

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

**INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES
FITOSSANITÁRIAS DA UVA NO TEOR DE
OCRATOXINA A EM VINHOS BRANCOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Tiane Teixeira Simon

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES FITOSSANITÁRIAS DA UVA NO TEOR DE OCRATOXINA A EM VINHOS BRANCOS

por

Tiane Teixeira Simon

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

Orientador: Prof. Dra. Neidi Garcia Penna

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

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

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

**INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES FITOSSANITÁRIAS DA UVA
NO TEOR DE OCRATOXINA A EM VINHOS BRANCOS**

elaborada por
Tiane Teixeira Simon

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Neidi Garcia Penna, Dra.
(Presidente/Orientador)

Regina Vanderlinde, Dra. (UCS)

Janio Moraes Santurio, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 14 de dezembro de 2006.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Sérgio e Tânia por todo o amor,
apoio, confiança,
amizade, carinho e tempo
que sempre me dedicaram.
Além da oportunidade de estudo e dos
exemplos morais que me proporcionaram.
Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiro, agradeço a Deus, pela vida e pela oportunidade de evoluir e conviver com pessoas tão maravilhosas.

Agradeço aos meus pais que se dedicaram a minha educação e minha felicidade, sempre me dando muito amor, confiança, incentivo e força. Não tenho palavras para agradecer o quanto fizeram e continuam fazendo por mim. Tentarei, sempre, ser motivo de orgulho para vocês, assim como vocês são para mim.

Aos meus familiares, em especial aos meus irmãos, Tiago, Tailana e Cristina, que me apoiaram, incentivaram e me “aturaram” em todos os momentos.

A Profa. Dra. Neidi Garcia Penna, pela amizade, oportunidade, incentivo e por todos os ensinamentos a mim passados.

A Cooperativa Vinícola Aurora Ltda., de Bento Gonçalves, que cedeu gentilmente as uvas para a realização desta dissertação.

A Vinícola Don Affonso, de Caxias do Sul, em especial ao André, por ceder o espaço para a realização da parte experimental do trabalho. Obrigada pela amizade, carinho, incentivo e dedicação em todos os momentos.

A Profa. Dra. Regina Vanderlinde e ao pessoal do Laboratório de Referência Enológica (LAREN), pela oportunidade e ajuda nas análises, além da contribuição, disposição e boa vontade de cada um de vocês. Obrigada a todos!

Ao Prof. Dr. Janio Morais Santurio, por ter possibilitado a aquisição do material para as análises.

Aos professores da pós-graduação, pelo aprendizado, atendimento e auxílio prestados.

As minhas amigas Ariane, Taís, Luciana e Naiana por todo o carinho, apoio e amizade de sempre. E também as pessoas especiais que passaram por minha vida durante esta fase.

Não poderia esquecer de fazer um agradecimento a Antonieta, minha “mãezona” e sua família, que sempre estiveram ao meu lado, me incentivando e dando apoio em todos os momentos. Obrigada por tudo!

A UFSM pela oportunidade de realizar este mestrado de forma gratuita e de qualidade, além de tornar possível o sonho de todos nós e promover o desenvolvimento intelectual e científico do Brasil.

A todos que tenham contribuído de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

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

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES FITOSSANITÁRIAS DA UVA NO TEOR DE OCRATOXINA A EM VINHOS BRANCOS

AUTORA: Tiane Teixeira Simon

ORIENTADORA: Neidi Garcia Penna

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 14 de dezembro de 2006.

A Ocratoxina A (OTA) é uma micotoxina que possui propriedades nefrotóxicas, nefrocarcinogênicas, teratogênicas e imunossupressora que pode ser encontrada no vinho e no suco de uva, bem como em outros grupos de alimentos, como cereais e oleaginosas. A sua ocorrência nas uvas e posteriormente nos mostos e nos vinhos, deve-se principalmente às condições fitossanitárias das uvas, além da sua variedade, grau de maturação, danos físicos do grão, práticas de viticultura e condições climáticas, uma vez que a Ocratoxina A é produzida por espécies de fungos dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. O objetivo principal do presente trabalho foi determinar a relação entre as condições fitossanitárias da uva com o teor de Ocratoxina A dos mostos e vinhos de variedades viníferas brancas. As uvas foram coletadas na Cooperativa Vinícola Aurora Ltda., na localidade de Pinto Bandeira, do município de Bento Gonçalves, RS, a partir de três variedades de uva viníferas brancas, Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc. As uvas foram coletadas num intervalo de aproximadamente quatro em quatro (4) dias, após a data de colheita estabelecida pela vinícola (que foi o dia zero) até o oitavo (8) dia após esta data, para as variedades Gewürztraminer e Sauvignon Blanc e até o décimo quinto dia (15) para a variedade Chardonnay. O critério de maturação foi a determinação do grau Brix e da acidez total. O volume coletado em cada amostragem foi de aproximadamente 6 Kg de uva sendo que foram feitas três repetições de cada amostragem, para cada variedade de uva. A escolha das plantas foi realizada de forma aleatória, coletando um pequeno número de cachos das plantas em cada amostragem. Posteriormente à colheita, foram realizadas as microvinificações destas uvas. Nos mostos foram realizadas as determinações de pH, sólidos solúveis (° Brix) e acidez total. Em todas as amostras dos vinhos foram analisados parâmetros físico-químicos como: teor alcoólico; densidade; pH; acidez total e volátil; açúcares totais e extrato seco reduzido. Ocratoxina A foi determinada nos mostos e vinhos através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por fluorescência, segundo a técnica descrita pela *Office International de La Vigne et Du Vin* (OIV) (2001), com o uso de colunas de imunoafinidade. Os resultados das análises dos mostos e vinhos foram avaliados estatisticamente através do programa computacional SAS for Windows 2000, versão 6.11. Tanto as amostras dos mostos como dos vinhos analisados não apresentaram teores detectáveis de ocratoxina A, mesmo sendo utilizadas uvas de diferentes condições de sanidade. Já em relação às análises físico-químicas dos mostos e dos vinhos, todas se encontraram dentro dos limites exigidos pela legislação para a produção de vinhos ideais para consumo.

Palavras-chave: ocratoxina A, sanidade das uvas, mosto, vinho.

ABSTRACT

Master Dissertation
Post-Graduate in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

INFLUENCE OF PHYTOSANITARY CONDITIONS OF GRAPE ON THE LEVEL OF OCHRATOXIN A IN WHITE WINES

Author: Tiane Teixeira Simon

Adviser: Neidi Garcia Penna

Date and Place of the defense: Santa Maria, December 14, 2006.

The ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin with nephrotoxic, nephrocarcinogenic, teratogenic and immunosuppressive properties that can be found in grape juice and wine, as well as other food groups, like cereals and oil seeds. Its occurrence in grapes and afterwards in musts and wines is due mainly to the phytosanitary conditions of grapes, besides their variety, the degree of berry maturity, physical damage, viticulture practices and climatic conditions; once the ochratoxin A is produced by strains of *Penicillium* and *Aspergillus* species. The objective of this study was to determine the relationship between the phytosanitary conditions of grape and the level of ochratoxin A in white *vitis vinifera* musts and wines. The grapes were collected at Cooperativa Vinícola Aurora Ltda., localized in Pinto Bandeira, a district of Bento Gonçalves, RS – from three varieties of white *vitis vinifera* (Gewürztraminer, Chardonnay and Sauvignon Blanc). The grapes were collected four (4) days apart from the harvest day established by the vineyard (day zero) up to the eighth (8) (to Gewürztraminer and Sauvignon Blanc wines) and fifteenth (15) days (Chardonnay). The maturation criteria were the ° Brix and total acidity determinations. The collected amount of grape in each sample was approximately 6 Kg and three repetitions of each sampling (to each grape variety), were made. The plant's selection was randomized, by the collection of a small amount of bunches in each sample. The grape microvinification was made after the harvest. In the musts was realized the determination of pH, soluble solids (° Brix) and total acidity. In all the wine samples these physico-chemical parameters were analyzed: alcohol content, density, pH, total acidity, volatile acidity; total sugar and reduced dry stratum. The determination of ochratoxin A in musts and wines was done by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with fluorescence detection accordingly to the of *Office International de La Vigne et Du Vin* (OIV) (2001), with the use of immunoaffinity columns. Statistical analysis was performed using the program SAS for Windows 2000, version 6.11. Even presenting different conditions of sanity, neither the musts nor the wines had detectable levels of ochratoxin A. The physico-chemical analysis was in the range accepted by the legislation of wines production for beverage.

Keywords: ochratoxin A, grape sanity, must, wine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Estrutura da Ocratoxina A (Moss, 1996).....	29
FIGURA 2 – Comportamento meteorológico (precipitação pluviométrica e temperaturas do ar) na safra da uva de 2006 em relação a normal climatológica (1961/1990). Bento Gonçalves, RS. (Embrapa Uva e Vinho, 2006)	33
FIGURA 3 – Comportamento meteorológico (precipitação pluviométrica e temperaturas do ar) na safra da uva de 2006 na Estação Meteorológica Aurora – Pinto Bandeira (Embrapa Uva e Vinho, 2006).....	35
FIGURA 4 – Curva de calibração do padrão de Ocratoxina A.....	41
FIGURA 5 – Cromatograma do padrão de ocratoxina A utilizado nas análises	42
FIGURA 6 – Percentual de uvas danificadas e sãs das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc em relação a diferentes colheitas, na safra 2006	46
FIGURA 7 – Relação entre o °Brix, acidez total (meq.L ⁻¹) do mosto e diferentes tempos de colheita das uvas das variedades Gewürztraminer (A), Chardonnay (B) e Sauvignon Blanc (C), na safra 2006.....	50
FIGURA 8 – Relação entre o °Brix, sanidade das uvas (%) e diferentes tempos de colheita das uvas das variedades Gewürztraminer (A), Chardonnay (B) e Sauvignon Blanc (C), na safra 2006.....	52
FIGURA 9 – Curva de linearidade obtida em amostra de vinho em condições crescentes de OTA	57
FIGURA 10 – Cromatograma do padrão 0,75 ppb de ocratoxina A	58
FIGURA 11 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão 0,75 µg.L ⁻¹ de OTA	59
FIGURA 12 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão 1,5 µg.L ⁻¹ de OTA	59

FIGURA 13 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão $3,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ de OTA 60

FIGURA 14 – Cromatograma de uma amostra de mosto negativa para a presença de OTA 61

FIGURA 15 – Cromatograma de uma amostra de vinho negativa para a presença de OTA 61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Consumo <i>per capita</i> de vinhos, sucos e uvas, no Brasil (2000/2005) (Adaptado de MELLO, 2006).....	18
TABELA 2 – Resultados do teste de correlação “r” de Pearson e interpretação da correlação entre a precipitação pluviométrica e a porcentagem de uvas danificadas das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006	47
TABELA 3 – Análises físico-químicas nos mostos das uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc em relação a diferentes tempos de colheita, na safra 2006.....	48
TABELA 4 – Composição físico-química dos vinhos de uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, em relação a diferentes tempos de colheita, na safra 2006.....	56

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Produção de Uvas, Elaboração de Vinhos e Derivados (1998-2006) (UVIBRA, 2006).....	73
ANEXO B – OIV – Resolución CST 1-2002.....	74
ANEXO C – Reglamento (CE) nº 123/2005.....	76

LISTA DE APÊNDICE

APÊNDICE A – Dados Meteorológicos, Estação Aurora-Pinto Bandeira, fevereiro de 2006 (Embrapa, 2006).....	80
--	----

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	3
AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ANEXOS	11
LISTA DE APÊNDICE	12
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Vinhos	17
2.1.1 Cenário da produção de vinhos no Brasil.....	17
2.2 Variedades estudadas	19
2.2.1 Gewürztraminer	19
2.2.2 Chardonnay	20
2.2.3 Sauvignon Blanc.....	20
2.3 Ocratoxina A (OTA)	21
2.3.1 Origem.....	21
2.3.2 Propriedades	22
2.3.3 Ocorrência	22
2.3.4 Riscos para a saúde.....	25
2.3.5 Influência de fatores na produção de ocratoxina.....	26
2.3.6 Espécies de fungos produtores de OTA.....	27
2.3.7 Biossíntese da OTA.....	29
2.4 Maturação e sanidade das uvas e qualidade do vinho	30
2.5 Comportamento meteorológico da Serra Gaúcha na safra de 2006	32
2.6 Comportamento meteorológico da região de Pinto Bandeira na safra de 2006	33

3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Amostragem	37
3.2 Métodos	38
3.2.1 Microvinificações em branco das uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc.....	38
3.3 Análises	39
3.3.1 Análise de Ocratoxina A	39
3.3.1.1 Princípio do método	40
3.3.1.2 Preparação da solução padrão de Ocratoxina A e Curva de calibração	40
3.3.1.3 Preparação da amostra e purificação em coluna de imunoafinidade (IMC)	41
3.3.1.4 Determinação em HPLC.....	42
3.3.1.5 Detecção e quantificação	43
3.3.1.6 Confirmação	43
3.3.1.7 Procedimentos de segurança	43
3.3.2 Análises físico-químicas	44
3.3.3 Análise estatística.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Sanidade das uvas nas diferentes colheitas	45
4.2 Composição dos mostos	47
4.3 Parâmetros físico-químicos dos vinhos	53
4.4 Nível de ocratoxina A nos mostos e vinhos	57
5 CONCLUSÕES	63
6 PERSPECTIVAS	64
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
8 ANEXOS	72
8.1 ANEXO A – Produção de Uvas, Elaboração de Vinhos e Derivados (1998-2006).....	73
8.2 ANEXO B – Resolucion CST 1-2002	74
8.3 ANEXO C – Regulamento (CE) nº 123/2005.....	76
9 APÊNDICE	79
9.1 APÊNDICE A – DADOS METEOROLÓGICOS, ESTAÇÃO AURORA - PINTO BANDEIRA	80

1 INTRODUÇÃO

O vinho tem sido reconhecido por trazer benefícios fisiológicos para a saúde humana. Atualmente vem crescendo os estudos relacionados ao vinho, o que se deve provavelmente ao chamado “Paradoxo Francês”.

