordo com as suas massas, que devem ser determinadas. Assim como existe uma variedade de fontes de ionização, existe também uma variedade de analisadores, tais como: quadrupolo, “armadilha de iões” (IT – *Ion Trap*), analisador por tempo de voo (TOF – *Time-of-Flight*), analisador magnético e electromagnético, entre outros [67].

Descrever-se-á apenas, e sumariamente, o modo de funcionamento do analisador “armadilha de iões” (*Ion Trap*), uma vez que foi o analisador utilizado ao longo deste trabalho.

Neste analisador, os iões com diferentes massas encontram-se juntos, no interior do “trap” (armadilha), sendo expelidos de acordo com a sua massa, obtendo-se assim o espectro de massas [67]. Na figura 1.19, encontra-se ilustrada a constituição de um analisador de massas do tipo *Ion Trap*, sendo que a parte central da imagem (onde se observam os fragmentos) representa o *Trap* (armadilha).

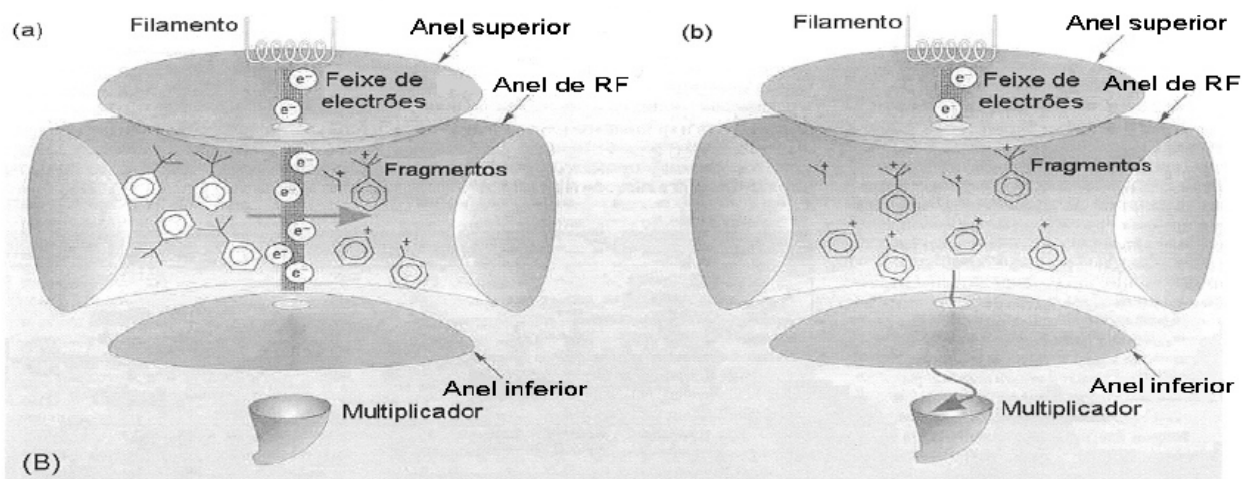


Figura 1.19 – Ilustração da constituição de um analisador de massas do tipo *Ion Trap* (armadilha de iões) [68].

Como os iões se repelem entre eles no *Trap*, as suas trajectórias expandem-se em função do tempo. Para evitar perda de iões devido a esta expansão, são necessárias medidas no sentido de reduzir esta trajectória. Tal pode ser alcançado mantendo, no *Trap*, uma pressão de hélio que remova o excesso de energia dos iões de colisão.

➤ Detectores

Depois de passar no analisador de massas, o feixe de electrões é então detectado e transformado pelo detector, num sinal mensurável. Existem vários tipos de detectores que podem ser utilizados. Abordaremos apenas o multiplicador de electrões, detector constituinte do equipamento utilizado para o estudo que se apresenta. Neste dispositivo, um ião, positivo ou negativo, atingindo o dinodo de conversão (*conversion dynode*), causa a emissão de inúmeras partículas secundárias. Essas partículas podem incluir iões positivos, negativos, ou partículas neutras e são aceleradas ao longo do dinodo contínuo do multiplicador de electrões. Quando os iões positivos atingem o dinodo de conversão de alta voltagem negativa, as partículas secundárias de interesse são iões negativos ou electrões. Quando os iões negativos atingem o dinodo de conversão de alta voltagem positiva, as partículas secundárias de interesse são iões positivos. Estas partículas secundárias atingem o cátodo com energia suficiente para expulsar electrões que colidem com as paredes curvas interiores. Estes electrões continuam o percurso pelo multiplicador de electrões, atingindo as paredes e emitindo cada vez mais electrões. Assim, é criada uma “cascata” de electrões, que resulta numa corrente mensurável, na

parte final do detector de electrões. O poder de amplificação é produto do factor de conversão (número de partículas secundárias emitidas pelo dínodo de conversão) e do factor de multiplicação do dínodo contínuo do multiplicador de electrões, devendo atingir 10^7 . O seu tempo de vida é limitado a 1 ou 2 anos, devido à contaminação pelos iões ou por condições de vácuo não adequadas. O factor de conversão depende da natureza (massa, carga e estrutura) e da energia dos iões detectados. São detectores altamente sensíveis [67].

- **MS/MS**

A espectrometria de massa tandem (MS/MS) corresponde, de uma forma geral, aos métodos que envolvem mais do que duas etapas de análise de massas. Normalmente, utiliza-se um primeiro analisador para isolar o ião precursor, que sofre fragmentação espontaneamente ou através de alguma forma de activação, dando origem a produtos tais como iões e fragmentos neutros. Posteriormente são analisados os iões produto da fragmentação do ião precursor [67].

É possível aumentar o número de etapas de análise de massas da seguinte forma: seleccionam-se os iões com uma primeira massa, analisam-se os iões com uma segunda massa resultante da fragmentação dos primeiros e finalmente analisam-se os fragmentos destes últimos iões seleccionados [67].

Os instrumentos comuns de análise de massas no espaço utilizam dois analisadores de massa para a realização de MS/MS. Estes instrumentos utilizam, normalmente, quadropolos como analisadores [67].

No caso da análise temporal de massas utilizam-se analisadores do tipo *Ion Trap*, o espectrómetro de massa por Transformada de Fourier (FTMS – *Fourier Transform Mass Spectrometry*) ou outros [67].

A sequência de operações que ocorre no *Ion Trap* é a seguinte [67]:

- Selecção dos iões com determinada massa carga (iões precursores), expelindo os outros do *Ion Trap*;
- Fragmentação dos iões seleccionados. A energia é obtida através das colisões com o gás hélio, que está sempre presente;
- Análise dos iões através do método de varrimento escolhido;
- Alternativamente, pode seleccionar-se um produto de fragmentação e promover a sua fragmentação. Repetindo-se este passo é possível uma análise em MS^n .

O varrimento dos iões produto é um modo de varrimento disponível quando se utiliza MS/MS. Consiste na selecção de um ião precursor com determinada razão massa carga

e posterior determinação dos respectivos iões produto, resultantes do processo de fragmentação. Existem outros modos de varrimento, no entanto nem todos permitem a análise de massas em função do tempo [67].

A espectrometria de massa tandem tem uma enorme variedade de aplicações, apresentando-se vantajosa relativamente a outras técnicas de detecção. Permite uma elucidação da estrutura da molécula em análise, a determinação dos mecanismos de frangmentação, a determinação de compostos elementares, análises altamente selectivas e sensíveis e permite também a observação das reacções do ião molecular [67].

1.3.3.2 Optimização das condições de MS/MS

Para uma maior eficiência da detecção por espectrometria de massa, podem ser estudados e optimizados vários parâmetros, alguns dos quais variam de equipamento para equipamento.

Num espectrómetro de massa cujo analisador de massas é do tipo Ion Trap e o detector consiste num multiplicador de electrões, tal como o equipamento utilizado para o estudo que se apresenta, podem ser optimizados parâmetros como:

- ✓ Condições de isolamento: ião precursor, tempo e janela;
- ✓ Condições de excitação: voltagem, tempo, energia máxima de excitação;
- ✓ Voltagem do multiplicador de electrões - é ajustada sempre que necessário, a fim de garantir uma contagem total de iões mínima de 1×10^7 .

1.3.3.3 Aplicações da cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa

O acoplamento de dois ou mais instrumentos num único equipamento integrado designa-se, de uma forma geral, por hifenação. As técnicas cromatográficas baseadas neste princípio são conhecidas, de uma forma genérica, como técnicas hifenadas [66].

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa tem sido amplamente utilizada. A sua boa sensibilidade e boa selectividade têm sido fundamentadas por diversos estudos efectuados com diferentes compostos e em diferentes matrizes: pesticidas em água [20, 22, 56, 69], pesticidas em sangue [70], pesticidas em produtos agrícolas e derivados [15,18, 29, 71-77], pesticidas em solos [46], pesticidas em comida de bebé [7].

1.3.4 Análise de resíduos de pesticidas em vinhos

A necessidade da utilização de pesticidas na vinha, como foi já referido anteriormente, é inevitável, sendo também inevitável a sua transferência para o vinho. Estudos realizados no sentido de avaliar a transferência de pesticidas presentes nas uvas para o vinho, apontam para uma quantidade transferida que pode variar de 10 a 100% [43]. A quantidade transferida depende de vários factores, entre eles a substância em causa e respectiva velocidade de degradação, as condições de aplicação do pesticida na vinha, o processo de vinificação, entre outros.

O processo de vinificação é indicado como um dos principais factores para a baixa transferência de pesticidas das uvas para o vinho. Muitos pesticidas tendem a ser adsorvidos pela matéria sólida produzida durante o processo de vinificação, originando uma reduzida concentração dos mesmos no produto final, o vinho. No entanto, pesticidas com razoável solubilidade e estabilidade, não sendo eliminados com tanta facilidade, podem apresentar concentrações mais preocupantes no vinho [78].

Têm vindo a ser desenvolvidas diferentes metodologias para a determinação de pesticidas em vinhos, com o objectivo de garantir um controlo de qualidade rigoroso deste produto.

Vitali *et al.* [74] desenvolveram um método de SPME-GC-MS para a determinação de catorze pesticidas, usualmente utilizados em uvas (insecticidas, fungicidas e herbicidas – trifluralina, lindano, terbutilazina, vinclozolina, carbaril, malatião, paratião, procimidona, metidatião, endossulfão, metoxicloro, fosadona, captan e folpete). Navarro *et al.* [79] estudaram a evolução dos resíduos de seis pesticidas (clorpirifos, fenarimol, mancozebe, metalaxil, penconazole e vinclozolina) durante a elaboração de vinhos tintos e estudaram também a influencia do processo de vinificação na eliminação dos resíduos dos mesmos compostos. Apenas cinco dos seis compostos foram determinados por cromatografia: clorpirifos, fenarimol, penconazole e vinclozolina foram determinados por GC-ECD e metalaxil por GC-MSD. Foi publicado outro estudo efectuado por Oliva *et al.* [26] acerca dos mesmos cinco pesticidas. Neste trabalho, foi proposto, para a determinação dos referidos compostos, um método que consiste na utilização da microextração *on-line* associado à cromatografia gasosa. Garcia *et al.* [28] propuseram um método para a análise dos fungicidas clozolinato, procimidona e vinclozolina em uvas e vinho, recorrendo determinação cromatográfica e à detecção por captura electrónica. Correia *et al.* [80] propuseram uma metodologia multirresíduo para a análise de pesticidas em vinho. Neste estudo, foi desenvolvido um método de SPME-GC-ECD para vinte e dois

insecticidas e acaricidas (diclorvos, mevinfos, diazinão, dimetoato, lindano, flufenoxurão, heptacloro, dissulfotão, aldrina, paratião-metilo, malatião, endossulfão, DDE, dieldrina, metidatião, buprofezina, endrina, DDD, etião, DDT, azinfos-etilo e fosadona). Soleas *et al.* [76] desenvolveram um método de cromatografia gasosa e detecção por espectrometria de massa selectiva para a determinação de dezassete pesticidas, normalmente ou ocasionalmente detectados em vinhos comerciais. Correia *et al.* [81] publicaram uma metodologia de SPME-GC-ECD para a determinação de oito fungicidas (vinclozolina, procimidona, iprodiona, penconazol, fenarimol, folpete, nuarimol e hexaconazol), um insecticida (clorpirifos) e dois acaricidas (bromopropilato e tetradifão). Angioni *et al.* [82] estudaram a degradação do captan, durante o processo de vinificação. Neste trabalho, é descrito um método simples e rápido para a determinação de captan e do seu principal produto de degradação, a tetrahydroftalimida, em uvas, mosto e vinho, por cromatografia gasosa e espectrometria de massa (“*Ion Trap*”). Zamboni *et al.* [75] propuseram um método por SPME-GC-MS para a determinação de oito pesticidas organofosforados (forato, diazinão, paratião-metilo, fenitrotião, malatião, fentião, paratião-etilo e metidatião) em vinho e diferentes sumos de fruta. Abreu *et al.* [83] compararam dois métodos diferentes para a determinação do fungicida famoxadona em uvas e vinhos, um deles por cromatografia gasosa com detecção por captura electrónica e o segundo por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa. Concluíram, no final, que ambos os métodos são apropriados para a determinação deste composto. No entanto, a identificação inequívoca da famoxadona é apenas possível em espectrometria de massa. Likas *et al.* [29] desenvolveram e validaram um método para a determinação dos fungicidas famoxadona, fenhexamida e trifloxistrobina, em tomate, uvas e vinho, recorrendo a uma etapa de microextração líquida e à cromatografia gasosa, associada a diferentes detectores (ECD, NPD e IT-MS). González-Rodríguez *et al.* [72] apresentaram um estudo relativo à evolução dos resíduos de tebuconazol durante o processo de vinificação de uvas tintas *Vitis vinifera* var. Mencía, produzidas em Valdeorras (Ourense, Espanha). Os resíduos deste fungicida foram determinados por cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Rose *et al.* [84] investigaram a potencial concentração de fungicidas e insecticidas aplicados na vinha, nas sementes de uvas de determinadas empresas em Victoria, Austrália. Os fungicidas clorotalonil, penconazol, procimidona, iprodiona, triadimenol e miclobutanil foram determinados recorrendo a um cromatógrafo gasoso e a um detector de azoto-fósforo. O fungicida captan foi determinado por cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Finalmente, os fungicidas ciprodinil, fenhexamida, metalaxil, fludioxinil, piraclostrobina, quinoxifena, trifloxistrobina e pirimetanil e os insecticidas espinosade, espiroxamina, indoxacarbe e tebufenozida foram determinados por cromatografia líquida espectrometria de massa tandem. Recentemente

Cunha *et al.* [15] desenvolveram e validaram um método analítico rápido para a avaliação de resíduos de pesticidas em uvas, mosto e vinhos, utilizando o método simples de extracção QuEChERS e LP-GC/MS. O método foi desenvolvido para vinte e sete pesticidas, tais como dimetoato, diazinão, vinclozolina, clorpirifos-metilo, metalaxil, malatião, fentião, clorpirifos, ciprodinil, captan, folpete, metidatião, iprodiona, azinfos-metilo, entre outros.

Neste trabalho, apresentam-se duas metodologias desenvolvidas para a determinação de pesticidas em vinhos tranquilos e fortificados: uma metodologia desenvolvida para a determinação de pesticidas organofosforados e outra metodologia desenvolvida para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas. O método de extracção desenvolvido, SPME, é extremamente simples, sem necessidade de qualquer pré-tratamento da amostra e é utilizado nos dois métodos apresentados. A determinação é efectuada por cromatografia gasosa e espectrometria de massa tandem, permitindo a identificação inequívoca dos compostos em causa.

2 Parte Experimental

2.1 Reagentes e outros consumíveis

Os pesticidas estudados pertencem a três famílias químicas distintas, sendo eles os organofosforados azinfos-metilo (98,5%), clorpirifos (99,9%), clorpirifos-metilo (99,7%), diazinão (98,06%), fenitrotião (95,4%), fentião (97,8%), malatião (96,1%) e metidatião (95,8%), os organoclorados captana (99,1%), clorotalonil (99,2%), folpete (99,9%) e dicofol (97,6%) e as dicarboximidas procimidona (99,9%), vinclozolina (99,5%) e iprodiona (99,3%). Todos os compostos foram adquiridos à Riedel-de Hæn (Seelze, Alemanha).

O metanol (99,9%), utilizado como solvente para a preparação das soluções padrão, foi também fornecido pela Riedel-de Hæn (Seelze, Alemanha). Foi ainda utilizada água desionizada com uma condutividade inferior a 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

2.1.1 Preparação das soluções padrão

Foram preparadas soluções padrão individuais de cada pesticida, com uma concentração de, aproximadamente, 1 g/L. Para tal, recorreu-se à pesagem rigorosa de cerca de 20 mg de cada composto numa balança analítica Sartorius Genius (modelo ME 215 S) e posterior diluição com metanol, em balões volumétricos de 20,00 mL.

Partindo das soluções anteriores, foram preparados dois tipos de soluções mistas: solução padrão mista de organofosforados e solução padrão de organoclorados e dicarboximidas. A primeira solução foi utilizada para o desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organofosforados e a segunda solução para o desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas.

Para a preparação da solução padrão mista de organofosforados, foram medidos os volumes adequados de cada solução individual de pesticidas de modo a obter, na solução mista, as seguintes concentrações: azinfos-metilo 80,00 mg/L, clorpirifos 32,00 mg/L, clorpirifos-metilo 1,60 mg/L, diazinão 4,00 mg/L, fenitrotião 8,00 mg/L, fentião 4,00 mg/L, malatião 20,00 mL e metidatião 100,00 mg/L. A partir desta solução mista, foi preparada, semanalmente, uma solução padrão mista intermédia de organofosforados,

através de uma diluição de 1:20. Esta solução mista intermédia foi utilizada para a preparação diária dos padrões de calibração.

Numa etapa posterior do trabalho, foi preparada uma solução padrão mista, reunindo no mesmo grupo os pesticidas organoclorados e os pesticidas dicarboximidas,. Para tal, foram medidos os volumes adequados de cada solução individual destes pesticidas de modo a obter, na solução mista, as seguintes concentrações: captana 7,97 mg/L, clorotalonil 7,98 mg/L, dicofol 1,66 mg/L, folpete 7,16 mg/L, procimidona 28,97 mg/L, vinclozolina 3,82 mg/L e iprodiona 104,66 mg/L. Esta solução foi preparada semanalmente e utilizada para a preparação diária dos padrões de calibração.

Todas as soluções padrão, individuais ou mistas, utilizadas ao longo deste estudo, foram preparadas em metanol e conservadas sob refrigeração (2 – 6 °C).

2.1.2 Preparação dos lotes de vinho

Dada a necessidade de preparar os padrões de calibração nas matrizes em estudo, foram preparados quatro lotes de vinho (lote de vinho branco do Douro, lote de vinho tinto do Douro, lote de vinho branco do Porto e lote de vinho tinto do Porto), representando, cada um deles, uma matriz a ser estudada. Cada lote de vinho foi preparado através da mistura de vinhos comerciais, de modo a obter um volume suficiente necessário à realização do estudo, com uma composição representativa do tipo de vinho em causa. Na tabela 2.1 apresentam-se as principais características correspondentes a cada lote de vinho.

Tabela 2.1 – Características de cada lote de vinho utilizado para a realização deste trabalho.

Lotes de vinho	Título alcoométrico volúmico (% v/v) (20°C)	pH	Acidez volátil (g/L ácido acético)	Acidez total (g/L ácido tartárico)	Açúcares redutores (g/L)	Glicerol (g/L)
Branco Douro	13,06	3,12	0,43	5,99	1,9	5,4
Tinto Douro	14,49	3,64	0,55	5,23	2,8	17
Branco Porto	19,62	3,44	0,23	3,25	106,4	3,1
Tinto Porto	19,81	3,52	0,36	4,03	102,1	4,6

2.1.3 Preparação dos padrões de calibração

Foram desenvolvidos dois métodos distintos para a determinação de pesticidas em vinhos, como foi já referido anteriormente. O primeiro método desenvolvido foi o método de determinação de pesticidas organofosforados, seguido do método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas. Como tal, em primeiro lugar construíram-se as curvas de calibração para os pesticidas organofosforados e posteriormente, desenvolvido este primeiro método, construíram-se as curvas de calibração para os pesticidas organoclorados e dicarboximidas.

Os padrões de calibração foram preparados diariamente, em vinhos, através da adição de um volume rigoroso da solução padrão mista. Foram construídas quatro curvas de calibração, para cada um dos métodos desenvolvidos, correspondentes às quatro matrizes em estudo: vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro, vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto. As curvas de calibração foram obtidas pelo método do padrão externo.

Os vinhos utilizados para a preparação dos padrões de calibração foram previamente analisados usando cada um dos métodos propostos, afim de se verificar a ausência de pesticidas.

Para a medição dos volumes rigorosos da solução padrão foram utilizadas micropipetas 100 – 1000 μL (Mettler Toledo), 20 – 200 μL (Mettler Toledo), 10 – 100 μL (Mettler Toledo) e 2 -20 μL (Mettler Toledo).

2.2 Método de extracção – SPME

A extracção por SPME foi realizada de uma forma automatizada, recorrendo a um amostrador automático Combipal MH 01-00B CTC (Analytics AG, Zwingen, Suíça), ilustrado na figura 2.2. As fibras de SPME (Supelco, Bellefonte, USA), encontravam-se novas no início do estudo, sendo acondicionadas, antes da primeira utilização, de acordo com as instruções do fornecedor. Na figura 2.1 apresenta-se um exemplar das fibras de SPME utilizadas. O processo de extracção decorreu em *vials* de vidro incolor (La-Pha-Pack, Langerwehe, Alemanha), com uma capacidade de 20 mL. As amostras de vinho de 20 mL sofreram extracção através da imersão de uma fibra revestida por Polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 μm de espessura.

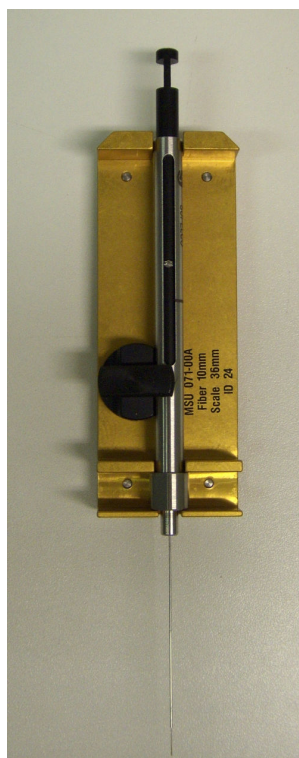


Figura 2.1 – Fibra de SPME utilizada para a extracção.

As condições de extracção foram as seguintes: temperatura de extracção 35 °C, velocidade de agitação 250 rpm e tempo de extracção 60 min. Depois da extracção, seguida de dessorção, a fibra foi acondicionada durante um período de 5 minutos, na presença de uma corrente de azoto, a 250 °C.

NOTA: Para o desenvolvimento do método de determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas foram utilizados *vials* de vidro âmbar (La-Pha-Pack, Langerwehe, Alemanha) e não de vidro incolor, para reduzir a probabilidade de degradação dos compostos devido à incidência da luz. Estes *vials* deveriam ter sido utilizados desde o início, para todos os compostos abordados neste trabalho, no entanto não se encontravam disponíveis no laboratório.

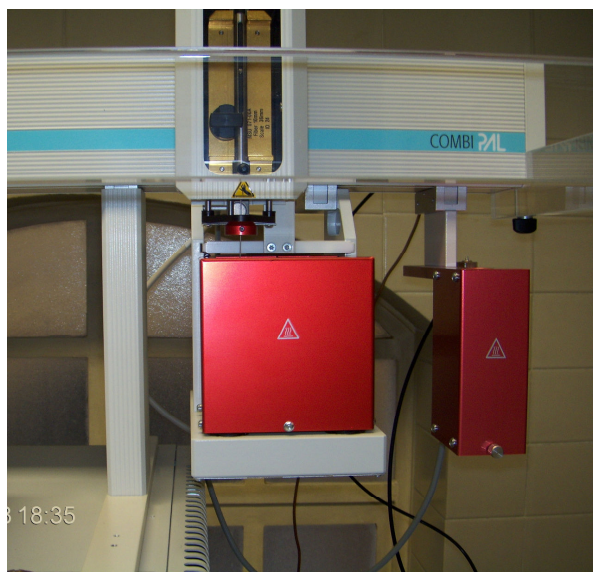


Figura 2.2 – Ilustração de uma extracção no amostrador automático Combipal MH 01-00B CTC, com a fibra de SPME inserida no *vial* que contém a amostra.

2.3 Análise cromatográfica

As análises cromatográficas foram realizadas num cromatógrafo gasoso FocusGC, equipado com um injector do tipo *split/splitless* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e uma coluna TR-5MS (30m x 0,25mm DI x 0,25 μ m espessura do filme). Utilizou-se como gás de arraste hélio de alta pureza (99,9999%), a uma pressão constante de 50 kPa. O injector foi mantido no modo *splitless* durante 3 minutos e a uma temperatura constante de 250 °C. A dessorção da fibra de SPME foi realizada no injector, durante 6 minutos. O programa de temperatura do forno, para todas as análises, foi o seguinte: temperatura inicial de 80 °C durante 5 minutos, seguida de um aquecimento a uma velocidade de 5 °C/min até atingir 300 °C, mantendo-se a esta temperatura durante 10 minutos.

2.4 Detecção por espectrometria de massa

A espectrometria de massa foi utilizada como método de detecção, associado à cromatografia gasosa. Foi utilizado um espectrómetro de massa do tipo *Ion Trap* PolarisQ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), no modo de ionização por impacto electrónico (EI), para uma detecção em MS-MS. A fonte de ionização e a linha de transferência foram mantidas a 250 e 280 °C, respectivamente. A emissão de corrente do

filamento de ionização utilizada foi de 250 μ A, gerando electrões com 70 eV. A voltagem do multiplicador de electrões utilizada foi de 1850 V, sendo por vezes necessário o seu ajuste, quando o equipamento apresentava perda de sensibilidade, de modo a garantir, no mínimo, uma contagem total de iões de aproximadamente 10^7 . A detecção no espectrómetro de massa era iniciada 5 minutos após o início da análise cromatográfica (*delay* = 5 min). O gás de colisão utilizado na câmara do *Ion Trap* foi também o hélio (99,9999%). O espectrómetro de massa foi calibrado frequentemente usando Perfluorotributilamina (PFTBA) através de um processo de *auto tune*. As restantes condições de MS-MS, relativas a cada pesticida estudado apresentam-se no capítulo seguinte, nas tabelas 3.2 e 3.9. Os dados cromatográficos foram adquiridos e tratados pelo software X-Calibur (versão 1.4).

Na figura 2.3 apresenta-se o todo o conjunto do equipamento utilizado.



Figura 2.3 – Imagem do equipamento utilizado: cromatógrafo gasoso FocusGC, espectrómetro de massa do tipo Ion Trap PolarisQ e amostrador automático Combipal MH 01-00B CTC, no momento em que decorre a dessorção da fibra, no injector do cromatógrafo.

3 Resultados e discussão

Neste capítulo, apresentar-se-á o desenvolvimento de duas metodologias para a determinação de resíduos de pesticidas em vinhos do Douro e vinhos do Porto, utilizando a técnica de SPME-GC-MS/MS. Os compostos estudados actuam, na sua maioria, como insecticidas/acaricidas e fungicidas.

O desenvolvimento dos dois métodos apresentados, para a determinação de pesticidas em vinhos, faz parte de um conjunto de estudos prévios com o objectivo final de desenvolver uma metodologia para uma determinação multiresíduo de pesticidas em vinhos, abrangendo o maior número de compostos possível com aplicação na agricultura. Numa fase inicial, foi desenvolvido um método para a determinação de oito pesticidas organofosforados (azinfos-metilo, clorpirifos, clorpirifos-metilo, diazinão, fenitrotião, fentião, malatião e metidatião), desenvolvendo-se posteriormente um método para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas (captana, clorotalonil, dicofol, folpete, iprodiona, procimidona e vinclozolina).

Alguns destes pesticidas não estão incluídos na Lista Positiva Comunitária (LPC – Anexo 1 da Directiva 91/414/CEE), apresentando prazos máximos, para retirada do mercado ou esgotamento de stocks, já ultrapassados ou próximos de expiração. Para o azinfos-metilo, o prazo para retirada do mercado expirou em 2006 (sem prazo para esgotamento de stocks); para o diazinão o prazo para retirada do mercado expirou em 2007 e para esgotamento de stocks em 2008; para o dicofol o prazo para retirada do mercado expirou em 2009 e para o esgotamento de stocks em 2010; para o fenitrotião o prazo para retirada do mercado expirou em 2007 e para esgotamento de stocks em 2008; para o fentião o prazo para retirada do mercado expirou em 2004 e para esgotamento de stocks em 2005; para o malatião, o prazo para retirada do mercado expirou em 2007 e para esgotamento de stocks em 2008; para o metidatião, o prazo para retirada do mercado expirou em 2004 e para esgotamento de stocks em 2004; para a vinclozolina, o prazo para retirada do mercado expirou em 2006 (sem prazo para esgotamento de stocks). Os restantes pesticidas estão incluídos na Lista Positiva Comunitária.

No entanto, a informação anterior não é uma garantia da ausência nos vinhos dos compostos estudados. Sendo o vinho um produto que pode ser consumido alguns anos depois de ser produzido, o tratamento fitofarmacêutico a que possa ter sido sujeita a cultura da vinha está condicionado pela regulamentação da época da sua produção. Por outro lado, o facto de determinados compostos não serem autorizados não é garantia de que esses compostos não são utilizados pelos produtores.

Ao nível da metodologia analítica e no que respeita à optimização da extracção e separação cromatográfica, foram adoptadas as mesmas condições para os dois métodos desenvolvidos, pois, apesar de não se apresentar neste trabalho, o objectivo final é desenvolver um método para a determinação, numa só corrida, do conjunto de todos os compostos estudados. Para a escolha das condições referidas, foram efectuados alguns estudos preliminares. No entanto, estudos realizados e publicados por outros autores serviram de referência na selecção das condições experimentais adoptadas.

A escolha da fibra de SPME é determinante na optimização do processo de extracção. As fibras de poliacrilato (PA) e de polidimetilsiloxano (PDMS) são das mais utilizadas, dependendo das características dos analitos. A fibra PA, sendo uma fibra polar, apresenta uma forte afinidade para compostos polares ao contrário da fibra PDMS, que sendo apolar, apresenta uma maior afinidade para compostos apolares. Contudo, quando se pretende desenvolver uma metodologia para a determinação do maior número possível de compostos, e havendo uma enorme variedade ao nível das características de cada fibra, é impossível adoptar condições que sejam as mais eficientes, ao nível da extracção, para cada um dos compostos. De acordo com alguns autores, a fibra PA é a mais adequada para a extracção dos pesticidas organofosforados, devido ao facto destes compostos serem polares [46, 75, 85]. No entanto, outros autores apresentam estudos onde obtêm melhores resultados para a extracção de alguns organofosforados com a fibra PDMS, quando comparados com os resultados obtidos para a fibra PA, nomeadamente para o fenitrotião [20], diazinão [86], malatião [87] e fentião [18]. Para além destes estudos, outros autores apresentam bons resultados para a extracção de pesticidas pertencentes a diferentes famílias químicas, com a fibra PDMS. Correia *et al.* [81] desenvolveram uma metodologia para a determinação dos pesticidas vinclozolina, clorpirifos, penconazol, folpete, procimidona, hexaconazol, nuarimol, bromopropilato, iprodiona, tetradifão e fenarimol, em vinhos recorrendo à extracção por SPME com a fibra PDMS. Usando ainda a mesma fibra, os mesmos autores desenvolveram uma metodologia para a determinação de outro grupo de 23 pesticidas, dos quais se destacam o malatião, o diazinão e o azinfos-metilo [80]. Vitali *et al.* [74] analisaram pesticidas (terbutilazina, vinclozolina, carbaril, malatião, paratião, procimidona, metidatião, captan, folpete, entre outros) em vinhos, seleccionando a fibra PDMS para a extracção.

Um outro aspecto importante na selecção da fibra, diz respeito ao tempo de extracção. A fibra PA requer mais tempo de extracção para que se atinjam as condições de equilíbrio [85]. De um modo geral tempos de extracção iguais ou inferiores a 60 minutos, utilizando a fibra PDMS, são suficientes para uma eficiente extracção. Assim, e dada a diversidade de compostos em causa no trabalho que se apresenta, optou-se por um tempo de

extração de 60 minutos. Seguindo as mesmas referências, foram seleccionados o tempo e temperatura de dessorção, assim como a temperatura de extração.

Não foram efectuados estudos de pH, adição de sal ou efeito de álcool pois o objectivo é analisar as amostras de vinho sem qualquer alteração das suas características.

As análises dos pesticidas foram efectuadas por cromatografia gasosa (GC) com detector MS/MS. As condições cromatográficas foram adaptadas do estudo apresentado por Vitali *et al.* [74], com ligeiras alterações, nomeadamente no patamar inicial, onde se mantém a temperatura de 80 °C por 5 e não 2 minutos e a temperatura final, alterada de 250 para 300 °C. Este aumento na temperatura final foi pensado para uma inclusão futura de pesticidas com massas moleculares elevadas, como os piretróides, que necessitam de temperaturas elevadas para a separação cromatográfica.

3.1 Desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organofosforados em vinhos do Douro e vinhos do Porto

O estudo apresentado neste trabalho teve início com o desenvolvimento do método para a determinação de pesticidas organofosforados, em vinhos do Douro e vinhos do Porto. O desenvolvimento deste método, cujos resultados se apresentam seguidamente, foi realizado para quatro matrizes diferentes: vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro, vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto.

3.1.1 Gama de concentrações e condições MS/MS adoptadas

Considerando as condições cromatográficas adaptadas a partir do método apresentado por Vitali *et al.* [74], e descritas anteriormente optimizaram-se as condições de detecção MS/MS para a determinação dos oito organofosforados as quais se apresentam na tabela 3.1. Os valores para o tempo de isolamento do ião precursor e para a energia de excitação adoptados são os valores assumidos por defeito pelo software. A voltagem de excitação e o ião precursor foram escolhidos após estudos prévios de optimização.

Tabela 3.1 - Condições de MS/MS adoptadas para o método proposto SPME-GC-MS/MS, para a determinação dos oito pesticidas organofosforados estudados.

Condições MS/MS					
Pesticida	Isolamento		Excitação		Fragmentos MS/MS (m/z)
	Ião precursor (m/z)	Tempo (s)	Voltagem (V)	Energia de excitação (V)	
Azinfos-metilo	132	12	1,2	0,3	104, 77, 132
Clorpirifos	314	12	1,1	0,3	286, 258
Clorpirifos-metilo	286	12	1,2	0,3	271, 241, 208, 172
Diazinão	179	12	1,4	0,3	137, 164, 122
Fenitrotião	260	12	1,2	0,3	228, 150, 125, 109
Fentião	278	12	1,2	0,3	245, 135, 151
Malatião	173	12	1,4	0,3	99, 117, 127, 145
Metidatião	145	12	1,4	0,3	85, 58

A quantificação de cada um dos oito pesticidas organofosforados foi efectuada através da contagem total dos iões resultantes da fragmentação do ião precursor, à excepção do azinfos-metilo e do metidatião. Para a quantificação do azinfos-metilo foi considerado o fragmento 104 e para a quantificação do metidatião foi utilizado o fragmento 85.

Os iões resultantes da fragmentação do ião precursor, apresentados na tabela 3.1, são os iões que apresentam maior abundância relativa, para cada um dos compostos.

Usando as condições cromatográficas descritas, apresentam-se na tabela 3.2 as gamas de concentrações usadas para traçar as rectas de calibração para cada um dos pesticidas organofosforados estudados, assim como os respectivos limites máximos impostos pela regulamentação europeia e os respectivos tempos de retenção.

