Avaliação das características físico-químicas, fungos e ocratoxina A em uvas Merlot parcialmente desidratadas em ambiente naturalmente ventilado

Tássia Henrique Nievierowski¹, Flávio Fonseca Verasi¹, Rafaela Diogo Silveirai¹,
Fernanda Cortez Lopesi², Juliane Elisa Welkei¹

Resumo

A desidratação parcial das uvas tem sido usada para produzir vinhos especiais, alguns dos quais são certificados como “Denominação de Origem Controlada”. Este procedimento é realizado pré ou pós- colheita em várias regiões do mundo. A desidratação em câmaras ou salas pode ser realizada independentemente das condições climáticas, além dos benefícios de proteger as uvas dos danos causados por pássaros/insetos e poluição ambiental. O objetivo deste estudo foi avaliar as características físico-químicas, incidência de fungos e ocratoxina A em uvas Merlot submetidas à desidratação em ambiente naturalmente ventilado. A desidratação parcial em uma sala ventilada naturalmente resultou em mudanças nas características físico-químicas das uvas Merlot, incluindo uma diminuição na aw (6%), pH (4%) e dureza da baga (58%), juntamente com um aumento no teor de sólidos solúveis totais (15%). A presença de *Pestalotiopsis clavispora*, *Neopestalotiopsis clavispora*, *Colletotrichum siamense* e *Alternaria porri* foram favorecidas durante o processo de desidratação, enquanto uma diminuição na ocorrência de *Aspergillus niger* e *Phanerochaete* sp. foi verificada. Isolados de *A. niger* não mostraram potencial para produzir ocratoxina A. Essa toxina também não foi encontrada nas amostras de uva ao longo da desidratação.

Palavras-chave: ocratoxinas; micobiota; propriedades enológicas, *Aspergillus niger*.

Introdução

Utilizada em várias regiões do mundo para a produção de vinhos especiais, a desidratação de uvas tem como objetivo agregar valor aos produtos enológicos. A desidratação em ambientes cobertos (câmaras ou salas) pode ser realizada independentemente das condições climáticas, além dos benefícios de proteger as uvas dos danos de pássaros, insetos e da poluição ambiental (KHIARI; ZEMNI; MIHOUBI, 2019; MENCARELLI; BELLINCONTRO, 2018). Quando a desidratação é realizada em uma sala com ventilação natural, as janelas permanecem abertas para a circulação de ar e o procedimento ocorre em condições não controladas, sendo vantajoso para ser implementado sem custos adicionais relacionados a uma infraestrutura específica (MENCARELLI; BELLINCONTRO, 2018).

A ocorrência de fungos filamentosos nas uvas é uma das principais preocupações relacionadas à desidratação, uma vez que tais microrganismos podem produzir metabólitos secundários tóxicos denominados micotoxinas (LORENZINI et al., 2018). Reconhecida como a principal micotoxina detectada em derivados de uvas, a ocratoxina A (OTA) é principalmente associada a efeitos nefrotóxicos, sendo classificada pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) como possível carcinogênico para humanos (IARC, 1993). A OTA é produzida por algumas espécies de *Aspergillus*, principalmente por *Aspergillus section Nigri*.

Este estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas, incidência de fungos e ocratoxina A em uvas Merlot submetidas à desidratação em ambiente naturalmente ventilado.

Material e Métodos

Uvas da cultivar Merlot (safra fevereiro/2018) foram colhidas manualmente a partir de um vinhedo localizado no município de Flores da Cunha-RS, Brasil. Após a colheita, as uvas foram submetidas ao processo de desidratação parcial em ambiente coberto e naturalmente ventilado durante 21 dias (Figura 1). Amostras de uvas foram colhidas antes (T0) e após 7, 14 e 21 dias de desidratação (T7, T14 e T21, respectivamente) para avaliação das características físico-químicas, análises micológicas e determinação de ocratoxinas.

Um analisador de textura (TA.XT Plus, Stable Micro System) equipado com uma plataforma HDP / 90 e uma célula de carga de 5 kg foi utilizado para avaliar dureza e espessura da casca das uvas, de acordo com o método descrito por Segade et al. (2011). A determinação da atividade de água (Aw) foi realizada em medidor Aqualab (3TE-Decagon, Pullman). As uvas ainda foram avaliadas quanto ao teor de sólidos solúveis totais (TSST), em refratômetro (25BRIX/ATC, Megabrix), e pH (medidor modelo HI2221, Hanna Instruments).

*Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves n° 9500, Porto Alegre, RS, Brazil. 91501-970. Email: juliane.welke@ufrgs.br

**Centro de Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, n° 9500, Porto Alegre, Brazil. 91501-970.

Figura 1. Processo de desidratação natural das uvas Merlot. (A) Imagem do local coberto e arejado onde as uvas foram desidratadas e (B) cacho de uva após 21 dias de desidratação.

Para as análises micológicas, as uvas foram desinfetadas superficialmente por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,4% durante 1 minuto. Cem bagas de cada amostra foram plaqueadas em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) e incubadas durante 7 dias a 25°C. As colônias fúngicas obtidas foram isoladas em Agar Extrato de Malte (MEA) e Agar Extrato de Levedura Czapek (CYA) e identificadas utilizando critérios morfológicos (PITT; HOCKING, 2009) e análise molecular através do sequenciamento de região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do DNA ribossomal (LOPES et al. 2011).

As espécies identificadas foram avaliadas quanto ao seu potencial toxigênico. Após cultivo dos fungos em meio CYA durante 7 dias a 25 °C, a extração de micotoxinas foi realizada pela técnica do Ágar Plug, seguido de detecção por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas do tipo quadrupolo tempo de voo (LC-QToF-MS). Amostras de uvas desidratadas também foram avaliadas por LC-QToF-MS quanto à presença de ocratoxina A.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. As análises estatísticas foram realizadas no software XLSTAT2017 (Addinsoft, New York, USA).

Resultados e discussão

Conforme previsto, mudanças significativas nas características físico-químicas das uvas ocorreram durante o processo de desidratação parcial (Tabela 1). O aumento de 15% nos níveis de TSST das bagas ao final da desidratação demonstrou que tal processo é favorável para a obtenção de uvas destinadas à produção de vinhos especiais. Uvas com °Brix acima de 23 promovem um maior teor de álcool e / ou maiores níveis de açúcar residual em vinhos especiais (OIV, 2010). Por outro lado, ocorreu uma redução significativa na dureza das bagas, bem como na Aw e pH (58, 6 e 4%, respectivamente), durante a desidratação. Tais mudanças estão atribuídas à evaporação de água, uma vez que tal fenômeno influencia na pressão de turgor das bagas e na concentração de açúcares e ácido orgânico.

A Figura 1 apresenta a ocorrência de fungos durante a desidratação parcial de uvas Merlot. Ao final do processo, foi possível verificar um aumento de 75% no número de bagas onde houve crescimento fúngico (Figura 2A). Tal fato pode ser justificado pela redução na dureza da baga à medida que o tempo de desidratação avançada. Estudos apontaram a dureza como um fator chave para a colonização fúngica das uvas (DACHERY et al. 2019; VERAS et al., 2021). Os fungos isolados foram identificados como *Pestalotiopsis clavispora*, *Neopestalotiopsis clavispora*, *Colletotrichum siamense*, *Alternaria porri*, *Phanerochaete* sp. e *Aspergillus niger*. A Figura 2B mostra o percentual de fungos isolados das uvas em cada período da desidratação, podendo observar uma redução no número de isolados de *A. niger*. Tal resultado é considerado relevante, uma vez que este fungo é comumente encontrado em uvas e potencialmente descrito como produtor de ocratoxina A e fumonisina B2 (FERRANTI et al., 2018; PANTELIDES et al., 2017). Curiosamente, espécies de *Aspergillus carbonarius* não foram isoladas das bagas. A ocorrência de *A. carbonarius* em vinhedos ao redor do mundo é menos comum do que *A. niger* (FERRANTI et al., 2018; PANTELIDES et al., 2017; GARMENDIA; VERO, 2016; CHIOTTA et al., 2013).

Tabela 1: Características físico-químicas das uvas Merlot durante o processo de desidratação em ambiente com ventilação natural.

Parâmetro	Tempo de desidratação das uvas (dias)			
	T0	T7	T14	T21
TSST ^a (°Brix)	20,7±0,1a	21,2±0,3b	22,4±0,1c	23,9±0,2d
Dureza das bagas (N)	2,51±0,05a	1,61±0,02b	1,38±0,04c	1,05±0,03d
Espessura da casca (mm)	0,21±0,02a	0,22±0,03a	0,22±0,02a	0,22±0,02a
Aw ^b	0,98±0,00a	0,96±0,00b	0,95±0,00c	0,92±0,00d
pH	4,25±0,00a	4,21±0,01b	4,15±0,02c	4,07±0,00d

^a TSST: teor de sólidos solúveis totais; ^b Aw: atividade de água; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa de acordo com ANOVA seguida do teste de Tukey (p < 0,05).

Figura 2: Porcentagem de bagas na qual foi verificada a ocorrência de fungos durante o processo de desidratação das uvas em ambientes ventilados naturalmente (A). Porcentagem da ocorrência de fungos provenientes dessas uvas (B).