Devido a estes benefícios, recomenda-se um consumo regular e moderado junto às refeições como um hábito saudável. Entretanto, toda esta atenção voltada ao vinho e ao atual incentivo para seu consumo é motivo de preocupação, pois, nos vinhos também têm sido encontradas algumas substâncias que promovem efeitos tóxicos à saúde humana, como por exemplo, o etil carbamato, as aminas biogênicas e mais recentemente, as micotoxinas como a ocratoxina A (OTA).

A ocratoxina A tem propriedades nefrotóxicas e carcinogênicas em animais e nos últimos anos tem recebido internacionalmente grande atenção pelos cientistas e pelas autoridades de saúde.

Ocratoxina A, além de ser encontrada no vinho e no suco de uva, também está presente em outros grupos de alimentos, como cereais e oleaginosas, que são a sua grande fonte de contaminação.

A ocorrência desta micotoxina nas uvas e posteriormente nos mostos e nos vinhos, deve-se principalmente as condições fitossanitárias das uvas, uma vez que a ocratoxina A é produzida por espécies de fungos dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* e estes se desenvolvem na uva quando se constata algum rompimento da sua película e durante a maturação.

As uvas das variedades *Vitis vinifera*, por serem mais sensíveis a podridão e ao ataque fúngico, são as que possuem maior probabilidade de contaminações por fungos produtores de ocratoxina A.

No Brasil, atualmente, não se têm muitos estudos sobre o teor de ocratoxina e qual a sua ocorrência nos vinhos, assim como seus limites estabelecidos pela legislação. Alguns estudos mostraram que as variedades mais problemáticas em relação a esta, são os vinhos brancos de Gewürztraminer e os tintos de Merlot.

Dessa forma, as instituições de controle da segurança alimentar têm demonstrado grande interesse em pesquisas relacionadas a micotoxinas e suas

concentrações em alimentos e bebidas. No caso específico do vinho, a O.I.V. (Organização Internacional da Vinha e do Vinho) estabeleceu em $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ os níveis máximos aceitáveis de ocratoxina A em vinhos e derivados da uva e do vinho, sendo estes utilizados em muitos países como critério de controle para exportação. Devido aos fatores citados anteriormente, o estudo relacionado com as condições da matéria prima e as possíveis conseqüências no produto final, torna-se uma ferramenta de grande valia para o setor da uva e do vinho brasileiro.

Diante disto, considera-se de extrema importância, a nível industrial, ter um parâmetro de sanidade da uva através do estudo dos níveis de OTA no produto final. Este estudo ainda ganha importância uma vez que o vinho tem sido alvo de estudos devido aos seus benefícios, o que tem elevado seu consumo. Isso pode estar contribuindo para uma maior ingestão de substâncias tóxicas ao organismo humano.

Dentro deste contexto, este trabalho tem como objetivos:

- determinar a relação entre a sanidade da uva com o teor de Ocratoxina A dos vinhos;
- verificar o ponto ideal de colheita da uva em relação ao seu nível de maturação, de sanidade e a composição físico-química do mosto e do vinho;
- analisar o teor de Ocratoxina A nos mostos e nos vinhos Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc microvinificados com uvas de diferentes condições de sanidade, da localidade de Pinto Bandeira, no município de Bento Gonçalves, RS, na safra 2006.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Vinhos

2.1.1 Cenário da produção de vinhos no Brasil

A produção nacional de uva e seus derivados vêm aumentando gradativamente a cada ano. Isto se deve graças ao reconhecimento dos vinhos brasileiros em concursos nacionais e alguns internacionais. Este reconhecimento é fruto do esforço das vinícolas que investem em tecnologia e uvas varietais para melhorar a qualidade do vinho. No Brasil, a produção de uvas destinadas ao vinho está localizada, principalmente, na região da Serra Gaúcha. Cerca de 95% dos vinhos brasileiros são produzidos no Rio Grande do Sul, com predominância do tinto em 77,4%. A produção do rosado é de 15,25% e a de vinho branco, de 7,3% (SATO, 2000).

Na região da Serra Gaúcha, a vitivinicultura abrange uma área de 27,0 mil hectares e 620 vinificadoras, de acordo com o Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN, 2006). O total de vinhos produzidos no Brasil, considerando-se a produção adicional de vinhos comuns ou de mesa, foi de 270,7 milhões de litros em 2005, segundo a União Brasileira de Vitivinicultura (UVIBRA, 2006). Deste volume, somente 37,5 milhões de litros são vinhos finos, obtidos através do processamento de varietais européias.

No Brasil, o consumo *per capita* dos vinhos vem crescendo gradativamente. A tabela 1 apresenta uma síntese do mercado brasileiro, do ano 2000 a 2005. O consumo *per capita*/ano de vinhos no país ficou em torno de 2,01 litros em 2005, o que nos mostra um gradativo aumento no consumo de vinho em 2005 em relação aos outros anos. Um dos fatores desse aumento no consumo de vinho é devido a busca de hábitos alimentares mais saudáveis pelo consumidor.

Em relação ao consumo de suco de uva, este aumentou significativamente nos últimos anos, passando de 0,33 L em 2000 para 0,54 L *per capita*, em 2005.

Também houve um pequeno aumento no consumo de uvas *in natura*, situando-se em 3,54 kg *per capita* em 2005 (MELLO, 2006).

Tabela 1 – Consumo *per capita* de vinhos, sucos e uvas, no Brasil (2000/2005)

PRODUTOS/ANOS	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Vinhos (L)	1,89	1,81	1,71	1,68	1,76	2,01
Suco de Uva (L)	0,33	0,35	0,34	0,39	0,37	0,54
Uvas de Mesa (Kg)	2,32	3,42	3,42	3,39	3,52	3,54

Fonte: Adaptado de MELLO, 2006.

A vitivinicultura brasileira tem avançado nos produtos elaborados com uvas. Em 2004, foram produzidas 1.283.203 toneladas de uvas, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Em 2005, a produção de uvas foi 2,89% inferior ao ano anterior, sendo produzidas 1.246.071 toneladas. Apesar desta diminuição, a qualidade da safra gaúcha de 2005 foi excepcional, resultando na produção de vinhos de alta qualidade. Em 2004, 48,72% da uva produzida no Brasil foi destinada à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados. Em 2005, face à redução da quantidade de uvas produzidas no Rio Grande do Sul, este percentual foi reduzido para 44,19%. O Rio Grande do Sul, principal produtor, possui área de 42.449 hectares, o que representa 57,46% da área total do país. Em 2005, houve aumento de 5,20% na área cultivada com videiras. Nesse Estado, mais de 90% da produção destina-se à agroindústria, para produção de vinhos, suco e outros derivados. Os últimos anos caracterizam-se por grandes investimentos na viticultura, notadamente em regiões não-tradicionais do país, dada a característica da cultura, geradora de empregos e renda, especialmente para a pequena propriedade (MELLO, 2006).

Já na produção de uvas, na elaboração de vinhos e derivados dos anos de 1998 até 2006, ocorreu um acréscimo na produção total de uvas (conforme ANEXO A). No entanto, este aumento não se refletiu proporcionalmente na produção total de vinhos e derivados.

Em termos de mercado, os vinhos de mesa do Rio Grande do Sul que apresentaram tendência crescente nos últimos anos, sinalizam para um período de estabilidade. Os vinhos finos de mesa nacionais, em termos quantitativos, têm

apresentado decréscimo na comercialização, devido principalmente aos vinhos finos importados, que continuam sendo um fator de desequilíbrio para o setor, pois estão tomando o espaço dos vinhos finos nacionais no mercado brasileiro (MELLO, 2005).

2.2 Variedades estudadas

2.2.1 Gewürztraminer

Uva bastante difundida na Alsácia, nordeste da França. Sua história começou no norte da Itália, onde era plantada desde a Idade Média. Introduzida nos vinhedos do Rio Grande do Sul a partir do final dos anos 70. Apresenta película rosada e sabor picante, fortemente aromática. É moderadamente sensível à antracnose e ao míldio, sensível ao oídio e altamente sensível às podridões. Produz vinho branco ou rosado, varietal fino, aromático. Sua fruta pode concentrar altos níveis de açúcar, produzindo vinho seco, com alto teor alcoólico. Sua área plantada reduziu-se grandemente, pois as plantas sofrem de morte precoce, além de seu cultivo ser bastante difícil, pois costuma brotar cedo, na primavera, e por isso é mais suscetível aos danos causados pelas geadas. Além disso, a produtividade não remunera ao produtor. A uva tem problemas de podridão, dificilmente originando um vinho com todo o potencial da cultivar. Em anos chuvosos está sujeita a ataques de *Botrytis cinerea*, forçando a antecipação da colheita, o que aliado à sua baixa produtividade tem limitado a expansão desta cultivar. Nos anos com clima mais quente, a uva não mantém o aroma marcante e fino que apresenta em outras situações. Entretanto, permanece no mercado, pois seu vinho é característico e típico, facilmente identificável; além disso, é reconhecida internacionalmente pela fineza e intensidade de aroma e sabor (CAMARGO, 1994; GIOVANNINI, 2005).

2.2.2 Chardonnay

Originária da Borgonha, França. Fruto do cruzamento da uva Pinot Noir com a Gouais Blanc, a Chardonnay é pequena, redonda, de pele fina, frágil, de película branca e sabor simples a aromático, dependendo do clone. É resistente à antracnose, sensível ao oídio e às podridões e moderadamente sensível ao míldio. Devido a esta sensibilidade, seu sabor pode ser afetado principalmente por diferenças no solo, no clima e nas práticas vinícolas. Produz vinho branco, varietal fino, frutado, vinho geralmente rico e encorpado, com acidez de média a alta, de médio envelhecimento ou espumante. É um dos vinhos brancos que aceita e se beneficia da fermentação e/ou maturação em barricas de carvalho. Produz vinho branco de características notáveis. Tem uma área cultivada estável no Brasil. Dos novos varietais, é um dos que tem melhores perspectivas de se manter no mercado, pela qualidade do vinho, devido, principalmente ao seu intenso aroma e gosto persistente (CAMARGO, 1994; GIOVANNINI, 2005).

Chardonnay foi introduzida em São Roque, SP, em 1930, e no Rio Grande do Sul em 1948. A partir do final da década de 1970, por interesse do setor vitivinícola, esta casta foi trazida de procedências diversas e difundida na Serra Gaúcha, tanto pelos órgãos de pesquisa como pela iniciativa privada. Adapta-se bem às condições da Serra Gaúcha, com vigor e produtividade médios, atingindo boa graduação de açúcar em anos favoráveis. No Brasil tem sido usada para a elaboração de vinho fino varietal e também para vinhos espumantes (GUERRA *et al.*, 2005).