Os limites máximos de resíduos considerados, referem-se aos limites estipulados para as uvas, mais especificamente para as uvas para vinho, quando o limite destas é diferente do limite estipulado para uvas de mesa.

Assim, as gamas de concentrações foram escolhidas de modo a permitir a quantificação dos pesticidas em níveis inferiores, tanto quanto possível, aos limites máximos de resíduos estabelecidos, uma vez que a probabilidade de uma diminuição da concentração de pesticidas durante o processo de vinificação é elevada. Importa assim nunca esquecer que os limites não são relativos ao vinho, servindo por isso apenas como

orientação. Os tempos de retenção foram obtidos através da análise cromatográfica com detecção MS, de padrões individuais concentrados de cada um dos pesticidas, seguida da confirmação dos espectros de massa, obtidos para cada composto, recorrendo à livreria de espectros NIST.

Tabela 3.2 - Gamas de concentrações adoptadas para a determinação dos oito pesticidas organofosforados em todas as matrizes testadas, respectivos tempos de retenção e LMR's em uvas para vinho (Regulamento (CE) No 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho).

Pesticida	Tempo de retenção (min)	Gama de concentrações usadas ($\mu\text{g/L}$)	LMR ($\mu\text{g/kg}$)
Azinfos-metilo	43,95	3,00 – 78,43	50
Clorpirifos	32,88	1,20 – 31,37	500
Clorpirifos-metilo	30,98	0,06 – 1,57	200
Diazinão	28,75	0,15 – 3,92	10
Fenitrotião	32,40	0,30 – 7,84	10
Fentião	32,86	0,15 – 3,92	10
Malatião	32,87	0,75 – 19,61	5000
Metidatião	35,77	3,75 -98,04	20

As propriedades físico-químicas destes pesticidas encontram-se descritas na tabela K1 do anexo K.

3.1.2 Rectas de calibração e limites de detecção e quantificação obtidos

Nas tabelas 3.3 a 3.6, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos oito pesticidas, em cada uma das quatro matrizes. Apresentam-se também os respectivos coeficientes de correlação assim como os limites de detecção e quantificação obtidos.

As rectas de calibração apresentadas foram obtidas através da fortificação de amostras de lotes de vinho com seis níveis de concentração diferentes e quatro preparações por nível de concentração, com a excepção do malatião em vinho tinto do Porto. Para este composto, na matriz indicada, foram fortificadas amostras com apenas cinco níveis de concentração, com quatro preparações por nível de concentração. Tal facto deve-se à ocorrência de problemas na quantificação do padrão mais concentrado (problemas com o equipamento), análises estas que não puderam ser repetidas devido à falta de tempo.

Para a representação gráfica das rectas de calibração, foram utilizadas as áreas dos picos obtidos para cada um dos compostos (Y), em função da concentração dos respectivos padrões utilizados (X).

Os limites de detecção e quantificação foram calculados da seguinte forma [88]:

$$LD = \frac{3.3 * S_{y/x}}{m} \mu\text{g/L} \qquad LQ = \frac{10 * S_{y/x}}{m} \mu\text{g/L}$$

onde $S_{y/x}$ representa o desvio padrão associado ao declive da recta de calibração, cujo declive é representado por m .

A quantificação recorrendo à técnica de SPME pode ser efectuada com recurso aos métodos tradicionais de calibração, nomeadamente método do padrão externo, método da adição padrão e método do padrão interno. O método do padrão interno permite compensar o efeito provocado pela matriz assim como possíveis perdas de analito. No entanto, os compostos utilizados como padrões internos não se encontram disponíveis para a maioria dos analitos e, para além disso, são dispendiosos. O método da adição padrão, apesar de compensar o efeito provocado pela matriz, requer grandes quantidades de amostra e demasiado tempo de análise [56]. Optou-se assim pelo método do padrão externo dado que não requer grandes quantidades de amostra, não apresenta grandes custos associados e é de simples aplicação. O efeito de matriz foi atenuado através da utilização da própria matriz para a construção das rectas de calibração.

Tabela 3.3 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho branco do Porto.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite de Detecção (µg/L)	Limite de Quantificação (µg/L)
Azinfos-metilo	Y = 668,4+216,3*X	0,9939	6,9	20,9
Clorpirifos	Y = 407114,0+638005,0*X	0,9923	3,2	9,8
Clorpirifos-metilo	Y = 19300,4+396364,0*X	0,9903	0,2	0,6
Diazinão	Y = 1041,2+2742,1*X	0,9891	0,5	1,5
Fenitrotião	Y = 5989,7+30211,4*X	0,9988	0,3	1,0
Fentião	Y = 12556,7+142201,0*X	0,9933	0,4	1,1
Malatião	Y = 135016,0+49739,6*X	0,9739	3,7	11,1
Metidatião	Y = 247,9+47,4*X	0,9850	14,3	43,3

Tabela 3.4 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho branco do Douro.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite de Detecção (µg/L)	Limite de Quantificação (µg/L)
Azinfos-metilo	$Y = -197,3+391,0*X$	0,9947	6,8	20,7
Clorpirifos	$Y = 542700,0+1,3e+006*X$	0,9949	2,6	7,9
Clorpirifos-metilo	$Y = 11104,4+979641,0*X$	0,9977	0,1	0,3
Diazinão	$Y = 2627,9+1912,1*X$	0,9330	1,2	3,7
Fenitrotião	$Y = -1808,2+59125,1*X$	0,9968	0,5	1,6
Fentião	$Y = 17826,2+461177,0*X$	0,9949	0,3	0,9
Malatião	$Y = 39480,2+105694,0*X$	0,9941	1,7	5,2
Metidatião	$Y = -2,2+84,9266,0*X$	0,9949	7,7	23,4

Tabela 3.5 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho tinto do Porto.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite de Detecção (µg/L)	Limite de Quantificação (µg/L)
Azinfos-metilo	$Y = 362,3+302,5*X$	0,9980	4,2	12,8
Clorpirifos	$Y = 185711,0+729362,0*X$	0,9973	1,8	5,5
Clorpirifos-metilo	$Y = 12715,8+436552,0*X$	0,9968	0,1	0,3
Diazinão	$Y = 1535,6+6238,1*X$	0,9902	0,5	1,4
Fenitrotião	$Y = 7251,7+29212,2*X$	0,9990	0,3	0,8
Fentião	$Y = 3336,8+156736,0*X$	0,9942	0,3	1,0
Malatião	$Y = 205065,0+105054,0*X$	0,9777	1,7	5,3
Metidatião	$Y = 140,4+74,3*X$	0,9957	7,0	21,1

Tabela 3.6 - Rectas de calibração para cada pesticida organofosforado e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos para amostras do lote de vinho tinto do Douro.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite de Detecção (µg/L)	Limite de Quantificação (µg/L)
Azinfos-metilo	Y = -4,5+239,4*X	0,9943	7,1	21,4
Clorpirifos	Y = 580111,0+1,0e+006*X	0,9960	2,3	7,0
Clorpirifos-metilo	Y = 10107,7+730067,0*X	0,9990	0,1	0,2
Diazinão	Y = 2451,6+3954,6*X	0,9822	0,6	1,8
Fenitrotião	Y = 167,8+42808,8*X	0,9991	0,3	0,8
Fentião	Y = 11864,6+323893,0*X	0,9939	0,4	1,1
Malatião	Y = 194267,0+65994,2*X	0,9900	2,2	6,7
Metidatião	Y = 44,8+80,2*X	0,9925	10,1	30,6

Analisados os resultados apresentados nas quatro tabelas anteriores, pode concluir-se que se obteve boa linearidade nas gamas de concentrações escolhidas, para a maioria dos compostos. Obtiveram-se coeficientes de correlação (R²) superiores a 0,99 para quase todos os pesticidas. Os valores de R² mais baixos foram obtidos para o diazinão em vinho branco do Douro (0,9330) e para o malatião em vinho branco do Porto (0,9739) e vinho tinto do Porto (0,9777). Estes resultados podem estar associados a uma maior instabilidade dos mesmos compostos em meio ácido, característica das matrizes em causa, quando comparados com os restantes pesticidas organofosforados. Para o diazinão, este efeito é mais pronunciado dado que o tempo de meia vida deste composto é de 11,77 horas , em meio ácido (pH 3,1) e a uma temperatura de 20 °C [89].

Relativamente aos limites de detecção e quantificação, pode considerar-se que se obtiveram bons resultados para todos os pesticidas em estudo, com a excepção do metidatião. Os limites de quantificação obtidos para este composto, em todas as matrizes estudadas, apresentaram valores superiores ao limite máximo permitido pela regulamentação europeia, para uvas. Contudo, os limites de detecção para o mesmo composto apresentam valores inferiores ao LMR, em todas as matrizes. Assim, uma vez que o método desenvolvido permite a detecção deste composto, se este se encontrar em

concentrações inferiores ao limite de quantificação terá que ser quantificado por outro método mais sensível.

O limite de detecção mais baixo que se obteve foi de 0,05 µg/L para o clorpirifos-metilo em vinho tinto do Douro e o valor mais elevado foi de 13,00 µg/L, obtido para o metidatião, em vinho branco do Porto. O limite de quantificação mais baixo que se obteve foi de 0,18 µg/L, também para o clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Douro e o valor mais alto foi de 43,32 µg/L, obtido para metidatião em vinho branco do Porto.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados, como foi já referido anteriormente, considerando o desvio padrão associado ao declive das respectivas rectas de calibração. No entanto, poderiam obter-se limites mais baixos se calculados de outra forma, tais como através do desvio associado à ordenada na origem. Uma terceira forma de se obterem os limites de detecção e quantificação poderia ser através da razão sinal/ruído obtida para cada composto, em cada uma das matrizes. O limite de detecção seria o valor de concentração para o qual se obteria uma razão sinal/ruído de 3 e o limite de quantificação seria o valor de concentração para o qual se obteria uma razão sinal/ruído de 10. Desta forma, conseguir-se-iam também limites mais baixos do que aqueles apresentados. No entanto, não seria possível manter sempre os mesmos limites uma vez que a resposta do aparelho apresenta variações de dia para dia. As concentrações para as quais se obteriam razões sinal/ruído de 3 e 10 não seriam sempre constantes.

As figuras 3.1 a 3.8, ilustram, a título de exemplo, os cromatogramas obtidos para cada pesticida em que se assinalam os picos correspondentes a cada composto, com indicação da área e razão sinal/ruído.

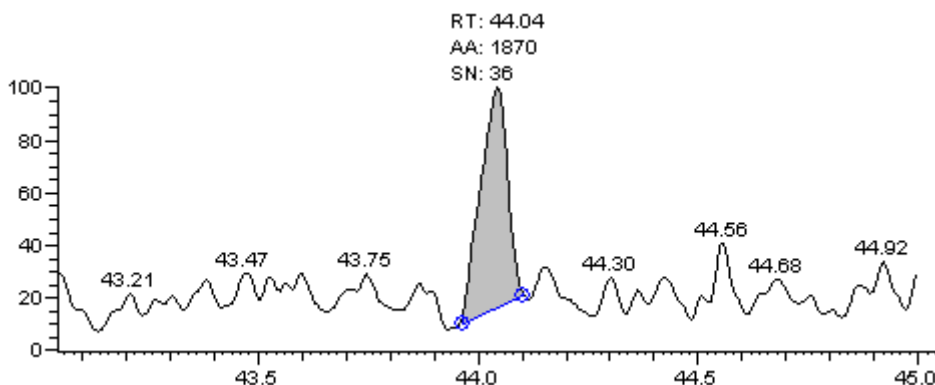


Figura 3.1 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o azinfos-metilo, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 9,98 µg/L.

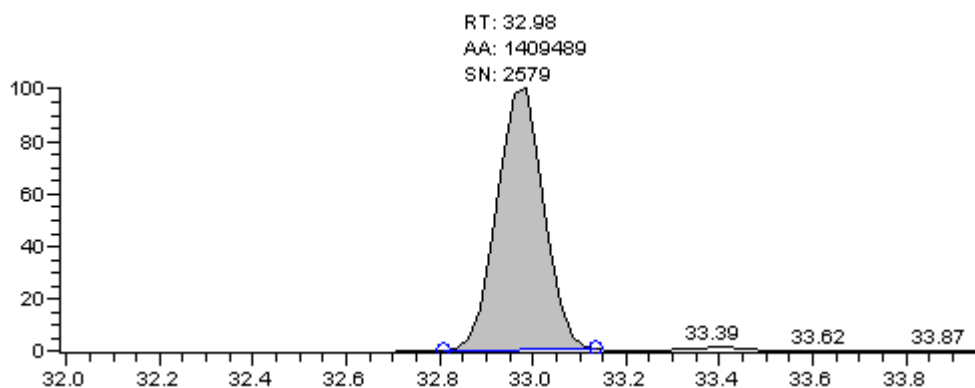


Figura 3.2 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o clorpirifos, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,20 µg/L.

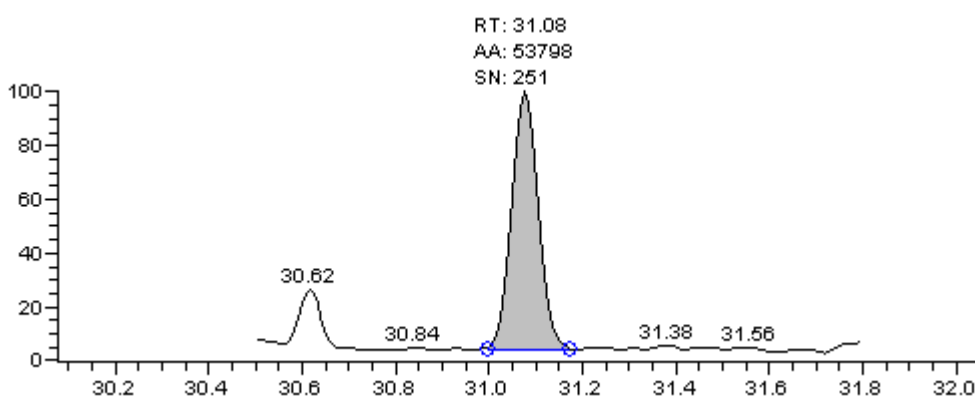


Figura 3.3 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o clorpirifos-metilo, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,06 µg/L.

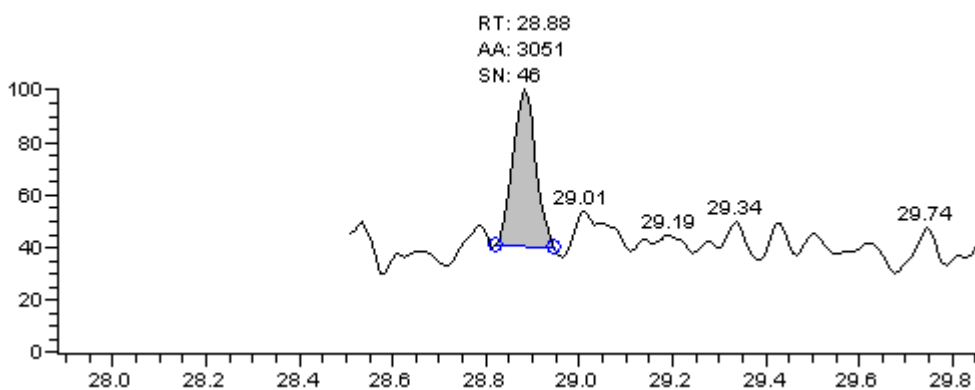


Figura 3.4 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o diazinão, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,15 µg/L.

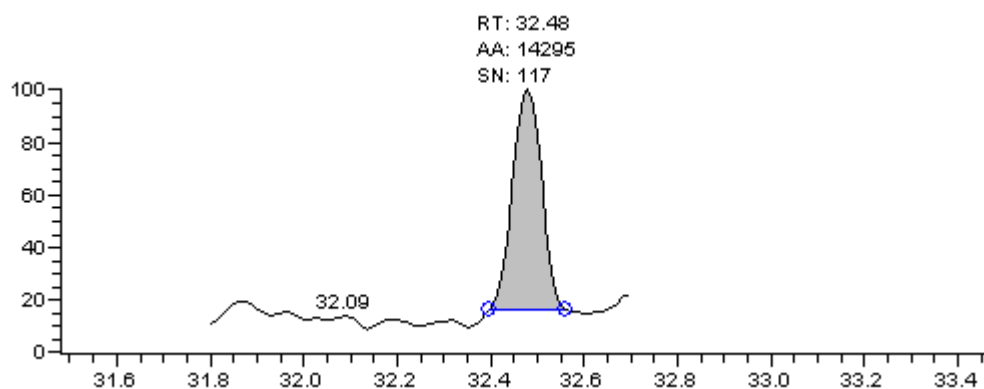


Figura 3.5 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o fenitrotião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,30 µg/L.

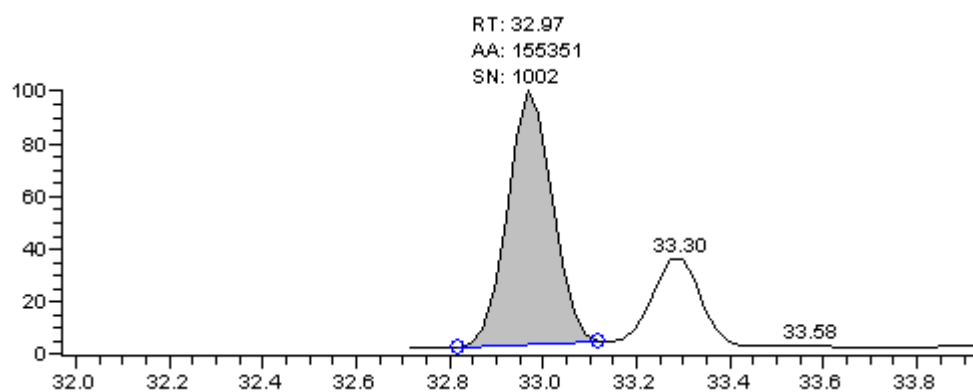


Figura 3.6 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o fenitrothion, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,15 µg/L.

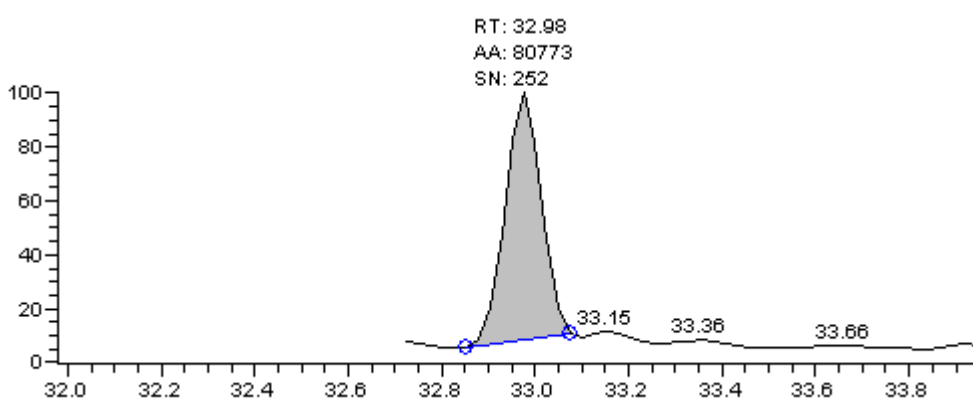


Figura 3.7 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o malatião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 0,75 µg/L.

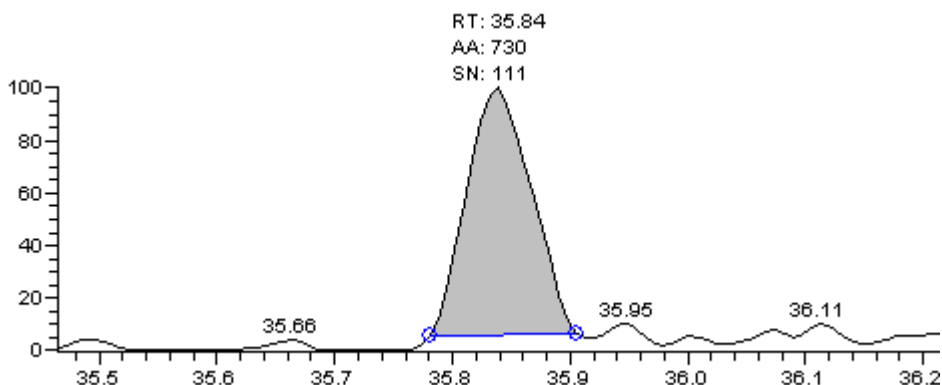


Figura 3.8 – Cromatograma obtido por GC-MS/MS para o metidatião, em vinho branco do Douro, fortificado com uma concentração de 12,47 µg/L.

Analisadas as figuras acima apresentadas, verifica-se facilmente que é possível a obtenção de limites de detecção e quantificação mais baixos do que os limites apresentados inicialmente.

Analisando a figura 3.8, que ilustra o sinal obtido para o metidatião (composto com os limites de detecção e quantificação mais críticos), em vinho branco do Douro para uma concentração de 12,47 µg/L, conclui-se facilmente que o composto é quantificável e detectável abaixo dos limites obtidos, recorrendo a outros métodos para o cálculo dos mesmos limites.

No entanto, quaisquer limites de detecção e quantificação considerados necessitam de ser validados, o que não aconteceu neste caso. Os limites obtidos através dos desvios associados aos declives das rectas de calibração consideram-se valores possíveis necessitando de estudos ao nível da repetibilidade e precisão intermédia para uma validação inicial.

Considerando os limites máximos de resíduos impostos pela regulamentação europeia, deve ter-se em conta que estes valores foram tomados apenas como orientação. Para além de se aplicarem a uvas e não a vinho, são expressos em unidades de massa de pesticida por unidade de massa de uva. Por outro lado, os limites de detecção e quantificação do método são expressos em unidade de massa de pesticida por unidade de volume de vinho.

Segundo Otteneder et al. [43], um limite de pesticidas no vinho correspondente a 1/10 do respectivo limite para uvas, seria aceitável. Considerando esta aproximação e os limites de quantificação obtidos para o método proposto, apesar de não terem sido validados, verifica-se a possibilidade de garantir o cumprimento destes limites de pesticidas sugeridos para o vinho, para a maioria dos compostos, à excepção do azinfos-metilo, do

diazinão e do metidatião. Para este último, não se esperaria outra coisa uma vez que, através do método proposto, nem o cumprimento dos limites regulamentados para as uvas se consegue garantir.

3.1.3 Efeito de matriz – Comparação entre as diferentes matrizes estudadas

Um importante aspecto que deve ser considerado ao longo do desenvolvimento de um método de determinação multiresíduo é o efeito de matriz. Este efeito, que ocorre na presença de determinada matriz, pode provocar uma diminuição ou aumento no sinal obtido para um determinado analito, quando comparado com o sinal obtido para uma solução do mesmo analito livre dos componentes da matriz em causa. O efeito de matriz depende de vários factores, entre os quais o número e tipo de centros activos na coluna do cromatógrafo gasoso, a natureza do pesticida, a composição da própria matriz, entre outros. A diluição das amostras é uma forma de diminuir o efeito de matriz. Contudo, e no caso particular deste estudo, a diluição de uma amostra de vinho com uma baixa concentração em pesticidas, poderia implicar a impossibilidade de quantificar os compostos presentes devido à não obtenção ou obtenção duvidosa de um sinal.

Ilustra-se, de seguida, da figura 3.9 à figura 3.16, o efeito provocado por cada uma das quatro matrizes estudadas no sinal obtido para cada um dos oito pesticidas organofosforados.

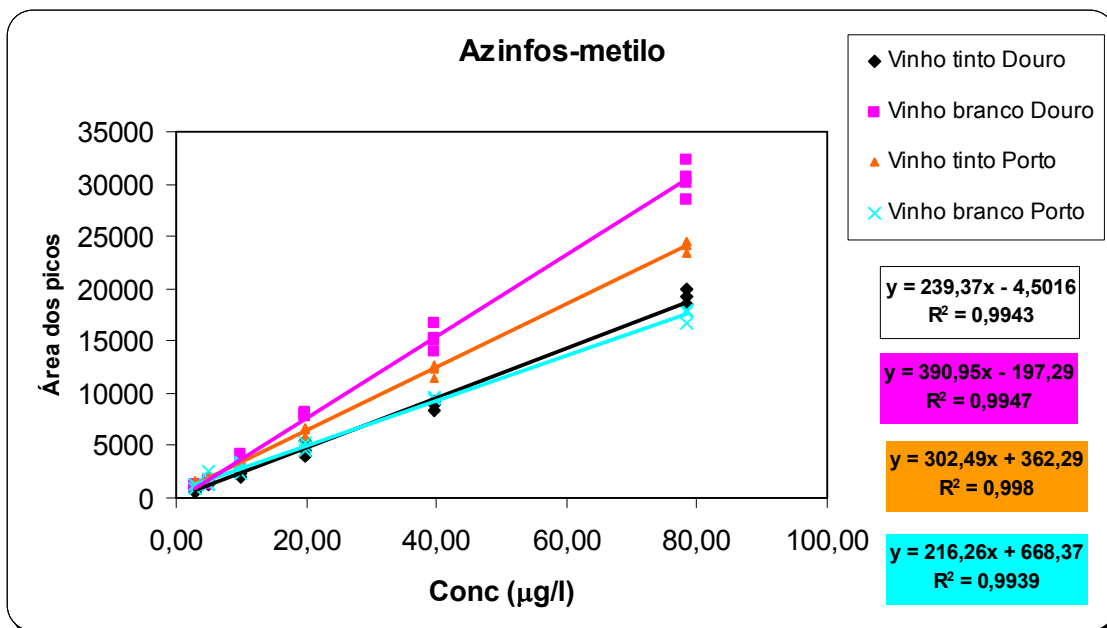


Figura 3.9 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o azinfos-metilo.

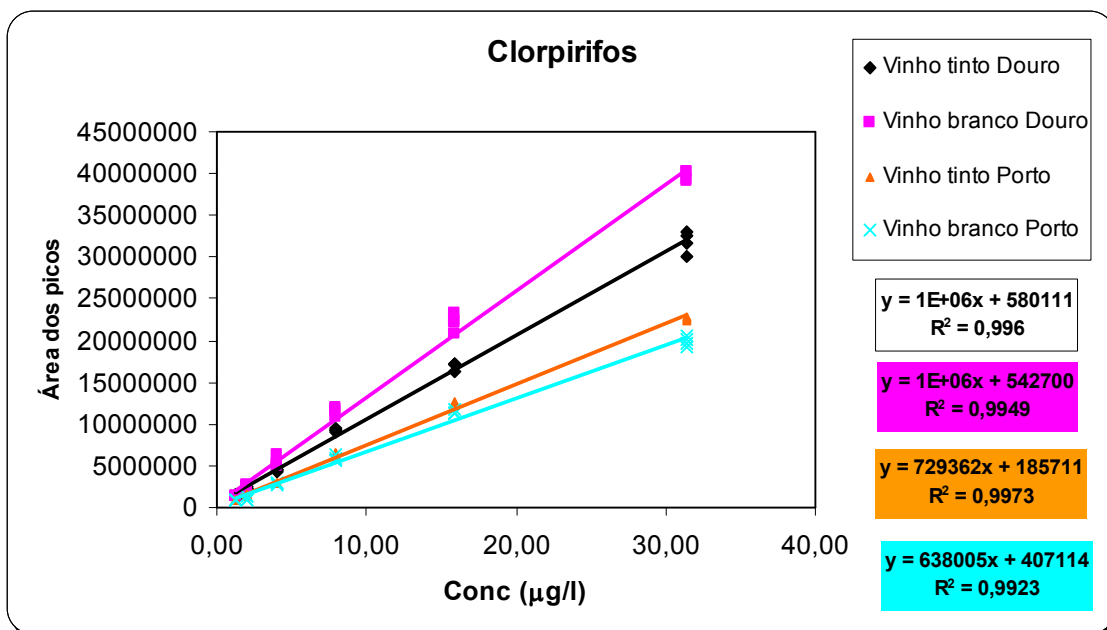


Figura 3.10 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o clorpirifos.

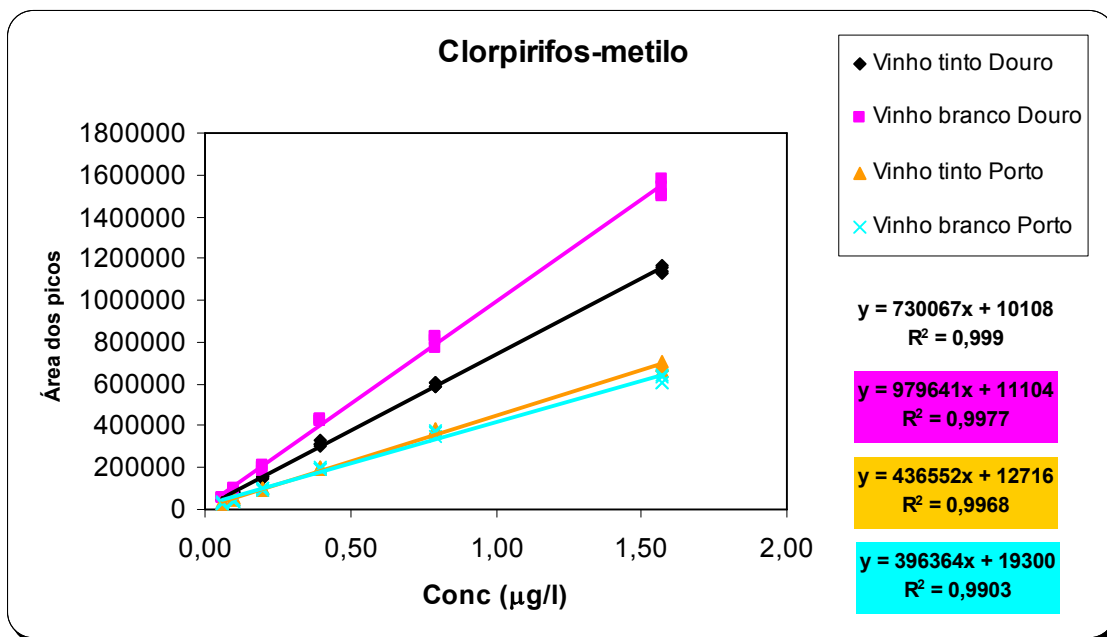


Figura 3.11 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o clorpirifos-metilo.

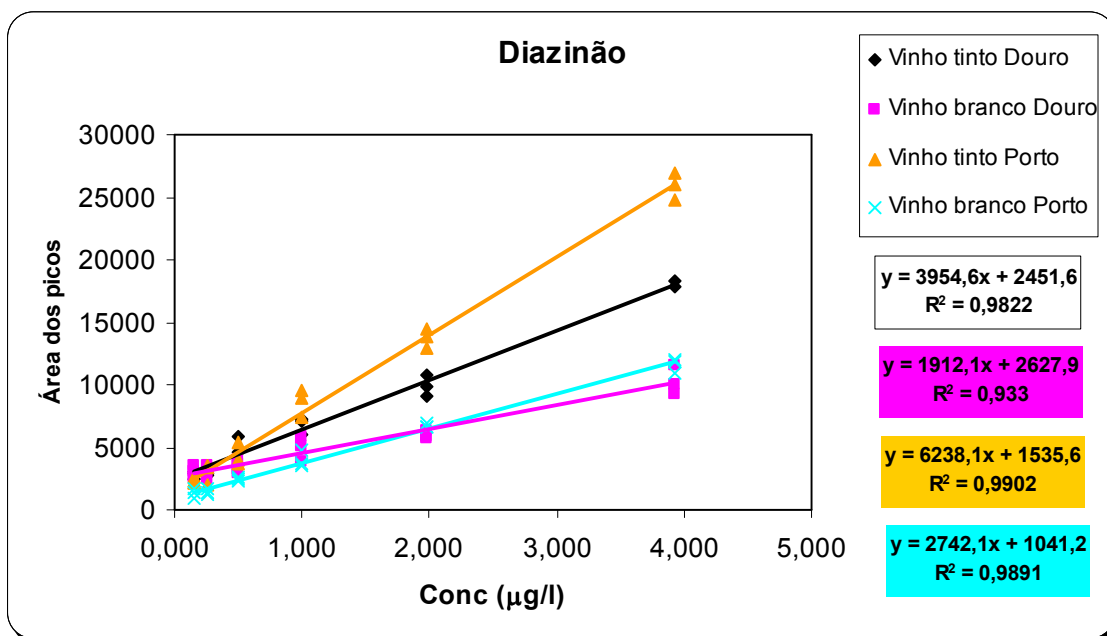


Figura 3.12 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o diazinão.

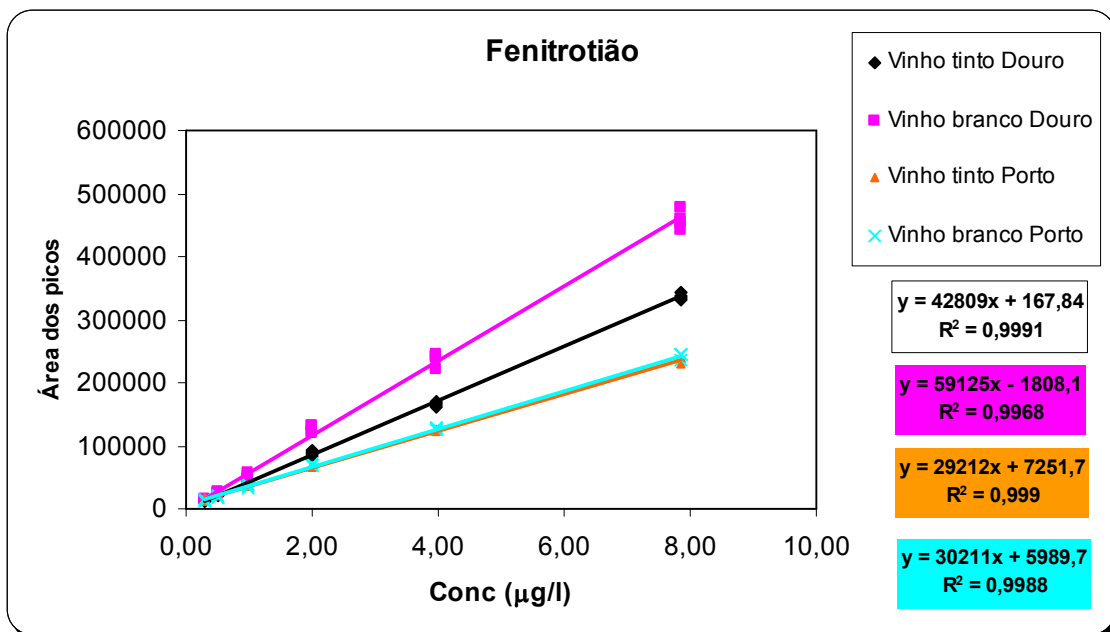


Figura 3.13 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o fenitrotião.

