

## ÁCIDO D-GLUCÔNICO E SUA RELAÇÃO COM A MICOBIOTA DE UVAS PRODUZIDAS EM SANTA CATARINA

ESTELA DE OLIVEIRA NUNES<sup>1</sup>; AGENOR FURIGO JUNIOR<sup>2</sup>; ARMANDO VENÂNCIO<sup>3</sup>

1- Centro de Ciências Biológicas e da Saúde; Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC-Campus Videira). [estela@unoescvda.edu.br](mailto:estela@unoescvda.edu.br)

2- Departamento de Engenharia Química e de Alimentos; Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

3- IBB - Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, (UMINHO- Campus de Gualtar) Braga - Portugal

**ABSTRACT: NUNES, E.O.; FURIGO, A.; VENÂNCIO A. D-gluconic acid and its relation with the mycobiota of grapes produced in Santa Catarina.** D-gluconic acid concentration in musts and wines is natural of acid sources, being produced by filamentous fungi and/or bacteria. *Aspergillus*, *Botrytis*, and *Penicillium sp.*, oxidize to glucose to produce D-gluconic acid, that is not used by yeasts or bacteria and can be used as a fruit deterioration indicator. Since the detection of ochratoxin A (OTA) in juices and wines related studies to mycobiota of the grapes, under the ochratoxigenic potential point of view has been being evaluated. The present study had the goal of evaluating the grapes sanity degree produced in Santa Catarina in the crops 2005/2006, using the D-gluconic acid concentration as indicator. D-gluconic acid correlation between OTA, mycobiota and population of Aggregate *A. niger* went 0,017; 0,004 and 0,008, respectively, reflecting the low correlation presented with OTA. For the population of *Botrytis* the decisive factor was 0751, or only 24.9% of the variation can not be explained, since the mycobiota with the relationship was very low, reinforcing the hypothesis of association with other factors such as the presence of bitter rot.

**Keywords:** D-gluconic acid, *Botrytis*, ochratoxin A., grape.

### INTRODUÇÃO

A elaboração de um excelente vinho passa pela obtenção de uvas de boa qualidade, esse quesito diminui quando infecções de diferentes origens ocorrem. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* e *Botrytis cinerea*, podem implicar em problemas no processo de vinificação (SUÁREZ; IÑIGO,1990). A podridão cinzenta da uva é causada por *B. cinerea*, FREGONI et al. (1986), relatam aumento da acidez total em uvas atacadas pela *B. cinerea* devido à perda de peso das bagas e à formação dos ácidos glucônico e pirúvico. De acordo com PÉREZ et al. (1991) o nível de ácido glucônico em mostos e vinhos é próprio de fontes ácidas, produzido por fungos e/ou bactérias. *Aspergillus*, *Botrytis*, e *Penicillium sp.* oxidam a glucose para produzir ácido glucônico, este não é utilizado pelas leveduras ou bactérias e pode ser usado como um indicador de deterioração de frutas (ZOECKLEIN, 2006). Desde a descoberta de ocratoxina A (OTA) em sucos de uva e vinhos feita por ZIMERLI, DICK (1995), vários trabalhos vêm sendo realizados, reportando a presença de OTA em uvas e vinhos, elevando o interesse com relação à investigação de fungos micotoxigênicos em uvas. A biossíntese da OTA a partir de espécies referentes à seção Agregado *A. Niger* tem sido confirmada (SAMSON et al., 2004). Quando se avalia o potencial ocratoxigênico nas uvas, percebe-se o

predomínio do gênero *Aspergillus* na microbiota do campo. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o grau de sanidade das uvas produzidas e processadas em Santa Catarina nas safras 2005/2006, através da investigação da correlação da concentração do ácido glucônico com a população de *Botrytis* na microbiota e com o nível de OTA nas uvas.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Amostra:** Foram analisadas 32 amostras de uvas tintas produzidas nas regiões Meio Oeste e Planalto Catarinense, obtido nas vindimas de 2005/2006. Todos os ensaios foram feitos em duplicata. **Micobiota:** No rastreio usou-se a técnica de SERRA (2005): plaqueamento direto de 5 bagas cortadas ao meio em placas de Petri, em SDA e DRBC, incubadas em BOD 25°C de 7 a 14 dias; cultivou-se as estirpes nos meios de CYA, MEA e CZ. **Ocratoxina A:** Adotou-se o método de SERRA et al. (2004), limpeza por colunas de imunoafinidade (OchraTest-Vicam®), e quantificação por HPLC- detector fluorescência (excitação 330nm, 460nm emissão), coluna C18 ODS2 (4,6mmx 250mm; 5µm). Taxa de fluxo 1.0 mL.min<sup>-1</sup>, Fase móvel: água/acetoneitrila/ácido acético (99:99:2, v/v/v), e volume de injeção 20µl. A taxa de recuperação foi de 94%, limite de detecção nas uvas foi 0.004 µg kg<sup>-1</sup>. **Ácido D-glucônico:** Para hidrolisar a D-glucono-d-lactona e conversão a ácido D-glucônico, o pH foi ajustado a 10-11 com KOH (2M) e a amostra incubada por 5-10 minutos entre 20-25°C. Um volume adequado da amostra foi centrifugado e filtrado em Whatman (Ø=1,6µm). Determinou-se o nível do ácido glucônico pelo método enzimático-colorimétrico/UV (R-Biopharm®), em espectrofotômetro-UV/VIS (JASCO V-560) a 340nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gênero *Aspergillus*, sobretudo o *A. niger* é utilizado para produção de ácido D-glucônico sendo também produtor de OTA, portanto, a correlação da OTA foi aqui investigada e apresentou um coeficiente de determinação de 0,017, indicando uma fraca relação linear entre as variáveis (fig1). Para a população de *Botrytis* a correlação foi de 0,751 (fig 2), ou seja, apenas 24,9% da variação não pode ser explicada, já a com a microbiota a relação foi de 0,083 (muito baixa), reforçando a hipótese de associação a outros fatores como, por exemplo, a presença de podridão amarga. Meneguzzo et al. (2006) em estudo feito com vinho branco vinificado com uvas com diferentes níveis de podridão por *Botrytis*, observaram uma relação linear de 0,882. Os níveis médios de ácido glucônico foram 0,361 e 0,615 g.Kg<sup>-1</sup> nos anos de 2005 e 2006, respectivamente. No ano 2005, observou-se podridão por *Botrytis* e *Aspergillus* negros em duas amostras. Em 2006, valores de ácido glucônico acima de 1,0 g.Kg<sup>-1</sup> foram verificados em 12,2% das amostras, no entanto, nenhuma das amostras apresentou podridão cinzenta (*Botrytis*) aparente, mas, a podridão amarga foi observada; concordando com o descrito por Zoecklein (2006) que os níveis de ácido glucônico em uvas “limpas” e em seus vinhos são próximos de 0.5 g.L<sup>-1</sup>, em vinhos produzidos a partir de uva contaminada com *B. cinerea* os níveis variam de 1 até 5 g.L<sup>-1</sup>. Na podridão amarga ou podridões comuns, onde o crescimento bacteriano ocorre juntamente com o crescimento do fungo, podem atingir níveis superiores a 5 g.L<sup>-1</sup>.