2.2.3 Sauvignon Blanc

Originária de Bordeaux ou do Vale do Loire, França, onde origina célebres vinhos licorosos. Introduzida no Rio Grande do Sul em 1927, por iniciativa da Estação Experimental de Caxias do Sul. Recentemente foram realizadas introduções da variedade tanto pelos órgãos oficiais de pesquisa como por iniciativa privada. A fruta possui um aroma de groselha, grama cortada ou palha. De película branca e sabor neutro. Tem acidez aguda, frescor, aspectos minerais e bastante frutados no Novo Mundo. Mantém a limpidez, pois, raramente fica impregnada de carvalho. Em seu característico aroma, predominam as frutas tropicais, como maracujá e abacaxi

ou ainda de melão e pera. É sensível a antracnose e ao oídio, moderadamente sensível ao míldio e altamente sensível às podridões. Na Serra Gaúcha, não pode manifestar todas as suas qualidades enológicas. Apesar disto, produz vinho de bom aroma e é utilizada na elaboração de vinho fino varietal (CAMARGO, 1994; GIOVANNINI, 2005).

2.3 Ocratoxina A (OTA)

Ocratoxina A é uma micotoxina produzida por uma variedade de espécies de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que se desenvolvem nos alimentos, podendo assim originar sua presença nos mesmos.

2.3.1 Origem

A ocratoxina A (OTA) foi descoberta como um metabólito de cultura de *Aspergillus ochraceus* em 1965 na África, por Van Der Merwe *et al.* (1965 apud BENNETT & KLICH, 2003), ao observar sua presença em amostras de milho, o qual foi designado especificamente para identificar novas micotoxinas. Mais tarde foi identificada como um metabólito secundário de vários outros *Aspergillus* e *Penicillium* spp. (ROSA *et al.*, 2002).

Em 1969, foi relatada a sua presença como contaminante em gêneros alimentícios, primeiramente em milho e cereais e depois em um grande número de produtos de origem animal e vegetal (TATEO *et al.*, 2000). A detecção de OTA como contaminante em vinhos apareceu nos anos 80, com maior incidência nas regiões do Sul da Europa.

E foi a partir de 1995 (ZIMMERLI & DICK, 1995) que confirmaram a sua presença em uvas e vinhos e desde então esta micotoxina tem sido considerada a mais relevante para a saúde em relação a uvas e vinhos.

2.3.2 Propriedades

A ocratoxina A é uma micotoxina com propriedades nefrotóxicas, nefrocarcinogênica, genotóxicas, teratogênica e imunossupressora (JECFA, 2001) e tem recebido interesse da comunidade científica e comitês de alimentos nos últimos anos. Foi detectada em diferentes tipos de alimentos e bebidas, incluindo suco de uva e vinho. A ocratoxina A está relacionada com o tipo de vinho e com a região de origem (SERRA *et al.*, 2002; JELÉN & GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, 2005).

Sua diversidade e população dependem da variedade de uva, grau de maturação e danos físicos dos grãos, das práticas de viticultura e condições climáticas (ROSA *et al.*, 2002).

A OTA está classificada pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como possível carcinogênico humano (grupo 2B). Mas nos níveis em que é correntemente detectada no sangue das populações, a principal preocupação deve-se às suas propriedades imunotóxicas. A OTA é imunotóxica em concentrações da ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$ (ppb) (PETZINGER & WEIDENBACH, 2002). Os efeitos imunotóxicos das micotoxinas não são facilmente detectados nas populações, mas são de extrema importância, devido à suscetibilidade da defesa do organismo contra microrganismos e células tumorais.

2.3.3 Ocorrência

Em 1995, Zimmerli & Dick (1995) rastrearam a presença de OTA em fluidos biológicos humanos da população suíça (sangue, soro e leite materno), assim como em diversos produtos alimentícios.

A OTA tem sido detectada em numerosos alimentos, como cereais (trigo, cevada, aveia e milho), legumes, especiarias, café, cacau, frutos secos, amendoins com bolor, queijo, carne, coco, cerveja, uva passas e também no vinho (CABAÑES, 2000; DAI *et al.*, 2004).

Desta forma, foram feitos estudos subseqüentes que confirmaram a presença de OTA em sucos de uva e vinhos. Nas 133 amostras de vinho e 11 sucos de uva comerciais analisadas, foi detectada OTA de < 3 a 451 ng.L^{-1} nos vinhos e < 3 a 337

ng.L⁻¹ nos sucos. Verificou-se que a incidência e níveis de OTA nos vinhos estavam relacionados com a origem geográfica do vinho e com o tipo de vinho. E que a concentração de OTA nos vinhos tintos era maior que nos vinhos roses e este maior que nos vinhos brancos. As freqüências e concentrações mais elevadas de OTA foram observadas em vinhos e sucos de uva tintos originários das regiões mais ao sul da Europa (ZIMMERLI & DICK, 1996).

Amostras de vinhos de várias regiões da Comunidade Européia foram analisadas por Otteneder & Majerus (2000), e com base em dados disponíveis de amostras analisadas por outros estudos, discutiram a situação da contaminação da OTA no vinho e relacionaram os níveis de OTA no vinho de acordo com a sua origem. Neste estudo, confirmaram as investigações de Zimmerli & Dick (1996), de que a freqüência de contaminação e os níveis de OTA aumentam do vinho branco para o rose e do rose para o tinto, sendo os vinhos tintos originários do sul da Europa os mais contaminados.

Em relação à contaminação dos vinhos com OTA de acordo com a origem geográfica, a análise dos resultados publicados na literatura permite concluir que há áreas vitivinícolas onde o risco de contaminação é mais elevado.

Estudos italianos (PIETRI *et al.*, 2001) mostraram que a região geográfica de origem dos seus vinhos tem forte influência nos níveis de contaminação de OTA. Analisaram um total de 96 vinhos tintos e 15 vinhos brancos licorosos, produzidos nos anos de 1995-1997 em 19 regiões da Itália. Verificou-se que os vinhos do sul da Itália encontram-se mais contaminados que os do norte e centro, sendo a média da concentração de OTA nos vinhos oriundos do noroeste, nordeste, centro e sul da Itália 0,011; 0,081; 0,295 e 1,233 µg.L⁻¹, respectivamente. O mesmo foi observado nos vinhos brancos licorosos italianos, onde os níveis de OTA dos vinhos da região sul foram mais elevados, cerca de 3,86 µg.L⁻¹.

Em vinhos africanos, de Marrocos, foram detectados teores de OTA semelhantes aos níveis dos para países do Sul da Europa, ou seja, a média da concentração de OTA em vinhos brancos e roses foi de 0,117 µg.L⁻¹, enquanto que para vinhos tintos foi de 0,912 µg.L⁻¹, o que permite definir a bacia mediterrânea como uma área de risco (FILALI *et al.*, 2001).

Vinhos oriundos de regiões da costa Mediterrânica da Espanha e da região de Rioja foram analisados por Bellí *et al.* (2004). Nos vinhos tintos da região de Rioja e em vinhos correntes foram detectados OTA em níveis elevados (máximo 3,19

$\mu\text{g.L}^{-1}$ e $4,24 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente), mas não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre a origem ou cor do vinho e os níveis de OTA das amostras.

Estudos em vinhos da Grécia, detectaram níveis de OTA que variaram de $0,05$ a $2,69 \mu\text{g.L}^{-1}$ (STEFANAKI *et al.*, 2003) e níveis não detectáveis a $2,51 \mu\text{g.L}^{-1}$ (SOUFLEROS *et al.*, 2003).

Segundo Vanderlinde *et al.* (2005), os vinhos brasileiros apresentaram baixas concentrações de ocratoxina A, sendo que dos vinhos analisados da safra de 2003, somente 7,4% dos vinhos brancos e 6,25% dos vinhos tintos apresentaram teor de OTA superior a $2 \mu\text{g.L}^{-1}$, e destes as variedades mais problemáticas foram Gewürztraminer e Merlot, respectivamente. Em relação à safra 2004, os teores de OTA foram inferiores a $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ para todas as amostras analisadas, indicando que a presença de OTA está relacionada diretamente as condições climáticas.

Outros países também detectaram OTA, como na África do Sul (SHEPHARD *et al.*, 2003), Austrália (HOCKING *et al.*, 2003) e Argentina (ROSA *et al.*, 2002), mas em níveis mais baixos que o valor proposto pela OIV.

Em relação ao tipo de vinho, são confirmadas as observações de Zimmerli & Dick (1996), de que os níveis mais elevados de OTA são detectados em amostras de vinhos doces, e em seguida, nos tintos.

Zimmerli & Dick (1996) foram os primeiros a detectar OTA em vinhos portugueses em níveis muito baixos em amostras de vinho do Porto. O teor médio de OTA em 6 amostras foi de $0,011 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Em 1998, Ospital *et al.*, detectaram ocratoxina em dois vinhos de mesa tintos portugueses. Festas *et al.* (2000) e Ratola *et al.* (2004) analisaram o maior número de vinhos, o qual em 340 vinhos portugueses, verificaram a presença de OTA em cerca de 20% dos vinhos analisados, não havendo distinção à incidência em algum tipo de vinho ou região.

A OTA não foi somente detectada em vinhos, mas também em outros produtos vitícolas, como mosto de uvas não fermentado (sucos de uva e mosto destinado a vinificação), vinagres e uvas secas. Os níveis de OTA nas uvas secas são marcadamente superiores do que nos outros produtos.

Macdonald *et al.* (1999) analisaram uvas passas provenientes de vários países e chegaram à conclusão que as amostras originárias da Grécia (2 amostras, $8,5$ e $5,8 \mu\text{g.L}^{-1}$) estiveram mais contaminadas que as de outros países (Estados

Unidos, n = 10, níveis entre <0,2 e 1,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$; Chile, n = 2, <0,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$; Austrália, 1 amostra com 0,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Devido a ocorrência da ocratoxina em vinhos, a União Européia apoia-se nas Resoluções da O.I.V. para uma adoção de medidas relativas aos vinhos e outras bebidas alcoólicas. A O.I.V. (Resolução CST 1/2002, conforme ANEXO B) e a Comissão das Comunidades Européias (Regulamento 123/2005, conforme ANEXO C) sugerem a fixação de uma dose limite em 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ocratoxina A para vinhos e derivados, o qual entrou em vigor a partir da safra de 2005.

2.3.4 Riscos para a saúde

Certos compostos presentes em alimentos parecem ter um efeito protetor contra os efeitos nocivos da OTA, como a fenilalanina, vitamina C e outros compostos antioxidantes (CREPPY *et al.*, 1998; STOEV *et al.*, 2002).

Uma correlação entre carcinogenicidade e exposição à OTA não foi estabelecida em humanos. No entanto, a correlação tem sido descrita entre alta exposição a OTA e a etiologia da BEN (Nefropatia Endêmica dos Balcãs), que é uma doença crônica renal de longa latência. A associação à doença foi feita devido à semelhança da patologia e ao fato de se terem encontrado níveis de OTA mais elevados nos alimentos produzidos e consumidos pelos habitantes da área onde a doença era endêmica comparativamente aos locais onde a doença era ausente (PAVLOVIC *et al.*, 1979 apud SERRA, 2005).

Vários efeitos tóxicos tem sido descrito, como a inibição da síntese protéica, prejuízo da homeostase do cálcio, inibição da peroxidação lipídica, estresse oxidativo e danos no DNA. Apesar disto, o mecanismo patológico ainda não tem sido bem elucidado (O'BRIEN & DIETRICH, 2005).

Nos últimos anos, organizações internacionais científicas têm avaliado dados da toxicidade e exposição à toxina através da dieta. A FAO/JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*), após avaliar a nefrotoxicidade da ocratoxina A, propôs um consumo semanal tolerável provisório de 0,1 $\mu\text{g/kg}$ de massa corporal, equivalente a 14 ng/kg de massa corporal por dia. Já em relação a

carcinogenicidade, propôs-se um consumo diário máximo tolerável de ocratoxina A de 5 ng/kg de massa corporal (VISCANTI *et al.*, 1999).