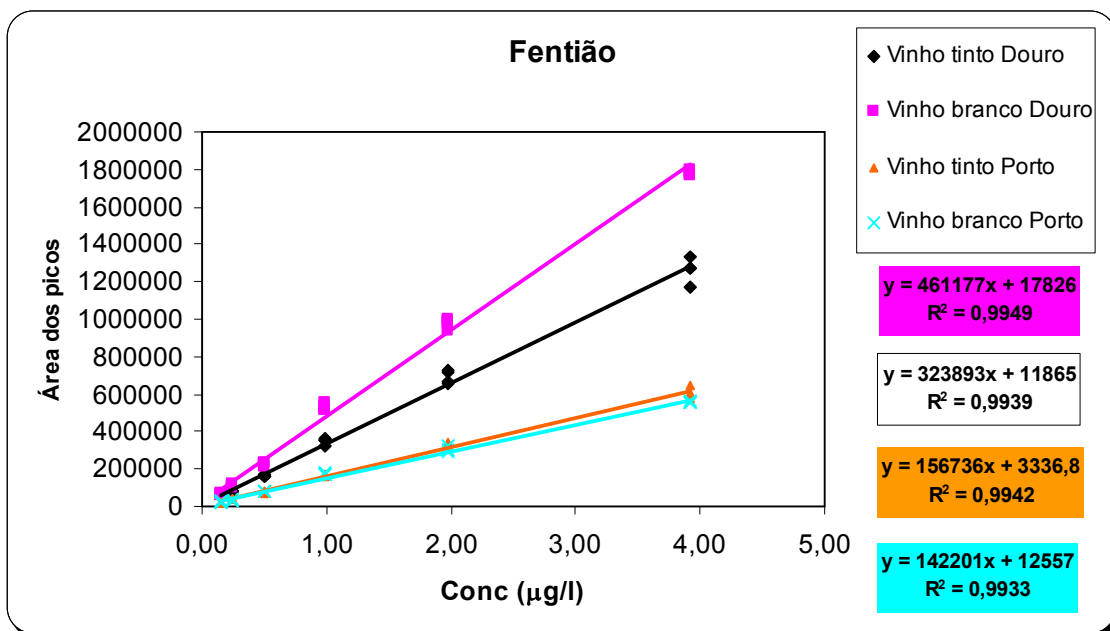


Figura 3.14 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o fentião.

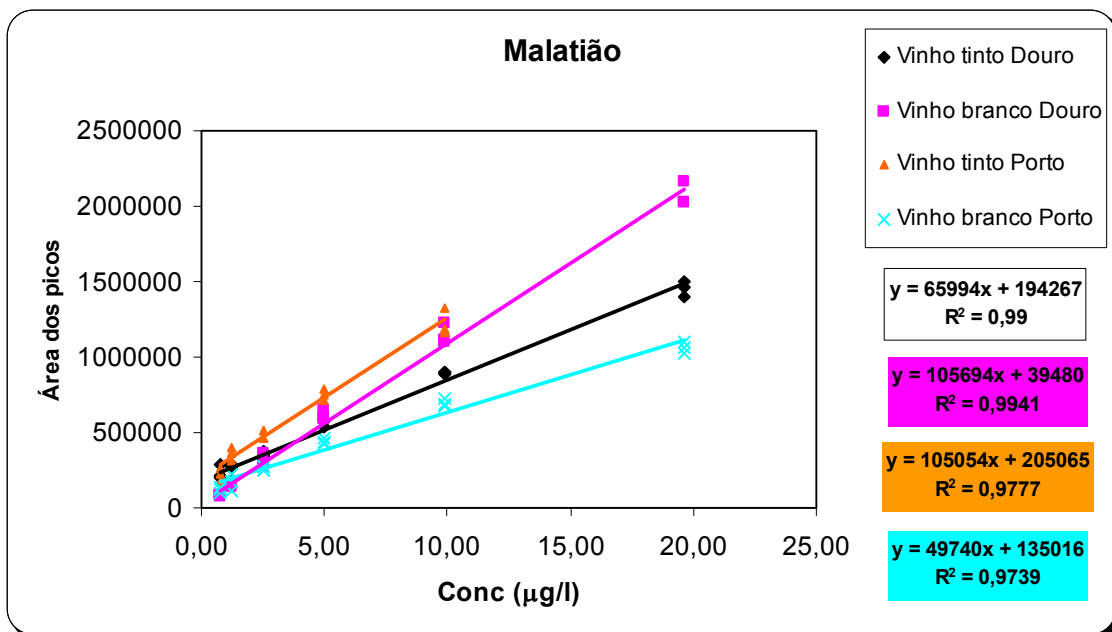


Figura 3.15 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o malatião.

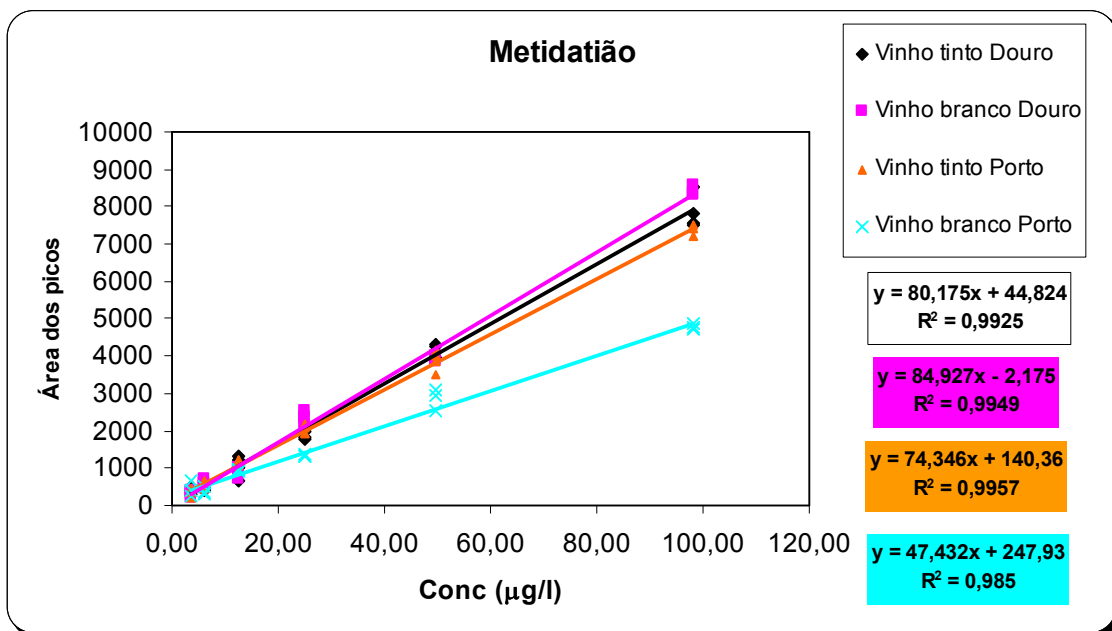


Figura 3.16 - Efeito de matriz: rectas de calibração obtidas para cada uma das quatro matrizes estudadas, para o metidatião.

Conhecidas as principais características das matrizes em estudo, apresentadas na tabela 2.1, esperar-se-ia, de uma forma geral, a obtenção dos sinais analíticos mais elevados na

matriz vinho branco do Douro e a obtenção dos sinais mais baixos na matriz vinho tinto do Porto. Em primeiro lugar, os vinhos do Porto apresentam uma maior quantidade de álcool e açúcar quando comparados com os vinhos do Douro, tornando a matriz Porto mais complexa. Por outro lado, quando se comparam vinhos brancos e tintos, verifica-se também uma diferença ao nível da composição da matriz. Os vinhos tintos apresentam uma composição mais complexa, em grande parte, devido à presença dos taninos, característicos destas matrizes.

No entanto, analisadas as figuras e comparados os resultados obtidos para cada composto, verifica-se que nem sempre se obtêm os sinais mais elevados para a matriz menos complexa.

Ainda assim, conclui-se que seis dos oito organofosforados estudados (azinfos-metilo, clorpirifos, clorpirifos-metilo, fenitrotião, fentião e metidatião) apresentam sinais mais altos para a matriz vinho branco do Douro. Tal não se verifica para o diazinão e malatião, que apresentam os sinais mais elevados para a matriz vinho tinto do Porto. No entanto, os melhores sinais obtidos nem sempre estão associados aos melhores coeficientes de correlação (R^2). Dos seis organofosforados, cujos sinais mais altos se observaram para a matriz vinho branco do Douro, apenas o fentião apresenta o melhor R^2 para a mesma matriz. Os pesticidas azinfos-metilo, clorpirifos e metidatião apresentam os coeficientes de correlação mais altos para a matriz vinho tinto do Porto. Os pesticidas clorpirifos-metilo e fenitrotião apresentam os coeficientes de correlação mais altos para a matriz vinho tinto do Douro. Dos pesticidas diazinão e malatião, que apresentam os sinais mais altos para a matriz vinho tinto do Porto, apenas o primeiro apresenta também os valores mais altos de R^2 para a mesma matriz. O malatião apresenta o valor mais alto de R^2 para a matriz vinho branco do Douro.

Os sinais mais baixos verificam-se, para a maioria dos compostos (azinfos-metilo, clorpirifos, clorpirifos-metilo, fentião, malatião e metidatião), para a matriz vinho branco do Porto. Os mesmos compostos apresentam também para a matriz vinho branco do Porto os valores mais baixos de R^2 . O diazinão e o fenitrotião apresentam os sinais mais baixos para a matriz vinho branco do Douro e vinho tinto do Porto, respectivamente. Estes dois pesticidas apresentam o valor mais baixo de R^2 , para a matriz vinho branco do Douro.

Quatro dos compostos estudados (clorpirifos, clorpirifos-metilo, fentião e metidatião) apresentam comportamento semelhante na presença de cada uma das quatro matrizes estudadas. Este grupo de compostos apresenta os sinais mais elevados na matriz vinho branco do Douro, seguida da matriz vinho tinto do Porto, em terceiro lugar a matriz vinho tinto do Douro e finalmente a matriz vinho branco do Porto, para a qual se observam os sinais mais baixos.

Os restantes quatro compostos (azinfos-metilo, diazinão, fenitrotião e malatião) não apresentam um comportamento tão semelhante entre si, quando se varia de matriz. No entanto, o fenitrotião apresenta os piores resultados para os vinhos do Porto, tal como os pesticidas clorpirifos, clorpirifos-metilo, fentião e metidatião. O azinfos-metilo e o malatião apresentam os sinais mais baixos para a matriz vinho tinto do Douro e para a matriz vinho branco do Porto, respectivamente. O diazinão é o único composto que apresenta os sinais mais baixos para a matriz vinho branco do Douro.

No caso do diazinão, a maior acidez presente no vinho branco do Douro, quando comparado com os outros vinhos, pode ser uma justificação para os resultados obtidos. No entanto, dada a complexidade da constituição das matrizes em estudos, são vários os factores que podem influenciar o processo de extracção dos compostos em estudo.

Segundo alguns estudos efectuados com o objectivo de desenvolver metodologias de análise de pesticidas em vinho [80;81], o aumento do teor de álcool influencia negativamente a extracção de pesticidas, de um modo geral. No entanto, nem todos os compostos apresentam essa tendência, como se pode verificar através dos resultados obtidos. Por outro lado, quando se varia a matriz há um conjunto de parâmetros que variam também. Não só a quantidade de álcool é alterada, como também outros constituintes que variam de vinho para vinho, como foi já referido anteriormente. Quando se muda de uma matriz Douro para uma matriz Porto, altera-se a percentagem de álcool presente no vinho, assim como também a quantidade de açúcar. Como tal, a tendência verificada para cada composto, nas referidas matrizes, não pode ser atribuída a um só factor, com o prejuízo de se subvalorizar o outro.

O facto de se verificarem sinais analíticos mais baixos para os vinhos tintos do Douro quando comparados com os vinhos brancos do Douro e para os vinhos tintos do Porto quando comparados com os brancos do Douro, poder-se-ia associar ao aumento da complexidade da matriz devido à presença de taninos. Contudo, este factor não afecta todos os compostos da mesma forma.

A relativa instabilidade dos pesticidas organofosforados é uma característica apreciada tendo em vista a protecção do ambiente e da saúde. No entanto, e devido também às diferenças existentes entre estes compostos, a eficácia na determinação dos mesmos varia de composto para composto. [90].

3.1.4 Estudos de repetibilidade e precisão intermédia

Na tabela 3.7 apresentam-se os resultados obtidos para os estudos de repetibilidade e precisão intermédia, para cada um dos compostos estudados e nas quatro matrizes consideradas. Os estudos foram realizados para um nível de concentração de pesticidas, situado a meio da gama de concentrações usada para traçar as curvas de calibração, através da fortificação de amostras de lotes de vinho.

Os valores de repetibilidade, expressos em termos de desvio padrão relativo (RSD, %), foram obtidos a partir da análise de, pelo menos, quatro preparações independentes, em cada uma das matrizes, no mesmo dia.

Os valores de precisão intermédia, expressos em (RSD, %), foram obtidos a partir da análise de seis preparações independentes, em cada uma das matrizes. As seis preparações, consideradas para o estudo da precisão intermédia, foram analisadas em dias diferentes.

Tabela 3.7 - Valores de repetibilidade (R.) e precisão intermédia (P.I.), expressos em RSD (%), obtidos para os pesticidas organofosforados, em todos os vinhos testados, e respectiva concentração de cada pesticida.

Pesticida	Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
		R. (RSD%)	P.I. (RSD%)	R. (RSD%)	P.I. (RSD%)	R. (RSD%)	P.I. (RSD%)	R. (RSD%)	P.I. (RSD%)
Azinfos-metilo	39,60	6,4	12,2	18,0	9,7	20,2	6,7	13,7	14,6
Clorpirifos	15,84	9,7	14,3	8,2	13,2	10,1	12,5	5,0	7,6
Clorpirifos-metilo	0,79	2,7	4,1	2,6	1,5	3,0	2,7	4,8	3,2
Diazinão	1,98	25,2	6,1	8,7	10,1	10,0	5,9	8,7	10,6
Fenitrotião	3,96	29,0	21,7	41,8	19,9	16,8	37,5	23,7	31,4
Fentião	1,98	3,8	3,8	8,1	5,2	9,6	4,8	9,5	3,6
Malatião	9,90	6,3	11,6	10,7	9,3	10,0	9,7	7,1	6,3
Metidatião	49,50	8,9	12,2	4,3	7,4	10,3	11,1	16,0	18,3

Analisados os resultados apresentados na tabela anterior podem tirar-se algumas conclusões. Relativamente aos valores de repetibilidade pode considerar-se que se obtiveram bons resultados, considerando os critérios apresentados no documento SANCO/2007/3131 [91]. Obtiveram-se valores de RSD iguais ou inferiores a 20% (valor máximo considerado aceitável, pelo referido documento) em todos os testes efectuados, com a excepção do fenitrotião em vinho branco do Douro (29,0%), vinho tinto do Douro (41,8%) e vinho tinto do Porto (23,7%) e do diazinão em vinho branco do Douro (25,2%).

Alguns pesticidas estudados apresentaram valores de RSD inferiores a 5%, sendo que o valor mais baixo foi obtido para o clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Douro (2,6%). O valor mais alto, verificado ao longo do estudo da repetibilidade, foi obtido para o fenitrotião (41,8%), em vinho tinto do Douro.

Foram obtidos, também, bons resultados para a precisão intermédia, tendo como orientação o documento SANCO/2007/3131, referido anteriormente. A maioria dos valores obtidos de RSD é igual ou inferior a 20%. O valor mais baixo, para a precisão intermédia, foi obtido para o clorpirifos-metilo (1,5%), em vinho tinto do Douro. Por outro lado, o valor mais elevado foi obtido para o fenitrotião (37,5%), em vinho branco do Porto.

Quando comparados os valores de repetibilidade com os valores de precisão intermédia obtidos, seria de esperar que os primeiros fossem inferiores aos segundos, uma vez que para o estudo da repetibilidade se mantêm sempre as mesmas condições de análise e para o estudo da precisão intermédia se varia pelo menos uma condição.

No entanto, é extremamente difícil manter uma sequência de trabalho, em condições de repetibilidade. São necessárias duas horas para a análise de uma única amostra, sendo necessárias doze horas para a análise de uma sequência de seis amostras, preparada para o estudo da repetibilidade. Neste espaço de tempo, a fibra de PDMS, o *liner* do injector, a coluna e o detector vão ficando sujos e perdendo sensibilidade.

Por outro lado, o estudo da precisão intermédia, apesar de decorrer em dias diferentes, decorre em condições semelhantes de dia para dia. É feita a manutenção do equipamento antes de cada sequência de trabalho, pelo que as condições no início de cada análise são semelhantes e a sensibilidade que se vai perdendo para o mesmo dia, ocorre de modo semelhante para todos os dias.

Tal facto pode explicar a obtenção de resultados para a precisão intermédia mais baixos do que os resultados obtidos para a repetibilidade, para o mesmo pesticida, na mesma matriz.

3.2 Desenvolvimento de um método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas em vinhos do Douro e vinhos do Porto

Apresentam-se, de seguida, os resultados obtidos ao longo do desenvolvimento do método para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas, em vinhos do Douro e vinhos do Porto. O desenvolvimento deste método, à semelhança do método desenvolvido para a determinação de pesticidas organofosforados, foi realizado para quatro matrizes diferentes: vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro, vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto.

3.2.1 Gama de concentrações e condições MS/MS adoptadas

Na tabela 3.8 apresentam-se as gamas de concentrações, para cada pesticida, usadas para traçar as rectas de calibração, assim como os respectivos limites máximos impostos pela regulamentação europeia e os respectivos tempos de retenção, nas condições de cromatografia adoptadas e descritas anteriormente.

Não foi possível adoptar a mesma gama de concentrações para traçar as diversas rectas de calibração, em todas as matrizes consideradas, para dois dos compostos incluídos neste novo grupo de pesticidas estudados. O pesticida captana apresentou um factor de resposta inferior para as matrizes vinho tinto do Douro e vinho branco do Porto, quando comparado com o factor de resposta nas matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Porto. O folpete apresentou um factor de resposta inferior para a matriz vinho tinto do Porto, quando comparado com os factores de resposta obtidos para as restantes três matrizes.

Tabela 3.8 - Gama de concentrações usadas nas rectas de calibração para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas nos vinhos, respectivos tempos de retenção e LMR's em uvas para vinho (Regulamento (CE) No 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho).

Pesticida	Tempo de retenção (min)	Gama de concentrações usada ($\mu\text{g/L}$)	LMR ($\mu\text{g/kg}$)
Captana	35,70	10,48 – 204,39 ^{a;d} ; 20,92 – 419,55 ^{b;c}	20
Clortalonil	29,73	6,30 – 204,70	3000
Dicofol	33,86	1,31 – 42,68	2000
Folpete	35,71	37,59 – 753,72 ^{a;b;c} ; 18,82 – 367,20 ^d	5000
Iprodiona	41,91	137,53 – 2683,65	10000
Procimidona	35,24	22,85 – 742,85	5000
Vinclozolina	31,19	3,01 – 97,97	5000

Nota: ^a – Matriz vinho branco do Douro; ^b – Matriz vinho tinto do Douro; ^c – Matriz vinho branco do Porto; ^d – Matriz vinho tinto do Porto.

As propriedades físico-químicas destes pesticidas encontram-se descritas na tabela K2 do anexo K.

Para além do efeito de matriz, discutido durante a apresentação do método desenvolvido para a determinação de pesticidas organofosforados e ao qual todos os compostos estão sujeitos, os pesticidas folpete e captana apresentam a agravante de sofrerem uma rápida degradação ao longo do tempo. Este comportamento, comum aos dois compostos, tem sido referido por vários autores [82; 92]. A degradação do folpete ocorre, muitas vezes, por hidrólise [92] e a degradação da captana é associada à fotodegradação, à presença de meios ácidos, entre outras causas [82].

Dada a semelhança estrutural destes dois fungicidas, seria de esperar que se comportassem de modo semelhante nas quatro matrizes, o que não se verifica. Apesar de ambos os compostos apresentarem melhor factor de resposta para o vinho tinto do Porto, o mesmo não acontece para o vinho branco do Douro, cujo factor de resposta do folpete diminui. No entanto, dada a instabilidade dos compostos, a complexidade das

matrizes e todas as variações associadas à técnica utilizada, é difícil associar o comportamento destes dois compostos apenas às características das matrizes estudadas.

Na tabela 3.9 apresentam-se as condições de detecção por MS/MS adoptadas para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas. Os valores para o tempo de isolamento do ião precursor e para a energia de excitação adoptados são os valores assumidos por defeito pelo software. A voltagem de excitação e o ião precursor foram escolhidos após estudos prévios de optimização e consulta bibliográfica.

Tabela 3.9 - Condições de MS/MS adoptadas para o método proposto SPME-GC-MS/MS, para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas estudados.

Condições MS-MS					
Pesticida	Isolamento		Excitação		Fragmentos MS/MS (m/z)
	ião precursor (m/z)	Tempo (min)	Voltagem (V)	Energia de excitação (V)	
Captana	264	12	1,2	0,3	236; 130; 204; 102
Clortalonil	266	12	1,1	0,3	266; 231; 170; 205; 133
Dicofol	139	12	1,1	0,3	111; 139
Folpete	130	12	1,3	0,3	102
Iprodiona	314	12	1,1	0,3	245; 271; 188
Procimidona	283	12	1,1	0,3	255
Vinclozolina	212	12	1,2	0,3	172; 177; 145; 212

A quantificação de cada um destes compostos foi efectuada através da contagem total dos iões resultantes da fragmentação do ião precursor.

Os iões resultantes da fragmentação do ião precursor, apresentados na tabela 3.9, são os iões que apresentam maior abundância relativa, para cada um dos compostos.

3.2.2 Rectas de calibração e limites de detecção e quantificação obtidos

Nas tabelas 3.10 a 3.13, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos sete pesticidas, em cada uma das quatro matrizes. Representam-se nestas rectas, os sinais obtidos (Y) em função das concentrações reais (X).

Na discussão dos resultados para os oito pesticidas organofosforados foi referida a impossibilidade de se trabalhar em condições de repetibilidade. A justificação prendeu-se com o facto de que para cada um dos compostos, a recta de calibração para cada uma das matrizes, foi construída de acordo com os resultados obtidos numa sequência de trabalho de 48 horas (considerando que cada amostra requer duas horas para a análise e que foram preparados seis níveis de concentração e quatro preparações por nível de concentração). Assim sendo, era impossível manter sempre as mesmas condições de trabalho, principalmente ao nível das condições do equipamento utilizado: a fibra vai-se danificando, o liner vai acumulando resíduos do septo e da amostra, o detector vai perdendo sensibilidade, entre outros problemas menos significativos.

Com a experiência adquirida com os primeiros compostos e tendo por base o Guia de validação inicial de um método de análise enológica usual, da Organização Internacional da Vinha e do Vinho – OIV (documento de trabalho) [93] e a norma francesa NF T 90-210 [94] optou-se pela validação do método para determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas de uma forma diferente da utilizada no caso da determinação de pesticidas organofosforados.

As rectas de calibração que seguidamente se apresentam, para cada uma das quatro matrizes estudadas, foram obtidas através da fortificação de amostras de lotes de vinho com seis níveis de concentração diferentes para os pesticidas clortalonil, dicofol, procimidona e vinclozolina e com cinco níveis diferentes de concentração para os pesticidas captan, folpete e iprodiona. Para se evitar a preparação de quatro amostras por nível de concentração, na mesma sequência, como no caso dos pesticidas organofosforados (resultando em sequências muito demoradas), foi preparada apenas uma amostra por nível de preparação. No entanto, para se obter um conjunto válido de resultados para cada um dos níveis de concentração adoptados para a construção das rectas de calibração, foram construídas cinco rectas de calibração, da forma descrita, por matriz e por composto, todas em dias diferentes. Ou seja, para o mesmo composto, na mesma matriz, foram construídas cinco rectas de calibração com seis níveis de concentração (ou cinco, dependendo do composto) e uma preparação por nível de concentração. Cada sequência correspondia a 12 horas de trabalho, reduzindo-se assim para $\frac{1}{4}$ o tempo necessário para a análise de uma sequência. Esta redução do tempo

mostrou ser vantajosa não só ao nível das condições do equipamento utilizado, uma vez que a manutenção do equipamento era feita com mais frequência, mas também pelo efeito atenuante, ao nível da calibração, da rápida degradação de pesticidas como o folpete e o captan (característica referida anteriormente).

A manutenção do equipamento, ao longo do desenvolvimento deste método, foi efectuada diariamente trocando-se o septo, o *liner*, averiguando-se o estado da fibra e trocando-a quando esta se apresentava visivelmente danificada ou quando já tinha efectuado um número elevado de extracções, e ajustando a sensibilidade do equipamento.

Um outro aspecto diferente na validação deste método, foi o tratamento dos resultados obtidos. Analisando-se as cinco rectas obtidas para o mesmo composto, na mesma matriz, em dias diferentes, verifica-se que a resposta do equipamento varia significativamente de dia para dia, o que reforça a impossibilidade de se trabalhar em condições de repetibilidade, referidas anteriormente. Assim, e tendo também como base o documento de trabalho da OIV já referido [93], verifica-se a necessidade de trabalhar os resultados obtidos expressos em concentrações calculadas, em vez de se utilizarem os resultados obtidos expressos em sinal analítico. Os sinais obtidos para cada composto, numa determinada matriz, apresentam variações significativas. Estas variações, contabilizadas nas rectas de calibração que se obtêm diariamente, são assim atenuadas quando se convertem as áreas em concentrações calculadas.

Os limites de detecção e quantificação apresentados para cada uma das rectas foram calculados de forma idêntica aos limites obtidos para os pesticidas organofosforados [88]. A calibração foi efectuada pelo método do padrão externo.

Na tabela 3.10, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas na matriz vinho branco do Douro. Apresentam-se também os respectivos coeficientes de correlação assim como os limites de detecção e quantificação.

Tabela 3.10 - Rectas de calibração para cada pesticida organoclorado e dicarboximida e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho branco do Douro.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite Detecção (µg/L)	Limite Quantificação (µg/L)
Captana	Y = -2128,3+175,7*X	0,9989	18,96	57,47
	Y = -11853,8+437,0*X	0,9869	66,40	201,20
	Y = -13782,8+487,1*X	0,9881	63,36	192,00
	Y = -5022,0+324,9*X	0,9990	18,60	56,36
	Y = -2097,0+240,1*X	0,9981	25,39	76,95
Clortalonil	Y = -85010,4+28515,4*X	0,9999	3,38	10,25
	Y = -112283,0+30549,5*X	0,9989	9,51	28,81
	Y = -182037,0+33591,3*X	0,9974	14,48	43,89
	Y = -120548,0+29928,7*X	0,9997	4,76	14,42
	Y = -130390,0+26678,0*X	0,9973	14,80	44,84
Dicofol	Y = 98148,6+163128,0*X	0,9924	5,16	15,63
	Y = -240482,0+219380,0*X	0,9966	3,45	10,46
	Y = -402137,0+207239,0*X	0,9911	3,31	10,02
	Y = -140232,0+178541,0*X	0,9993	1,53	4,65
	Y = 55627,6+139107,0*X	0,9998	0,77	2,33
Folpete	Y = -13329,3+362,3*X	0,9987	40,45	122,58
	Y = -49387,4+877,4*X	0,9939	86,22	261,27
	Y = -82813,1+1134,1*X	0,9809	153,61	465,49
	Y = -17276,7+637,4*X	0,9999	13,04	39,51
	Y = -2815,6+445,0*X	0,9977	52,82	160,07
Iprodiona	Y = -9444,4+152,5*X	0,9994	98,24	297,69
	Y = -20647,9+182,8*X	0,9935	320,05	969,86
	Y = -29078,4+205,9*X	0,9921	352,85	1069,25
	Y = -20732,2+189,1*X	0,9985	152,77	462,95
	Y = -16646,5+182,9*X	0,9956	264,32	800,97
Procimidona	Y = 24651,7+6791,6*X	0,9994	25,22	76,42
	Y = 5476,5+7157,5*X	0,9997	19,10	57,87
	Y = 17101,7+7278,9*X	0,9995	23,90	72,43
	Y = 28552,9+7316,5*X	0,9990	33,02	100,07
	Y = -3225,1+6118,5*X	0,9999	8,21	24,88
Vinclozolina	Y = -20077,5+77567,4*X	0,9996	2,59	7,84
	Y = -46202,5+76926,4*X	0,9994	3,21	9,71
	Y = -98873,9+86648,9*X	0,9993	3,51	10,65
	Y = -111059,0+87029,3*X	0,9999	1,42	4,31
	Y = -90704,9+72469,9*X	0,9995	3,12	9,45

Analisados os resultados apresentados na tabela anterior, relativos à matriz vinho branco do Douro, pode concluir-se que se obteve boa linearidade nas gamas de concentrações usadas para traçar as rectas de calibração, para todos os compostos. Obtiveram-se

coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 para todos os compostos, com a excepção de algumas rectas obtidas para o folpete e captana. Os valores R^2 mais elevados foram obtidos para os pesticidas vinclozolina e procimidona (valores superiores a 0,999). O valor de R^2 mais baixo foi obtido para o folpete (0,9809).

Foram calculados limites de detecção e quantificação para cada um dos pesticidas usando as rectas de calibração observando-se, para o mesmo composto, variações significativas. No entanto, estes limites são apresentados a título de orientação, discutindo-se este ponto mais à frente, quando se apresentam os resultados para o estudo da repetibilidade e precisão intermédia. Ainda assim, analisando-se os resultados obtidos de uma forma geral, é possível verificar que os limites de detecção mais baixos foram obtidos para os pesticidas dicofol, variando entre 0,77 e 5,16 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, variando entre 1,42 e 3,51 $\mu\text{g/L}$. Os limites de detecção mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, cujos valores se encontram entre 98,24 e 352,85 $\mu\text{g/L}$. A mesma tendência, verificada para os limites de detecção, é verificada para os limites de quantificação, como seria de esperar. Os limites de quantificação mais baixos foram obtidos para os pesticidas dicofol, cujos valores se encontram entre 2,33 e 15,63 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, cujos valores se encontram entre 4,31 e 10,65 $\mu\text{g/L}$. Os limites de quantificação mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, apresentando valores entre 297,69 e 1069,25 $\mu\text{g/L}$. O facto deste composto apresentar os limites mais elevados pode atribuir-se a duas razões: o baixo factor de resposta apresentado pela iprodiona, na técnica utilizada, assim como a sua fácil degradação. O facto de este pesticida ser termolábil leva, por vezes, à necessidade da determinação dos seus produtos de degradação em detrimento do próprio composto [95].

Considerando os limites máximos de resíduos, para uvas, regulamentados, admitem-se críticos os limites obtidos para o pesticida captana. Estes limites não permitem a quantificação do composto abaixo do limite máximo de resíduo regulamentado e a sua detecção não é totalmente garantida. No entanto e como já foi referido anteriormente, discutir-se-á este assunto um pouco mais à frente.

Obtidas as cinco rectas de calibração para cada composto, para a matriz vinho branco do Douro, representam-se nas figuras 3.17 a 3.23, os valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para cada composto. Os cinco valores de concentração calculada representados para cada valor de concentração real, foram obtidos recorrendo a cada uma das cinco rectas de calibração, para cada composto, na matriz em causa. Pretende-se, com estas figuras, demonstrar que, ao contrário da variação verificada para os sinais obtidos em dias diferentes, para o mesmo composto e

na mesma matriz, o mesmo não se verifica quando se comparam os resultados expressos em concentrações calculadas.

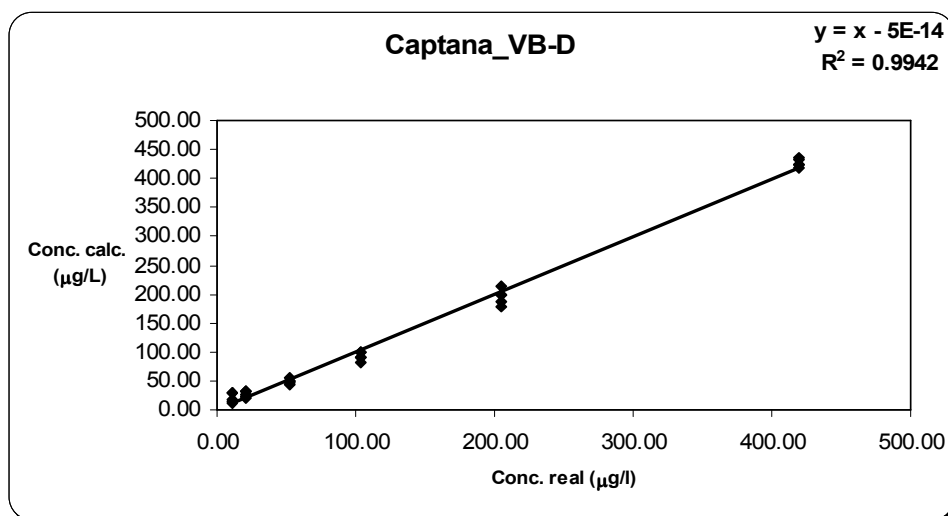


Figura 3.17 – Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho branco do Douro.

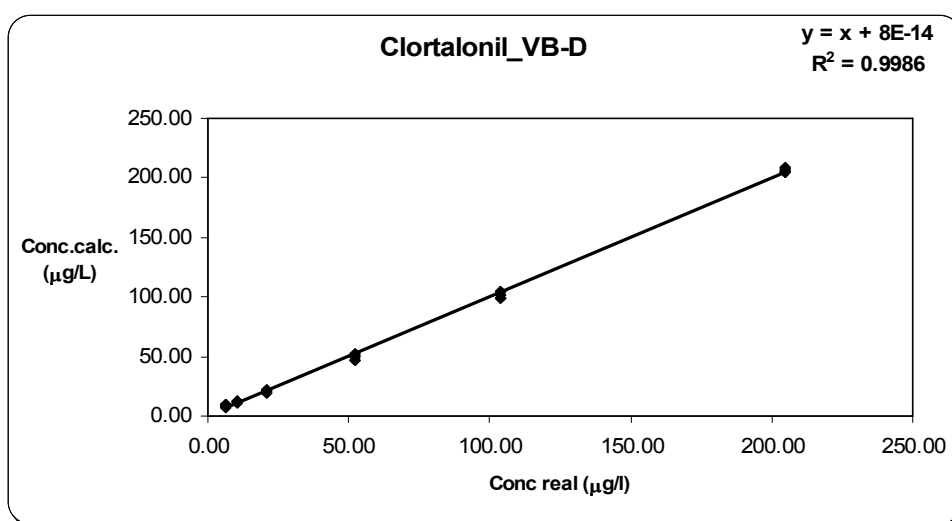


Figura 3.18 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.

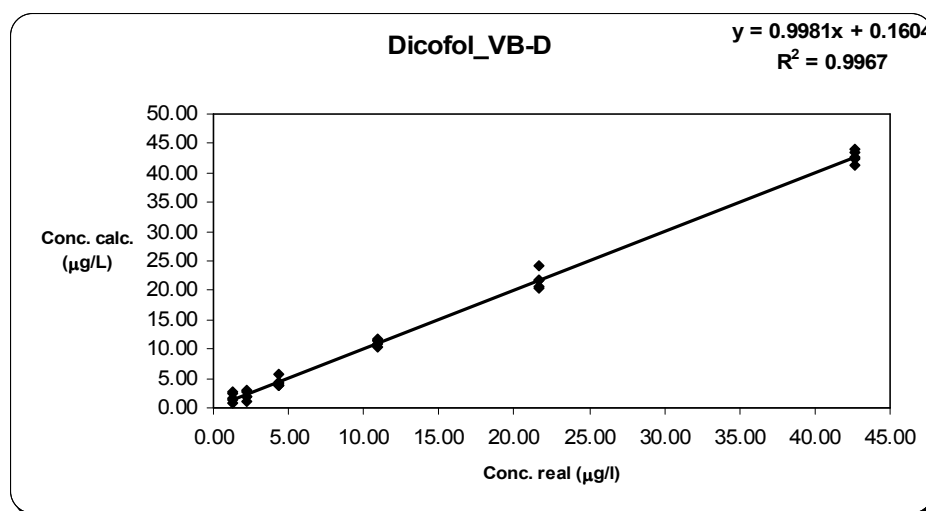


Figura 3.19 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.