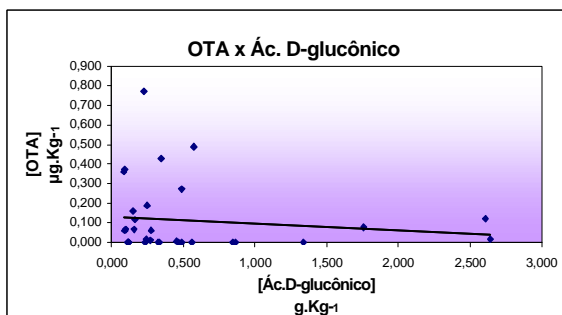


Figura 1. Correlação entre o nível de OTA nas uvas e a concentração de Ácido D-glucônico

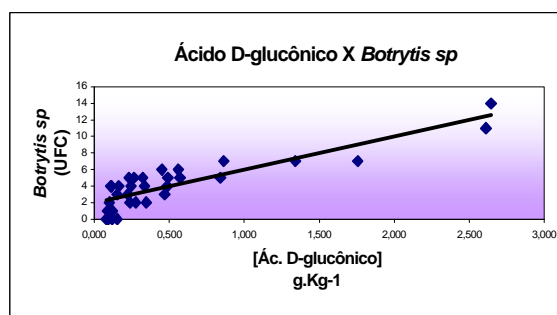


Fig. 2. Correlação entre a concentração de Ácido D-glucônico e a população de *Botrytis sp.*

## CONCLUSÕES

A determinação do nível de ácido D-glucônico não apresentou boa linearidade na indicação da contaminação das uvas por OTA, *Aspergillus* do grupo Agregado *A. niger* e microbiota de forma geral, porém, parece estar relacionado à incidência de *Botrytis sp.* e presença de podridão amarga.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FREGONI, M.; IACONO, F.; ZAMBONI, M. Influence du *Botrytis cinerea* sur les caractéristiques physico-chimiques du raisin. **Bulletin de l'OIV**, v. 59, n. 667-668, p. 995-1013, 1986.

MENEGUZZO, J.; RIZZON, L.A.; MIELE, A. e AYUB, M.A. Efeito de *Botrytis cinerea* na composição do vinho Gewürztraminer. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26 n.3,p. 527-532, Campinas, Julho/Setembro. 2006.

PÉREZ, L.; VALCÁRCEL, M.J.; GONZÁLEZ, P.; DOMEQ, B. Influence of *Botrytis* infection of the grapes on the biological aging process of Fino Sherry. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 42, p. 58-62, 1991.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J.; KUIJPERS, A.; FRANK, J. M.; FRISVAD, J. C. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 45-61, 2004.

SERRA, R.M.A. Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação de com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A. **Tese de doutorado** (Engenharia Química e Biológica), Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2005.

SERRA, R.; MENDONÇA, C.; ABRUNHOSA L.; PIETRI, A.; VENÂNCIO, A. Determination of ochratoxin A in wine grapes: comparison of extraction procedures and method validation. **Acta Chimica**, v. 513, p. 41- 47, 2004.

SUÁREZ, J.; IÑIGO, B. Microbial alterations in wines. Yeast and molds. In: **Enological Microbiology**, Mundi Prensa, Madrid, p.331-347,1990.

ZIMMERLI, B.; DICK, R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. **Journal of Chromatography**, v. B-666, p. 85-99, 1995.

ZOECKLEIN, B.W. **Effects of Fruit Rot on Wine Stability**. 2006. Disponível em [www.oardc.ohio-state.edu/grapeweb/OGEN/09252006](http://www.oardc.ohio-state.edu/grapeweb/OGEN/09252006). Acessado em 01/08/2007.