2.3.5 Influência de fatores na produção de ocratoxina

Condições ambientais como umidade, temperatura, tempo de incubação e tipo de substrato (LILLEHOJ & ELLING, 1983), tão bem como fatores como a presença da flora competitiva e integridade do grão, tem papel importante na colonização por *Aspergillus ochraceus* e a produção de ocratoxina. Os fatores mais importantes que influenciam o desenvolvimento fúngico são a atividade de água (a_w), temperatura de armazenagem e a composição de gases intergranular das uvas (MAGAN & LACEY, 1988; RAMOS *et al.*, 1998).

Ramos *et al.* (1998) mostraram que ocorreu um crescimento de *A. ochraceus* nas uvas com o aumento de temperatura e atividade de água no grão.

Otteneder & Majerus (2000) mencionaram que o suco de uva é usualmente mais contaminado que os vinhos, dado a ausência do processo de fermentação. No entanto, Zimmerli & Dick (1996) afirmaram que concentrações similares de ocratoxina A foram observadas em suco de uva e vinho tinto sugerindo que esta provavelmente seja formada antes da fermentação alcoólica, e que a quantidade de toxina degradada durante o processo de produção do vinho não seja considerável, levando a crer que a OTA não era degradada durante o processo de vinificação e/ou armazenamento. Sugeriram que as diferenças quanto à região de origem dos vinhos poderiam ser devido a diferente incidência de fungos produtores de OTA na vinha, com as condições climáticas favoráveis ao crescimento de espécies de *Aspergillus* OTA⁺; bem como diferentes práticas usadas no cultivo de uvas e processos de vinificação.

Conforme Ratola *et al.* (2005), uma forte e consistente diminuição da concentração de OTA foi observada durante o processo de microvinificação de vinho do Porto. Os seus níveis diminuíram notavelmente em todas as situações durante as microvinificações. A diminuição do conteúdo de ocratoxina A é mais pronunciada no mosto inicial que depois do início da fermentação.

A toxina encontra-se fundamentalmente nas cascas da uva e, portanto, a sua maior quantidade está presente nos vinhos tintos em relação aos brancos, ou seja, está relacionada com o processo de maceração (MORUNO, 2002).

O processo de vinificação clássico de vinho branco é a fermentação em que, após o esmagamento, as partes sólidas do grão separam-se do mosto havendo pouco contato deste com as cascas e sementes. Já no vinho tinto, após o esmagamento, as partes sólidas do grão fermentam juntamente com o mosto, para potenciar a extração de cor, sendo nesta fase que ocorre a maior extração da micotoxina, quando está presente nas uvas. Esta suposição é devido a resultados de estudos sobre o destino da OTA durante a fermentação. Além disso, verificaram que os níveis de OTA no vinho diminuem sempre que se retira as partes sólidas, principalmente cascas e sementes (FERNANDES *et al.*, 2003).

2.3.6 Espécies de fungos produtores de OTA

OTA foi isolada pela primeira vez do *Aspergillus ochraceus*, o qual é o principal fungo formador deste metabólito, além disso, têm sido também identificadas outras espécies de *Aspergillus*, como *A. alliaceus*, *A. melleus*, *A. sulphureus*, *A. ostianus*, *A. petrakii*, *A. sclerotiorum*, *A. niger* var. *niger*, *A. versicolor*, *A. fumigatus* e *A. albertensis* (JELÉN & GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, 2005).

As uvas abrigam uma variedade de espécies de fungos (ROSA *et al.*, 2002). A ocratoxina A é produzida por várias espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (MOSS, 1996). Várias destas espécies estão descritas na literatura como capazes de produzir a micotoxina, mas é confuso e contraditório, devido principalmente a identificações erradas da estirpe ou do metabólito em questão.

No gênero *Aspergillus*, antes da década de 90, pensava-se que a produção de OTA estava relacionada ao *A. ochraceus* e espécies afins. Contudo, em 1991, Ueno *et al.* descobriram *A. foetidus*, também capaz de produzir ocratoxina. Após, Abarca *et al.* (1994) isolaram estirpes de *Aspergillus niger*, capazes de produzir OTA em meio de cultura. Em outros estudos foi confirmada a produção da micotoxina pelas espécies de *A. carbonarius* (VARGA *et al.*, 2000; JOOSTEN *et al.*, 2001; URBANO *et al.*, 2001).

Aspergillus spp. pode infectar uvas e *Aspergillus niger* é o mais comum dos *Aspergillus* spp., o qual é responsável pela deterioração pós-colheita da fruta fresca incluindo uvas. Segundo Rosa *et al.* (2002), embora uma frequência moderada de *Aspergillus* spp. foram encontrados, alguns foram potencialmente produtores de OTA.

As espécies produtoras de OTA mais frequentemente detectadas nas uvas são *A. niger* e *A. carbonarius*. Em uvas destinadas à vinificação, foram detectadas estirpes produtoras de OTA das duas espécies, na Itália (BATTILANI & PIETRI, 2002; BATTILANI *et al.*, 2003) e na Grécia (TJAMOS *et al.*, 2004). No entanto, em outros países europeus, *A. carbonarius* foi a espécie produtora de OTA a ser isolada, principalmente na Espanha (BAU *et al.*, 2005) e França (SAGE *et al.*, 2002, 2004).

Detectaram-se estirpes OTA⁺ de outras espécies de *Aspergillus* nas uvas, em particular, *A. ochraceus* (ROSA *et al.*, 2002; BATTILANI *et al.*, 2003; BAU *et al.*, 2005), mas não parecem ser relevantes para a contaminação das uvas devido a sua baixa frequência.

Com o decorrer de estudos sobre a produção de OTA, outras espécies foram descobertas, como *A. fumigatusi* e *A. versicolor* (ABARCA *et al.*, 1997).

A produção de OTA é maior dentro do gênero *Aspergillus* do que se pensava. Entretanto, a importância das espécies para a produção da ocratoxina não parece ser a mesma. A sua produção por algumas espécies (*A. wentii*, *A. fumigatus*) é bastante rara e variável, enquanto que em outras é mais frequente (*A. carbonarius*, *A. ochraceus*).

No gênero *Penicillium*, Frisvad e seus colaboradores (FRISVAD, 1981; FRISVAD & FILTENBORG, 1983) e Pitt (PITT, 1987) chegaram à conclusão que *P. verrucosum* é a única espécie produtora de OTA no gênero. Contudo, uma caracterização de *P. verrucosum* produtora de OTA, com base nas características morfológicas, bioquímicas e moleculares (LARSEN *et al.*, 2001), resultou na descoberta de *P. verrucosum* comum em cereais e *P. nordicum* comum em derivados de carne e queijos.

Penicillium spp. aparentemente não ataca uvas antes da colheita, mas são prevalentes nas uvas armazenadas quando *P. expansum* é o mais comum contaminante da espécie. Outras espécies isoladas em uvas armazenadas são *P.*

aurantiigriseum, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. crustosum*, *P. decumbens* e *P. glabnum* (ROSA *et al.*, 2002).

Estudo de Rosa *et al.*, (2002) relataram que o *Penicillium* spp. foi isolado em baixa e moderada percentagem e *P. verrucosum* não foi isolado nas amostras das uvas Malbec e Chardonnay, tanto da Argentina como do Brasil.

2.3.7 Biossíntese da OTA

Ocratoxina A (figura 1) (L-phenilalanine N-[5-cloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-metil-1-oxo1H2-benzopyran-7-y1] carbonyl-(R)-) ($C_{20}H_{18}ClNO_6$, $PM=403,82 \text{ g.mol}^{-1}$), é um derivado do ácido isocumarínico ligado a L-fenilalanina (MOSS, 1996) e tem propriedades químicas derivadas da sua estrutura. É um composto cristalino incolor, moderadamente solúvel em solventes orgânicos polares como clorofórmio, metanol e acetonitrila, e dissolve-se numa solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio ($NaHCO_3$).

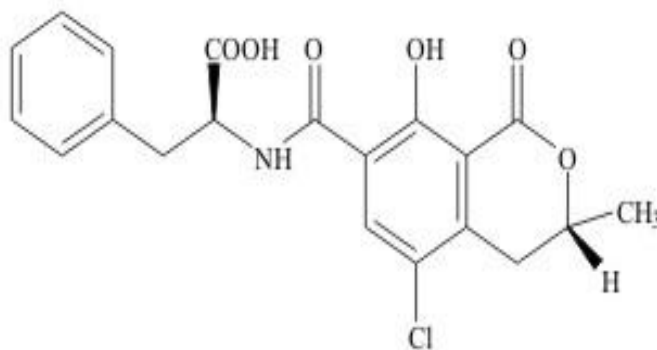


Figura 1 – Estrutura da Ocratoxina A

Fonte: Moss, 1996.

Biossinteticamente, o grupo isocumarina da OTA é um esqueleto com um complexo dobrável, no qual o átomo de cloro tem sido introduzido em uma unidade C1 e subseqüentemente oxidado para carboxila. E através deste grupo carboxil adicional que a L-fenilalanina está ligada (MOSS, 1977 apud MOSS, 1996).

OTA inibe a biossíntese protéica *in vitro* e *in vivo*, peroxidação lipídica e reação com enzimas utilizando fenilalanina como substrato (JELÉN & GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, 2005).

A hidrólise ácida da ocratoxina resulta em dois compostos, fenilalanina e uma lactona ácida opticamente ativa, a ocratoxina α (OT α). Já a ocratoxina B também contém o núcleo de isocumarina, mas, em relação a ocratoxina A, não apresenta o radical cloreto. A reação com metanol e ácido clorídrico resulta na formação do metil-éster (MOSS, 1996; SERRA, 2005).

Podem ocorrer ésteres de metila e etila, chamados ocratoxina C. A 4-hidroxi-OTA também pode ser encontrado por culturas de *Aspergillus ochraceus*. Embora derivados de ocratoxina podem ser isolados em culturas de laboratório, o qual é usualmente apenas OTA e ocasionalmente OTB, os quais são descobertos em ocorrência natural em plantas produtoras de fungos (bolores). No entanto, OTC não pode ser isolada por métodos que dependem do grupo carboxila livre e sua ocorrência não pode ser estimada (MOSS, 1996).

2.4 Maturação e sanidade das uvas e qualidade do vinho

Ao contrário do ataque de oídio e do míldio, que é possível controlar, a podridão é a enfermidade mais grave da uva. As podridões dão lugar a diversas transformações bioquímicas e químicas na uva (FLANZY, 2000).

Muitos fungos, como espécies de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Stemphylium* podem causar podridão nas uvas, e estes podem ocorrer associados a *Botrytis cinerea*, por exemplo .

Como no caso da podridão negra, causada por *Aspergillus* negros, a podridão verde, causada por *Penicillium*, e a podridão acética, causada por leveduras e bactérias acéticas, que penetram nas bagas das uvas por feridas e bagas com rupturas, aumentando o risco com a maturação à medida que se aproxima a vindima, quando o teor de açúcar nas bagas está elevado e a película mais vulnerável a rompimentos e danos. Em uvas com cachos muito fechados e vinhas muito vigorosas, o risco é maior. Além de feridas nas bagas causadas por granizo, traças, oídio, pássaros, abelhas ou secura excessiva e também devido a temperaturas e umidade elevadas (agravada pela chuva), favorecendo ainda mais o risco de podridão (AGUIAR *et al.*, 2001 apud SERRA, 2005).

Quando a uva permanece muito tempo na parreira, ocorre a sobrematuração. Assim o fruto perde água, começa a murchar e seu suco concentra. Este suco concentrado possui maior quantidade de açúcar podendo ocasionar um maior ataque fúngico, causando mais podridão a uva (PEYNAUD, 1999).

A diversidade das espécies de fungos encontradas como esporos na superfície saudável das uvas depende não somente da variedade da uva, maturidade, práticas culturais, mas também das condições climáticas e geográficas (SAGE *et al.*, 2004).

Já, Lo Curto *et al.* (2003) relataram que o uso de alguns pesticidas sintéticos podem reduzir os níveis de OTA e que o bom estado sanitário é essencial para prevenir alto nível de contaminação.

Considera-se que os fatores abióticos que mais influenciam o cultivo da vinha são o solo e o clima. Estes fatores abióticos, além de poderem ser limitantes ao estabelecimento da cultura, são responsáveis por uma grande diversidade de situações, que influenciam as características das uvas e vinhos de um determinado local (SERRA, 2005).