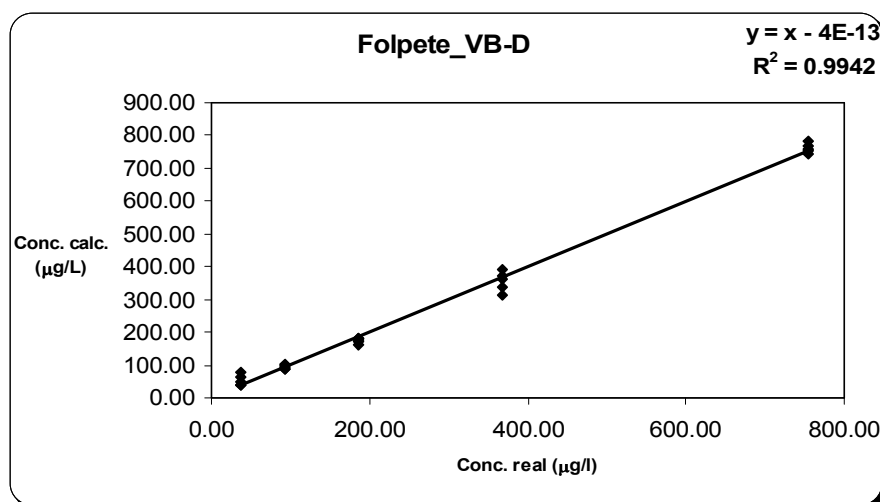


Figura 3.20 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho branco do Douro.

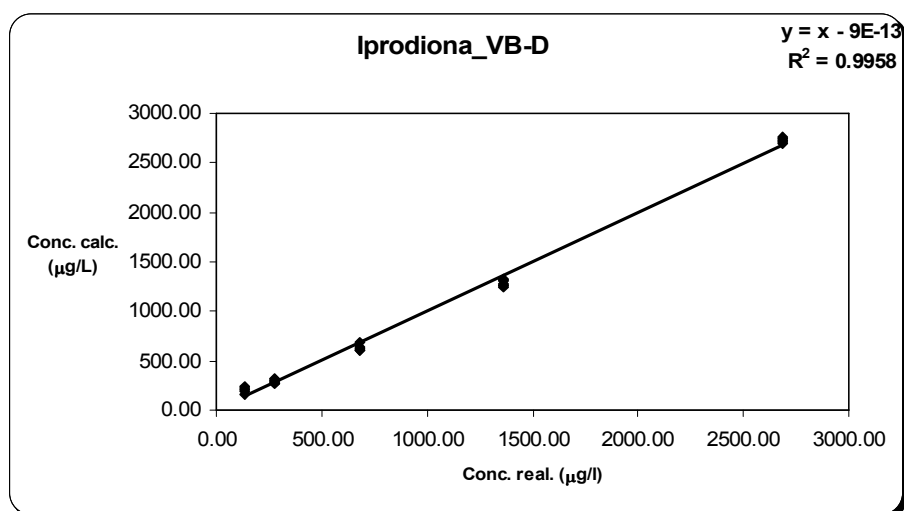


Figura 3.21 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.

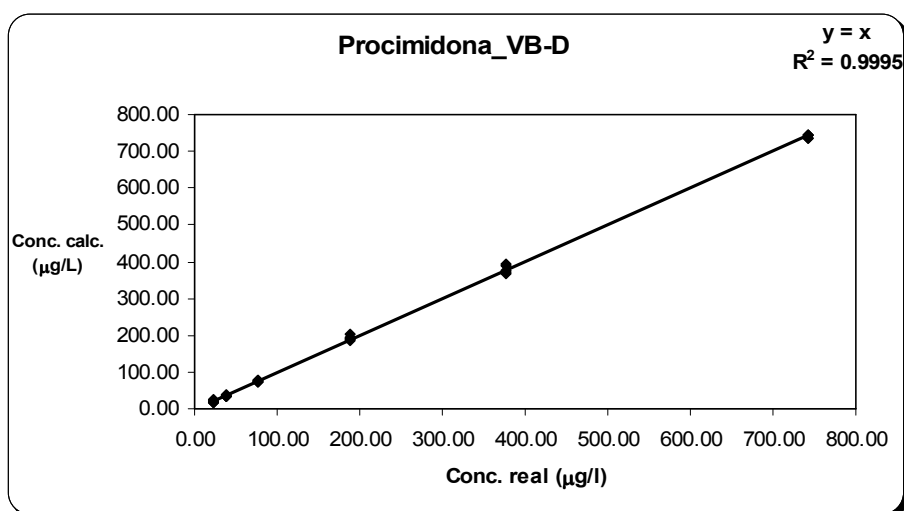


Figura 3.22 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.

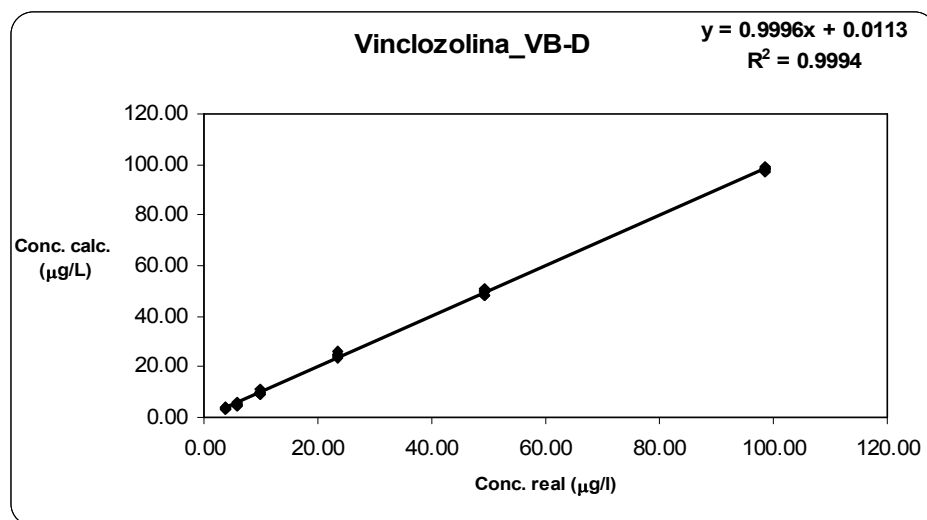


Figura 3.23 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.

De um modo geral, verifica-se que a variação dos resultados expressos em concentração calculada, obtidos para cada composto, em vinho branco do Douro não é muito acentuada. Os declives das rectas são muito próximos ou iguais a 1 e as ordenadas na origem apresentam valores próximos de zero, significando que os valores obtidos para as concentrações calculadas são próximos dos valores das concentrações reais.

No entanto, os desvios associados a estes valores podem ser melhor analisados, nas tabelas apresentadas no ponto 3.1.3, relativas ao estudo da precisão intermédia.

Na tabela 3.11, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas na matriz vinho tinto do Douro. Apresentam-se também os respectivos coeficientes de correlação assim como os limites de detecção e quantificação.

Tabela 3.11 - Rectas de calibração os pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho tinto do Douro.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite Detecção (µg/L)	Limite Quantificação (µg/L)
Captana	Y = -3652,5+1450,0*X	0,9931	51,01	154,59
	Y = -3373,1+136,5*X	0,9978	28,72	87,02
	Y = -2407,4+70,6*X	0,9932	50,73	153,71
	Y = -1498,6+83,9*X	0,9984	24,49	74,20
	Y = -4073,8+103,0*X	0,9841	77,92	236,11
Clortalonil	Y = -82239,7+12054,0*X	0,9933	23,29	70,59
	Y = -44706,1+9599,8*X	0,9968	16,16	48,96
	Y = -52320,0+9193,9*X	0,9987	10,40	31,51
	Y = -67455,8+13670,7*X	0,9993	7,33	22,22
	Y = -72325,4+14964,6*X	0,9974	14,52	44,00
Dicofol	Y = -96461,4+142562,0*X	0,9997	0,99	3,00
	Y = -83137,5+167924,0*X	0,9991	1,76	5,34
	Y = -108480,0+130593,0*X	0,9990	1,83	5,54
	Y = 125788,0+137504,0*X	0,9937	4,71	14,26
	Y = -54717,1+170877,0*X	0,9993	1,51	4,59
Folpete	Y = -16014,0+311,6*X	0,9941	84,60	256,37
	Y = -9964,3+261,1*X	0,9990	34,11	103,36
	Y = -6014,4+130,6*X	0,9973	57,46	174,13
	Y = -3410,6+167,9*X	0,9933	90,10	273,05
	Y = -16951,3+218,0*X	0,9831	144,38	437,52
Iprodiona	Y = -12797,3+122,0*X	0,9937	315,07	954,75
	Y = -2982,8+82,0*X	0,9987	144,47	437,78
	Y = -4851,5+83,4*X	0,9993	104,17	315,68
	Y = -6781,3+92,2*X	0,9960	250,65	759,54
	Y = -526,1+97,4*X	0,9969	220,65	668,63
Procimidona	Y = 10081,6+4824,7*X	0,9991	30,36	92,00
	Y = 59275,7+4113,8*X	0,9968	58,06	175,94
	Y = 15520,6+4306,2*X	0,9985	39,40	119,38
	Y = 40165,4+4012,8*X	0,9973	53,29	161,48
	Y = 95923,3+4512,1*X	0,9962	63,84	193,46
Vinclozolina	Y = -31485,4+57594,3*X	0,9999	1,01	3,06
	Y = -39725,1+52632,7*X	0,9999	1,30	3,95
	Y = -17332,1+51667,5*X	0,9996	2,86	8,66
	Y = -3047,3+49761,9*X	0,9997	2,53	7,66
	Y = 43270,9+56304,3*X	0,9990	4,40	13,33

Analisados os resultados pode concluir-se que se obteve sempre uma boa linearidade nas gamas de concentrações escolhidas. Foram obtidos coeficientes de correlação (R²) superiores a 0,99 para todos os compostos, com a excepção de uma recta obtida para o

folpete, cuja valor de R^2 é o mais baixo e igual a 0,9831, e para a captana, cujo valor é igual a 0,9841. Os valores R^2 mais elevados foram obtidos para o pesticida vinclozolina (valores superiores a 0,999).

Foram também calculados limites de detecção e quantificação, observando-se, para o mesmo composto, variações significativas. No entanto, estes limites são apresentados a título de orientação, como já se referiu anteriormente, e discutir-se-ão também, mais à frente, quando se apresentarem os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade e precisão intermédia. Analisando-se, no entanto, e de uma forma geral os resultados obtidos, é possível verificar que os limites de detecção mais baixos, tal como na matriz vinho branco do Douro, foram obtidos para os pesticidas dicofol, variando entre 0,99 e 4,71 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, variando entre 1,01 e 4,40 $\mu\text{g/L}$. Comparando com a matriz vinho branco do Douro, estes dois compostos apresentam limites de detecção ligeiramente mais baixos na matriz em estudo. Seria de esperar o contrário, uma vez que a matriz em estudo é considerada mais complexa, no entanto, representa uma melhoria do sinal para estes dois compostos. Por outro lado, pesticidas como o captan, clortalonil, folpete e procimidona apresentam uma tendência oposta, apresentando valores para a maioria dos limites de detecção inferiores aos valores obtidos na matriz vinho branco do Douro. Os limites de detecção mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, cujos valores se encontram entre 104,17 e 315,07 $\mu\text{g/L}$. A mesma tendência, verificada para os limites de detecção, foi verificada para os limites de quantificação, como seria de esperar. Os limites de quantificação mais baixos foram obtidos para os pesticidas dicofol, cujos valores se encontram entre 3,00 e 14,26 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, cujos valores se encontram entre 3,06 e 13,33 $\mu\text{g/L}$. Os limites de quantificação mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, apresentando valores entre 315,68 e 954,75 $\mu\text{g/L}$. As possíveis razões para o facto de este pesticida apresentar os valores mais altos para os limites de detecção e quantificação foram já mencionadas na análise dos resultados obtidos para a matriz vinho branco do Douro.

Considerando os limites máximos de resíduos para uvas regulamentados, admitem-se críticos os limites obtidos para o pesticida captana. Estes limites não permitem a quantificação do composto abaixo do limite máximo de resíduo regulamentado e a sua detecção não é totalmente garantida. No entanto e como já foi referido, discutir-se-á este assunto um pouco mais à frente.

Obtidas as cinco rectas de calibração para cada composto, para a matriz vinho tinto do Douro, representam-se nas figuras 3.24 a 3.30, os valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para cada composto. Os cinco valores de concentração calculada representados para cada valor de concentração real, foram

calculados recorrendo a cada uma das cinco rectas de calibração obtidas, para cada composto, na matriz em causa. Pretende-se, com estas figuras, demonstrar que, ao contrário da variação verificada para os sinais obtidos em dias diferentes, para o mesmo composto e na mesma matriz, o mesmo não se verifica quando se comparam os resultados expressos em concentrações calculadas.

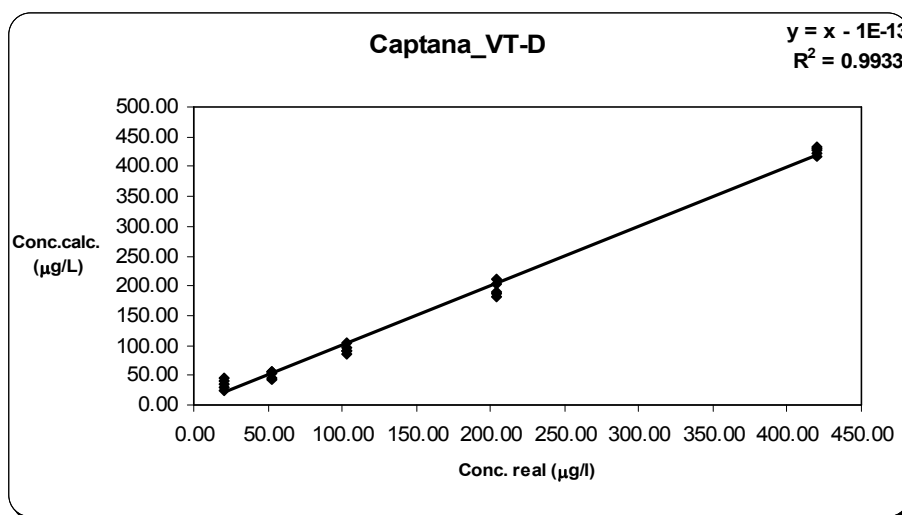


Figura 3.24 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho tinto do Douro.

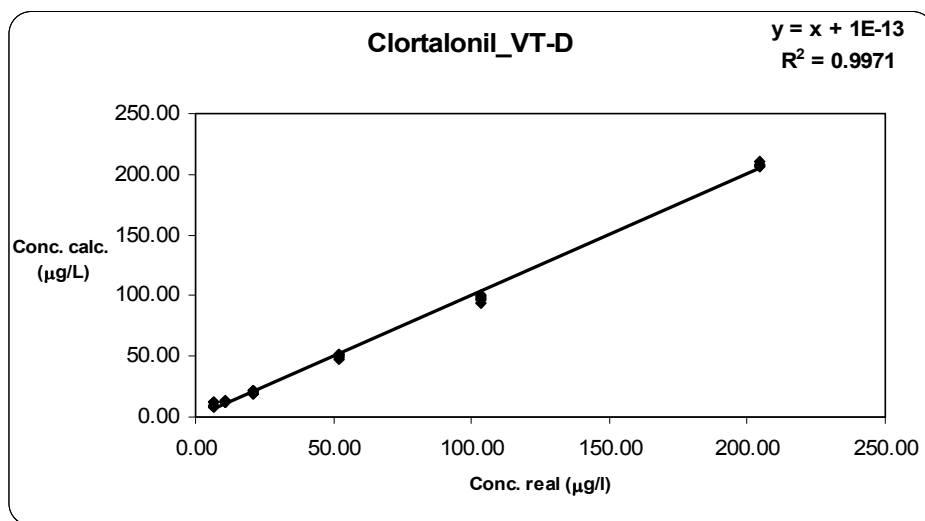


Figura 3.25 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.

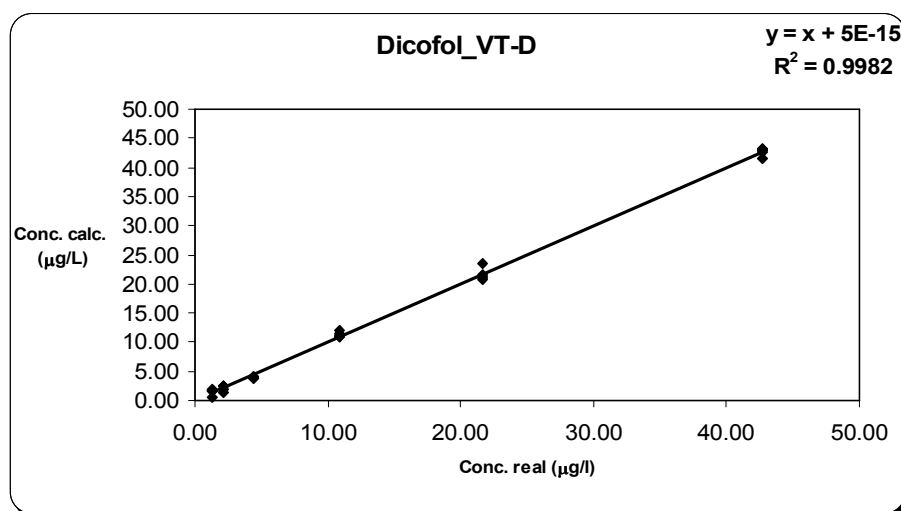


Figura 3.26 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.

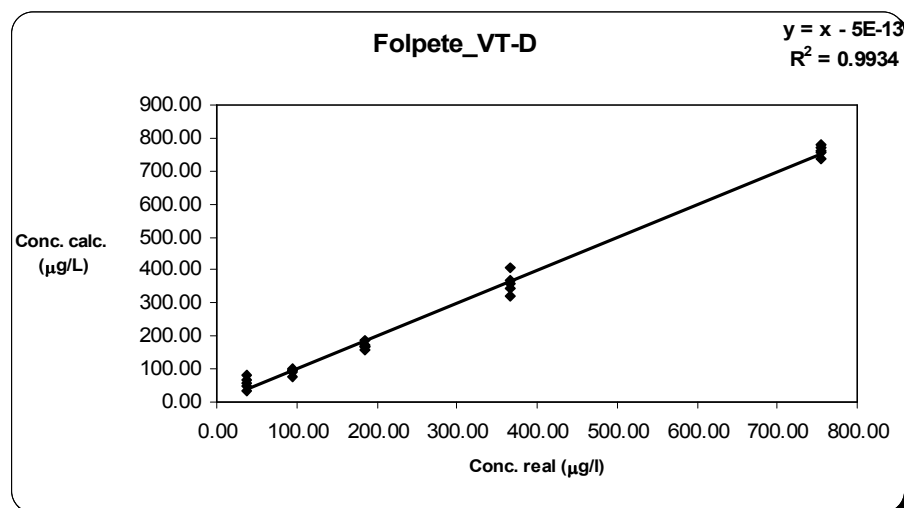


Figura 3.27 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.

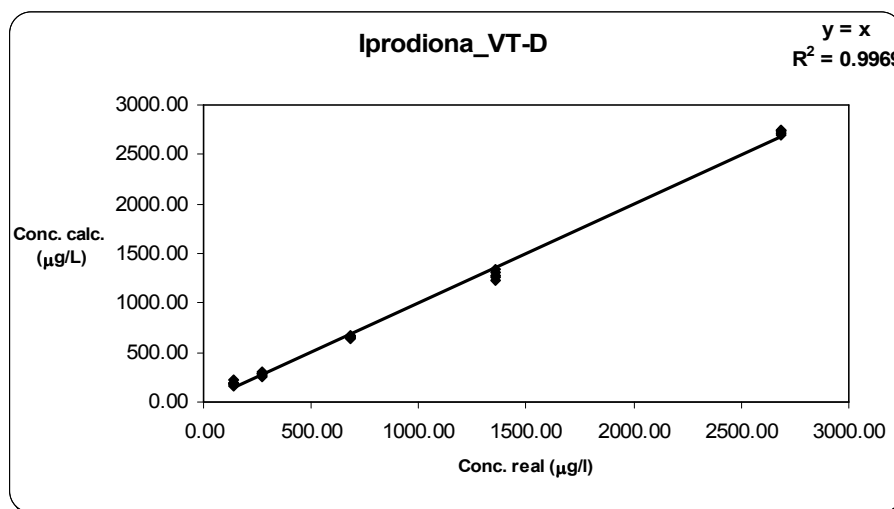


Figura 3.28 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.

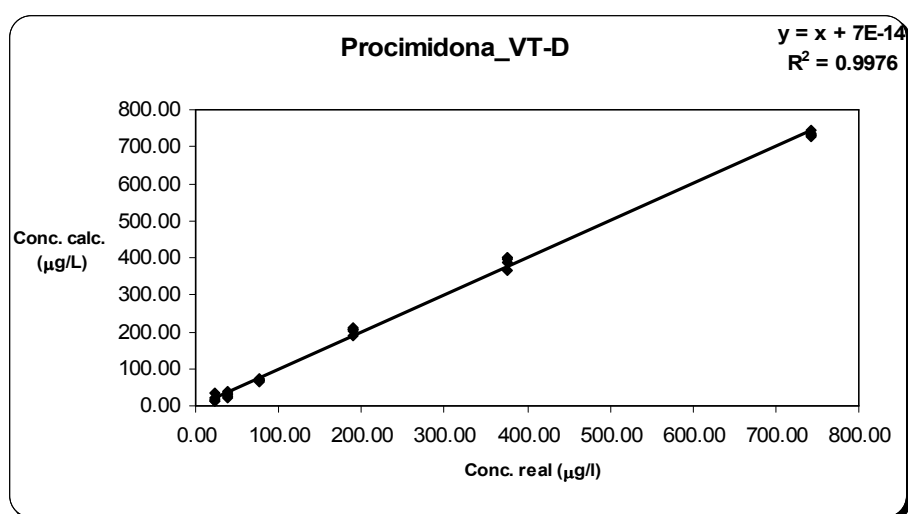


Figura 3.29 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.

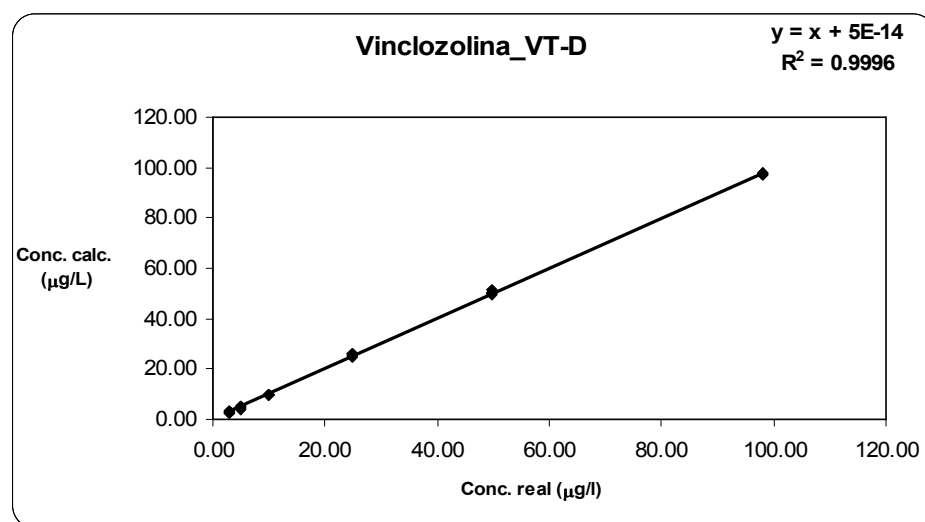


Figura 3.30 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.

À semelhança da matriz vinho branco do Douro, verifica-se que a variação dos resultados expressos em concentração calculada, obtidos para cada composto, na matriz vinho tinto do Douro não é muito acentuada. Os declives das rectas obtidas são igualmente muito próximos ou iguais a 1 e as ordenadas na origem apresentam valores próximos de zero, significando que os valores obtidos para as concentrações calculadas são próximos dos valores das concentrações reais.

No entanto, os desvios associados a estes valores podem ser melhor analisados, nas tabelas apresentadas no ponto 3.1.3, relativas ao estudo da precisão intermédia.

Na tabela 3.12, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas na matriz vinho branco do Porto. Apresentam-se também os respectivos coeficientes de correlação assim como os limites de detecção e quantificação.

Tabela 3.12 - Rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho branco do Porto.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite Detecção (µg/L)	Limite Quantificação (µg/L)
Captana	Y = -6449,7+253,4*X	0,9969	42,84	129,83
	Y = -2534,1+305,6*X	0,9822	64,20	194,56
	Y = -19473,5+522,0*X	0,9890	71,30	216,07
	Y = 1297,4+291,0*X	0,9968	28,48	86,29
	Y = -1630,9+163,7*X	0,9810	70,85	214,69
Clortalonil	Y = 8328,2+15336,4*X	0,9998	4,02	12,18
	Y = -49685,0+16523,5*X	0,9976	13,94	42,24
	Y = -165862,0+33472,3*X	0,9979	12,88	39,03
	Y = 18909,7+16830,0*X	0,9974	14,57	44,15
	Y = -31766,9+17662,0*X	0,9985	10,82	32,78
Dicofol	Y = 86947,9+90520,0*X	0,9957	3,88	11,77
	Y = 108075,0+89289,7*X	0,9879	6,54	19,80
	Y = -249893,0+208992,0*X	0,9969	3,30	10,02
	Y = 23215,0+55828,5*X	0,9923	5,21	15,78
	Y = 46573,2+62411,3*X	0,9934	4,81	14,56
Folpete	Y = -17750,5+506,9*X	0,9939	86,18	261,17
	Y = -8775,6+664,5*X	0,9776	166,56	504,74
	Y = -67610,2+989,7*X	0,9858	132,28	400,83
	Y = 16271,2+589,7*X	0,9881	120,63	365,53
	Y = -3430,8+313,3*X	0,9479	258,05	781,98
Iprodiona	Y = 4555,1+43,6*X	0,9958	258,05	781,97
	Y = 1162,3+47,1*X	0,9928	336,59	1019,98
	Y = -29161,7+206,8*X	0,9922	351,05	1063,79
	Y = -2372,2+47,8*X	0,9994	94,07	285,06
	Y = -1493,8+49,7*X	0,9987	142,10	430,62
Procimidona	Y = 76330,6+2749,1*X	0,9964	61,47	186,27
	Y = 43378,1+2650,0*X	0,9956	68,37	207,17
	Y = 17181,1+7341,4*X	0,9995	23,66	71,69
	Y = 27847,3+3129,0*X	0,9989	34,61	104,88
	Y = 13555,5+2912,8*X	0,9992	29,57	89,60
Vinclozolina	Y = 66254,7+33211,4*X	0,9981	5,86	17,77
	Y = 20756,5+32720,5*X	0,9991	4,16	12,59
	Y = -103083,0+86841,9*X	0,9990	4,24	12,84
	Y = 26029,2+33917,6*X	0,9991	4,13	12,50
	Y = 6820,3+33881,6*X	0,9993	3,65	11,03

Analisados os resultados, relativos à matriz vinho branco do Porto, pode concluir-se que se obteve boa linearidade nas gamas de calibração escolhidas, para todos os compostos, à semelhança das matrizes analisadas anteriormente. Foram obtidos coeficientes de

correlação (R^2) superiores a 0,99 para todos os compostos, com a excepção de três rectas obtidas para o pesticida captana (cujos valores são superiores a 0,98), uma recta obtida para o pesticida dicofol, cujo valor é de 0,9879, e quatro das cinco rectas obtidas para o folpete. Este composto apresentou os coeficientes de correlação mais baixos, sendo o menor valor igual a 0,9479. Os pesticidas captana e folpete são aqueles para os quais se obtêm mais valores de R^2 inferiores a 0,99, o que pode ser justificado pela sua fácil degradação associada a um aumento da complexidade da matriz, quando comparada com as matrizes analisadas anteriormente. Os valores R^2 mais elevados foram observados para algumas rectas obtidas para os pesticidas vinclozolina, clortalonil, irpodiona e procimidona (valores superiores a 0,999).

No seguimento do estudo apresentado para as matrizes discutidas anteriormente, foram também calculados limites de detecção e quantificação para cada uma das rectas obtidas, observando-se, para o mesmo composto, variações significativas. Tal como nas matrizes anteriores, estes limites são apresentados a título de orientação e discutir-se-ão também, mais à frente, quando se apresentarem os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade e precisão intermédia.

Analisando-se, no entanto, e de uma forma geral os resultados obtidos, é possível verificar que os limites de detecção mais baixos, tal como nas matrizes anteriores, foram obtidos para os pesticidas dicofol, variando entre 3,88 e 4,81 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, variando entre 3,65 e 5,86 $\mu\text{g/L}$. Considerando-se os limites de detecção mais baixos, obtidos para estes dois pesticidas, e comparando-se com os mesmos limites obtidos nas matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro, verifica-se um aumento destes valores, para a matriz em estudo. Este aumento pode ser associado ao aumento da complexidade da matriz. Os limites de detecção mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, cujos valores se encontram entre 94,07 e 351,05 $\mu\text{g/L}$. Pesticidas como a captana, o dicofol, o folpete, a procimidona e a vinclozolina apresentam subidas para a maioria dos valores correspondentes aos limites de detecção, quando comparados com os valores obtidos para os vinhos do Douro. Este aumento pode também ser associado ao aumento da complexidade da matriz. A mesma tendência, verificada para os limites de detecção, é verificada para os limites de quantificação, como seria de esperar. Os limites de quantificação mais baixos foram obtidos para os pesticidas dicofol, cujos valores se encontram entre 10,02 e 19,80 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, cujos valores se encontram entre 11,03 e 17,77 $\mu\text{g/L}$. Os limites de quantificação mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, apresentando valores entre 285,06 e 1063,79 $\mu\text{g/L}$. As possíveis razões para o facto de este pesticida apresentar os valores mais altos para os limites de detecção e quantificação foram já mencionadas.

Considerando os limites máximos de resíduos para uvas regulamentados, admitem-se críticos os limites obtidos para o pesticida captana. Estes limites não permitem a quantificação do composto abaixo do limite máximo de resíduo regulamentado e a sua detecção não é totalmente garantida.

Obtidas as cinco rectas de calibração para cada composto, para a matriz vinho branco do Porto, representam-se nas figuras 3.31 a 3.37, os valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para cada composto. Os cinco valores de concentração calculada representados para cada valor de concentração real, foram obtidos recorrendo a cada uma das cinco rectas de calibração, para cada composto, na matriz em causa, tal como para os vinhos do Douro. Mais uma vez, pretende-se, com estas figuras, demonstrar que, ao contrário da variação verificada para os sinais obtidos em dias diferentes, para o mesmo composto e na mesma matriz, o mesmo não se verifica quando se comparam os resultados expressos em concentrações calculadas.

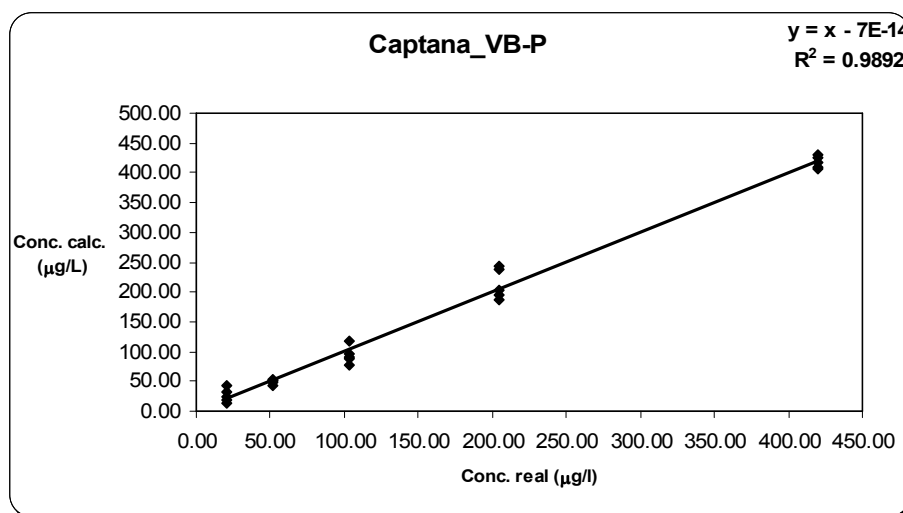


Figura 3.31 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho branco do Porto.

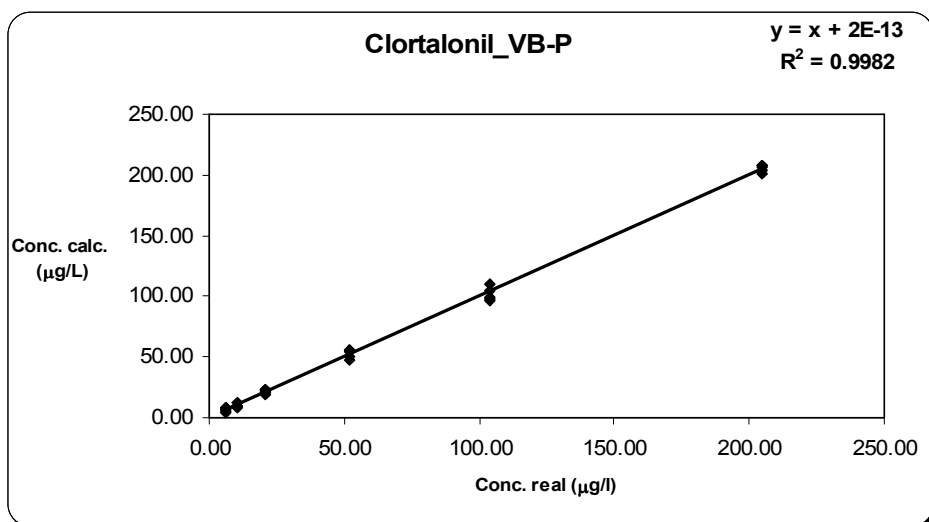


Figura 3.32 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.

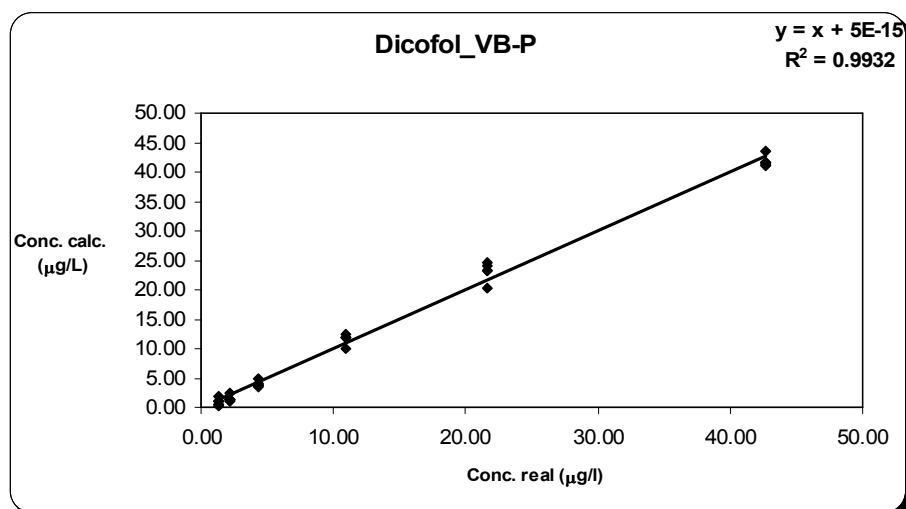


Figura 3.33 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.