Os isolados de *A. niger* não apresentaram potencial para produzir ocratoxina A. Da mesma forma, esta micotoxina não foi detectada nas amostras de uvas, antes e durante a desidratação.

Conclusões

Este estudo demonstrou que a desidratação parcial de uvas afeta positivamente características físico-químicas das uvas

Merlot. Apesar do processo promover a ocorrência de fungos, a redução gradativa na incidência de *Aspergillus niger* foi verificada ao longo do período de desidratação, e os isolados não se mostraram produtores de ocratoxina A. Esta micotoxina também não foi encontrada nas uvas avaliadas ao longo da desidratação. Desta forma, a desidratação parcial das uvas Merlot em sala ventilada naturalmente pode ser considerada uma estratégia promissora para a diversificação de produtos enológicos.

Referências

- CHIOTTA, M. L.; PONSONE, M. L.; SOSA, D. M.; COMBINA, M.; CHULZE, S. N. Biodiversity of *Aspergillus* section Nigri populations in Argentinian vineyards and ochratoxin A contamination. *Food Microbiology*, v. 36, n. 2, p. 182-190, 2013.
- DACHERY, B.; HERNANDES, K. C.; VERAS, F. F.; SCHMIDT, L.; AUGUSTI, P. R.; MANFROI, V.; ZINI, C. A.; WELKE, J. E. Effect of *Aspergillus carbonarius* on ochratoxin A levels, volatile profile and antioxidant activity of the grapes and respective wines. *Food Research International*, v. 126(September), 108687, 2019.
- FERRANTI, L. DE S.; FUNGARO, M. H. P.; MASSI, F. P.; SILVA, J. J. DA; PENHA, R. E. S.; FRISVAD, J. C.; TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T. Diversity of *Aspergillus* section Nigri on the surface of *Vitis labrusca* and its hybrid grapes. *International Journal of Food Microbiology*, v. 268(January), p. 53-60, 2018.
- GARMENDIA, G.; VERO S. Occurrence and biodiversity of *Aspergillus* section Nigri on 'Tannat' grapes in Uruguay. *International Journal of Food Microbiology*, v. 216, p. 31-39, 2016.

IARC. *International Agency for Research on Cancer*. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, v. 56, p. 489-521, 1993.

KHIARI, R.; ZEMNI, H.; MIHOUBI, D. Raisin processing: physicochemical, nutritional and microbiological quality characteristics as affected by drying process. *Food Reviews International*, v. 35, n. 3, p. 246-298, 2019.

LOPES, F. C.; SILVA, L. A. D. E.; TICHOTA, D. M.; DAROIT, D. J.; VELHO, R. V.; PEREIRA, J. Q.; CORRÊA, A. P. F.; BRANDELLI, A. Production of proteolytic enzymes by a keratin-degrading *Aspergillus niger*. *Enzyme Research*, 2011(1).

LORENZINI, M.; SIMONATO, B.; FAVATI, F.; BERNARDI, P.; SBARBATI, A.; ZAPPAROLI, G. Filamentous fungi associated with natural infection of noble rot on withered grapes. *International Journal of Food Microbiology*, v. 272, p. 83-86, 2018.

MENCARELLI, F.; BELLINCONTRO, A. Recent advances in postharvest technology of the wine grape to improve the wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, September 2018.

- OIV. (2010). Organization Internationale de la Vigne et du Vin. Resolution OIV/ECO 287/2010. <http://www.oiv.int/public/medias/1862/oiv-eco-287-2010-en.pdf>.
- PANTELIDES, I. S.; ARISTEIDOU, E.; LAZARI, M.; TSOLAKIDOU, M. D.; TSALTAS, D.; CHRISTOFIDOU, M.; KAFOURIS, D.; CHRISTOU, E.; IOANNOU, N. Biodiversity and ochratoxin A profile of *Aspergillus section Nigri* populations isolated from wine grapes in Cyprus vineyards. *Food Microbiology*, v. 67, p. 106–115, 2017.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. *Fungi and Food Spoilage*. 3 ed., New York: Springer Science 2009.
- SEGADE, S. R.; GIACOSA, S.; GERBI, V.; ROLLE, L. Berry skin thickness as main texture parameter to predict anthocyanin extractability in winegrapes. *LWT - Food Science and Technology*, v. 44, n. 2, p. 392–398, 2011.
- VERAS, F. F.; DACHERY, B.; MANFROI, V.; WELKE, J. E. *Aspergillus carbonarius* colonization and ochratoxin A accumulation in *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca* and hybrid grapes - research of the most promising alternatives for organic viticulture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 141, n. 1101145, 2021.