É fundamental que a videira esteja perfeitamente adaptada às condições edafoclimáticas da região. Por isso, a escolha da variedade a se cultivar e do porta-enxerto utilizado são muito importantes para o bom estabelecimento da vinha e qualidade das uvas produzidas. A escolha do sistema de condução da vinha condiciona fortemente a qualidade das uvas. Outros fatores, como fertilizações e tratamentos fitossanitários, determinam o sucesso da vinha, interferindo desta forma no estado sanitário da vindima podendo provocar uma degradação do potencial qualitativo da uva (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

Estes fatores, naturais e humanos, contribuem na obtenção de um vinho de qualidade, resultando em um aumento significativo do valor agregado ao mesmo e a viabilização da atividade vitivinícola em determinada região. O acompanhamento da maturação e da colheita é fundamental para a obtenção de um máximo de qualidade do vinho. Além disso, cuidados na colheita auxiliam para a obtenção de um grau de qualidade do vinho significativamente maior (GUERRA & ZANUS, 2006).

Diante dessas tendências mundiais, o consumidor nacional tem valorizado cada vez mais os alimentos produzidos em sistemas que estabeleçam um compromisso com a preservação do meio ambiente, da saúde e da estrutura de

produção, sempre valorizando um produto final que atenda aos requisitos de segurança alimentar (ROMBALDI *et al.*, 2004).

2.5 Comportamento meteorológico da Serra Gaúcha na safra de 2006

A radiação solar, a temperatura do ar, a precipitação pluviométrica e a umidade relativa do ar são os elementos meteorológicos que mais exercem influência sobre o desenvolvimento, produção e qualidade da uva da Serra Gaúcha. Essa influência ocorre em todos os estádios da videira, ou seja, desde o repouso vegetativo (inverno), brotação, floração, frutificação, crescimento das bagas (primavera), maturação (verão), até a queda das folhas (outono). Cada estágio necessita de uma quantidade adequada de luz, água e calor para que a videira possa se desenvolver e produzir uvas de qualidade (MANDELLI, 2006).

Segundo Mandelli (2006), a safra de 2006 se caracterizou pelo menor volume de precipitação pluviométrica, considerando o final de novembro até a segunda quinzena de março, enquanto que as temperaturas foram próximas à normal, sendo inferiores nos meses de dezembro e fevereiro e superiores em janeiro e março (Figura 2), quando comparado com a normal climatológica. Destacou que não somente a quantidade de chuva precipitada, mas também sua intensidade, distribuição e o número de dias de chuva de maior intensidade são interferentes na qualidade das uvas e posteriormente, do vinho. Chuvas intensas em poucos dias, sem intervalos seqüenciais de dias ensolarados contribuem para a quebra de safra, especialmente nos vinhedos localizados em solos rasos e pouco profundos, como é o caso da região de Pinto Bandeira (Bento Gonçalves-RS).

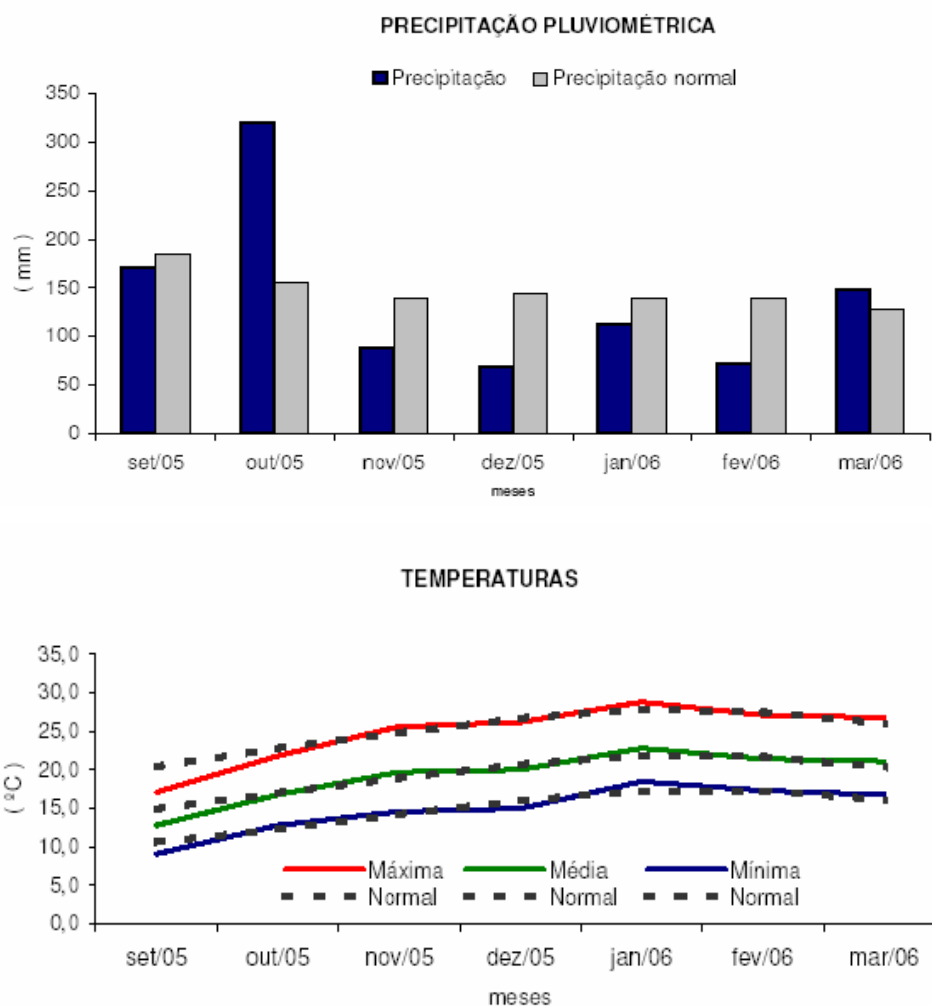


Figura 2 – Comportamento meteorológico (precipitação pluviométrica e temperaturas do ar) na safra da uva de 2006 em relação a normal climatológica (1961/1990). Bento Gonçalves, RS.

Fonte: Embrapa Uva e Vinho, Comunicado Técnico, n.67, 2006.

2.6 Comportamento meteorológico da região de Pinto Bandeira na safra de 2006

Para o estudo das condições meteorológicas da região de Pinto Bandeira na safra de 2006, foram utilizados os dados meteorológicos da Estação Meteorológica Aurora – Pinto Bandeira, da Embrapa Uva e Vinho. Essa estação localiza-se na altitude de 725 m (cujas coordenadas geográficas são: Latitude – 29° 07' 16" S;

Longitude – 51° 26' 4" W) e tem sido utilizada para caracterizar o comportamento da videira da região de Pinto Bandeira, já que a videira, nessa região é cultivada em um topoclíma distinto das demais regiões.

Os fatores meteorológicos que influenciaram a safra de 2006, da região de Pinto Bandeira foram: o clima (principalmente a precipitação pluviométrica e as temperaturas do ar conforme Figura 3), a geologia e o relevo.

As safras apresentam uma ampla variedade climática, podendo ocorrer períodos chuvosos que dificultam a maturação das uvas bem como sua maior qualidade (MANDELLI & ZANUS, 2005). A temperatura em Pinto Bandeira resulta em uvas com acidez adequada para a produção de vinhos brancos, além de vinhos finos espumantes. Os vinhos destacam-se pelo frescor, jovialidade e sabores nítidos (FLORES *et al.*, 2005).

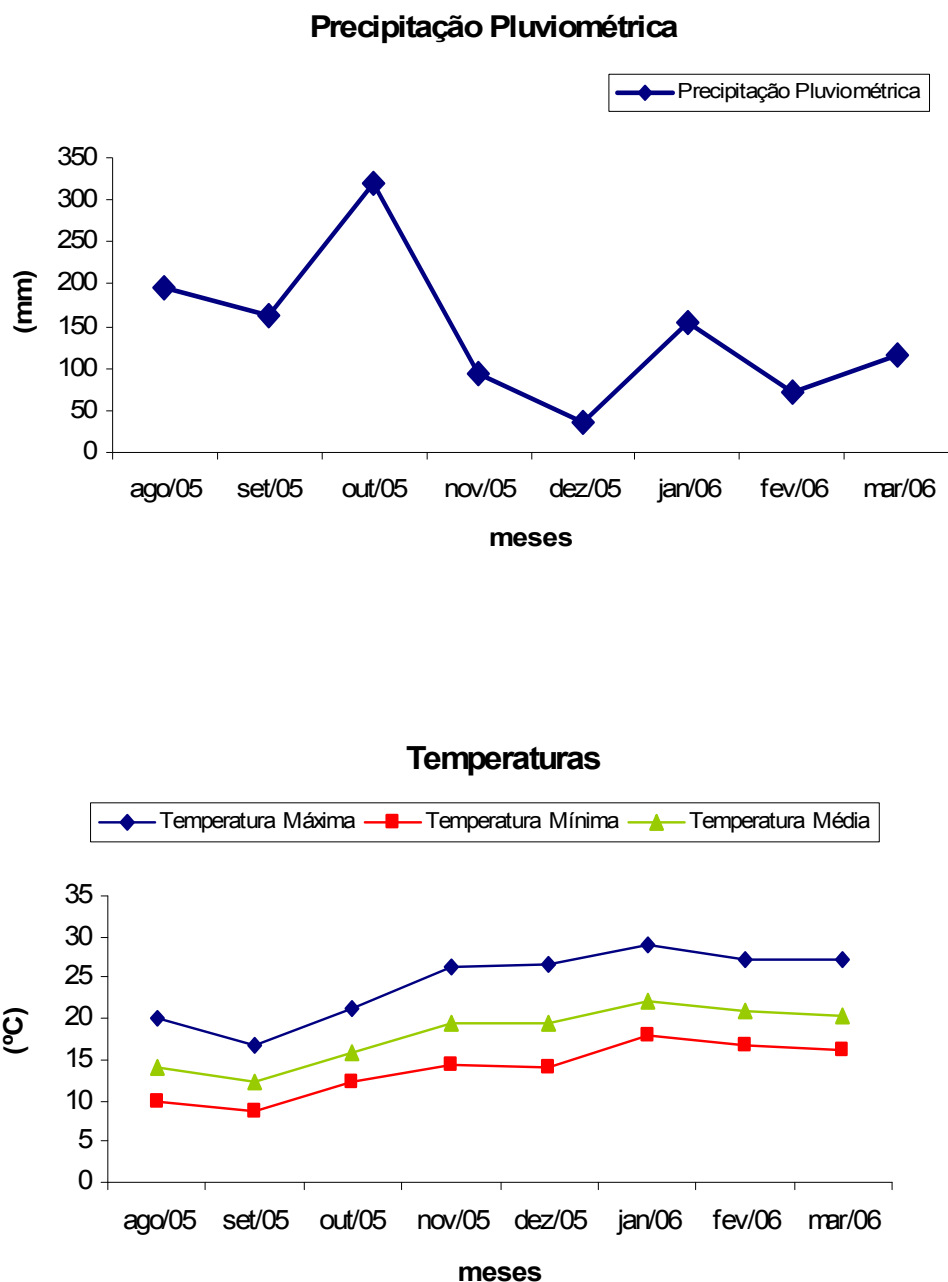


Figura 3 – Comportamento meteorológico (Precipitação pluviométrica e temperaturas do ar) na safra da uva de 2006 na Estação Meteorológica Aurora – Pinto Bandeira.

Fonte: Embrapa Uva e Vinho (dados não divulgados ao público), 2006; adaptado pelo autor.

Na região de Pinto Bandeira, em relação a precipitação pluviométrica, o mês de dezembro se caracterizou pelo menor volume de chuvas e no mês de janeiro choveu mais, comparado com os dados meteorológicos da safra de 2006 da Estação de Bento Gonçalves. Esse pode ser um dos fatores que distingue a viticultura de Pinto Bandeira em relação a outras regiões vitícolas da Serra Gaúcha interferindo nos estádios de brotação, floração, mudança de cor das bagas e colheita da uva.

De modo geral, em Pinto Bandeira a brotação ocorre cerca de 15 dias e a colheita da uva até 30 dias depois, quando comparados com outros locais de menor altitude, influenciando na obtenção de produtos distintos em relação às demais regiões vitícolas de Bento Gonçalves e região (FLORES *et al.*, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

As amostras das uvas foram coletadas no Centro Tecnológico da Cooperativa Vinícola Aurora Ltda., na localidade de Pinto Bandeira, no município de Bento Gonçalves, RS, a partir de três variedades de uva viníferas branca (Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc), na safra 2006.