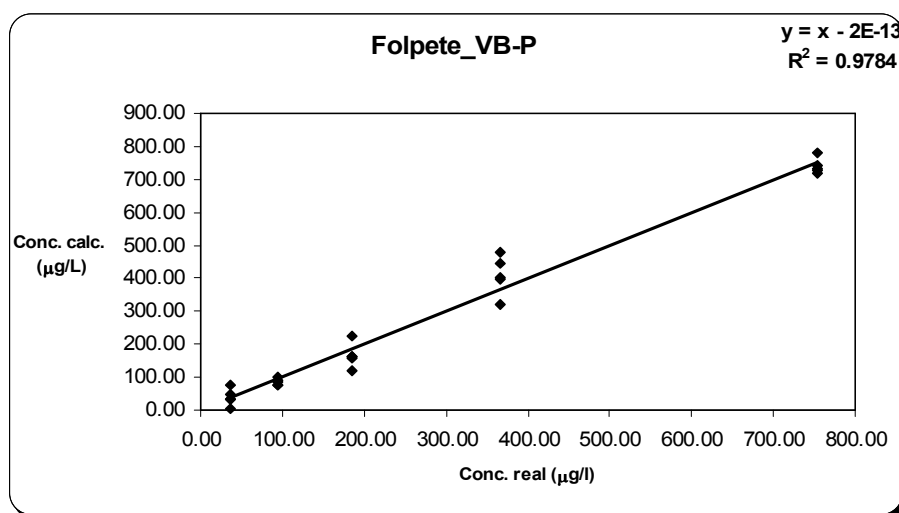


Figura 3.34 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho branco do Porto.

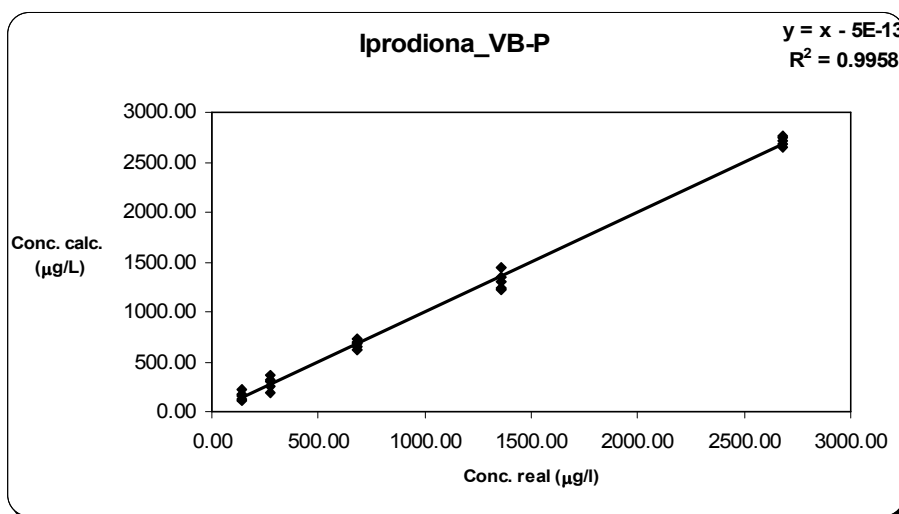


Figura 3.35 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.

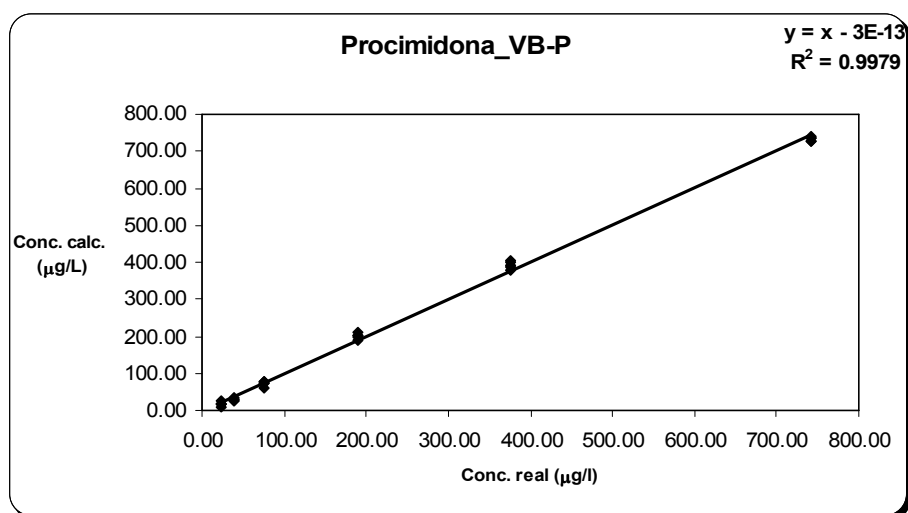


Figura 3.36 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.

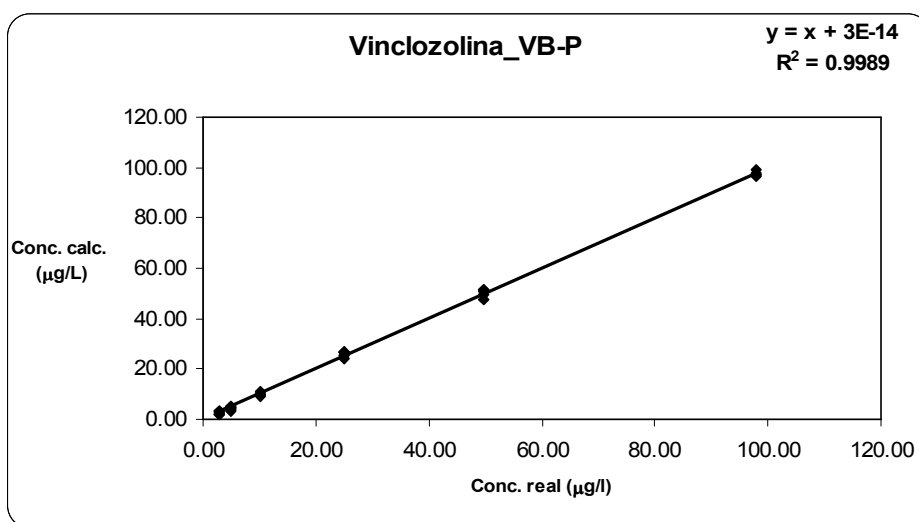


Figura 3.37 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.

À semelhança das matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro, analisadas anteriormente, verifica-se que a variação dos resultados expressos em concentração calculada, obtidos para cada composto, na matriz vinho branco do Porto não é muito acentuada. Os declives das rectas obtidas são muito próximos ou iguais a 1 e as ordenadas na origem apresentam valores próximos de zero, significando que os valores obtidos para as concentrações calculadas são próximos dos valores das concentrações reais.

Verifica-se, no entanto, e comparando com os vinhos do Douro que os pesticidas captana e folpete apresentam uma maior dispersão dos resultados obtidos, que poderá ser explicada, como já foi referido anteriormente pelo aumento da complexidade da matriz.

Os desvios associados a estes valores podem ser, contudo, melhor analisados, nas tabelas apresentadas no ponto 3.1.3, relativas ao estudo da precisão intermédia.

Na tabela 3.13, apresentam-se as rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas na matriz vinho tinto do Porto. Apresentam-se também os respectivos coeficientes de correlação assim como os limites de detecção e quantificação.

Tabela 3.13 - Rectas de calibração obtidas para cada um dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas e respectivos limites de detecção e quantificação, obtidos em dias diferentes, para o mesmo lote de vinho tinto do Porto.

Pesticida	Recta de calibração	R ²	Limite Detecção (µg/L)	Limite Quantificação (µg/L)
Captana	Y = -249,4+114,9*X	0,9977	14,53	44,04
	Y = 733,5+91,6*X	0,9873	103,52	313,69
	Y = 193,5+126,0*X	0,9918	27,60	83,64
	Y = -4062,9+324,9*X	0,9836	39,36	119,27
	Y = -540,2+210,3*X	0,9913	28,46	86,23
Clortalonil	Y = 10749,5+15505,9*X	0,9978	13,45	40,76
	Y = 7381,2+15379,3*X	0,9986	10,61	32,14
	Y = 108852,0+47877,0*X	0,9978	13,31	40,33
	Y = 74025,0+52774,5*X	0,9985	10,82	32,79
	Y = -14100,6+55169,5*X	0,9990	8,88	26,91
Dicofol	Y = 11486,1+82582,4*X	0,9979	2,74	8,31
	Y = -14959,4+91561,3*X	0,9992	1,69	5,13
	Y = 121565,0+171590,0*X	0,9936	2,81	8,50
	Y = 90627,7+179715,0*X	0,9964	3,56	10,79
	Y = 2262,1+195499,0*X	0,9999	0,64	1,95
Folpete	Y = -498,5+260,9*X	0,9939	42,38	128,43
	Y = -4213,1+246,7*X	0,9903	53,72	162,78
	Y = -646,2+209,7*X	0,9981	23,39	70,89
	Y = -8767,7+524,1*X	0,9945	40,21	121,86
	Y = -3568,3+382,6*X	0,9865	63,55	192,58
Iprodiona	Y = 1327,8+42,6*X	0,9989	133,25	403,80
	Y = 1857,3+36,8*X	0,9885	427,35	1294,99
	Y = 2871,2+26,6*X	0,9877	441,91	1339,11
	Y = 613,6+30,6*X	0,9959	273,37	828,39
	Y = 444,5+35,3*X	0,9992	115,49	349,98
Procimidona	Y = 38560,8+2993,4*X	0,9934	83,55	253,18
	Y = 26282,4+2894,9*X	0,9975	51,30	155,44
	Y = 52250,6+3900,3*X	0,9964	62,03	187,98
	Y = 51818,8+3935,3*X	0,9959	66,27	200,83
	Y = 23593,0+4195,9*X	0,9998	14,15	42,87
Vinclozolina	Y = 5854,6+35767,2*X	0,9996	2,60	7,87
	Y = 42762,1+35325,3*X	0,9960	8,57	25,98
	Y = 41186,2+52256,5*X	0,9977	6,56	19,89
	Y = 16034,3+55130,6*X	0,9997	2,33	7,06
	Y = 10404,2+57715,3*X	0,9998	1,72	5,22

Analisados os resultados apresentados na tabela anterior, relativos à matriz vinho tinto do Porto, pode concluir-se que se obteve boa linearidade nas gamas de calibração escolhidas, para todos os compostos, à semelhança das restantes matrizes analisadas.

Foram obtidos coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 para todos os compostos, com a excepção de duas rectas obtidas para o pesticida captana (cujos valores são superiores a 0,98), uma recta obtida para o pesticida folpete, cujo valor é de 0,9865, e duas das cinco rectas obtidas para a iprodiona. Estes três compostos são os mais problemáticos, como já foi mencionado anteriormente, dada a sua facilidade de degradação. Ainda assim, foram obtidos melhores resultados para o folpete quando comparados com a matriz vinho branco do Porto, no que diz respeito aos coeficientes de correlação. Os valores R^2 mais elevados foram observados para algumas rectas obtidas para os pesticidas vinclozolina, clortalonil, iprodiona, procimidona e dicofol (valores superiores a 0,999).

No seguimento do estudo apresentado para as restantes matrizes discutidas anteriormente, foram também calculados limites de detecção e quantificação observando-se, para o mesmo composto, variações significativas. Tal como nas matrizes anteriores, estes limites são apresentados a título de orientação e discutir-se-ão também, mais à frente, quando se apresentarem os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade e precisão intermédia.

É possível verificar que os limites de detecção mais baixos, tal como nas matrizes anteriores, foram obtidos para os pesticidas dicofol, variando entre 0,64 e 3,56 $\mu\text{g/L}$, e vinclozolina, variando entre 1,72 e 8,57 $\mu\text{g/L}$. Considerando-se os limites de detecção para estes dois compostos, verifica-se que foram obtidos valores mais baixos quando comparados com a matriz vinho branco do Porto. Ainda relativamente ao dicofol, os limites de detecção são os mais baixos quando comparados com os limites de detecção obtidos para este composto nas restantes matrizes. Este composto apresentou limites mais baixos para a matriz vinho tinto do Douro quando comparados com a matriz vinho branco do Douro, o que pode estar associado à presença dos taninos presentes nos vinhos tintos. No entanto, os resultados obtidos não são suficientemente conclusivos relativamente a este efeito, no pesticida dicofol.

Os limites de detecção mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, cujos valores se encontram entre 115,49 e 441,91 $\mu\text{g/L}$. Pesticidas como a captana e o dicofol, apresentam, para esta matriz, os valores mais baixos correspondentes aos limites de detecção, quando comparados com os resultados obtidos para as restantes matrizes avaliadas. Compostos como a iprodiona e a procimidona apresentam os valores mais altos correspondentes aos limites de detecção, quando comparados com os resultados obtidos para as restantes matrizes analisadas. Estes resultados podem estar associados ao efeito provocado pela matriz em cada composto, que é diferente de composto para composto, como se pode verificar, mas também convém não esquecer que as condições do equipamento podem ter a sua contribuição, condições estas que, como se explicou

anteriormente, não podem ser totalmente controladas e mantidas constantes ao longo das análises.

A mesma tendência, verificada para os limites de detecção, é verificada para os limites de quantificação. Os limites de quantificação mais baixos foram obtidos para os pesticidas dicofol, cujos valores se encontram entre 1,95 e 10,79 µg/L, e vinclozolina, cujos valores se encontram entre 5,22 e 25,98 µg/L. Os limites de quantificação mais altos foram obtidos para o pesticida iprodiona, apresentando valores entre 349,98 e 1339,11 µg/L. As possíveis razões para o facto de este pesticida apresentar os valores mais altos já foram referidas.

Considerando os limites máximos de resíduos para uvas regulamentados, admitem-se críticos os limites obtidos para o pesticida captana. O problema da impossibilidade de garantir o cumprimento dos limites regulamentados pela União Europeia mantém-se, à semelhança das restantes matrizes analisadas.

Obtidas as cinco rectas de calibração para cada composto, para a matriz vinho tinto do Porto, representam-se nas figuras 3.38 a 3.44, os valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para cada composto. Os cinco valores de concentração calculada representados para cada valor de concentração real, foram calculados de modo idêntico às matrizes anteriores.

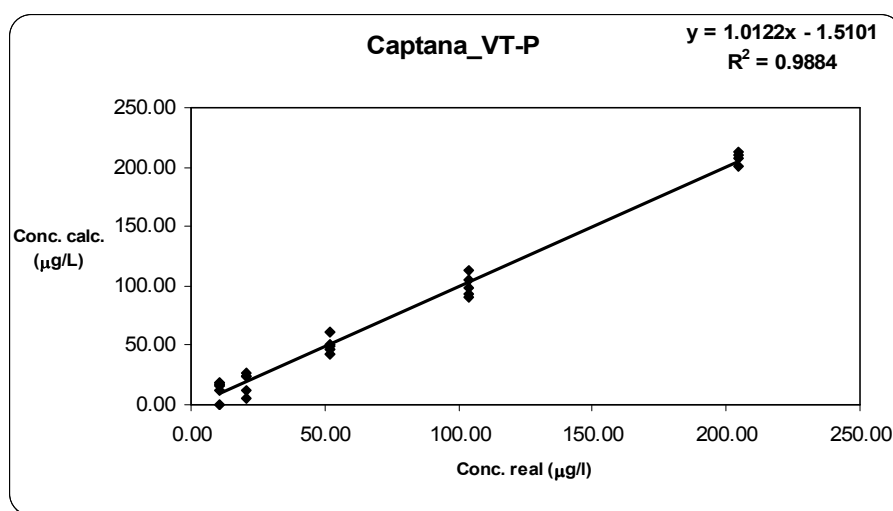


Figura 3.38 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida captana, em vinho tinto do Porto.

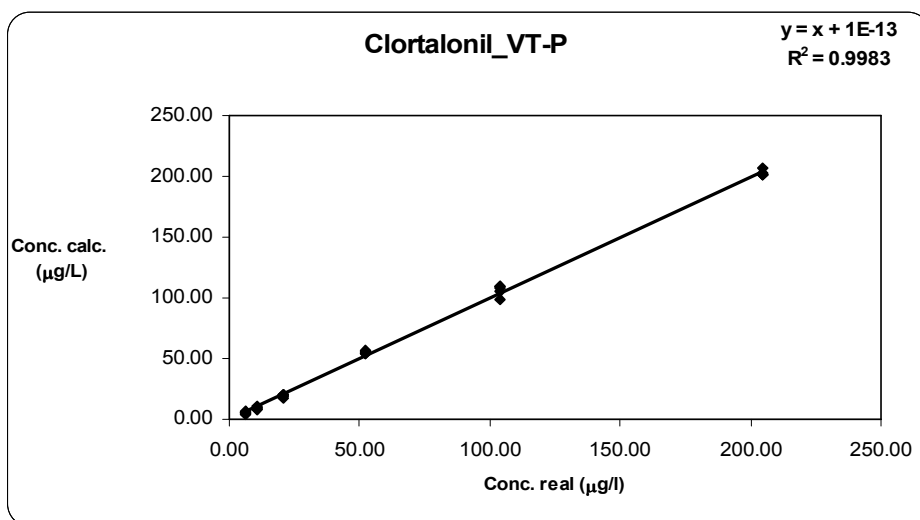


Figura 3.39 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.

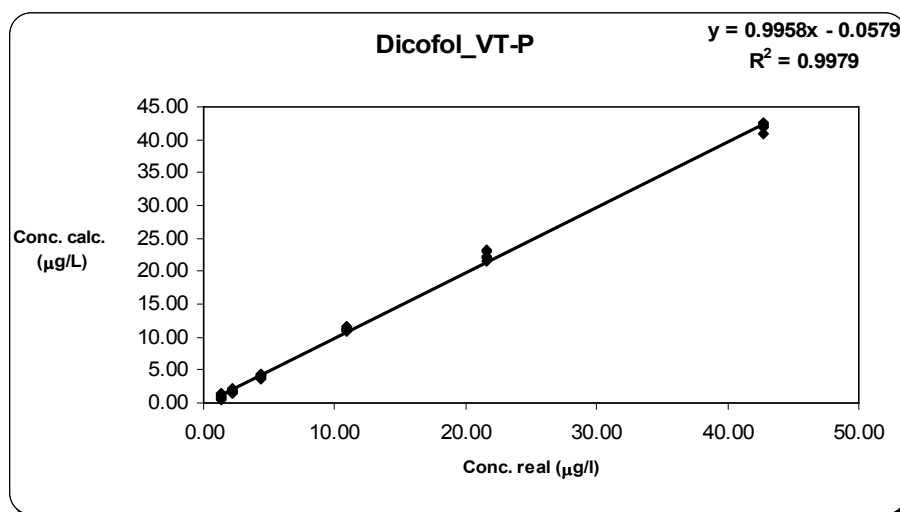


Figura 3.40 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.

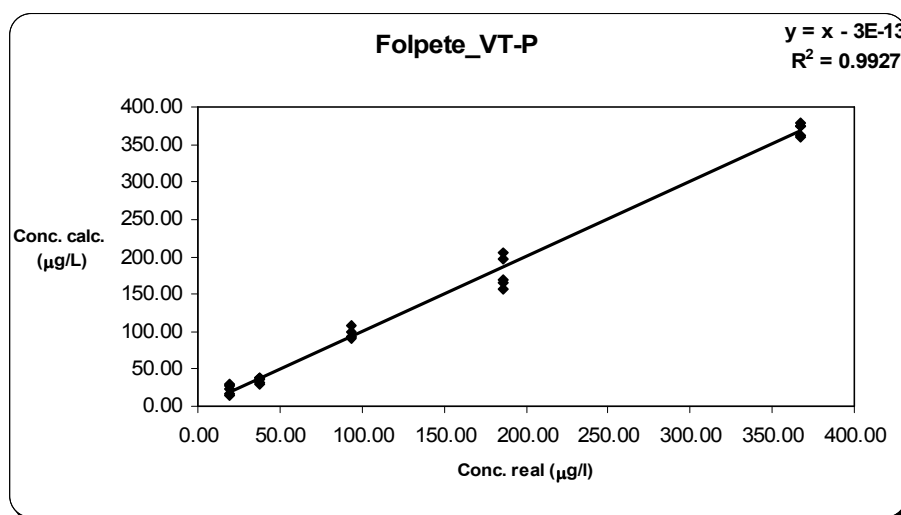


Figura 3.41 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.

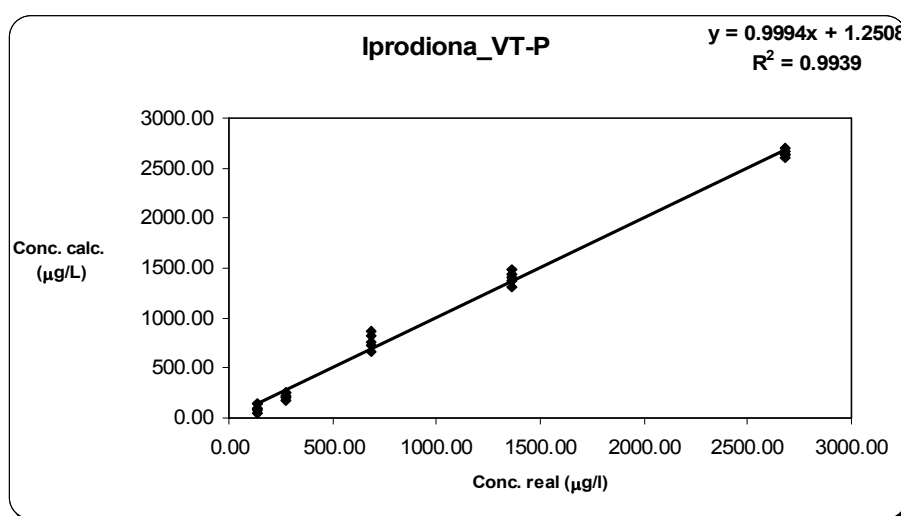


Figura 3.42 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.

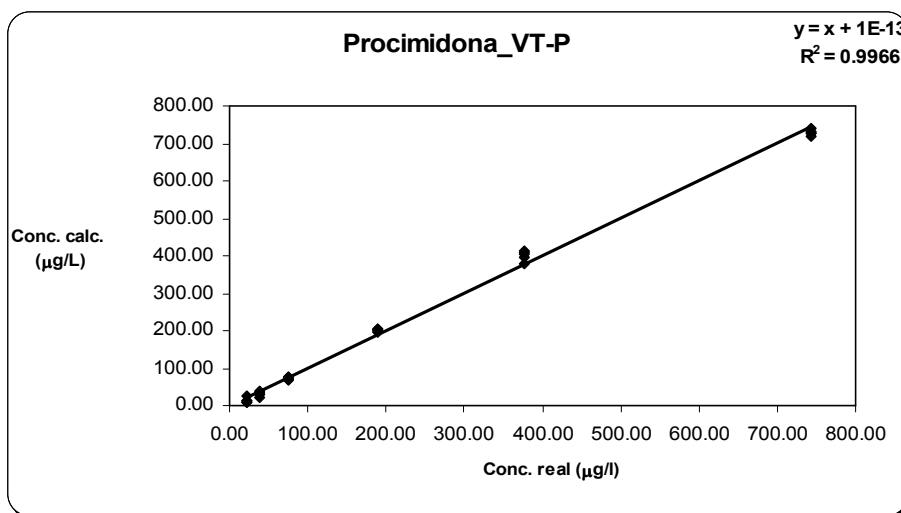


Figura 3.43 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.

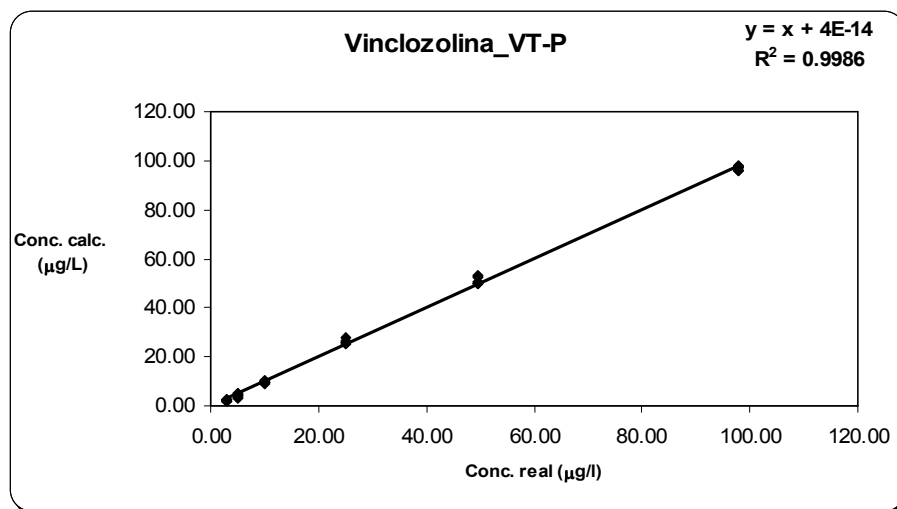


Figura 3.44 - Representação gráfica dos valores de concentração calculada em função da concentração real dos padrões, para o pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.

À semelhança das matrizes vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro e vinho branco do Porto, analisadas anteriormente, verifica-se que a variação dos resultados expressos em concentração calculada, obtidos para cada composto, na matriz vinho tinto do Porto não é muito acentuada. Os declives das rectas obtidas são muito próximos ou iguais a 1 e as ordenadas na origem apresentam valores próximos de zero, significando que os valores obtidos para as concentrações calculadas são próximos dos valores das concentrações reais.

Verifica-se, no entanto, e à semelhança do que acontece na matriz vinho branco do Douro, que os pesticidas captana e folpete apresentam uma maior dispersão dos resultados obtidos, que poderá ser explicada, como já foi referido anteriormente pela maior complexidade das matrizes vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto.

Os desvios associados a estes valores podem ser, contudo, melhor analisados, nas tabelas apresentadas no ponto 3.1.3, relativas ao estudo da precisão intermédia.

3.2.3 Estudos de repetibilidade e precisão intermédia

Procedeu-se ao estudo de repetibilidade e precisão intermédia, para cada um dos pesticidas estudados nas quatro matrizes consideradas. Os estudos foram realizados para vários níveis de concentração de pesticidas, através da fortificação de amostras de lotes de vinho.

Os valores de repetibilidade foram obtidos a partir da análise de, pelo menos, quatro preparações independentes, em cada uma das matrizes, no mesmo dia.

Os valores de precisão intermédia são os mesmos valores utilizados para a construção das curvas de calibração, uma vez que se analisaram várias concentrações e uma preparação por concentração, ao longo de cinco dias diferentes. Os valores de precisão intermédia foram assim obtidos a partir da análise de cinco preparações independentes, em cada uma das matrizes, para cada concentração considerada, em dias diferentes.

Sendo os resultados relativos ao estudo das repetibilidades obtidos para o mesmo dia, não se achou necessário apresentar os resultados associados às concentrações calculadas. Neste caso, as concentrações calculadas obter-se-iam a partir da mesma recta de calibração, recta esta construída com amostras cujas análises decorreram no mesmo dia em que decorreram as análises das amostras preparadas para o estudo da repetibilidade. Assim sendo, a diferença entre os desvios associados ao sinal e os

desvios associados às concentrações calculadas, não é significativa, apresentando-se os resultados, expressos em RSD%, associados apenas às áreas obtidas.

Por outro lado, os resultados obtidos para a precisão intermédia apresentam grandes diferenças entre os desvios associados ao sinal obtido e os desvios associados à concentração calculada. Como os resultados para o estudo da precisão intermédia são obtidos em dias diferentes, as concentrações calculadas são obtidas a partir de rectas de calibração diferentes. Desta forma, para este estudo apresentam-se os resultados expressos em RSD% associados às áreas obtidas assim como os resultados expressos em RSD% associados às concentrações calculadas.

Nas tabelas 3.14, 3.16, 3.18, 3.20, 3.22, 3.24 e 3.26 apresentam-se os valores expressos em RSD%, correspondentes aos estudos de repetibilidade efectuados.

Nas tabelas 3.15, 3.17, 3.19, 3.21, 3.23, 3.25 e 3.27 apresentam-se os valores expressos em RSD%, correspondentes aos estudos de precisão intermédia efectuados.

Tabela 3.14 - Valores de repetibilidade (expressos em RSD%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida captana, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
419,55		17,8	20,1	
204,39	21,3	33,4	19,8	13,4
103,52	28,3	22,6		11,0
52,10	22,1	21,6	20,9	18,8
20,92	20,2		24,3	14,0

Analisada a tabela, onde se podem verificar os resultados obtidos relativamente ao estudo da repetibilidade para o pesticida captana, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que não há uma grande diferença relativamente aos desvios associados às áreas obtidas, entre as várias concentrações analisadas. Esperar-se-iam desvios maiores para as concentrações mais baixas, associados a um baixo factor de resposta e a um efeito mais significativo de matriz, o que não se verifica. Tal pode dever-se ao efeito da possível decomposição do composto à medida que decorre a sequência de análise, originando consideráveis desvios a todos os níveis de concentração analisados. Muitos dos valores de RSD% obtidos estão acima do valor

máximo assumido como aceitável, $RSD \leq 20\%$ [91], podendo ser justificados também pela instabilidade do composto, dificultando a validação do método para a sua determinação. Os melhores resultados verificam-se para a matriz vinho tinto do Porto, ao contrário do que se esperaria. Estes valores podem estar possivelmente associados tanto às condições do equipamento (estado da fibra, *liner* e detector) no dia da análise, como à influência da matriz em causa na estabilidade do composto.

Tabela 3.15 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida captana, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
419,55	38,6	1,7	31,9	1,5	41,8	2,6	48,6	14,8
204,40	30,0	6,6	33,6	6,3	30,3	12,1	61,8	22,0
103,52	23,5	7,3	36,2	8,3	40,1	16,4	38,7	9,0
52,10	15,0	9,9	61,1	13,0	38,7	7,5	26,3	13,5
20,92	39,5	23,2	61,8	21,8	40,9	44,5	54,0	50,7
10,48	23,1	37,6			59,1	67,4	49,3	57,7

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativo ao pesticida captana, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, conclui-se facilmente que há uma grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas. Esta diferença vem confirmar a variação significativa na resposta do equipamento, que se verifica de dia para dia e já discutida anteriormente. Assim, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas para calcular a precisão intermédia do método.

Avaliando os resultados obtidos associados à concentração calculada, verificam-se desvios elevados nas concentrações mais baixas. Estes resultados, devem-se sobretudo, e para além da instabilidade do composto, ao baixíssimo factor de resposta do equipamento para este composto, nestas concentrações. Assim, analisados os resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 52,10 µg/L seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis ($RSD \leq 20\%$), para as quatro matrizes estudadas. Nas matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro, poder-se-iam atingir limites de quantificação mais baixos, uma vez que a concentração de 20,92

$\mu\text{g/L}$ apresenta valores de RSD% próximos dos aceitáveis. No entanto, teriam que ser efectuados estudos de repetibilidade e precisão intermédia para esses novos valores de limite de quantificação, a fim de serem validados.

Como já tinha sido mencionado anteriormente, dado o baixo limite máximo de resíduo permitido, para a captana, o método que se apresenta não garante o cumprimento da regulamentação, devido à insuficiente sensibilidade ao composto em causa. Para que tal fosse possível, o método teria que ser melhorado ou substituído por outro.

Tabela 3.16 - Valores de repetibilidade (expressos em RSD%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida clortalonil, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc ($\mu\text{g/L}$)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
204,70	2,6	1,2	6,7	3,2
103,68	2,7	2,4		1,9
52,18	2,6	4,5	2,5	2,0
20,95	3,5	4,4	5,3	2,2

Analisada a tabela, onde se podem verificar os resultados obtidos relativamente ao estudo da repetibilidade para o pesticida clortalonil, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que se obtiveram bons resultados relativamente ao desvio associado às áreas obtidas ($\text{RSD}\% \leq 20\%$), para todas as concentrações analisadas. O composto em causa apresenta um bom factor de resposta, mesmo em condições baixas. Contudo apresenta, para as matrizes vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto, valores ligeiramente mais elevados de RSD% nas concentrações mais elevadas.

Pode-se concluir que não se verificam diferenças significativas entre matrizes, pelo que o efeito de matriz não se manifesta significativamente no estudo das repetibilidades, para este composto.

Tabela 3.17 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida clortalonil, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc ($\mu\text{g/L}$)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
204,70	8,6	0,8	21,2	0,8	37,7	1,5	54,4	1,1
103,68	8,4	2,7	21,2	2,9	33,6	5,2	53,1	4,1
52,18	8,9	4,4	23,8	3,3	26,3	6,4	53,5	2,1
20,95	11,2	7,8	28,9	5,6	30,0	7,9	55,8	5,2
10,49	9,3	8,6	23,8	6,4	25,5	15,6	58,5	13,5
6,30	19,0	11,2	27,3	18,3	16,4	26,8	58,3	23,1

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativo ao pesticida clortalonil, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, conclui-se facilmente que há, mais uma vez, uma grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas. Esta diferença, à semelhança dos resultados obtidos para a captana, vem evidenciar a variação significativa na resposta do equipamento, que se verifica de dia para dia e já discutida. Assim, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Avaliando os resultados obtidos associados à concentração calculada, verificam-se desvios maiores nas concentrações mais baixas, decrescendo à medida que as concentrações aumentam. Estes resultados, devem-se sobretudo, ao menor sinal analítico para este composto, nas concentrações mais baixas, relativamente às concentrações mais altas, assim como ao efeito de matriz, que assume um peso maior nas concentrações mais baixas. Assim, analisados os resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 20,95 $\mu\text{g/L}$ seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis ($\text{RSD} \leq 20\%$), para as quatro matrizes estudadas. Ainda nestas quatro matrizes, verifica-se a possibilidade de se quantificar o composto em causa a um nível mais baixo. Analisando os resultados obtidos para a precisão intermédia verifica-se que a concentração de 10,49 $\mu\text{g/L}$ seria um valor expectável para o limite de quantificação apresentando valores de RSD% inferiores a 20. Nas matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro, é possível a obtenção de um valor de limite de quantificação ainda mais baixo, 6,30 $\mu\text{g/L}$, dado que os valores de RSD% são próximos dos aceitáveis. No entanto, não foram efectuados estudos de repetibilidade a estes dois níveis de concentração, 10,49 e 6,30 $\mu\text{g/L}$, pelo que se apontam estes valores de limite

de quantificação como uma indicação de uma maior sensibilidade método, para este composto, nas matrizes referidas.

Conclui-se assim que se conseguem limites de quantificação mais baixos do que os limites calculados através do desvio associado ao declive das rectas de calibração.

Finalmente, é possível verificar que são obtidos melhores resultados relativos à precisão intermédia, para as matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro, possibilitando a quantificação do composto em causa, a níveis mais baixos, para estas matrizes. Tal pode ser explicado pela menor complexidade das matrizes vinhos do Douro.

Tabela 3.18 - Valores de repetibilidade (expressos em RSD%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida dicofol, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
42,68	22,0	4,1	11,5	5,2
21,62	2,5	4,3		2,5
10,88	8,3	8,1	2,8	5,7
4,37	8,9	8,8	4,7	4,5

Analisados os resultados obtidos relativamente ao estudo da repetibilidade para o pesticida dicofol, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que se obtêm bons resultados relativamente aos desvios associados às áreas obtidas ($RSD \leq 20\%$), com a excepção do valor obtido para a maior concentração, em vinho branco do Douro. Este valor de RSD, 22,0%, pode estar associado a ligeiras alterações nas condições do equipamento (fibra no “fim de vida”, *liner* e/ou detector com alguma sujidade), no dia em que foi efectuado o estudo para a concentração de 42,68 µg/L, na matriz vinho branco do Douro, traduzindo-se em perda de sensibilidade.

De um modo geral, o pesticida em causa apresenta um bom factor de resposta mesmo nas concentrações mais baixas. Os valores de RSD% mais altos verificam-se, na sua maioria, para as matrizes vinho branco do Douro e vinho tinto do Douro. Apesar de não serem diferenças muito significativas, podem estar associadas tanto ao efeito provocado por cada uma das matrizes, como ao efeito provocado pelas alterações das condições operacionais, já referidas.