As uvas foram coletadas num intervalo de aproximadamente quatro em quatro (4) dias, o qual, após a data de colheita estabelecida pela vinícola (que foi o dia zero), até o oitavo (8) dia após esta data, para as variedades Gewürztraminer e Sauvignon Blanc e até o décimo quinto dia (15) para a variedade Chardonnay, ou seja, foram feitas três coletas para as uvas das variedades Gewürztraminer e Sauvignon Blanc e quatro coletas para as uvas Chardonnay.

A primeira coleta para todas as variedades das uvas foi feita dia 06 de fevereiro de 2006, a segunda foi dia 09 de fevereiro de 2006 e a terceira foi dia 13 de fevereiro de 2006. Para a uva da variedade Chardonnay, foram feitas quatro coletas e esta ocorreu dia 20/02/2006, a qual foi feita uma semana após a 3ª coleta, com o objetivo de obter uma maior porcentagem de uvas danificadas desta variedade.

O critério do intervalo de cada coleta foi estabelecido neste período devido às condições climáticas e do estado fitossanitário das uvas. Este estado fitossanitário foi caracterizado devido às danificações das uvas, sendo estas, bagas que foram atacadas por fungos, aves, vespas e abelhas, além daquelas com podridões e secura excessiva.

Desta forma, os mostos e vinhos resultantes destas coletas divididos como: tratamento 1, os da 1ª colheita; tratamento 2, os da 2ª colheita; tratamento 3, os da 3ª colheita; e no caso da uva Chardonnay, tratamento 4, os da 4ª colheita.

O critério de maturação foi a determinação do °Brix e da acidez total. Procurou-se obter uvas com as mesmas características físico-químicas, teor médio de açúcar de 17 °Brix e acidez total de aproximadamente 90 meq.L⁻¹.

As uvas colhidas das variedades Gewürztraminer e Chardonnay, foram conduzidas no sistema de latada simples, enquanto que as uvas colhidas da variedade Sauvignon Blanc foram conduzidas no sistema de espaldeira.

O volume coletado em cada amostragem foi de aproximadamente 6 Kg de uva sendo que foram feitas três repetições de cada amostragem, para cada variedade de uva, ou seja, foi coletado aproximadamente 20 Kg de uva em cada coleta para cada variedade de uva.

A escolha das plantas foi realizada de forma aleatória, e a coleta das uvas foi realizada da forma mais homogênea possível, coletando um pequeno número de cachos das plantas em cada amostragem.

Posteriormente à colheita, as uvas foram conduzidas a Vinícola Don Affonso, no município de Caxias do Sul, RS, onde foram realizadas as microvinificações.

3.2 Métodos

3.2.1 Microvinificações em branco das uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc

As microvinificações para cada variedade, separadamente, foram realizadas seguindo o critério da vinificação em branco clássica, segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), procurando seguir as mesmas condições encontradas na indústria.

Primeiramente foram coletados os cachos de uva e armazenados em caixas plásticas de 20 Kg, no qual foi separado o grão do engaço. As bagas danificadas foram separadas e pesadas, assim como as bagas sãs, estabelecendo a percentagem de bagas danificadas em relação às sãs em cada coleta. Após desengace e pesagem, as frações foram unidas, esmagadas e homogeneizadas manualmente. O mosto foi separado da parte sólida através de prensagem manual, homogeneizando-o com a adição de uma dose de aproximadamente 30 mg.L⁻¹ de SO₂ (metabissulfito de potássio, K₂S₂O₅, marca Veronese®) e 2 g.hL⁻¹ de enzima

pectolítica enológica (marca Zimopec[®]). O mosto foi colocado em recipiente de plástico, com tampa, com capacidade de 20 L.

Em seguida foi realizada a limpeza do mosto através de frio (0 °C) a fim de clarificar o mosto antes da fermentação, por um período de aproximadamente 36 horas para obtenção de um mosto límpido.

Após a limpeza do mosto, o líquido foi retirado através de sifonagem do recipiente de 20 litros. As fermentações foram conduzidas em recipientes de vidro com capacidade de 4,6 litros, acoplados com válvulas de Muller e colocados a uma temperatura de aproximadamente 18 °C.

Posteriormente foram adicionados 20 g.hL⁻¹ de levedura seca ativa, *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (levedura FR 95, marca Perdomini[®]) previamente hidratada e assim dando início ao processo fermentativo.

Depois de 20 dias, ocorreu a constatação do término da fermentação através da análise de açúcares residuais. Assim o vinho foi sifonado, desprezando-se as borras grossas e este foi submetido à estabilização tartárica em câmara fria por aproximadamente 20 dias a uma temperatura de -3 °C.

Após a estabilização tartárica, corrigiu-se o teor de SO₂ livre a aproximadamente 40 mg.L⁻¹.

Finalizando a fermentação, o vinho foi acondicionado em garrafas de 750 mL, hermeticamente fechada com rolha de cortiça para posterior análise.

3.3 Análises

3.3.1 Análise de Ocratoxina A

Foram analisados os mostos e seus respectivos vinhos das variedades *Vitis vinífera* brancas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, elaborados com uvas de diferentes períodos de colheitas conforme citados anteriormente.

A análise de Ocratoxina A foi realizada segundo o método oficial 2001.01 da AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), conforme Visconti *et al.* (1999), mesma metodologia descrita pela O.I.V. (Resolução 16/2001).

As determinações de OTA foram realizadas no Laboratório de Referência Enológica (LAREN), em Caxias do Sul, RS.

3.3.1.1 Princípio do método

As amostras foram diluídas com uma solução contendo polietilenoglicol (PEG) e NaHCO_3 e as soluções diluídas foram filtradas e limpas em uma coluna de imunoafinidade (IMC) OchraTest Vicam[®]. OTA foi eluída com metanol e quantificada em cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com coluna Zorbax C18 e detector de fluorescência.

3.3.1.2 Preparação da solução padrão de Ocratoxina A e curva de calibração

A solução padrão de ocratoxina A (150 mg.L^{-1}), foi preparada dissolvendo 1,50 mg do padrão sólido (Sigma[®]) em um balão volumétrico de 10 mL com solução de tolueno-ácido acético (99:1, v/v) e conservada em frasco âmbar, sob refrigeração.

Para a análise em HPLC e obtenção da curva de calibração, 100 μL desta solução foram evaporados com nitrogênio e redissolvidos com a solução da fase móvel em um balão volumétrico de 10 mL (solução de 15 mg.L^{-1}). A partir desta solução foi diluído 50 μL em balão de 10 mL, resultando uma solução de $75 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Preparou-se a curva de calibração sempre no início das análises e sempre que ocorreram mudanças cromatográficas.

A partir da solução de $75 \mu\text{g.L}^{-1}$ foram feitas diluições adequadas para a obtenção das concentrações de 0,75; 1,50; 3,80; 15,50 e 38,70 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Injetaram-se 100 μL de cada solução de calibração no sistema cromatográfico. A curva de calibração foi obtida pela área do pico do padrão com a

resposta à sua concentração (Figura 4). O coeficiente de correlação da curva de calibração foi de 0,99998 indicando uma resposta alta da análise.

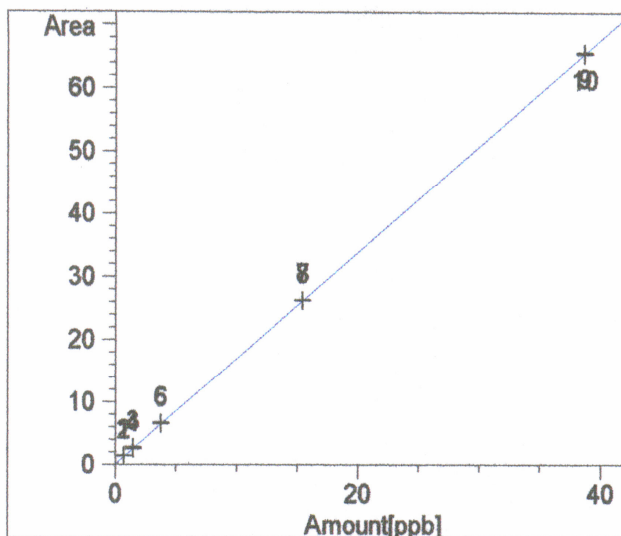


Figura 4 – Curva de calibração do padrão de Ocratoxina A.

3.3.1.3 Preparação da amostra e purificação em coluna de imunoafinidade (IMC)

Uma amostra de 10 mL de vinho foi diluída com 10 mL de solução aquosa contendo PEG Vicam[®] G1015 (1%) e NaHCO₃ (5%), homogeneizada e filtrada através de filtro de microfibras de vidro Whatman[®] 934AH. A filtração é necessária para soluções turvas ou quando se forma resíduo sólido depois da diluição. A solução diluída (10 mL) foi passada através da coluna de imunoafinidade Ochratest[®], para purificação, a um fluxo de 1 gota por segundo, sem deixar a coluna secar. A coluna foi lavada com 5 mL de uma solução de NaCl (2,5%) e NaHCO₃ (0,5%) seguida de 5 mL de água desionizada com fluxo de 1-2 gotas por segundo, deixando a coluna secar, passando ar através dela. A ocratoxina A foi eluída com 2 mL de metanol e coletada em um vial, passando pela coluna a um fluxo de 1 gota por segundo. O extrato eluído foi evaporado com nitrogênio em manta de aquecimento a uma temperatura de aproximadamente 50 °C e reconstituído com 250 µL da fase móvel do HPLC, ou seja, solução de acetonitrila-H₂O-ácido acético glacial (99:99:2, v/v/v).

3.3.1.4 Determinação em HPLC

O extrato reconstituído foi coletado em um vial com cone de 250 μL e injetado no HPLC com detector de fluorescência. O equipamento usado foi um sistema Hewlett Packard Série 1100, ajustado a um comprimento de onda de 333 nm para excitação e 460 nm para emissão. As separações cromatográficas foram realizadas numa coluna Zorbax[®] 300SB-C₁₈ (4,6 x 150 mm ; 5 μm), equipada com uma pré-coluna Zorbax[®] SB-C₁₈ (4,6 x 12,5 mm ; 5 μm) e esta coluna operada a uma temperatura de 25 °C. A fase móvel foi bombeada a um fluxo de 1 mL.min⁻¹ e consistiu num gradiente de eluição isocrático, cuja fase móvel é acetonitrila: água: ácido acético (99:99:2, v/v/v). O volume de injeção foi de 100 μL .

As amostras foram consideradas positivas para OTA quando foi detectado um pico com tempo de retenção similar ao do padrão de OTA (7,4 minutos, aproximadamente) (Figura 5).

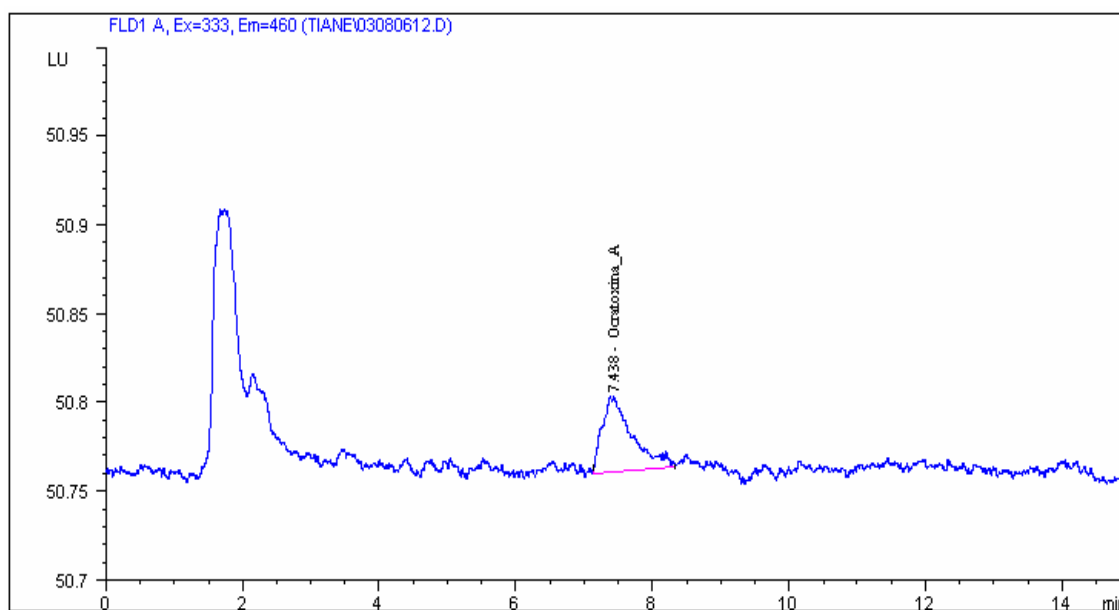


Figura 5 – Cromatograma do padrão de ocratoxina A utilizado nas análises.

3.3.1.5 Detecção e quantificação

A ocratoxina A foi quantificada pela medição da área do pico de retenção, comparada a uma curva de calibração, calculado em $\mu\text{g.L}^{-1}$ através da equação:

$$C_{\text{OTA}} = M_{\text{OTA}} \times (2/V_1) \times (V_3/V_2)$$

Onde:

C_{OTA} – Concentração de ocratoxina A ($\mu\text{g L}^{-1}$)

M_{OTA} – Massa de ocratoxina A em (ng)

2 – Fator de diluição

V_1 – Volume de vinho usado para analisar (10 mL)

V_2 – Volume da solução utilizado na injeção (100 μL)

V_3 – Volume da solução de fase móvel utilizada para dissolver a OTA após secagem com nitrogênio (250 μL)

3.3.1.6 Confirmação

Para a confirmação do teor de OTA fez-se um teste de linearidade em uma amostra de vinho, partindo de sua condição inicial e adicionando-se padrões de OTA em concentrações crescentes conhecidas.

3.3.1.7 Procedimentos de segurança

A ocratoxina A é um composto tóxico, portanto certas normas de segurança devem ser observadas: deve ser manipulada com cuidado e com as medidas de segurança adequadas, ou seja, manipulação das soluções em capela, com luvas e máscara; procedimentos de descontaminação na lavagem da vidraria e para que não ocorram desperdícios laboratoriais, aconselhados pela IARC (CASTEGNARO *et*

al., 1991) usando soluções de hipoclorito de sódio concentrado para a destruição das soluções padrão de OTA.

3.3.2 Análises físico-químicas

As determinações realizadas nos mostos e vinhos foram feitas segundo metodologia oficial descrita pela *Office International de la Vigne et du Vin* (1990).

Nos mostos foram realizadas as determinações de acidez total por titulometria; pH, pelo método eletrométrico, densidade e grau Brix, através de balança hidrostática, a temperatura de 20 °C, da marca Gibertini® (Itália).

Em todas as amostras dos vinhos foram analisados parâmetros físico-químicos como: pH, pelo método eletrométrico; acidez total, acidez volátil e açúcares totais, através de metodologia de infravermelho aproximado utilizando equipamento Wine Scan® (FOSS); teor alcoólico por destilação, densidade do vinho em balança hidrostática, a temperatura de 20 °C e extrato seco reduzido utilizando um destilador eletrônico enoquímico equipado com balança hidrostática, da marca Gibertini® (Itália). O extrato seco foi determinado após definidas as densidades do vinho e do destilado, com recursos computacionais da Gibertini®.

3.3.3 Análise estatística

Os resultados das análises dos mostos e dos vinhos foram avaliados estatisticamente através do programa computacional SAS for Windows 2000, versão 6.11, sendo feito delineamento inteiramente casualizado. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão entre as médias, ao nível de significância de 0,05 (ou 5%).

Para a análise de correlação entre a precipitação pluviométrica e a porcentagem de uvas danificadas, foi calculado o coeficiente “r” de Pearson através do programa computacional SPSS, 12.0 for Windows.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta secção discutem-se os resultados obtidos quanto às variedades estudadas, em relação aos seguintes aspectos: sanidade das uvas nas diferentes colheitas; composição dos mostos; parâmetros físico-químicos dos vinhos e nível de ocratoxina A nos mostos e vinhos.

4.1 Sanidade das uvas nas diferentes colheitas

Conforme pode ser constatado na figura 6, nas uvas da variedade Gewürztraminer observou-se um nível de danificação de 20,78; 25,15 e 26,95 % na primeira, na segunda e na terceira colheitas, respectivamente, comprovando ser uma variedade altamente suscetível às podridões da uva madura e do cacho (CAMARGO, 1994; GIOVANNINI, 2005). A variedade Chardonnay apresentou um nível de danificação inicial de 5,5 % e com o passar do tempo, a danificação nas uvas foi para 10,93 %; 7,26 % e 12,96 % nas segunda, terceira e quarta coleta, respectivamente, comprovando ser uma variedade menos suscetível às podridões da uva madura do que as outras estudadas (HIDALGO, 1999; GIOVANNINI, 2005). Já a variedade Sauvignon Blanc apresentou inicialmente um grau de uvas danificadas de 23%, aumentando progressivamente nas outras duas coletas, sendo 31,21% e 31,64 % na segunda e terceira coletas respectivamente, mostrando-se altamente problemática em relação a ataques fúngicos e podridões (CAMARGO, 1994; GIOVANNINI, 2005). O comportamento observado em todas as variedades foi coincidente com dados encontrados na literatura.

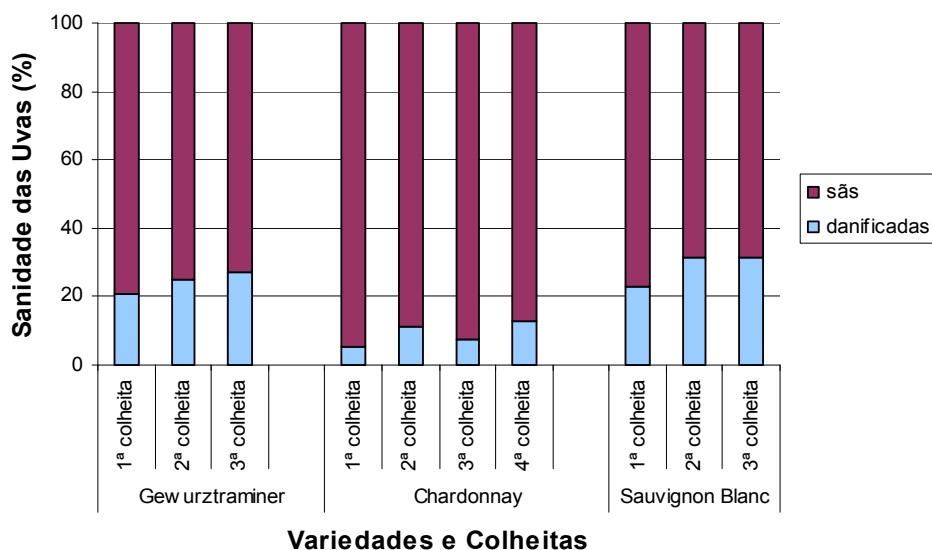


Figura 6 – Percentual de uvas danificadas e sãs das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc em relação a diferentes colheitas, da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

Na tabela 2 observou-se uma elevada correlação entre a percentagem de uvas danificadas nas variedades Gewürztraminer e Sauvignon Blanc em relação à precipitação pluviométrica, sendo que no período de 8 dias onde foram realizadas as 3 coletas, ocorreu uma precipitação total de 18 mm. Para a variedade Chardonnay, não se observou a mesma correlação, mesmo que esta tenha sido também considerada alta, apesar do período da primeira à última coleta ter sido de 15 dias e com uma precipitação total de 41,4 mm neste período (conforme APÊNDICE A). A umidade associada à temperatura elevada que ocorreu na Serra Gaúcha, mais precisamente na localidade de Pinto Bandeira, contribui para o desenvolvimento dos microrganismos causadores de podridões e para a formação de acidez no mosto. Fato este que pode ser explicado devido a precipitações pluviométricas ou caso haja muita irrigação nas fases iniciais do período de maturação podem ocasionar danos nas bagas por rupturas (HIDALGO, 1999); além disso, a variedade Chardonnay possui uma maior resistência a ataques fúngicos, principalmente, em relação às outras variedades estudadas.

Conforme Giovannini (2005), a chuva também facilita as condições para o aumento da incidência de podridões do cacho, sendo que a possibilidade de manter a uva com estado de sanidade ideal diminui.

Tabela 2 – Resultados do teste de correlação “r” de Pearson e interpretação da correlação entre a precipitação pluviométrica e a percentagem de uvas danificadas das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

Variedades	Coefficiente de correlação “r” de Pearson	Interpretação
Gewürztraminer	0,959	Correlação muito alta
Chardonnay	0,873	Correlação alta
Sauvignon Blanc	0,999*	Correlação muito alta

* correlação é significativa ao nível de significância de 5% (0,05).

4.2 Composição dos mostos

As análises efetuadas no mosto das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc a partir de uvas com diferentes tempos de colheitas estão indicadas na tabela 3.

Os mostos apresentaram um aumento de acidez total na segunda colheita (98 meq.L⁻¹, para Gewürztraminer, 96 meq.L⁻¹ para Chardonnay e 144 meq.L⁻¹ para Sauvignon Blanc) em comparação com a primeira (94 meq.L⁻¹, para Gewürztraminer, 92 meq.L⁻¹ para Chardonnay e 130 meq.L⁻¹ para Sauvignon Blanc), o que não concorda com a literatura (VOGT *et al.*, 1984; PEYNAUD, 1999). Isso pode ter ocorrido devido às condições climáticas da Serra Gaúcha, uma vez que durante esta safra, um dos fatores determinantes da época de colheita foi a precipitação pluviométrica, principalmente entre os dias destas colheitas. Após, a acidez total diminuiu no decorrer das outras colheitas para todas as variedades.

Observou-se que ocorreram outras alterações nos parâmetros como pH, densidade e °Brix analisados nos mostos, de uma colheita para outra dentro de uma mesma variedade de uva. Estes parâmetros encontram-se dentro dos níveis normais e desejáveis para obtenção de um vinho de boa qualidade físico-química (OUGH, 1992; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

Tabela 3 – Análises físico-químicas nos mostos das uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc em relação a diferentes tempos de colheita, da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

Variáveis	Gewürztraminer			Média
	G1	G2	G3*	
pH (a 25 °C)	3,45 ^a	3,41 ^b	3,42 ^b	3,426
densidade (a 20 °C)	1,0737 ^b	1,0733 ^c	1,0761 ^a	1,0743
°Brix	17,7 ^b	17,7 ^b	18,3 ^a	17,9
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	94 ^b	98 ^a	78 ^c	90

Variáveis	Chardonnay				Média
	C1	C2	C3	C4*	
pH (a 25 °C)	3,32 ^a	3,28 ^b	3,27 ^b	3,27 ^b	3,285
densidade (a 20 °C)	1,0633 ^d	1,0861 ^a	1,0837 ^b	1,0805 ^c	1,0784
°Brix	15,4 ^d	20,5 ^a	20,0 ^b	19,3 ^c	18,8
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	92 ^b	96 ^a	84 ^c	70 ^d	85,5

Variáveis	Sauvignon Blanc			Média
	S1	S2	S3*	
pH (a 25 °C)	3,32 ^a	3,28 ^b	3,29 ^b	3,29
densidade (a 20 °C)	1,0862 ^c	1,0877 ^b	1,0942 ^a	1,0893
°Brix	20,5 ^c	20,9 ^b	22,3 ^a	21,2
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	130 ^b	144 ^a	114 ^c	129,3

Letras distintas indicam diferença estatística dentro da mesma linha.

*G1, C1, S1 = 1^a colheita; G2, C2, S2 = 2^a colheita; G3, C3, S3 = 3^a colheita; C4 = 4^a colheita.