Tabela 3.19 - Valores de precisão intermédia (expressos em RSD%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida dicofol, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
42,68	17,6	2,3	12,5	1,5	61,4	2,3	36,9	1,7
21,62	11,7	6,6	12,7	5,3	46,0	7,4	36,5	3,3
10,88	8,3	4,9	14,5	4,5	39,4	8,0	38,5	2,4
4,37	16,7	18,9	18,4	2,0	50,5	14,0	39,7	6,3
2,19	18,7	34,0	19,0	18,8	35,3	33,8	42,9	16,2
1,31	29,8	46,1	31,0	35,0	35,8	67,7	40,0	29,9

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativos ao pesticida dicofol, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, verifica-se mais uma vez a grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas, confirmando a já referida variação significativa na resposta do equipamento, de dia para dia. Assim, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Analisando os resultados obtidos associados à concentração calculada, observam-se desvios maiores nas concentrações mais baixas, decrescendo à medida que as concentrações aumentam. Estes resultados podem ser justificados pelas razões já referidas.

Pela análise dos resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 4,37 µg/L seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis (RSD ≤20%), para as quatro matrizes estudadas. Nas matrizes vinho tinto do Douro e vinho tinto do Porto, é possível a obtenção de um valor de limite de quantificação mais baixo, 2,19 µg/L, dado que os valores de RSD% estão abaixo do valor máximo considerado aceitável (RSD% ≤20%). No entanto, não foram efectuados estudos de repetibilidade a este nível de concentração, pelo que se aponta este valor de limite de quantificação como uma indicação de uma maior sensibilidade do método, para este composto, nas duas matrizes indicadas.

Tabela 3.20 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida folpete, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
753,72		15,4	21,1	16,9
367,20	17,1	37,9	19,5	14,1
185,98	27,0	28,0		11,1
93,60	30,8	22,0	18,1	26,9
37,59	36,7	26,6	19,9	18,0

Analisada a tabela, onde se apresentam os resultados obtidos relativamente ao estudo da repetibilidade para o pesticida folpete, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que não há uma grande diferença relativamente aos desvios associados às áreas obtidas, entre as várias concentrações analisadas. Esperar-se-iam desvios maiores para as concentrações mais baixas, associados a um baixo factor de resposta e a um efeito matriz mais pronunciado, o que não se verifica. Tal facto pode dever-se ao efeito da possível decomposição do composto à medida que decorre a sequência de análise, originando consideráveis desvios a todos os níveis de concentração analisados à semelhança do que acontece com o pesticida captana. Muitos dos valores de RSD% obtidos estão acima do valor considerável aceitável ($RSD \leq 20\%$), podendo ser justificados também pela instabilidade do composto, dificultando a validação do método para a sua determinação. Os melhores resultados verificam-se para as matrizes vinhos do Porto, ao contrário do que se poderia esperar. Estas diferenças de resultados entre as diferentes matrizes, apesar de não serem muito significativas, podem estar possivelmente associadas tanto às condições do equipamento no dia da análise (estado da fibra, do *liner* e/ou do detector), como à influência das matrizes em causa na estabilidade do composto.

Tabela 3.21 - Valores de precisão intermédia (expressos em RSD%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida folpete, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
753,72	44,7	2,0	33,3	2,2	40,1	3,3	40,0	13,8
367,20	29,7	8,8	32,1	9,2	25,1	14,4	39,9	2,4
185,98	27,7	4,6	35,8	5,7	48,7	22,8	32,1	11,8
93,60	22,3	6,8	43,8	9,8	41,7	10,9	33,1	7,5
37,59	39,5	33,1	65,4	31,6	58,1	65,0	35,6	10,3
18,82	62,6	51,6	47,3	39,9	61,2	102,2	58,1	28,3

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativo ao pesticida folpete, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, conclui-se, à semelhança dos pesticidas anteriores, que há uma grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas. Confirma-se, também, pelos resultados obtidos para este pesticida, a variação significativa na resposta do equipamento de dia para dia e já discutida anteriormente. Assim, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Analisados os resultados obtidos associados à concentração calculada, verificam-se desvios elevados nas concentrações mais baixas, podendo ser explicados pela instabilidade do composto e sobretudo pelo baixíssimo factor de resposta do equipamento para este composto, nestas concentrações.

Avaliados os resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 93,60 µg/L seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis (RSD ≤20%), para as quatro matrizes estudadas.

Tabela 3.22 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida iprodiona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
2683,65	3,1	6,8	16,2	4,0
1359,25	4,9	2,9		7,5
684,07	7,3	4,6	6,9	8,8
274,70	10,5	9,4	8,4	11,4

Analisada a tabela, onde se apresentam os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade para o pesticida iprodiona, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que, se obtêm bons resultados relativamente aos desvios associados às áreas obtidas ($RSD \leq 20\%$),

De um modo geral, o pesticida iprodiona apresenta um bom factor de resposta a todos os níveis de concentrações estudados. O maior valor de RSD% obtido é de 16,2% para a concentração mais alta, na matriz vinho branco do Porto. Não era um valor esperado, dado ser superior aos valores de RSD% obtidos para as concentrações mais baixas, mas pode ser justificado pela dificuldade em manter as condições operatórias ao longo de todo o estudo, sendo este valor obtido nas condições mais desfavoráveis. Os valores de RSD% mais altos obtidos para as matrizes vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro e vinho tinto do Porto verificam-se para a concentração mais baixa, como seria de esperar e pelas razões já referidas.

Não se verificam diferenças significativas entre matrizes, pelo que o efeito de matriz não se manifesta significativamente no estudo das repetibilidades, para este composto.

Tabela 3.23 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores das áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida iprodiona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. Calc.)
2683,65	10,2	0,8	16,7	0,7	88,1	1,6	18,4	1,4
1359,25	7,0	2,8	12,1	3,4	76,4	7,2	12,1	4,6
684,07	4,1	5,3	13,9	2,0	63,8	6,1	17,9	10,6
274,70	9,0	6,0	14,3	6,5	56,0	21,7	22,2	18,0
137,53	19,8	15,0	29,4	9,9	57,6	27,3	29,3	42,3

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativos ao pesticida iprodiona, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, observa-se, novamente, a grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas, confirmando a já referida variação significativa na resposta do equipamento, de dia para dia. Assim, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Analisando os resultados obtidos associados à concentração calculada, observam-se desvios maiores nas concentrações mais baixas, decrescendo à medida que as concentrações aumentam. Estes resultados podem ser justificados pelas razões já referidas.

Pela análise dos resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 274,70 µg/L seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis (RSD ≤20%), para as quatro matrizes estudadas. Nas matrizes vinhos do Douro, é possível a obtenção de um valor de limite de quantificação mais baixo, 137, 53 µg/L, dado que os valores de RSD% estão abaixo do valor máximo considerado aceitável (RSD% ≤20%). No entanto, não foram efectuados estudos de repetibilidade a este nível de concentração, pelo que se aponta este valor de limite de quantificação como uma indicação de uma maior sensibilidade do método, para este composto, nas duas matrizes indicadas.

Os desvios mais baixos obtidas nas matrizes vinhos do Douro podem estar associados à menor complexidade das matrizes, quando comparadas com as matrizes vinhos do Porto.

Tabela 3.24 - Valores de repetibilidade (expressos em RDS%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida procimidona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
742,85	2,3	3,1	4,5	3,3
376,25	3,3	2,6		2,7
189,35	2,7	4,3	2,4	3,3
76,04	4,8	6,3	4,1	2,9

Avaliados os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade para o pesticida procimidona, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que, se obtêm bons resultados relativamente aos desvios associados às áreas obtidas ($RSD \leq 20\%$),

De um modo geral, o pesticida procimidona apresenta um bom factor de resposta a todos os níveis de concentrações estudados. O maior valor de RSD% obtido é de 6,3% para a concentração mais baixa, na matriz vinho tinto do Douro. Não se verificam diferenças significativas entre concentrações e entre matrizes.

Tabela 3.25 - Valores de precisão intermédia (expressos em RDS%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida procimidona, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
742,85	7,1	0,6	7,9	1,0	53,0	0,7	17,1	1,0
376,25	9,1	2,8	5,9	4,0	50,7	2,5	15,5	3,5
189,35	9,0	3,4	9,1	4,0	45,4	3,7	14,7	2,1
76,04	8,1	4,4	11,9	4,8	49,0	9,6	15,1	4,8
38,07	8,1	4,2	14,4	19,6	43,9	10,1	24,1	17,9
22,85	16,3	18,6	35,0	42,2	43,1	32,9	31,7	47,6

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativos ao pesticida procimidona, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, observa-se, novamente, a grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas, confirmando a já referida variação significativa na resposta do equipamento, de dia para dia. Assim, e à semelhança dos pesticidas anteriores, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Analisando os resultados obtidos associados à concentração calculada, observam-se desvios maiores nas concentrações mais baixas, decrescendo à medida que as concentrações aumentam. Estes resultados podem ser justificados pelas razões já referidas.

Pela análise dos resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 76,04 µg/L seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis ($RSD \leq 20\%$), para

as quatro matrizes estudadas. Ainda para as quatro matrizes, verifica-se a possibilidade de se baixar o valor de limite de quantificação para 38,07 µg/L, dado que os valores de RSD% estão abaixo do valor máximo considerado aceitável (RSD% ≤20%). No entanto, não foram efectuados estudos de repetibilidade a este nível de concentração, pelo que se aponta este valor de limite de quantificação como uma indicação de uma maior sensibilidade do método, para este composto, em todas as matrizes.

Tabela 3.26 - Valores de repetibilidade (expressos em RSD%, para os valores das áreas) obtidos para o pesticida vinclozolina, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)	RSD % (área)
97,97	3,3	2,8	3,9	2,7
49,62	3,4	2,2		2,5
24,97	4,9	2,9	2,2	1,9
10,03	6,4	2,1	4,3	3,1

Avaliados os resultados obtidos para o estudo da repetibilidade para o pesticida vinclozolina, nas quatro matrizes em estudo e para várias concentrações, verifica-se que, se obtêm bons resultados relativamente aos desvios associados às áreas obtidas (RSD ≤ 20%),

De um modo geral, o pesticida vinclozolina apresenta um bom factor de resposta a todos os níveis de concentrações estudados. Os valores de RSD% mais elevados verificam-se para a concentração mais baixa para a maioria das matrizes, como seria de esperar e por razões já mencionadas, à excepção da matriz vinho tinto do Douro. No entanto, estas diferenças não são significativas.

Tabela 3.27 - Valores de precisão intermédia (expressos em RSD%, para os valores de áreas e para a concentração calculada) obtidos para o pesticida vinclozolina, em todos os vinhos testados, e para várias concentrações.

Conc ($\mu\text{g/L}$)	Vinho branco Douro		Vinho tinto Douro		Vinho branco Porto		Vinho tinto Porto	
	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)	RSD % (área)	RSD % (conc. calc.)
97,97	7,9	0,6	6,2	0,4	54,1	1,0	23,2	0,8
49,62	7,8	2,2	7,4	1,4	47,2	3,2	21,5	2,5
24,97	8,9	3,7	6,8	2,9	42,3	4,7	21,8	3,5
10,03	11,8	7,1	9,9	2,1	49,7	7,9	21,9	5,4
5,02	4,2	7,7	9,8	7,4	43,0	14,9	26,3	13,5
3,01	14,8	8,3	20,6	12,2	37,0	20,5	23,2	18,4

Avaliando os resultados obtidos para o estudo da precisão intermédia, relativos ao pesticida vinclozolina, nas quatro matrizes estudadas e para várias concentrações, observa-se, novamente, a grande diferença entre os desvios associados às áreas obtidas e os desvios associados às concentrações calculadas, à excepção das concentrações mais baixas, confirmando a já referida variação significativa na resposta do equipamento, de dia para dia. Assim, e à semelhança dos pesticidas anteriores, apesar de se apresentarem os dois resultados, serão considerados os resultados associados às concentrações calculadas, para calcular a precisão intermédia do método.

Analisando os resultados obtidos associados à concentração calculada, observam-se desvios maiores nas concentrações mais baixas, decrescendo à medida que as concentrações aumentam. Estes resultados podem ser justificados pelas razões já referidas.

Pela análise dos resultados obtidos para a repetibilidade e para a precisão intermédia, conclui-se que a concentração de 10,03 $\mu\text{g/L}$ seria um valor válido para o limite de quantificação do composto, apresentando valores de RSD% aceitáveis (RSD $\leq 20\%$), para as quatro matrizes estudadas. Ainda para as quatro matrizes, verifica-se a possibilidade de se baixar o valor de limite de quantificação para 3,01 $\mu\text{g/L}$, dado que os valores de RSD% estão abaixo do valor máximo considerado aceitável (RSD% $\leq 20\%$). No entanto, não foram efectuados estudos de repetibilidade a este nível de concentração, pelo que se aponta este valor de limite de quantificação como uma indicação de uma maior sensibilidade do método, para este composto, em todas as matrizes.

Considerando a análise efectuado aos resultados obtidos ao longo do desenvolvimento do método para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas, torna-se evidente a necessidade de calibrações frequentes, se não diárias, dada a significativa variação de resposta do equipamento, de dia para dia.

Relativamente aos limites de detecção e quantificação, estes podem ser obtidos de várias formas. No caso específico dos pesticidas em estudo, os limites obtidos através das rectas de calibração servem apenas como orientação, uma vez que apresentam variações consideráveis, para a mesma matriz, em dias diferentes. Podem, no entanto, considerar-se válidos os limites de quantificação que se inferem dos estudos de repetibilidade e precisão intermédia. Ainda assim, valores mais baixos do que os obtidos desta forma poderiam ser validados em estudos posteriores, uma vez que os resultados obtidos sugerem que tal seja possível. O mesmo estudo teria que ser realizado para a validação dos limites de detecção, podendo neste caso fixar-se um valor máximo de RSD aceitável superior a 20%.

Considerando os limites máximos de resíduos impostos pela regulamentação europeia, importa lembrar que estes valores foram tomados apenas como orientação. Para além de se aplicarem a uvas e não a vinho, são expressos em unidades de massa de pesticida por unidade de massa de uva. Por outro lado, os limites de detecção e quantificação do método são expressos em unidade de massa de pesticida por unidade de volume de vinho.

Segundo Otteneder et al. [43], um limite de pesticidas no vinho correspondente a 1/10 do respectivo limite para uvas, seria aceitável. Considerando esta aproximação e os limites de quantificação obtidos para o método proposto, a partir dos estudos de repetibilidade e precisão intermédia, verifica-se a possibilidade de garantir o cumprimento destes limites de pesticidas sugeridos para o vinho, sendo possível atingir limites ainda mais baixos, para a maioria dos compostos. A sensibilidade do método proposto para o pesticida captana não permite garantir o cumprimento destes limites, pelo que a detecção e quantificação deste composto terá que ser realizada recorrendo a outro método mais sensível.

4. Conclusões e sugestões para trabalho futuro

O trabalho apresentado nesta tese teve como principal objectivo o desenvolvimento de duas metodologias para a determinação de pesticidas em quatro tipos de vinhos diferentes: vinho branco do Douro, vinho tinto do Douro, vinho branco do Porto e vinho tinto do Porto. Pretendeu-se, sobretudo, desenvolver metodologias de análise simples, evitando o recurso à extracção por solventes, cujas desvantagens já foram referidas, e evitando ao máximo o pré-tratamento da amostra.

Foi demonstrada a aplicabilidade da microextracção em fase sólida para os compostos em estudo, nas matrizes consideradas, sendo evidente o efeito provocado por cada uma dessas matrizes no processo de extracção.

Uma vez que se optou por trabalhar com as amostras sem qualquer pré-tratamento, e tendo em conta a elevada complexidade das matrizes em estudo, a detecção por espectrometria de massa *tandem*, mostrou ser de elevada importância, permitindo a identificação de cada composto de uma forma inequívoca.

Numa primeira fase do trabalho, foi desenvolvida uma metodologia para a determinação de oito pesticidas organofosforados, por SPME-GC-MS/MS, nas quatro matrizes já referidas.

De um modo geral, obtiveram-se bons resultados para a linearidade nas gamas de concentrações escolhidas, para a maioria dos compostos. Foram obtidos coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 para quase todos os pesticidas. Os valores de R^2 mais baixos foram obtidos para o diazinão em vinho branco do Douro (0,9330) e para o malatião em vinho branco do Porto (0,9739) e vinho tinto do Porto (0,9777).

Relativamente aos limites de detecção e quantificação, pode considerar-se que se obtiveram bons resultados para todos os pesticidas em estudo, com a excepção do metidatião. Os limites de quantificação obtidos para este composto, em todas as matrizes estudadas, apresentaram valores superiores ao limite máximo permitido pela regulamentação europeia, para uvas. Assim, a determinação do metidatião apresenta-se como uma limitação do método desenvolvido, sendo necessário o recurso a outro método ou um melhoramento do método desenvolvido afim de garantir o cumprimento do limite máximo de resíduo imposto.

O limite de detecção mais baixo que se obteve foi de 0,05 µg/L para o clorpirifos-metilo em vinho tinto do Douro e o valor mais elevado foi de 13,00 µg/L, obtido para o

metidatião, em vinho branco do Porto. O limite de quantificação mais baixo que se obteve foi de 0,18 µg/L, também para o clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Douro e o valor mais alto foi de 43,32 µg/L, obtido para metidatião em vinho branco do Porto.

No entanto, quaisquer limites de detecção e quantificação considerados necessitam de ser validados, o que não aconteceu para este método. Os limites obtidos através dos desvios associados aos declives das rectas de calibração consideram-se valores possíveis necessitando de estudos ao nível da repetibilidade e precisão intermédia para uma validação inicial.

Analisados os resultados obtidos para estes compostos, torna-se evidente o efeito de matriz provocado pelas diferenças existentes entre cada uma das quatro matrizes estudadas. Demonstra-se assim a necessidade de se efectuarem as calibrações na própria matriz, a fim de se atenuar este efeito.

Verifica-se, também, através dos estudos de repetibilidade e precisão intermédia, que não é possível trabalhar em condições de repetibilidade ao longo de uma sequência de trabalho, dado o tempo necessário para que decorra uma análise e a alteração das condições operatórias, ao longo do tempo.

Numa fase seguinte do trabalho foi desenvolvida uma metodologia para a determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas, também por SPME-GC-MS/MS, nas quatro matrizes referidas.

Este método foi validado de uma forma diferente, quando comparado com o método desenvolvido para a determinação dos pesticidas organofosforados, com o objectivo de atenuar os efeitos causados pela rápida degradação de alguns compostos e pelas variações de resposta do equipamento, ao longo do tempo.

Para este segundo método proposto, obteve-se, de um modo geral, boa linearidade para as gamas de concentrações escolhidas, para todos os compostos, nas matrizes consideradas.

Os coeficientes de correlação mais baixos que se obtiveram ao longo do desenvolvimento deste método verificaram-se para os pesticidas captana, folpete e iprodiona. Estes três compostos mostraram ser os mais problemáticos, devida à sua rápida degradação. Contudo, apenas o pesticida captana representa uma limitação do método desenvolvido. Os limites de quantificação obtidos para este composto não garantem o cumprimento do limite máximo de resíduo regulamentado para uvas. Os restantes compostos apresentaram bons resultados para os limites de detecção e quantificação do método proposto na medida em permitem garantir o cumprimento dos limites máximos regulamentados. Foram calculados vários limites de detecção para cada composto, em cada matriz estudada, a partir das rectas de calibração diárias, resultando

num conjunto de valores com variações significativas entre cada um, para o mesmo pesticida e na mesma matriz. No entanto, apenas os limites de quantificação foram validados, recorrendo aos estudos de repetibilidade e precisão intermédia. Foram obtidos os seguintes limites de quantificação: captana 52,10 µg/L; clortalonil 20,95 µg/L; dicofol 4,37 µg/L; folpete 93,60 µg/L; iprodiona 274,70 µg/L; procimidona 76,04 µg/L e vinclozolina 10,03 µg/L.

Apesar de se constatar a variação significativa na resposta do equipamento, de dia para dia, tal efeito pode ser atenuado através de calibrações frequentes, se não diárias, nas matrizes pretendidas.

O efeito de matriz também é evidente para estes compostos, tal como para os organofosforados, reforçando a necessidade de calibrações na própria matriz, a fim de atenuar este efeito.

Tendo em conta que os limites máximos de resíduos considerados aplicam-se às uvas e não ao vinho, como foi já referido, e considerando os limites máximos de pesticidas no vinho correspondentes a 1/10 dos respectivos limites para uvas, conclui-se que ambos os métodos permitem garantir o cumprimento destes últimos limites, para a maioria dos compostos. Os pesticidas captana e metidatião são os compostos mais problemáticos na medida em que os limites de quantificação obtidos através dos métodos propostos não permitem a garantia do cumprimento dos limites regulamentados para as uvas, não permitindo assim a garantia dos limites sugeridos.

Com vista a dar continuidade ao trabalho desenvolvido e que foi apresentado nesta tese, enumeram-se de seguida algumas sugestões para trabalhos futuros:

- Validação dos limites de detecção e quantificação propostos para os pesticidas organofosforados e para os limites de detecção dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas;
- Tentar uma melhor optimização das condições adoptadas nomeadamente para os pesticidas metidatião e captana a fim de aumentar a sensibilidade dos métodos propostos para a determinação destes compostos. Se tal não for possível partir para o desenvolvimento de novas metodologias que apresentem uma maior sensibilidade para os pesticidas em causa;
- Iniciar o estudo de novos compostos e desenvolver um único método que permita a determinação de um conjunto final pesticidas, tão abrangente quanto possível;

- Alargar este estudo aos produtos de degradação dos pesticidas originais, principalmente os produtos de degradação daqueles pesticidas que se degradam mais facilmente.

5. Bibliografia

- [1] – Ware, G. W.; *The Pesticide book*. Thomson Publications, Fresno, 6ª edição, 1994.
- [2] – Environmental Protection Agency of United States. <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm> (consultado em Março de 2009).
- [3] - **Directiva 91/414/CEE do Conselho, de 15 de Julho de 1991** (relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado).
- [4] - The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, IPCS, World Health Organization, 2004. http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_rev_3.pdf (consultado em Dezembro de 2008).
- [5] - http://www.alanwood.net/pesticides/class_pesticides.html (consultado em Maio de 2009)
- [6] – Sanches, S. M.; Da Silva, C. H. T. P.; De Campos, S. X.; Vieira, E. M.; *Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água*. Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p. 53-58, Jan./Dez. 2003.
- [7] – Viñas P., Campillo N., Martínez-Castillo N., Hernández-Córdoba M., 2008. Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216,140-146.
- [8] – Abreu S. M., Correia M., Herbert P., Santos L., Alves A., 2005. Screening of grapes and wine for azoxystrobin, kresoxim-methyl and trifloxystrobin fungicides by HPLC with diode array detection. *Food Additives and Contaminants*, 22(6): 549-556.
- [9] – Abreu S. M., Caboni P., Cabras P., Garau V. L., Alves A., 2006. Validation and global uncertainty of a liquid chromatographic with diode array detection method for the screening of azoxystrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin, famoxadone, pyraclostrobin and fenamidone in grapes and wine. *Analytica Chimica Acta*, 573-574, 291-297.
- [10] – Linde C. D., Davis U. C., *Physico-Chemical Properties and Environmental Fate of Pesticides*. 1994, Environmental Hazards Assessment Program, Environmental Protection Agency.
- [11] – CONFAGRI – Ambiente. <http://www.confagri.pt/Ambiente/AreasTematicas/Residuos/Documentos/dados/doc9ImpactesAmbientais.htm> (consultado em Junho de 2009)
- [12] - http://www.geocities.com/~esabio/cientistas/primavera_silenciosa.htm (consultado em Fevereiro de 2009)

- [13] – Van der Werf H. M. G., 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 60, 81-96.
- [14] – Walorczyk S., 2007 Development of a multi-residue screening method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1165, 200-212.
- [15] - Cunha S. C., Fernandes J. O., Alves A., Oliveira M. B. P. P., 2009. Fast low-pressure gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of multiple pesticides in grapes, musts and wines. *Journal of Chromatography A*, 1216, 119-126.
- [16] – Lambropoulou D. A., Albanis T. A., 2001. Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions for the determination of organophosphorus insecticides in natural waters. *Journal of Chromatography A*, 922, 243-255.
- [17] – Chai M., Tan G., Lal A., 2008 Optimization of Headspace Solid-Phase Microextraction for the Determination of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits. *Analytical Sciences*, 24, 273-276.
- [18] – Lambropoulou D. A., Albanis T. A., 2002. Headspace Solid Phase Microextraction Applied to the Analysis of Organophosphorus Insecticides in Strawberry and Cherry Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3359-3365.
- [19] – Tsoukali H., Theodoridis G., Raikos N., Grigoratou I., 2005. Solid phase microextraction gas chromatographic analysis of organophosphorus pesticides in biological samples. *Journal of Chromatography B*, 822, 194-200.
- [20] – Beceiro-González E., Concha-Graña, Guimaraes A., Gonçalves C., Muniategui-Lorenzo S., Alpendurada M. F., 2007. Optimization and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1141, 165-173.
- [21] – Sun T., Jia J., Zhong D., Wang Y., 2006. Determination of 17 Kinds of Banned Organochlorine Pesticides in Water by Activated Carbon Fiber-Solid Phase Microextraction Coupled with GC-MS. *Analytical Sciences*, 22, 293-298.
- [22] – Fernandez-Alvarez M., Llompert M., Lamas J. P., Lores M., Garcia-Jares C., Cela R., Dagnac T., 2008. Simultaneous determination of traces of pyrethroids, organochlorines and other main plant protection agents in agricultural soils by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1188, 154-163.

- [23] – Safety of pyrethroids for public health use. World Health Organization (WHO), 2005 (http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.10.pdf) (consultado em Julho de 2009).
- [24] – Esteve-Turrillas F. A., Pastor A., Guardia M., 2006. Microwave-assisted extraction of pyrethroid insecticides from semi permeable membrane devices (SPMDs) used to indoor air monitoring. *Analytica Chimica Acta*, 560, 118-227.
- [25] – Domingues, V. M. F. “Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretróides em água”, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Setembro de 2005.
- [26] – Oliva J., Navarro S., Barba A., Navarro G., 1999. Determination of chlorpyrifos, penconazole, fenarimol, vinclozolin and metalaxyl in grapes, must and wine by on-line microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 833, 43-51.
- [27] – Calhelha R. C., Andrade J. V., Ferreira I. C., Estevinho L. M., 2006. Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process. *Food Microbiology*, 23, 393-398.
- [28] – García M. A., Melgar M. J., Fernández M. I., 1999. Multiresidue Determination of Fungicides in Wine. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62, 717-722.
- [29] – Likas D. T., Tsiropoulos N. G., Miliadis G. E., 2007. Rapid gas chromatographic method for the determination of famoxadone, trifloxystrobin and fenhexamid residues in tomato, grape and wine samples. *Journal of Chromatography A*, 1150, 208-214.
- [30] – Laganà A., Bacaloni A., De Leva I., Faberi A., Fago G., Marino A., 2002. Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters. *Analytica Chimica Acta*, 462, 187-198.
- [31] – Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Herrero-Hernández E., Román F. J. S., Flores M. G. P., 2002. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography – Evaluation of pollution due to herbicides in surface and groundwaters. *Journal of Chromatography A*, 950, 157-166.
- [32] – Instituto Nacional de Estatística. http://www.ine.pt/ngt_server/attachfileu.jsp?look_parentBoui=72167586&att_display=n&att_download=y (consultado em Julho de 2009)
- [33] – Desseauve, T.; *O Livro do Vinho*. Chaves Ferreira – Publicações, 1998.
- [34] – Reynier, A.; *Manual de Viticultura*. Publicações Europa-América, 3ª edição, 2004.
- [35] – Jackson R. S.; *Wine Science – Principles and Applications*. Elsevier, Third Edition, 2008.
- [36] – Magalhães N., 2008. *Tratado de Viticultura – A Videira, a Vinha e o Terroir*, 1ª edição, Chaves Ferreira Publicações.

- [37] – Instituto dos Vinhos do Douro e Porto - <http://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=64&codSeccao=2&idioma=0> (consultado em Maio 2009)
- [38] – Bayer. URL: http://www.bayercropscience.pt/internet/culturas/cultura.asp?id_cultura=59 (consultado em Agosto de 2009)
- [39] – Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. URL: <http://www.dgadr.pt/default.aspx?access=1> (consultado em Setembro de 2009)
- [40] – Castellucci F., 2009. Report of the world vitiviniculture situation in 2008, Zagreb, Croatia. URL: http://news.reseau-concept.net/images/oiv_uk/Client/Communique_de_presse_Zagreb_stats_EN.pdf (consultado em Abril de 2009)
- [41] – Portal da Comissão Europeia: Segurança Alimentar – da exploração agrícola até à mesa. URL: http://ec.europa.eu/food/plant/protection/index_pt.htm (consultado em Abril de 2009).
- [42] – <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?language=PT&type=IMPRESS&reference=20090112IPR45936> (consultado em Junho de 2009)
- [43] – Otteneder H., Majerus P., 2005. Pesticide residues in wine, transfer from grapes. Bulletin O.I.V., vol. 78, nº 889-890, pp. 173-181.
- [44] – Dórea H. S, Gaujac A., Navickiene S., 2008. Microextração em fase sólida, aspectos termodinâmicos e cinéticos. Scientia Plena, Vol. 4, Nº 7.
- [45] – Vas G., Vékey K., 2004. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. Journal of Mass Spectrometry, 39, 233-254.
- [46] – Zambonin C. G., Losito I., Cilenti A., Palmisano F., 2002. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the study of soil adsorption coefficients of organophosphorus pesticides. J. Environ. Monit., 4, 477-481.
- [47] – Pawliszyn J., Arthur C. L., 1990. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. Anal. Chem., 62, 2145-2148.
- [48] – Tsoutsis C. S., Albanis T. A., 2004. Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. Intern. J. Environ. Anal. Chem., Vol. 84, Nº 1-3, pp. 3-13.
- [49] – Lord H., Pawliszyn J., 2000. Review: Evolution of solid-phase microextraction technology. Journal of Chromatography A, 885, 153-193.
- [50] – Alpendurada M. F., 2000. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. Journal of Chromatography A, 889, 3-14.

- [51] - Miège C., Dugay J., 1998. Solid-phase microextraction and gas chromatography for rapid analysis of pesticides. *Analysis Magazine*, 26, nº6, 137-143.
- [52] – Kataoka H., Lord H. L., Pawliszyn J., 2000. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880, 35-62.
- [53] – Górecki T., Yu X., Pawliszyn J., 1999. Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *The Analyst*, 124, 643-649.
- [54] – Ouyang G., Pawliszyn J., 2008. A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 627, 184-197.
- [55] – Gonçalves C., Alpendurada M. F., 2002. Comparison of three different poly(dimethylsiloxane)-divinylbenzene fibres for the analysis of pesticide multiresidues in water samples: structure and efficiency. *Journal of Chromatography A*, 963, 19-26.
- [56] – Gonçalves C., Alpendurada M. F., 2004. Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. *Journal of Chromatography A*, 1026, 239-250.
- [57] – Komatsu E., Vaz J. M., 2004. Optimização dos parâmetros de extracção para determinação multiresíduo de pesticidas em amostras de água empregando a microextracção em fase sólida. *Química Nova*, vol. 27, Nº5, 720-724.
- [58] – Dong C., Zeng Z., Yang M., 2005. Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD. *Water Research*, 39, 4204-4210.
- [59] – Pecoraino G., Scalici L., Avellone G., Ceraulo L., Favara R., Candela E. G., Provenzano M. C., Scaletta C., 2008. Distribution of volatile organic compounds in Sicilian groundwaters analysed by head space-solid phase micro extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry (SPME/GC/MS). *Water Research*, 42, 3563-3577.
- [60] – Rianawati, E., Balasubramanian, R., 2009. Optimization and validation of solid phase micro-extraction (SPME) method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and stormwater. *Physics and Chemistry of the Earth*, doi:10.1016/j.pce.2009.07.003.
- [61] – Wang J., Tuduri L., Millet M., Briand O., Montury M., 2009. Flexibility of solid-phase microextraction for passive sampling of atmospheric pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1216, 3031-3037.
- [62] – Šeduikienė I., Vičkačkaitė V., Kazlauskas R., 2001. Solid phase microextraction of volatile aromatic hydrocarbons from soil. *Chemija (Vilnius)*, T.2, Nº12, 160-165.
- [63] – Namera A., Yashiki M., Nagasawa N., Iwasaki Y., Kojima T., 1997. Rapid analysis of malathion in blood using head space-solid phase microextraction and selected ion monitoring. *Forensic Science International*, 88, 125-131.

- [64] – López F. J., Pitarch E., Egea S., Beltran J., Hernández F., 2001. Gas chromatographic determination of organochlorine and organophosphorous pesticides in human fluids using solid phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 433, 217-226.
- [65] – Bruzzoniti M. C., Sarzanini C., Mentasti E., 2000. Preconcentration of contaminants in water analysis. *Journal of Chromatography A*, 902, 289-309.
- [66] – Das Neves H. J. C., Freitas A. M. C., 1996. *Introdução à cromatografia gás-líquido de alta resolução*. 1ª Edição, Póvoa de Santa Iria, Dias de Sousa, LDA.
- [67] – De Hoffmann E., Stroobant V., 1999. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Second edition, John Wiley & Sons Inc, Paris.
- [68] - <http://www.dq.fct.unl.pt/cadeiras/tc/main/TC.2006-XIX-XX-Web-B&W.pdf> (consultado em Julho de 2009)
- [69] – Maloschik E., Ernst A., Hegedűs G., Darvas B., Székács, 2007. Monitoring water-polluting pesticides in Hungary. *Microchemical Journal*, 85, 88-97.
- [70] – Ramesh A., Ravi P. E., 2004. Electron ionization gas chromatography – mass spectrometry determination of residues of thirteen pyrethroid insecticides in a whole blood. *Journal of Chromatography B*, 802, 371-376.
- [71] – Wong J. W., Webster M. G., Halverson C. A., Hengel M. J., Ngim K. K., Ebeler S. E., 2003. Multiresidue Pesticide Analysis in Wines by Solid-Phase Extraction and Capillary Gas Chromatography – Mass Spectrometric Detection with Selective Ion Monitoring. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1148-1161.
- [72] – González-Rodríguez R. M., Cancho-Grande B., Torrado-Agrasar A., Simal-Gándara J., Mazaira-Pérez J., 2009. Evolution of tebuconazole residues through the winemaking process of Mencía grapes. *Food Chemistry*, 117, 529-537.
- [73] – Cortés-Aguado S., Sánchez-Morito N., Arrebola F. J., Frenich A. G., Vidal J. L. M., 2008. Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 107, 1314-1325.
- [74] – Vitali M., Guidotti M., Giovinazzo R., Cedrone O., 1998. Determination of pesticide residues in wine by SPME and GC/MS for consumer risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 15, No. 3, 280-287.
- [75] – Zambonin C. G., Quinto M., De Vietro N., Palmisano F., 2004. Solid-phase microextraction – gas chromatography mass spectrometry: A fast and simple screening method for the assessment of organophosphorus pesticides residues in wine and fruit juices.
- [76] – Soleas G. J., Yan J., Hom K., Goldberg D., 2000. Multiresidue analysis of seventeen pesticides in wine by gas chromatography with mass-selective detection.

- [77] – Ortelli D., Edder P., Corvi C., 2004. Multiresidue analysis fo 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography – electrospray – tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 520, 33-45.
- [78] – Kaushik G., Satya S., Naik S., 2009. Food processing a tool to pesticide residue dissipation – A review. *Food Research International*, 42, 26-40.
- [79] - Navarro S., Barba A., Oliva J., Navarro G., Pardo F., 1999. Evolution of Residual Levels of Six Pesticides during Elaboration of Red Wines. Effect of Wine-Making Procedures in Their Dissappearance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 264-270.
- [80] - Correia M., Delerue-Matos C., Alves A., 2000. Multi-residue methodology for pesticide screening in wines. *Journal of Chromatography A*, 889, 59-67.
- [81] - Correia M., Delerue-Matos C., Alves A., 2001. Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 369, 647-651.
- [82] – Angioni A., Garau V. L., Del Real A. A., Melis M., Minelli E. V., Tuberoso C., Cabras P., 2003. GC-ITMS Determination and Degradation of Captan during Winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6761-6766.
- [83] – Abreu S. M., Caboni P., Cabras P., Alves A., Garau V. L., 2006. A comparison of a gas chromatographic with electron-capture detection and a gas chromatographic with mass spectrometric detection screening methods for the analysis of famoxadone in grapes and wines. *Journal of Chromatography A*, 1103, 362-367.
- [84] – Rose G., Lane S., Jordan R., 2009. The fate of fungicide and insecticide residues in Australian wine grape by-products following field application. *Food Chemistry*, 117, 634-640.
- [85] – Fernández M., Padrón C., Marconi L., Ghini S., Colombo R., Sabatini A. G., Girotti S., 2001. Determination of organophosphorus pesticides in honeybees after solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 922, 257-265.
- [86] – Su P.-G., Huang S.-D., 1999. Determination of organophosphorus pesticides in water by solid-phase microextraction. *Talanta*, 49, 393-402.
- [87] – Zhu F., Ruan W., He M., Zeng F., Luan T., Tong Y., Lu T., Ouyang G., 2009. Application of solid-phase microextraction for the determination of organophosphorus pesticides in textiles by gas chromatography with mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 650, 202-206.
- [88] - Miller J. C., Miller J. C., 1989. *Statistics for analytical chemistry*. Second edition, John Wiley & Sons Inc, New York.
- [89] – Tomlin, C. D. S. (Ed.), *The Pesticide Manual*, 11th Ed, British Crop Protection Council, 1997.

- [90] - Dacosta J. B. N., Caixeiro J. M. R., Santos V. M. R., Donnici C. L., 2007. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como insecticidas e agentes antitumorais. *Química Nova*, vol. 30, nº 1, 159-170.
- [91] - Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document N° SANCO/2007/3131 (http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/gualcontrol_en.pdf) (consultado em Fevereiro de 2009).
- [92] – Canal-Raffin M., Receveur M., Martinez B., Titier K., Ohayon C., Baldi I., Molimard M., Moore N., Brochard P., 2008. Quantification of folpet degradation products in plasma with HPLC-UV/DAD: Application to an in vivo toxicokinetic study in rats. *Journal of Chromatography B*, 865, 106-113.
- [93] – Guide de validation initiale des performances d’une méthode d’analyse oenologique usuelle. CII SCMA 03.2009 – 37 add.1 (FV 1317), Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV).
- [94] – Norme Française NF T 90-210: Qualité de l’eau – Protocole d’évaluation initiale des performances d’une méthode dans un laboratoire.
- [95] – Sandra P., Tienpont B., Vercammen J., Tredoux A., Sandra T., David F., 2001. Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine. *Journal of Chromatography A*, 928, 117-126.

Anexos

Anexo A. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho branco do Douro.

Tabela A1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	3,00	4,99	9,98	19,90	39,60	78,43
Áreas	1123	1591		7847	14021	28549
	1233	1290	3068	7921	16715	32364
	1125		4094	8079	15316	30688
	1104	1535	2983	7761	15137	30064
Média	1146	1386	3109	7902	15297	30416
Desv Pad	59	215	744	135	1105	1579
RSD%	5,1	15,5	23,9	1,7	7,2	5,2

Tabela A2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	1,20	2,00	4,00	7,96	15,84	31,37
Áreas	1366929	2646228	6403785	11421144	23263105	39303488
	1378641	2598787	5309564	11684546	22091739	40194662
	1409489	2623564	5283719	10944962	20711214	40301243
	1267383	2354142	5079195	11980323	22340797	39073181
Média	1355611	2555680	5519066	11507744	22101714	39718144
Desv Pad	61496	135748	598747	439247	1055079	620481
RSD%	4,5	5,3	10,8	3,8	4,8	1,6

Tabela A3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	0,06	0,10	0,20	0,40	0,79	1,57
Áreas	57821	92215	212451	430613	812494	1497436
	59200	94756	198872	425901	828670	1575386
	53798	95867	203449	418373	770810	1547300
	53965	99018	187449	435912	829858	1506892
Média	56196	95464	200555	427700	810458	1531753
Desv Pad	2732	2820	10400	7442	27593	36246
RSD%	4,9	3,0	5,2	1,7	3,4	2,4

Tabela A4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	3573	3608	3642	5073		10019
	3115	2525	3279	5895	6262	11604
	2652	2856	2911	3810	5745	9257
Média	3113	2996	3460	4926	5926	10293
Desv Pad	461	555	472	1050	291	1197
RSD%	14,8	18,5	13,7	21,3	4,9	11,6

Tabela A5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	0,30	0,50	1,00	1,99	3,96	7,84
Áreas	15413	22701	51517	118691	244721	478499
	15279	24890	48573	129940	241121	442202
	14295	23340	57010	130213	220094	458915
	13438	27785	48717	123207	238722	454362
Média	14606	24679	51454	125513	236165	458494
Desv Pad	925	2265	3944	5584	10993	15087
RSD%	6,3	9,2	7,7	4,4	4,7	3,3

Tabela A6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	63231	102322	231845	551377	994031	1803022
	66599	115918	232749	534683	982353	
	55779	116360	230395	517448	941257	1766637
	57617	112034	210182	515526	1004859	1776391
Média	60807	111659	226292	529759	980625	1840923
Desv Pad	4996	6521	10784	16790	27808	118813
RSD%	8,2	5,8	4,8	3,2	2,8	6,5

Tabela A7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	0,75	1,25	2,50	4,98	9,90	19,61
Áreas	91581	145840	368124		1220640	
	88403	148737	287187	604363	1107122	2030937
	80773	149509	294104	593396	1100742	2159620
	91668	141996	272381	656123		2028776
Média	88106	146520	305449	633402	1170684	2032837
Desv Pad	5119	3405	42754	41254	78332	101148
RSD%	5,8	2,3	14,0	6,5	6,7	5,0

Tabela A8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	3,75	6,24	12,47	24,88	49,51	98,04
Áreas	309	459	955	2111	4010	8573
	416	587	711	2524		8345
	369	530	1014	2373	3888	
	226	696	1029	2327	3865	8307
Média Desv Pad RSD%	330	568	927	2334	4128	7887
	82	100	148	171	419	1050
	24,8	17,6	15,9	7,3	10,1	13,3

Anexo B. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho tinto do Douro.

Tabela B1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	3,00	4,99	9,98	19,90	39,60	78,43
Áreas	658	2055	2284	5364	9266	19220
	719	1448	2408		8952	18524
	864	1616	2564	4077	8429	18558
	626	1300	2054	4559	8905	19954
Média	716	1605	2328	4667	8888	19064
Desv Pad	105	327	215	650	345	674
RSD%	14,7	20,4	9,2	13,9	3,9	3,5

Tabela B2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	1,20	2,00	4,00	7,96	15,84	31,37
Áreas	1159586	2392789	4539468	9145264	17298628	31581092
	1275729	2233860	4907024	9207054	16252472	32629930
	1597964	2299933	4631058	9277944	17191864	29987875
	1243214	2132917	4391851	9445309	17188987	32921102
Média	1319124	2264875	4617351	9268893	16982988	31780000
Desv Pad	192224	109492	216806	129502	489676	1326118
RSD%	14,6	4,8	4,7	1,4	2,9	4,2

Tabela B3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	0,06	0,10	0,20	0,40	0,79	1,57
Áreas	41550	79632	153124	332098	603755	1170600
	47844	78296	156019	306823	586152	1155077
	48902	78377	153017	316013	606787	1129291
	50092	73346	145668	310383	587617	1140436
Média	47097	77413	151957	316329	596078	1148851
Desv Pad	3810	2779	4418	11172	10704	17937
RSD%	8,1	3,6	2,9	3,5	1,8	1,6

Tabela B4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	2423	3329	5896	7225	10723	18322
	2894	2823		7135	9861	17804
	3112	2988	4653	6029	9015	
Média	2810	3047	5274	6796	9866	18063
Desv Pad	353	258	879	666	854	366
RSD%	12,5	8,5	16,7	9,8	8,7	2,0

Tabela B5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	0,30	0,50	1,00	1,99	3,96	7,84
Áreas	11793	21630	44767	93473	169036	338236
	14406	22488	44850	88862	162347	343064
	12591	22457	37517	85459	165161	331672
	14295	21205	40191	84167	168649	335271
Média	13271	21945	41831	87990	166298	337061
Desv Pad	1289	634	3607	4158	3159	4819
RSD%	9,7	2,9	8,6	4,7	1,9	1,4

Tabela B6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	46444	84126	161104	327873	725290	1331694
	46123	80639	171274	360688	664171	1272858
	51057	83722	160454	351741	651729	1173160
	47913	83570	163406	358418	716178	1271384
Média	47884	83014	164059	349680	689342	1262274
Desv Pad	2254	1601	4974	15026	36791	65715
RSD%	4,7	1,9	3,0	4,3	5,3	5,2

Tabela B7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	0,75	1,25	2,50	4,98	9,90	19,61
Áreas	215815	268902	360435	571234	902156	1400891
	201166	293100	378085	591856	894873	1501921
	282806	188673	334731			1467507
	208509	257506	344665	540994	886534	
Média	227074	252045	354479	568028	894521	1456773
Desv Pad	37633	44779	18965	25582	7817	51363
RSD%	16,6	17,8	5,4	4,5	0,9	3,5

Tabela B8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	3,75	6,24	12,47	24,88	49,51	98,04
Áreas	316	463	1315	1996	4309	7831
	516	461	1199		4261	7533
	406	659	655	1848	4121	8533
	403	419	1012	1767	3960	7552
Média	410	501	1045	1870	4163	7862
Desv Pad	82	107	289	116	157	467
RSD%	20,0	21,4	27,6	6,2	3,8	5,9

Anexo C. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho branco do Porto.

Tabela C1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	3,00	4,99	9,98	19,90	39,60	78,43
Áreas	817	2561	3032	4546	9578	
	1343	1183	3225	4878		16724
	986	1309	2389		9686	17710
	1289	1754	3481	5174	9429	17973
Média	1109	1702	3032	4866	9564	17469
Desv Pad	250	623	466	314	129	658
RSD%	22,5	36,6	15,4	6,5	1,3	3,8

Tabela C2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	1,20	2,00	4,00	7,96	15,84	31,37
Áreas	797555	894617	2969582	5723292	11307718	19638146
	874001	1005028	2979816	6294472	11388942	19195684
	888672	1406503	2802830	5721275	11295723	20120018
	849552	1458622	2985218	5909068	11819816	20593708
Média	852445	1191192	2934361	5912026	11453050	19886889
Desv Pad	39993	283132	87927	269741	247992	603760
RSD%	4,7	23,8	3,0	4,6	2,2	3,0

Tabela C3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	0,06	0,10	0,20	0,40	0,79	1,57
Áreas	29093	34057	96191	197342	363543	636883
	29236	37688	97403	201871	347941	609619
	31607	45396	97135	195593	380284	604230
	33021	46248	98847	191773	364008	639239
Média	30739	40847	97394	196645	363944	622493
Desv Pad	1909	5943	1099	4189	13207	18136
RSD%	6,2	14,5	1,1	2,1	3,6	2,9

Tabela C4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	1631	1655	2602	4729	6658	12024
	998	1267	2288			11812
	1438	1431	2428	3699	6998	10980
			3611	6623		
Média	1356	1451	2439	4013	6760	11606
Desv Pad	324	195	157	622	207	552
RSD%	23,9	13,4	6,5	15,5	3,1	4,8

Tabela C5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	0,30	0,50	1,00	1,99	3,96	7,84
Áreas	13339	20814	38012	70920	125099	244030
	13387	18272	38020	70041	127215	243959
	15122	18920	34087	68084	124922	234489
	14270	18087	34398	69153	128021	245076
Média	14029	19023	36129	69549	126314	241888
Desv Pad	845	1246	2182	1215	1543	4959
RSD%	6,0	6,6	6,0	1,7	1,2	2,1

Tabela C6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	21560	27871	83049	172037	324333	554808
	29894	31103	76374	183809	325069	562831
	26041	34763	82450	173000	302802	559865
	25145	39610	84072	169646	290144	555493
Média	25660	33337	81486	174623	310587	558249
Desv Pad	3423	5042	3473	6284	17100	3788
RSD%	13,3	15,1	4,3	3,6	5,5	0,7

Tabela C7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	0,75	1,25	2,50	4,98	9,90	19,61
Áreas	105213	115382	250362	459455	684638	1096116
	122437	230073	280326			1067819
	120968		254131	426373	680205	1026323
	142940	177115	270552	443308	723684	1206714
Média	122890	174190	263843	443045	696176	1063419
Desv Pad	15475	57401	14057	16543	23926	35104
RSD%	12,6	33,0	5,3	3,7	3,4	3,3

Tabela C8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	3,75	6,24	12,47	24,88	49,51	98,04
Áreas	268	284	970	1366		
	678			1342	3086	4897
	382	330	918		2929	4764
		484	944	1309	2532	4710
Média	443	366	944	1339	2849	4790
Desv Pad	212	104	26	29	286	96
RSD%	47,8	28,5	2,8	2,1	10,0	2,0

Anexo D. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos em vinho tinto do Porto.

Tabela D1 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida azinfos-metilo, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	3,00	4,99	9,98	19,90	39,60	78,43
Áreas	1634	1651		5818	12485	24493
		1701	2948	6687	12370	24473
	1615			6464	12693	24169
	1287	2044	3500	6518	11435	23442
Média	1512	1798	3224	6372	12246	24144
Desv Pad	195	214	390	381	557	491
RSD%	12,9	11,9	12,1	6,0	4,5	2,0

Tabela D2 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	1,20	2,00	4,00	7,96	15,84	31,37
Áreas	837814	1470418	2976187	6454671	12689374	
	859801	1417218	2931168	6334471	12149529	22399839
	836011	1470806	2903702	6343006	12448745	22901324
	829587	1424931	3013468	6236658		22657970
Média	840804	1445843	2956131	6342202	12429216	22653044
Desv Pad	13148	28774	48517	89161	270452	250779
RSD%	1,6	2,0	1,6	1,4	2,2	1,1

Tabela D3 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida clorpirifos-metilo, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	0,06	0,10	0,20	0,40	0,79	1,57
Áreas	32050	49265	97354	194387	386889	691348
	33006	51085	96876	194680	373409	690117
	31468	48676	97547	201018	364397	658580
	29349	51100	93079	200769	373955	711195
Média	31468	50031	96214	197714	374663	687810
Desv Pad	1548	1248	2109	3675	9255	21749
RSD%	4,9	2,5	2,2	1,9	2,5	3,2

Tabela D4 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida diazinão, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	2679	3565		9571		26052
	2224	3359	5441		13913	26927
	2283		3954	7424	14496	
	2078	1983	3621	8851	12867	24721
Média	2316	2969	4339	8615	13759	25900
Desv Pad	257	860	969	1093	826	1111
RSD%	11,1	29,0	22,3	12,7	6,0	4,3

Tabela D5 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fenitrotião, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	0,30	0,50	1,00	1,99	3,96	7,84
Áreas	17336	20067	34977	66405	123952	229107
	14503	22113	36635	68005	122443	238322
	15473	20513	34576	67199	125344	
	13131	23425	34542	68660	124742	237881
Média	15111	21529	35182	67567	124120	235103
Desv Pad	1768	1539	988	978	1255	5198
RSD%	11,7	7,1	2,8	1,4	1,0	2,2

Tabela D6 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida fentião, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	0,15	0,25	0,50	1,00	1,98	3,92
Áreas	20936	36215	75071	165612	330833	570835
	21986	41579	74962	165310	339331	644551
	19679	40548	76918	167153	329777	
	23158	37534	76795	171943		605294
Média	21440	38969	75936	167505	333314	606893
Desv Pad	1484	2513	1064	3067	5238	36884
RSD%	6,9	6,4	1,4	1,8	1,6	6,1

Tabela D7 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida malatião, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	0,75	1,25	2,50	4,98	9,90
Áreas	180870	399294	465128	747813	
	229587		465546	718611	1324511
	261748	317841	506479		1166013
		367729	515094	788965	1191536
Média	224069	361622	488062	751797	1227353
Desv Pad	40720	41069	26476	35346	85103
RSD%	18,2	11,4	5,4	4,7	6,9

Tabela D8 – Valores de área utilizados para a construção da recta de calibração do pesticida metidatião, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	3,75	6,24	12,47	24,88	49,51	98,04
Áreas	376	477	1217	1927	3844	7521
	399	473	1205	2062	3991	7412
	222	464	1086	1924	4171	
	464	673	1121	2174	3493	7196
Média Desv Pad RSD%	365	522	1157	2022	3875	7377
	102	101	64	120	288	165
	28,1	19,3	5,5	5,9	7,4	2,2

Anexo E. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos para os estudos de repetibilidade nas quatro matrizes consideradas.

Tabela E1 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do azinfos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
39,60	27736	34630	14495	17787
	25755	30163	14184	21147
	29693	29192	21206	15175
	28420		22582	14898
	30010	23376	17290	17363
	30855	22518	21664	15741
Média	28745	27976	18570	17019
Desv Pad	1845	5037	3744	2336
RSD %	6,4	18,0	20,2	13,7

Tabela E2 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do clorpirifos, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
15,84	424650	426387	320816	327997
	558662	445554	253013	315129
	448177	436417	301117	314087
	494434		317575	291063
	480430	443625	265359	288153
	460379	519235	320881	308982
Média	477789	454244	296460	307569
Desv Pad	46536	37101	30040	15286
RSD %	9,7	8,2	10,1	5,0

Tabela E3 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do clorpirifos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
0,79	1000439	792751	457513	437015
	987089	847883	471620	412862
	1004892	816183	450332	463804
	953368		452594	409362
	1007828	830630	452637	422281
	1033162	837561	484943	417303
Média	997796	825002	461606	427104
Desv Pad	26447	21394	13787	20406
RSD %	2,7	2,6	3,0	4,8

Tabela E4 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do diazinão, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
1,98	251034		150485	88437
	215519		152556	75629
	191397	11640	138018	74939
	171994	10723	135218	79886
	138778	9861	121561	
	129753	9015	120462	70382
Média	183079	9866	136383	75296
Desv Pad	46192	854	13694	8738
RSD %	25,2	8,7	10,0	11,6

Tabela E5 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do fenitrotião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
3,96	954	636	393	462
	1047	754	505	450
	901	1249	463	735
			605	
	688	405	592	
	785	676	447	579
Média	979	744	501	413
Desv Pad	284	311	84	246
RSD %	29,0	41,8	16,8	59,5

Tabela E6 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do fentião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
1,98	1197183	930770	502292	344046
	1093896	809418	387080	448502
	1116933	973084	484927	383419
	1072063		466813	402417
	1102555	918407	476344	415766
	1116372	1008829	418457	364427
Média	1116500	928102	455986	393096
Desv Pad	42872	75378	43977	37395
RSD %	3,8	8,1	9,6	9,5

Tabela E7 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do malatião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
9,90	1192554	991092	843470	907547
	1169240	1177345	931781	915774
	1176265	1095348	913587	775384
	1143679		953054	838343
	1047238	971338	725242	783955
	1027845	1243899	948737	864031
Média	1126137	1095804	885979	847506
Desv Pad	70677	117301	88251	59771
RSD %	6,3	10,7	10,0	7,1

Tabela E8 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do metidatião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
	Área	Área	Área	Área
49,50	11088	10931	7679	7309
	10009	10783	8677	6207
	10636	10598	7987	5174
	10181		7083	8413
	12668	10665	6398	6778
	10569	9782	7674	6712
Média	10859	10552	7583	6766
Desv Pad	963	449	779	1082
RSD %	8,9	4,3	10,3	16,0

Anexo F. Método de determinação de pesticidas organofosforados – Resultados obtidos para os estudos de precisão intermédia nas quatro matrizes consideradas.

Tabela F1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do azinfos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
39,60	14800	8817	11660	10498
	18464	10369	9653	9619
	15631	9961	10536	11528
	13321	8305	10787	11296
	17954	10508	10143	8176
	17109	10435	11130	8347
Média	16213	7229	10651	9911
Desv Pad	1980	4183	712	1443
RSD %	12,2	57,9	6,7	14,6

Tabela F2 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do clorpirifos, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
15,84	240477	232290	196604	143619
	298648	234980	175782	148480
	252777	249897	240764	169913
	217389	238220	189024	173005
	293111	322039	233826	158814
	316892	259757	200418	150344
Média	269882	256197	206070	157363
Desv Pad	38703	33860	25704	12011
RSD %	14,3	13,2	12,5	7,6

Tabela F3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do clorpirifos-metilo, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
0,79	944341	863176	467240	448456
	988827	850362	479853	449241
	1012567	829884	495742	442909
	1016560	837967	475129	461229
	1025804	857803	498177	476322
	930002	837294	469564	435552
Média	986350	846081	480951	452285
Desv Pad	40256	13064	13178	14489
RSD %	4,1	1,5	2,7	3,2

Tabela F4 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do diazinão, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
1,98	450887	322418	309588	308872
	500601	381016	297401	265202
	423350	286215	275046	253656
	476121	360346	298424	233101
	436332	349386	269748	294126
	456297	319634	270747	252179
Média	457265	336502	286826	267856
Desv Pad	27798	33846	17050	28407
RSD %	6,1	10,1	5,9	10,6

Tabela F5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do fenitrotião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
3,96	715	610	146	331
	1068	692	133	460
	802	445	243	710
	556	406	231	730
	773	500	115	415
	720	550	102	693
Média	772	534	162	556
Desv Pad	168	106	61	175
RSD %	21,7	19,9	37,5	31,4

Tabela F6 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do fentião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
1,98	940582	768480	416976	380794
	922250	764955	403491	382201
	1027058	771475	394379	385171
	986482	767825	420794	391735
	976566	861178	384918	366510
	976708	828649	439090	354814
	Média	971608	793760	409941
Desv Pad	36730	40989	19631	13620
RSD %	3,8	5,2	4,8	3,6

Tabela F7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do malatião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
9,90	657763	645761	562205	459130
	628810	563701	479741	452168
	498185	499791	630250	478020
	612426	612490	572117	530986
	513098	634208	626698	494914
	642228	626303	602989	458427
Média	592085	597043	579000	478941
Desv Pad	68770	55532	55962	29982
RSD %	11,6	9,3	9,7	6,3

Tabela F8 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do metidatião, nas quatro matrizes consideradas.

Conc. (µg/L)	Vinho branco Douro	Vinho tinto Douro	Vinho branco Porto	Vinho tinto Porto
49,50	5256	3615	3665	3543
	5638	3978	3852	2263
	4379	4254	2894	2912
	4634	3605	3125	2512
	4027	4150	3559	3346
	4980	4219	3137	3580
Média	4819	3970	3372	3026
Desv Pad	590	295	373	554
RSD %	12,2	7,4	11,1	18,3

Anexo G. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho branco do Douro.

Os valores de área e concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas foram os mesmos valores utilizados para a construção das rectas de calibração de cada um dos compostos em estudo, em vinho branco do Douro.

Tabela G1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	72281	178289	196996	132428	98378	135674	52433	38,6
204,39	32640	66347	77489	59871	48958	57061	17128	30,0
103,52	15137	27508	26387	27151	19996	23236	5468	23,5
52,10	7868	7671	8329	10774	9753	8879	1336	15,0
20,92	1296	2600	2340	2234	4034	2501	988	39,5
10,48	526	851	744	869	1031	804	186	23,1

Tabela G2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	423,40	435,11	432,76	423,09	418,42	427	7	1,7
204,39	197,84	178,95	187,40	199,75	212,62	195	13	6,6
103,52	98,24	90,07	82,48	99,03	92,01	92	7	7,3
52,10	56,88	44,68	45,40	48,62	49,35	49	5	9,9
20,92	19,49	33,08	33,10	22,33	25,53	27	6	23,2
10,48	15,11	29,07	29,83	18,134	13,03	21	8	37,6

Tabela G3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	5753060	6199579	6805402	6003564	5425152	6037351	517922	8,6
103,68	2889399	2981321	3148431	3002883	2498404	2904087	245064	8,4
52,18	1367125	1395867	1386834	1426452	1131158	1341487	119508	8,9
20,95	486828	480430	578951	442916	447302	487285	54816	11,2
10,49	223689	254881	242062	201295	216012	227588	21183	9,3
6,30	127237	181791	125176	119925	125243	135874	25811	19,0

Tabela G4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	204,73	206,61	208,01	204,62	208,24	206	2	0,8
103,68	104,31	101,27	99,15	104,36	98,54	102	3	2,7
52,18	50,93	49,37	46,71	51,69	47,29	49	2	4,4
20,95	20,05	19,40	22,65	18,83	21,65	21	2	7,8
10,49	10,83	12,02	12,63	10,75	12,99	12	1	8,6
6,30	7,44	9,63	9,15	8,04	9,58	9	1	11,2

Tabela G5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	6843365	9293251	8697937	7452264	5979471	7653258	1348965	17,6
21,62	4021632	4234147	3897960	3756878	3066085	3795340	443729	11,7
10,88	2001589	2008083	1862840	1884285	1624621	1876283	155444	8,3
4,37	759275	594084	781322	519000	657201	662176	110436	16,7
2,19	287155	345665	244658	222464	332717	286532	53592	18,7
1,31	223281	300887	150201	151158	226226	210351	62725	29,8

Tabela G6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	41,35	43,46	43,91	42,53	42,59	43	1	2,3
21,62	24,05	20,40	20,75	21,83	21,64	21,7	1,4	6,6
10,88	11,67	10,25	10,93	11,34	11,28	11,1	0,5	4,9
4,37	4,05	3,80	5,71	3,69	4,33	4,3	0,8	18,9
2,19	1,16	2,67	3,12	2,03	1,99	2,2	0,7	34,0
1,31	0,77	2,47	2,67	1,63	1,23	1,8	0,8	46,1

Tabela G7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	261726	626074	806293	462302	328588	496997	222060	44,7
367,20	117660	246245	269684	219785	171312	204937	60965	29,7
185,98	48492	105880	101000	99162	76794	86266	23899	27,7
93,60	21909	28669	32280	40788	35488	31827	7111	22,3
37,59	4574	7929	7558	8188	13717	8393	3312	39,5

Tabela G8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	759,21	769,87	784,00	752,42	744,69	762	15	2,0
367,20	361,56	336,95	310,83	371,93	391,28	355	31	8,8
185,98	170,64	176,97	162,08	182,68	178,89	174	8	4,6
93,60	97,27	88,97	101,49	91,10	86,07	93	6	6,8
37,59	49,42	65,33	79,69	39,95	37,15	54	18	33,1

Tabela G9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	402959	480999	538304	491568	483709	479508	48688	10,2
1359,25	191317	210740	225631	229564	217254	214901	15076	7,0
684,07	95305	90210	96614	101351	96464	95989	3976	4,1
274,70	32528	31741	35178	30011	37647	33421	3008	9,0
137,53	14563	22443	16906	15613	21801	18265	3624	19,8

Tabela G10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	2703,71	2744,45	2755,97	2709,30	2735,25	2730	23	0,8
1359,25	1316,19	1265,90	1237,21	1323,69	1278,64	1284	36	2,8
684,07	686,74	606,49	610,53	645,64	618,33	634	33	5,3
274,70	275,17	286,62	312,12	268,36	296,80	288	17	6,0
137,53	157,39	235,75	223,36	192,21	210,18	204	31	15,0

Tabela G11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	5065503	5344451	5382132	5401906	4541624	5147123	364819	7,1
376,25	2549217	2641157	2840086	2906140	2306428	2648606	239796	9,1
189,35	1403589	1395857	1394904	1422187	1134195	1350146	121216	9,0
76,04	516319	525498	589860	570501	481799	536795	43369	8,1
38,07	269118	268094	263853	287873	229411	263670	21265	8,1
22,85	160810	203375	152740	158040	130978	161188	26333	16,3

Tabela G12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	742,22	745,92	737,07	734,41	742,80	740	5	0,6
376,25	371,72	368,24	387,83	393,30	377,49	380	11	2,8
189,35	203,04	194,25	189,29	190,48	185,90	193	7	3,4
76,04	72,39	72,65	78,69	74,07	79,27	75	3	4,4
38,07	36,00	36,69	33,90	35,44	38,02	36	2	4,2
22,85	20,05	27,65	18,63	17,70	21,93	21	4	18,6

Tabela G13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	7532940	7521208	8462732	8408297	7043843	7793804	618439	7,9
49,62	3929918	3687288	4077418	4239258	3485030	3883783	301496	7,8
24,97	1916906	1942285	1985797	2039308	1608981	1898655	16847	8,9
10,03	720627	653284	846659	710907	631611	712618	83840	11,8
5,02	339356	329822	359277	338409	320667	337506	14325	4,2
3,01	226118	253032	192377	187478	180256	207852	30786	14,8

Tabela G14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	97,37	98,37	98,81	97,89	98,45	98,2	0,6	0,6
49,62	50,92	48,53	48,20	49,99	49,34	49,4	1,1	2,2
24,97	24,97	25,85	24,06	24,71	23,45	24,6	0,9	3,7
10,03	9,55	9,09	10,91	9,45	9,97	9,8	0,7	7,1
5,02	4,63	4,89	5,29	5,17	5,68	5,1	0,4	7,7
3,01	3,17	3,89	3,36	3,43	3,74	3,5	0,3	8,3

Tabela G15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	20,92	52,10	103,52	204,39
	1268	5160	16008	
	1120	4375	14324	27561
	982	4177	9641	22096
	707	3198	11324	17978
	1069	3030	7821	17952
Média	1029	3988	11823	21397
Desv Pad	208	880	3346	4548
RSD %	20,2	22,1	28,3	21,3

Tabela G16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	20,95	52,18	103,68	204,70
	480430	1386834	3002883	5425152
	527016	1489457	3089515	5505716
	497049	1440825	3031751	5500067
	522630	1450505	2957871	5809726
	503847	1484192	3065773	5625786
	495760	1465855	2864517	5732152
Média	504455	1452945	3002052	5599766
Desv Pad	17592	37416	81805	149373
RSD %	3,5	2,6	2,7	2,7

Tabela G17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	4,37	10,88	21,62	42,68
	594084	1862840	3756878	8464257
	627652	1532265	3721333	5979471
	530227	1568874	3520491	5463180
	684898	1730149	3600284	6279818
	575691	1726128	3680356	4771377
	571764	1868176	3581029	5097035
Média	597386	1714739	3643395	6009190
Desv Pad	53334	141716	90744	1323919
RSD %	8,9	8,3	2,5	22,0

Tabela G18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	37,59	93,60	185,98	367,20
	4236	22971	57800	
	2467	16101	46591	96676
	3381	15675	44980	89966
	2895	11267	36994	69214
	1398	11415	26873	70036
Média	2875	15486	42648	81473
Desv Pad	1055	4765	11526	13957
RSD %	36,7	30,8	27,0	17,1

Tabela G19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	274,70	684,07	1359,25	2683,65
	31741	96614	229564	483709
	37980	115710	223889	476549
	33826	113177	238779	483434
	36537	112807	224303	506787
	29619	100130	241329	478087
	29860	111954	210810	511508
Média	33260	108399	228112	490012
Desv Pad	3477	7945	11156	15165
RSD %	10,5	7,3	4,9	3,1

Tabela G20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	76,04	189,35	376,25	742,85
	525498	1394904	2906140	4541624
	601542	1501548	3096564	4494682
	541211	1488391	3004841	4636512
	545012	1459024	2901317	4630837
	539845	1460057	2945468	4696753
	554627	1494634	2819078	4792640
Média	551289	1466426	2945568	4632175
Desv Pad	26357	39300	95734	106812
RSD %	4,8	2,7	3,3	2,3

Tabela G21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Douro.

Conc (µg/L)	10,03	24,97	49,62	97,97
	653284	1985797	4239258	7043843
	783163	2188105	4560247	7075297
	699336	2253961	4554620	7337424
	757031	2210706	4620893	7598397
	749816	2281466	4676759	7532263
	739356	2246490	4588438	7539187
Média	730331	2194421	4540036	7354402
Desv Pad	46609	107389	154054	244928
RSD %	6,4	4,9	3,4	3,3

Anexo H. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho tinto do Douro.

Os valores de área e concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas foram os mesmos valores utilizados para a construção das rectas de calibração de cada um dos compostos em estudo, em vinho tinto do Douro.

Tabela H1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captan, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	60712	54196	27806	33479	40619	43362	13835	31,9
204,39	24494	24536	10987	16180	14606	18160	6099	33,6
103,52	10134	9140	4442	7343	4605	7133	2584	36,2
52,10	4901	3773	846	2044	1797	2672	1633	61,1
20,92	1530	716	379	606	478	742	459	61,8

Tabela H2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	429,24	421,91	428,08	417,00	433,79	426	7	1,5
204,39	187,71	204,54	189,78	210,76	181,30	195	12	6,3
103,52	91,94	91,71	97,04	105,40	84,24	94	8	8,3
52,10	57,04	52,37	46,10	42,24	56,98	51	7	13,0
20,92	34,56	29,97	39,48	25,09	44,18	35	8	21,8

Tabela H3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	2457240	1955454	1851893	2755295	3047208	2413418	511256	21,2
103,68	1043715	896670	863831	1304999	1369883	1095820	231873	21,2
52,18	493253	422581	413091	638046	690212	531437	126381	23,8
20,95	173929	141151	125387	206876	255123	180493	52185	28,9
10,49	80508	67001	59255	90710	108054	81106	19334	23,8
6,30	58917	72416	34453	44258	55838	53176	14494	27,3

Tabela H4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	210,68	208,35	207,12	206,48	208,46	208,2	1,6	0,8
103,68	93,41	98,06	99,65	100,39	96,37	97,6	2,8	2,9
52,18	47,74	48,68	50,62	51,61	50,96	49,9	1,6	3,3
20,95	21,25	19,36	19,33	20,07	21,88	20,4	1,1	5,6
10,49	13,50	11,64	12,14	11,57	12,05	12,2	0,8	6,4
6,30	11,71	12,20	9,44	8,17	8,56	10,0	1,8	18,3

Tabela H5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	6001005	7143791	5515437	5829767	7236630	6345326	791367	12,5
21,68	2966526	3437672	2600549	3373420	3599746	3195583	406237	12,7
10,88	1458167	1738885	1348718	1782775	1924254	1650560	238911	14,5
4,37	461101	576205	422025	655125	615737	546038	100326	18,4
2,19	238632	311287	201621	326970	279953	271693	51708	19,0
1,31	135241	239075	106266	206111	206332	178604	55442	31,0

Tabela H6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	42,77	43,04	43,06	41,48	42,67	42,6	0,6	1,5
21,62	21,49	20,97	20,74	23,62	21,39	21,6	1,1	5,3
10,88	10,91	10,85	11,16	12,05	11,58	11,3	0,5	4,5
4,37	3,91	3,93	4,06	3,85	3,92	3,9	0,1	2,0
2,19	2,35	2,35	2,38	1,46	1,96	2,1	0,4	18,8
1,31	1,63	1,92	1,64	0,58	1,53	1,5	0,5	35,0

Tabela H7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	223488	187256	93428	120322	153373	155573	51782	33,3
367,20	90938	86511	40852	65004	52450	67151	21523	32,1
185,98	35884	34914	15558	27622	17785	26353	9430	35,8
93,60	13160	14239	6554	9335	4466	9551	4180	43,8
37,59	4497	2622	1304	2153	655	2246	1469	65,4

Tabela H8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	768,74	755,59	761,61	736,84	781,35	761	16	2,2
367,20	343,289	369,62	358,94	407,41	318,37	360	33	9,2
185,98	166,58	171,94	165,22	184,80	159,35	170	10	5,7
93,60	93,64	92,73	96,26	75,90	98,25	91	9	9,8
37,59	65,84	48,22	56,05	33,13	80,77	57	18	31,6

Tabela H9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	322435	219005	220243	245648	265325	254531	42556	16,7
1359,25	137887	104496	107154	109010	123105	116330	14040	12,1
684,07	66102	51885	48907	53897	65248	57208	7936	13,9
274,70	22540	18346	19049	21722	26050	21542	3073	14,3
137,53	13563	12315	8960	9770	18299	12581	3699	29,4

Tabela H10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	2749,86	2710,08	2699,21	2737,16	2728,94	2725	20	0,7
1359,25	1236,04	1312,13	1343,11	1255,55	1269,06	1283	44	3,4
684,07	647,20	669,85	644,65	657,95	675,17	659	13	2,0
274,70	289,87	260,39	286,61	309,07	272,80	284	18	6,5
137,53	216,23	186,76	165,63	179,47	193,23	188	19	9,9

Tabela H11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	3610439	3065996	3180930	2970398	3379534	3241459	256484	7,9
376,25	1764116	1713388	1675594	1623526	1892836	1733892	102684	5,9
189,35	984983	843666	904956	874248	1050507	931672	84735	9,1
76,04	371672	333399	304098	317550	404789	346301	41348	11,9
38,07	190643	151909	159497	166192	213590	176366	25375	14,4
22,85	112321	193455	92222	89212	156156	128673	45014	35,0

Tabela H12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	746,23	730,88	735,09	730,22	727,73	734	7	1,0
376,25	363,55	402,07	385,51	394,58	398,24	389	15	4,0
189,35	202,06	190,67	206,55	207,86	211,56	203	8	4,0
76,04	74,95	66,64	67,02	69,13	68,45	69	3	4,8
38,07	37,42	22,52	33,44	31,41	26,08	30	6	19,6
22,85	21,19	32,62	17,81	12,22	13,35	19	8	42,2

Tabela H13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	5607564	5105732	5011059	4862123	5498974	5217090	321240	6,2
49,62	2844852	2586839	2592681	2456734	2931191	2682459	197734	7,4
24,97	1384013	1299379	1329118	1308743	1525009	1369253	93049	6,8
10,03	542919	460235	477044	482618	578196	508202	50076	9,9
5,02	250792	222779	218816	228042	274760	239038	23497	9,8
3,01	159891	119833	116444	129348	184544	142012	29303	20,6

Tabela H14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	97,91	97,76	97,32	97,77	96,90	97,5	0,4	0,4
49,62	49,94	49,90	50,51	49,43	51,29	50,2	0,7	1,4
24,97	24,58	25,44	26,06	26,36	26,32	25,8	0,8	2,9
10,03	9,97	9,50	9,57	9,76	9,50	9,7	0,2	2,1
5,02	4,90	4,99	4,57	4,64	4,11	4,6	0,3	7,4
3,01	3,32	3,03	2,59	2,66	2,51	2,8	0,3	12,2

Tabela H15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	52,10	103,52	204,39	419,55
				40619
	1056	1859	8620	33363
	612	1341	6090	28104
	952	1305	4926	28978
	890	1117	4064	26780
Média	878	1406	5925	31569
Desv Pad	190	318	1979	5630
RSD %	21,6	22,6	33,4	17,8

Tabela H16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	20,95	52,18	103,68	204,70
		422581	863831	2755295
	173929	443632	898445	2806616
	155851	469851	883763	2832615
	160267	438309	876257	2802454
	158264	415034	894034	2775617
	159049	450941	840996	2743385
Média	161472	440058	876221	2785997
Desv Pad	7148	19766	21272	33868
RSD %	4,4	4,5	2,4	1,2

Tabela H17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	4,37	10,88	21,62	42,68
	461101	1738885	2600549	5829767
	583137	1509757	2444841	5923963
	548065	1732934	2539363	6105806
	503045	1525667	2384147	6002766
	538070	1423029	2504910	5556223
		1544945	2310309	6262551
Média	526684	1579203	2464020	5946846
Desv Pad	46459	128362	106173	242851
RSD %	8,8	8,1	4,3	4,1

Tabela H18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	37,59	93,60	185,98	367,20	753,72
	1365	5107	4926	34075	135820
	683	4183	4004	25961	105843
	1193	3512	2931	17737	101310
	1170	3105	2726	14619	99377
Média	1103	3977	3647	23098	110587
Desv Pad	293	875	1021	8743	17039
RSD %	26,6	22,0	28,0	37,9	15,4

Tabela H19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	274,70	684,07	1359,25	2683,65
		51885	107154	245648
	22540	56412	109253	253136
	28508	54375	110754	263308
	23780	50779	112115	285780
	26975	50690	116152	291403
	25247	55257	108240	277120
Média	25410	53233	110611	269399
Desv Pad	2396	2442	3237	18318
RSD %	9,4	4,6	2,9	6,8

Tabela H20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	76,04	189,35	376,25	742,85
		843666	1675594	2970398
	371672	880388	1791718	3105088
	423881	937932	1698593	3125647
	379366	909542	1667462	3256210
	360038	863298	1704654	3057221
	385488	845705	1690150	3172371
Média	384089	880088	1704695	3114489
Desv Pad	24188	37428	44844	97663
RSD %	6,3	4,3	2,6	3,1

Tabela H21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Douro.

Conc (µg/L)	10,03	24,97	49,62	97,97
		1299379	2592681	4862123
	542919	1395479	2708070	5038617
	574461	1418838	2649808	4864986
	565631	1369279	2653185	5071866
	553660	1366630	2653873	5064092
	561136	1375785	2542721	5235125
Média	559561	1370899	2633390	5022801
Desv Pad	11970	40155	57509	141539
RSD %	2,1	2,9	2,2	2,8

Anexo I. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho branco do Porto.

Os valores de área e concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas foram os mesmos valores utilizados para a construção das rectas de calibração de cada um dos compostos em estudo, em vinho branco do Porto.

Tabela I1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	101404	121353	205506	122542	65353	123232	51477	41,8
204,40	42783	71521	77858	60745	37452	58072	17596	30,3
103,52	18112	25257	26251	35875	11013	23301	9335	40,1
52,10	6477	10797	8488	15296	6541	9520	3681	38,7
20,92	1811	3045	2390	4932	2486	2933	1200	40,9

Tabela I2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
419,55	425,64	405,36	430,99	416,72	409,31	418	11	2,6
204,39	194,30	242,31	186,46	204,32	238,82	213	26	12,1
103,52	96,93	90,93	87,59	118,84	77,26	94	16	16,4
52,10	51,02	43,62	53,57	48,12	49,93	49	4	7,5
20,92	32,60	18,25	41,88	12,49	25,16	26	12	44,5

Tabela I3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	3135703	3391154	6791153	3402734	3616819	4067512	1532074	37,7
103,68	1610730	1549221	3141850	1861819	1705288	1973781	663526	33,6
52,18	836649	787541	1445522	967054	945368	996427	261877	26,3
20,95	324573	335561	595613	340111	342878	387747	116409	30,0
10,49	155465	142057	243199	157919	140812	167890	42795	25,5
6,30	95176	77524	119198	87031	92837	94353	15468	16,4

Tabela I4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	203,92	208,24	207,84	201,06	206,58	206	3	1,5
103,68	104,48	96,77	98,82	109,50	98,35	10	5	5,2
52,18	54,01	50,67	48,14	56,34	55,32	53	3	6,4
20,95	20,62	23,32	22,75	19,09	21,21	21	2	7,9
10,49	9,59	11,60	12,22	8,26	9,77	10	2	15,6
6,30	5,66	7,70	8,52	4,05	7,06	7	2	26,8

Tabela I5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	3865621	3767186	8841965	2333305	2638737	4289362	2632923	61,4
21,62	2178765	2312866	3976070	1358794	1500928	2265484	1041934	46,0
10,88	1174663	1168975	1856342	692390	828249	1144124	450734	39,4
4,37	434897	476666	790134	218149	283169	440603	222360	50,5
2,19	204289	209943	246479	93347	132414	177294	62535	35,3
1,31	180941	128130	145960	79738	79061	122766	43911	35,8

Tabela I6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	41,74	40,98	43,50	41,38	41,53	41,8	1,0	2,3
21,62	23,11	24,69	20,22	23,92	23,30	23,1	1,7	7,4
10,88	12,02	11,88	10,08	11,99	12,53	11,7	0,9	8,0
4,37	3,84	4,13	4,98	3,49	3,79	4,1	0,6	14,0
2,19	1,30	1,14	2,38	1,26	1,38	1,5	0,5	33,8
1,31	1,04	0,23	1,89	1,01	0,52	0,9	0,6	67,7

Tabela I7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	358957	473601	703734	448640	221065	441199	176955	40,1
367,20	186179	285764	250356	250752	146567	223924	56239	25,1
185,98	64500	95488	92394	148084	33842	86862	42321	48,7
93,60	25259	43492	31990	62238	25053	37606	15676	41,7
37,59	5318	13400	6790	19719	6912	10428	6059	58,1

Tabela I8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
753,72	743,16	725,91	779,35	733,17	716,49	740	24	3,3
367,20	402,31	443,24	321,27	397,61	478,72	409	59	14,4
185,98	162,26	156,90	161,67	223,52	118,96	165	38	22,8
93,60	84,85	78,66	100,63	77,95	90,91	87	9	10,9
37,59	45,51	33,37	75,17	5,85	33,01	39	25	65,0

Tabela I9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	119942	130196	541016	125855	133502	210102	185056	88,1
1359,25	67822	58706	225725	61708	63047	95402	72927	76,4
684,07	33219	34185	98812	32320	32147	46137	29458	63,8
274,70	13198	18338	35103	9953	13174	17953	10047	56,0
137,53	12476	6335	16514	3818	6300	9089	5238	57,6

Tabela I10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	2648,71	2740,79	2756,65	2684,10	2713,87	2709	43	1,6
1359,25	1452,29	1222,29	1232,30	1341,34	1297,48	1309	94	7,2
684,07	657,97	701,43	618,72	726,19	676,30	676	41	6,1
274,70	198,39	364,82	310,70	257,99	294,86	285	62	21,7
137,53	181,83	109,88	220,83	129,58	156,69	160	44	27,3

Tabela I11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	2079324	1966992	5427772	2324428	2164641	279263	1478854	53,0
376,25	1179018	1109559	2864057	1251913	1116488	1504207	762342	50,7
189,35	637069	597874	1411401	644084	605469	779179	353977	45,4
76,04	244002	236943	589928	261992	240433	314660	154182	49,0
38,07	150185	113910	264207	125804	99338	150688	66135	43,9
22,85	141912	65268	156996	81467	65093	102147	44018	43,1

Tabela I12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	728,61	725,90	737,00	733,98	738,50	733	5	0,7
376,25	401,11	402,34	387,79	391,21	378,66	392	10	2,5
189,35	203,97	209,25	189,91	196,95	203,21	201	7	3,7
76,04	60,99	73,04	78,02	74,83	77,89	73	7	9,6
38,07	26,87	26,62	33,65	31,31	29,45	30	3	10,1
22,85	23,86	8,26	19,05	17,14	17,69	17	6	32,9

Tabela I13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	3276439	3191934	8495413	3316133	3312337	4318451	2335527	54,1
49,62	1780588	1703981	4047620	1754939	1688486	2195123	1036249	47,2
24,97	958955	860675	1980772	923280	919485	1128634	477662	42,3
10,03	362799	355484	849704	353719	329173	450176	223701	49,7
5,02	185154	157092	364905	175006	154086	207249	89058	43,0
3,01	164531	92743	197381	98657	96052	129873	48103	37,0

Tabela I14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	96,66	96,92	99,01	97,00	97,56	97,4	0,9	1,0
49,62	51,62	51,44	47,80	50,97	49,63	50,3	1,6	3,2
24,97	26,88	25,67	24,00	26,45	26,94	26,0	1,3	4,7
10,03	8,93	10,23	10,97	9,66	9,51	9,9	0,8	7,9
5,02	3,58	4,17	5,39	4,39	4,35	4,4	0,7	14,9
3,01	2,96	2,20	3,46	2,14	2,63	2,7	0,6	20,5

Tabela I15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	20,92	52,10	204,39	419,55
		5293	60745	54292
	1696	4455	71240	42086
	2508	4891	45892	42725
	3118	3296	44653	38375
	2850	3392	56110	31191
Média	2543	4265	55728	41734
Desv Pad	617	893	11015	8385
RSD %	24,3	20,9	19,8	20,1

Tabela I16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	20,95	52,18	204,70
	324573	1445522	3402734
	312584	1520524	3947973
	315764	1507787	3591685
	346284	1470599	3563771
	324815	1534704	3238579
	356157	1537760	3560129
Média	330030	1502816	3550812
Desv Pad	17388	37140	236254
RSD %	5,3	2,5	6,7

Tabela I17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	4,37	10,88	42,68
	434897	1168975	2333305
	466060	1146801	2318490
	448702	1128405	2547719
	421572	1132437	2651834
	418390	1083864	2487673
	412158	1171480	1876196
Média	433630	1138660	2369203
Desv Pad	20587	32277	273020
RSD %	4,7	2,8	11,5

Tabela I18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	37,59	93,60	367,20	753,72
	5318		250752	221065
	6153	15877	267641	254251
	6627	15565	180194	183014
	8225	11499	176320	183976
	5099	11447	198171	145085
Média	6285	13597	214616	197478
Desv Pad	1249	2456	41950	41582
RSD %	19,9	18,1	19,5	21,1

Tabela I19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	274,70	684,07	2683,65
		98812	125855
	13198	117544	167057
	13866	111531	131814
	16315	111868	123841
	14570	99700	114752
	15387	110126	165285
Média	14667	108263	138101
Desv Pad	1229	7429	22430
RSD %	8,4	6,9	16,2

Tabela I20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	76,04	189,35	742,85
	244002	1411401	2324428
	257448	1505234	2478412
	253883	1493636	2253580
	233906	1501353	2263480
	233372	1473104	2168800
	247640	1501476	2301421
Média	245042	1481034	2298353
Desv Pad	10001	36019	103068
RSD %	4,1	2,4	4,5

Tabela I21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho branco do Porto.

Conc (µg/L)	10,03	24,97	97,97
	362799	860675	3316133
	382843	893660	3609158
	358982	896869	3511051
	377367	858874	3577493
	368156	865526	3295312
	402731	898349	3549144
Média	375480	878992	3476382
Desv Pad	16044	19136	136246
RSD %	4,3	2,2	3,9

Anexo J. Método de determinação de pesticidas organoclorados e dicarboximidas – Resultados obtidos em vinho tinto do Porto.

Os valores de área e concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas foram os mesmos valores utilizados para a construção das rectas de calibração de cada um dos compostos em estudo, em vinho tinto do Porto.

Tabela J1 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,39	23563	11279	25482	64900	43669	33779	20891	61,8
103,52	11080	10407	14405	25332	19160	16077	6226	38,7
52,10	5370	6298	6580	9910	9178	7467	1965	26,3
20,92	2563	1224	1683	4608	4530	2922	1579	54,0
10,48	1149	768	2128	2088	3079	1843	909	49,3

Tabela J2 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,39	207,25	115,13	200,73	212,29	210,21	189	42	22,0
103,52	98,61	105,61	112,81	90,49	93,67	100	9	9,0
52,10	48,91	60,75	50,69	43,01	46,21	50	7	13,5
20,92	24,48	5,36	11,83	26,69	24,11	19	9	50,7
10,48	12,17	0,38	15,36	18,94	17,21	13	7	57,7

Tabela J3 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	3131075	3126731	9747836	10733863	11380188	7623939	4144354	54,4
103,68	1715636	1633046	5332416	5787412	5452408	3984184	2115372	53,1
52,18	854607	883694	2774117	2970683	2968084	2090237	1117589	53,5
20,95	318671	284571	1075462	1076305	1120782	775158	432834,8	55,8
10,49	131613	153288	504071	565852	591488	389262	227666,1	58,5
6,30	88746	88404	288177	329604	375913	234169	136483,7	58,3

Tabela J4 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
204,70	201,24	202,83	201,33	201,99	206,53	202,8	2,2	1,1
103,68	109,95	105,70	109,10	108,26	99,09	106,4	4,4	4,1
52,18	54,42	56,98	55,67	54,89	54,06	55,2	1,2	2,1
20,95	19,86	18,02	20,19	18,99	20,57	19,5	1,0	5,2
10,49	7,80	9,49	8,26	9,32	10,98	9,2	1,2	13,5
6,30	5,03	5,27	3,75	4,84	7,07	5,2	1,2	23,1

Tabela J5 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	3479277	3860131	7125159	7596238	8336717	6079504	2245868	36,9
21,62	1916035	2014173	3881544	4265257	4218061	3259014	1190909	36,5
10,88	910394	1031873	2045584	2177043	2197449	1672469	644309	38,5
4,37	353982	351669	744702	799764	845820	619187	245776	39,7
2,19	174107	146040	359337	387701	419755	297388	127546	42,9
1,31	93412	110326	223684	242689	231502	180322	721834	40,0

Tabela J6 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
42,68	41,99	42,32	40,82	41,76	42,63	41,9	0,7	1,7
21,62	23,06	22,16	21,91	23,23	21,56	22,4	0,7	3,3
10,88	10,89	11,43	11,21	11,61	11,23	11,3	0,3	2,4
4,37	4,15	4,00	3,63	3,95	4,32	4,0	0,3	6,3
2,19	1,97	1,76	1,39	1,65	2,14	1,8	0,3	16,2
1,31	0,99	1,37	0,60	0,85	1,17	1,0	0,3	29,9

Tabela J7 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
367,20	93109	88217	75442	187949	141713	117286	46825	39,9
185,98	52996	36305	40520	79794	56651	53253	17069	32,1
93,60	23527	22558	18320	40534	34302	27848	9220	33,1
37,59	7355	3823	7431	10412	10884	7981	2842	35,6
18,82	3983	1496	2505	6036	7631	4330	2515	58,1

Tabela J8 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
367,20	358,78	374,69	362,86	375,32	379,74	370	9	2,4
185,98	205,04	164,25	196,32	168,97	157,40	178	21	11,8
93,60	92,09	108,52	90,45	94,06	98,99	97	7	7,5
37,59	30,10	32,58	38,52	36,59	37,78	35	4	10,3
18,82	17,18	23,14	15,03	28,24	29,27	23	6	28,3

Tabela J9 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	116131	99125	72004	80977	94678	92583	17028	18,4
1359,25	57005	52670	42230	44629	50169	49341	5985	12,1
684,07	32238	33817	24559	23974	23668	27651	4950	17,9
274,70	12336	8012	8154	7252	9592	9069	2013	22,2
137,53	7497	4981	4002	3714	5689	5177	1517	29,3

Tabela J10 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
2683,65	2699,37	2640,41	2601,08	2630,15	2667,14	2648	37	1,4
1359,25	1309,15	1379,34	1480,83	1440,53	1407,39	1403	65	4,6
684,07	726,80	867,57	816,00	764,53	657,30	766	81	10,6
274,70	258,83	167,08	198,75	217,26	258,92	220	40	18,0
137,53	145,05	84,80	42,54	101,47	148,45	105	45	42,3

Tabela J11 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	2197572	2140610	2887223	2907664	3133747	2653363	452987	17,1
376,25	1280112	1169224	1628897	1657775	1610566	1469315	227370	15,5
189,35	646045	620841	832179	835718	838347	754626	111004	14,7
76,04	261791	239362	348610	317207	317715	296937	44897	15,1
38,07	103912	114279	164244	177802	176443	147336	35496	24,1
22,85	68649	57666	89906	102840	129537	89720	28412	31,7

Tabela J12 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
742,85	721,25	730,37	726,86	725,70	741,24	729	8	1,0
376,25	414,76	394,82	404,24	408,09	378,22	400	14	3,5
189,35	202,94	205,38	199,97	199,20	194,18	200	4	2,1
76,04	74,57	73,61	75,98	67,44	70,10	72	3	4,8
38,07	21,83	30,40	28,71	32,01	36,43	30	5	17,9
22,85	10,05	10,84	9,65	12,97	25,25	14	7	47,6

Tabela J13 – Valores de área utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	3486654	3429570	5074042	5391130	5645507	4605381	1066887	23,2
49,62	1822426	1911257	2773775	2781692	2898096	2437449	524153	21,5
24,97	910695	1018196	1437103	1449388	1493565	1261789	274888	21,8
10,03	371569	353218	543943	548663	561896	475858	103990	21,9
5,02	165032	168182	242318	277385	293742	229332	60209	26,3
3,01	96896	110064	137365	157258	171630	134643	31288	23,2

Tabela J14 – Valores de concentração calculada utilizados no estudo da precisão intermédia para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.

Conc. (µg/L)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média	DesvPad	RSD%
97,97	97,32	95,88	96,31	97,50	97,64	96,9	0,8	0,8
49,62	50,79	52,89	52,29	50,17	50,03	51,2	1,3	2,5
24,97	25,30	27,61	26,71	26,00	25,70	26,3	0,9	3,5
10,03	10,23	8,79	9,62	9,66	9,56	9,6	0,5	5,4
5,02	4,45	3,55	3,85	4,74	4,91	4,3	0,6	13,5
3,01	2,55	1,91	1,84	2,56	2,79	2,3	0,4	18,4

Tabela J15 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida captana, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	20,92	52,10	103,52	204,39	419,55
	2563				46668
	2050	7986	14405	64900	43326
	2551	9419	10852	67421	37868
	2284	6974	12990	54113	53662
	2167	5564	13252	48186	47733
	2993	7469	11670	60918	46597
Média	2435	7482	12634	59108	45976
Desv Pad	342	1409	1392	7908	5211
RSD %	14,0	18,8	11,0	13,4	11,3

Tabela J16 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida clortalonil, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	20,95	52,18	103,68	204,70
	318671	861064	5332416	3126731
	301013	862947	5444152	3179317
	307393	831804	5362643	2986033
	312056	842845	5329014	2978573
	301148	831245	5534685	3091629
	306854	869540	5568000	2929834
Média	307856	849907	5428485	3048686
Desv Pad	6748	16768	104352	97946
RSD %	2,2	2,0	1,9	3,2

Tabela J17 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida dicofol, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	4,37	10,88	21,62	42,68
	845820	949854	3881544	3860131
	835268	997803	3897737	3730845
	848931	909233	4077930	4025962
	767871	969695	3800200	3811239
	851050	857813	4011878	3493247
	780847	889230	3966713	3570832
Média	821631	928938	3939334	3748709
Desv Pad	37243	52659	99649	195148
RSD %	4,5	5,7	2,5	5,2

Tabela J18 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida folpete, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	37,59	93,60	185,98	367,20	753,72
			31800		291293
	5658	38003	40520	187949	252512
	4836	37559	30779	185425	222225
	3974	32375	36441	164549	331446
	5723	20169	39568	135797	240952
	3929	23491	35555	196914	218571
Média	4824	30320	35777	174127	259500
Desv Pad	870	8144	3953	24489	43919
RSD %	18,0	26,9	11,1	14,1	16,9

Tabela J19 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida iprodiona, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	274,70	684,07	1359,25	2683,65
			42230	99125
	12336	39126	42086	96964
	11210	39766	42334	100408
	15065	34268	46327	97618
	13147	33604	49999	105156
	12128	33238	47708	93386
Média	12777	36000	45114	98776
Desv Pad	1453	3175	3385	3928
RSD %	11,4	8,8	7,5	4,0

Tabela J20 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida procimidona, em vinho tinto do Porto.

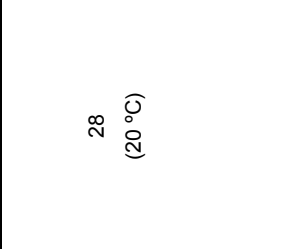
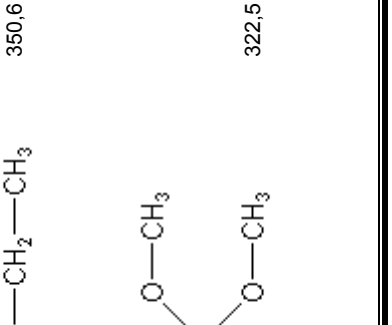
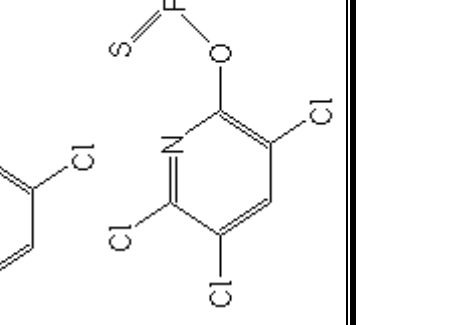
Conc (µg/L)	76,04	189,35	376,25	742,85
	317715	657749	1628897	
	338058	648155	1541173	2907664
	338751	642579	1538747	2949514
	329024	667670	1617748	2921689
	345285	612080	1630237	2962569
	330378	623286	1612998	3152788
Média	333202	641920	1594967	2978845
Desv Pad	9651	20931	43113	99643
RSD %	2,9	3,3	2,7	3,3

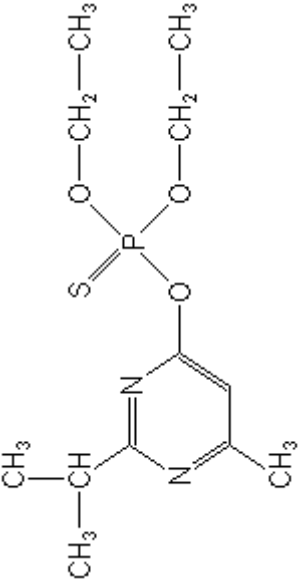
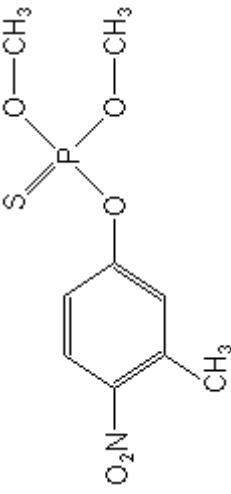
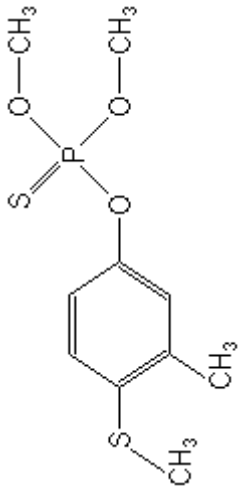
Tabela J21 – Valores de área utilizados no estudo da repetibilidade para a determinação do pesticida vinclozolina, em vinho tinto do Porto.

Conc (µg/L)	10,03	24,97	49,62	97,97
	561896	931100	2773775	
	568525	963750	2860135	5391130
	577753	949762	2830604	5153595
	584428	941480	2930484	5213725
	606232	915144	2933657	5330834
	556680	954620	2963930	5545152
Média	575919	942643	2882098	5326887
Desv Pad	17978	17495	72889	153800
RSD %	3,1	1,9	2,5	2,9

Anexo K. Propriedades físico-químicas de todos os pesticidas estudados: organofosforados, organoclorados e dicarboximidas.

Tabela K1 – Propriedades físico-químicas dos pesticidas organofosforados estudados [D].

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade		Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹) (20 °C)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
			em água (mg/L)	em água (20 °C)				
Azinfos-metilo		317,3	28 (20 °C)	5,0 x 10 ⁻⁴ (20 °C)	5,7 x 10 ⁻⁶ (20 °C)	2,96	Rapidamente hidrolisado em meio alcalino e ácido; DT ₅₀ (22 °C): 87 d (pH 4), 50 d (pH 7), 4 d (pH 9).	
Clorpirifos		350,6	1,4 (25 °C)	2,7 (25 °C)	-	4,7	Velocidade de hidrólise aumenta com o pH; DT ₅₀ (água, pH 8, 25 °C): 1,5 d.	
Clorpirifos-metilo		322,5	2,6 (20 °C)	3 (25 °C)	-	4,24	Decomposição por hidrólise: DT ₅₀ 27 d (pH 4), 21 d (pH 7), 13 d (pH 9); por fotólise em meio aquoso: DT ₅₀ 1,8 d (Junho), 3,8 d (Dezembro).	

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
Diazinão		304,3	60 (20 °C)	12 (25 °C)	-	3,30	Susceptível à oxidação acima dos 100 °C; estável em meio neutro mas lentamente hidrolisado em meio alcalino e mais rapidamente em meio ácido; DT ₅₀ (20 °C): 11,77 h (pH 3,1), 185 d (pH 7,4), 6 d (pH 10,4); decompõe-se acima dos 120 °C.
Fenitrotião		277,2	21 (20 °C)	15 (20 °C)	-	3,5 (20 °C)	Relativamente estável à hidrólise em condições normais; DT ₅₀ (estimado para 22 °C): 108,8 d (pH 4), 84,3 d (pH 7), 75 d (pH 9).
Fentião		278,3	4,2 (20 °C)	0,74 (20 °C)	0,05 (20 °C)	4,84	Estável na presença de luz e até 210 °C. Relativamente estável em condições ácidas e moderadamente estável em condições alcalinas; DT ₅₀ (22 °C): 223 d (pH 4), 200 d (pH 7), 151 d (pH 9)

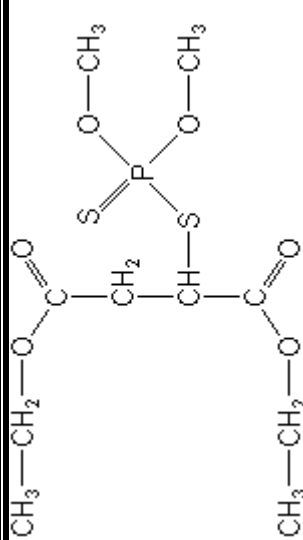
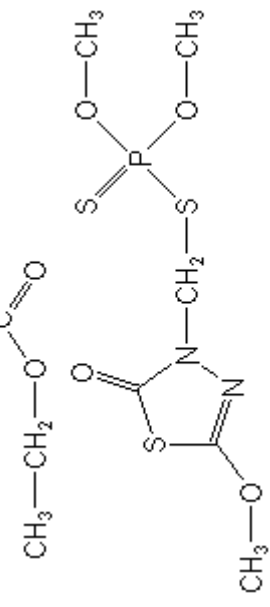
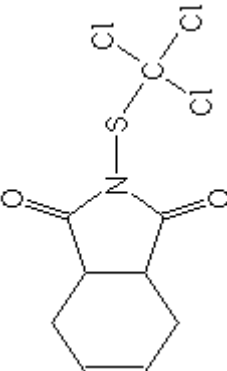
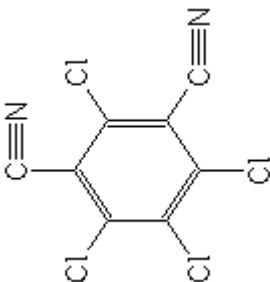
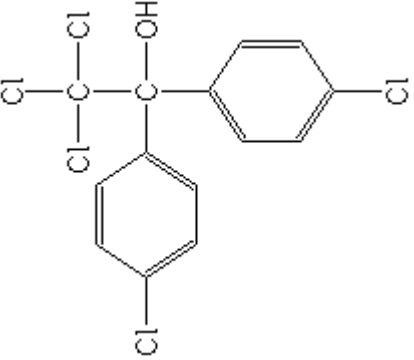
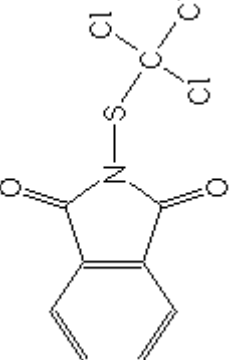
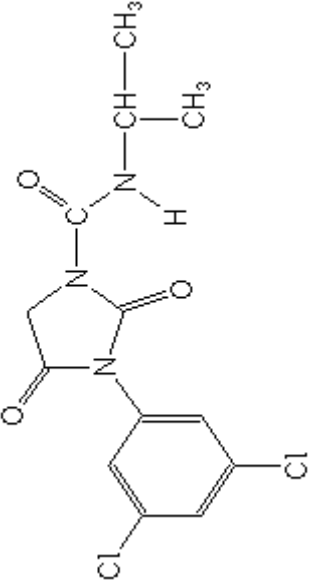
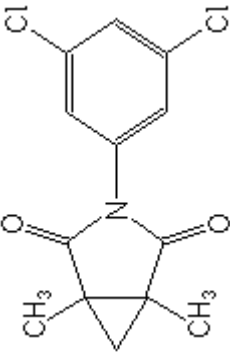
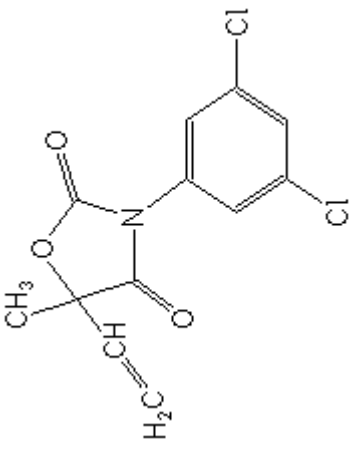
Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
Malatião		330,3	145 (25 °C)	5,3 (30 °C)	-	2,75	Relativamente estável em meio aquoso neutro. Decompõe-se em meio ácido e alcalino.
Metidatião		302,3	200 (25 °C)	0,25 (20 °C)	-	2,2 (OCDE 107)	Rapidamente hidrolisado em meio alcalino e fortemente ácido; DT ₅₀ (25 °C): 30 min (pH 13); relativamente estável à hidrólise em meio debilmente ácido e neutro.

Tabela K2 – Propriedades físico-químicas dos pesticidas organoclorados e dicarboximidas estudados [D].

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
Captana		300,6	3,3 (20 °C)	<1,3 (25 °C)	-	2,8 (25°C)	Lentamente hidrolisado em meio neutro e rapidamente hidrolisado em meio alcalino ; DT ₅₀ térmico >4 anos (80 °C), 14,2 d (120 °C).
Clortalonil		265,9	0,81 (25 °C)	0,076 (25 °C)	2,50 x 10 ⁻² (25°C)	2,89	Termicamente estável à temperatura ambiente; estável na presença de luz UV em meio aquoso e na forma de cristais; estável em soluções aquosas ácidas e moderadamente alcalinas; baixa hidrólise a pH > 9.

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
Dicofol		370,5	0,8 (25 °C)	0,053 (grau técnico)	-	4,30	Estável em meio ácido mas instável em meio alcalino; DT ₅₀ : 85 d (pH 5), 64 – 99 h (pH 7), 26 min (pH 9); estável abaixo dos 80 °C.
Folpete		296,6	0,8 (temperatura ambiente)	2,1 x 10 ⁻² (25 °C)	7,8 x 10 ⁻³ (calculado)	3,11	Estável no estado seco; rapidamente hidrolisado em concentrados alcalinos e a elevadas temperaturas.

Composto	Fórmula de estrutura	Massa molecular	Solubilidade em água (mg/L)	Pressão de vapor (mPa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	K _{ow} (Log P)	Estabilidade
Iprodiona		330,2	13 (20 °C)	5 x 10 ⁻⁴ (25 °C)	-	3,0 (pH 3 a 5)	Relativamente estável em meio ácido mas decompõe-se em meio alcalino; DT ₅₀ : 1-7 d (pH 7), < 1 h (pH 9); em solução aquosa é degradado pela luz UV.
Procimidona		284,1	4,5 (25 °C)	18 (25 °C)	-	3,14 (26 °C)	Estável em condições normais de armazenamento. Estável à luz e calor.
Vinclozolina		286,1	2,6 (20 °C)	0,13 (20 °C)	-	3 (pH 7)	Estável até 50°C; estável durante 24 h em meio ácido; em hidróxido de sódio a 0,1 N, 50% da hidrólise ocorre em 3,8 h.

Legenda:

DT₅₀ – tempo em que decorre a perda de 50% do composto (tempo de meia vida);

d – dias;

h – horas;

min - minutos