Com relação ao °Brix, a acidez total do mosto e os diferentes tempos de colheita das uvas, a figura 7 mostra as análises efetuadas nos mostos de Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc obtidos a partir de uvas de diferentes tempos de colheita, o qual se observa interferência de fatores externos, como ataques fúngicos, vespas, precipitação pluviométrica, variações de temperatura, nesta relação, já que com o passar do tempo das colheitas não ocorreu uma diminuição da acidez titulável (94, 98, 78 meq.L⁻¹ para Gewürztraminer; 92, 96, 84, 70 meq.L⁻¹ para Chardonnay e 130, 144 e 114 meq.L⁻¹ para Sauvignon Blanc nas 1ª, 2ª e 3ª e 4ª colheitas, respectivamente) e um aumento dos açúcares (17,7; 17,7 e 18,3 °Brix para Gewürztraminer; 15,4; 20,5; 20 e 19,3 °Brix para Chardonnay e 20,5; 20,9 e 22,3 °Brix para Sauvignon Blanc nas 1ª, 2ª e 3ª e 4ª colheitas, respectivamente) nos mostos, não concordando com Hidalgo (1999) e Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), que afirmam que a maturação prática da uva é alcançada quando a concentração de açúcares da uva estiver aumentando e a acidez total diminuindo e quando estes componentes se manterem praticamente estáveis durante alguns dias, este é o momento de maturação da uva. Esta relação facilita na hora da colheita, podendo saber se a uva já está madura e pronta para ser colhida.

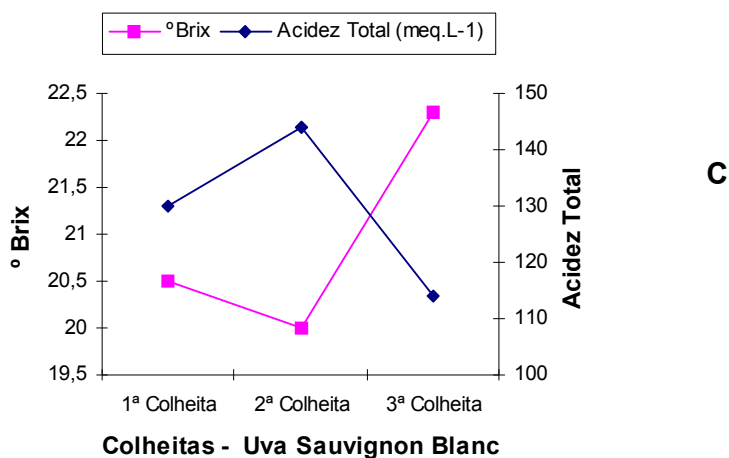
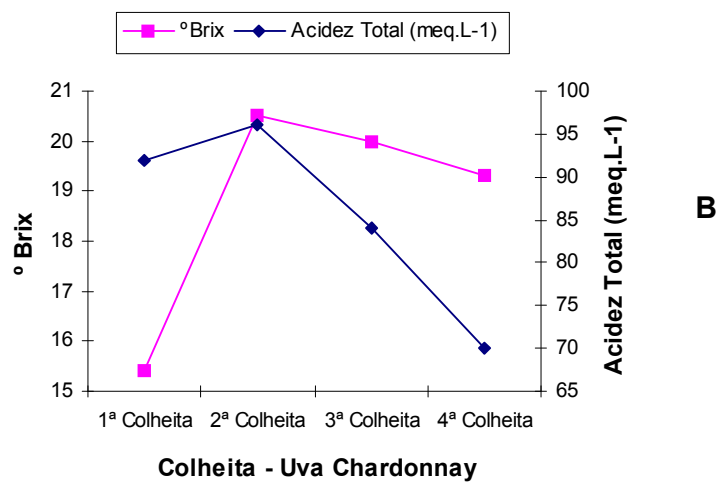
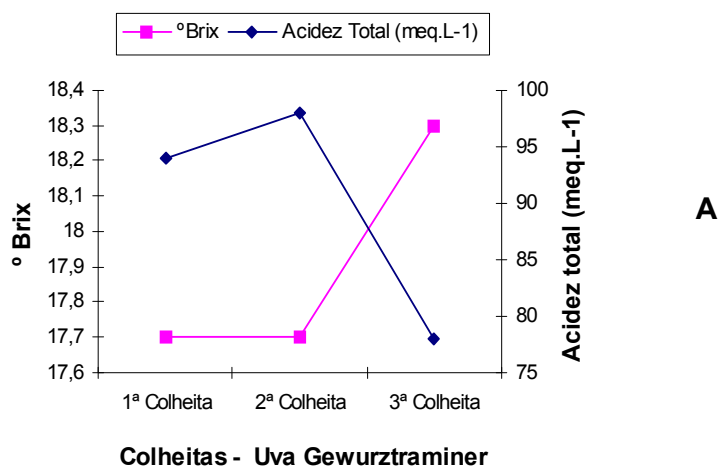


Figura 7 – Relação entre o °Brix, acidez total (meq.L^{-1}) do mosto e diferentes tempos de colheita das uvas das variedades Gewürztraminer (A), Chardonnay (B) e Sauvignon Blanc (C), da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

Quanto à relação entre os açúcares, a percentagem de uvas sadias (%) e os diferentes tempos de colheita das uvas, a figura 8 mostra as análises efetuadas nas variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, o qual observa-se que com o passar do tempo das colheitas, ocorreu uma mudança na sanidade das uvas (79,22; 74,85 e 73,05 % de uvas sadias para Gewürztraminer; 94,50; 89,07; 92,74 e 87,04 % de uvas sadias para Chardonnay e 77; 68,79 e 68,36 % de uvas sadias para Sauvignon Blanc nas 1^a, 2^a e 3^a e 4^a colheitas, respectivamente), não sendo proporcional ao aumento do °Brix nos mostos (17,7; 17,7 e 18,3 °Brix para Gewürztraminer; 15,4; 20,5; 20 e 19,3 °Brix para Chardonnay e 20,5; 20 e 22,3 °Brix para Sauvignon Blanc nas 1^a, 2^a e 3^a e 4^a colheitas, respectivamente).

Na variedade Gewürztraminer, observou-se que com o aumento dos °Brix ocorreu uma diminuição da sanidade das uvas, no decorrer das colheitas, ou seja, aumentou as uvas danificadas, podendo ter sido por ataques de abelhas e vespas que atacam a uva madura devido à doçura das bagas, além do ataque fúngico, uma vez que esta variedade é altamente sensível a podridão da uva madura, conforme Giovannini (2005).

O teor médio de açúcar na uva Chardonnay aumentou da primeira colheita (15,4 °Brix) para a segunda (20,5 °Brix), ou seja, ocorreu uma maturação na uva entre estas colheitas, mas após começou a diminuir. O que não se pode relacionar com a sanidade das uvas, pois esta variou aumentando e diminuindo a percentagem de uvas danificadas entre as colheitas.

O desenvolvimento inicial de *Botrytis cinerea* nas uvas, por exemplo, tem importante papel no acúmulo de açúcares, mostrando que o aumento de açúcares pode ser também devido a este tipo de ataque fúngico (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003).

O °Brix das uvas da variedade Sauvignon Blanc obtiveram uma leve diminuição da primeira colheita para a segunda (20,5 e 20 °Brix, respectivamente) e após, na terceira colheita ocorreu um aumento destes açúcares (22,3 °Brix). Contudo, as uvas sofreram grande diminuição na sanidade da primeira para a segunda colheita (de 77 % para 68,79 %, respectivamente), já na terceira colheita (68,36 %) ocorreu uma leve diminuição de uvas sadias. Esta diminuição na sanidade e posterior aumento de bagas danificadas pode ter sido também, pois esta variedade está em sistema de condução em espaldeira e este tipo de sistema de condução é mais suscetível ao ataque de pássaros, pois a uva fica mais exposta,

mas também as uvas ficam mais expostas ao sol, e a insolação nas bagas auxilia em uma maior concentração dos compostos, como os açúcares (GIOVANNINI, 2005).

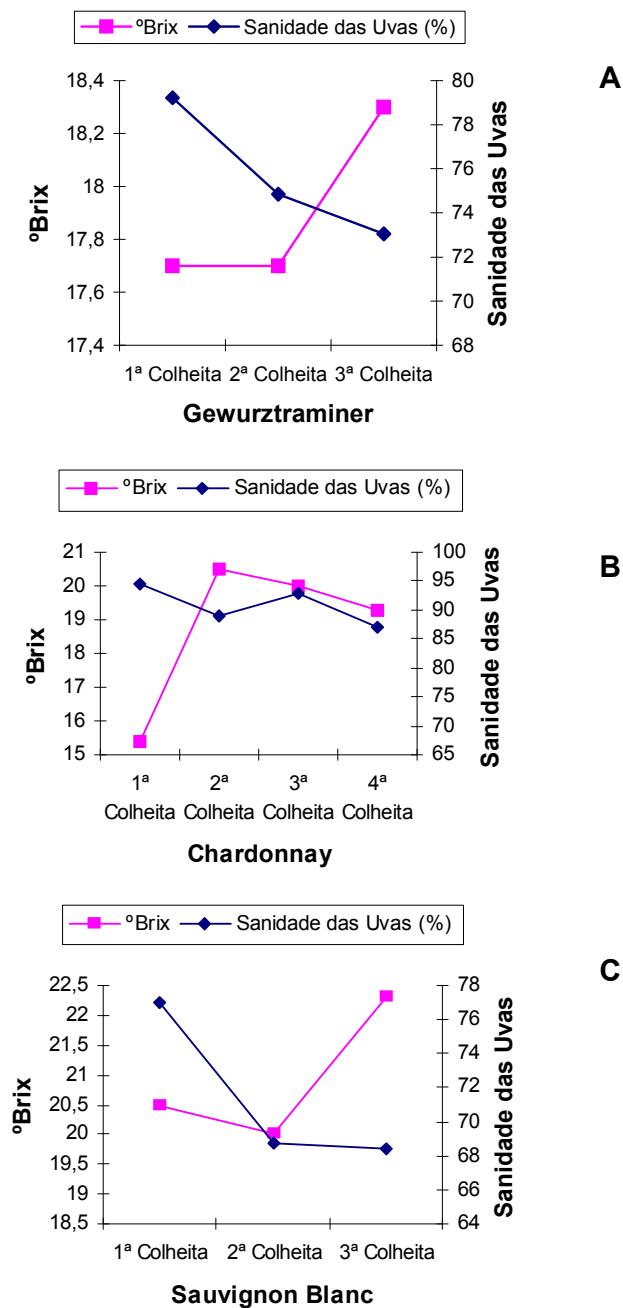


Figura 8 – Relação entre o ° Brix, sanidade das uvas (%) e diferentes tempos de colheita das uvas das variedades Gewürztraminer (A), Chardonnay (B) e Sauvignon Blanc (C), da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

4.3 Parâmetros físico-químicos dos vinhos

Os teores médios das análises físico-químicas realizadas nos vinhos Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, obtidos por diferentes tempos de colheita estão apresentados na tabela 4.

O pH apresentou diferença significativa nos três tratamentos dos vinhos de Gewürztraminer, sendo que na primeira colheita o pH foi maior (3,54) e com o decorrer das colheitas, este foi diminuindo, ou seja, na segunda colheita o pH foi de 3,27 e na terceira colheita o pH foi de 3,20; o que não coincide com Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) que diz que com a maturação da uva, ou colheitas em dias sucessivos, o pH dos vinhos aumentam. Desta forma, observa-se que a quantidade de uvas danificadas pode ser um fator interferente neste resultado. Para a variedade Chardonnay, não houve diferença significativa no pH entre os vinhos das diferentes colheitas (3,23; 3,23; 3,27 e 3,26; na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª colheitas, respectivamente) apesar de ter aumentado com o decorrer das colheitas. Já para a variedade Sauvignon Blanc, não houve diferença significativa entre os pHs da primeira (3,28) e segunda (3,30) colheitas, mas estes diferiram significativamente do pH do vinho da terceira colheita (3,38); concordando com Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), já citado anteriormente.

Os vinhos de Gewürztraminer G1 e G2 apresentaram valores de acidez volátil significativamente maiores, 13,11 e 13,16 meq.L⁻¹, respectivamente, quando comparados aos vinhos da terceira colheita (8,66 meq.L⁻¹). Para os vinhos de Chardonnay, a acidez volátil da terceira colheita (5,71 meq.L⁻¹) foi significativamente maior que das demais colheitas (4,99; 4,83 e 5,16 meq.L⁻¹ na 1ª, 2ª e 4ª colheitas, respectivamente). Porém, nos vinhos de Sauvignon Blanc, a acidez volátil diferiu significativamente entre todas as colheitas, sendo que aumentou na segunda colheita (11,33 meq.L⁻¹) em relação à primeira (7,60 meq.L⁻¹) e após, na terceira colheita, diminuiu (6,77 meq.L⁻¹), sendo menor que da primeira. As causas principais da acidez volátil elevada no vinho estão relacionadas com a qualidade da uva utilizada na vinificação e também o decorrer da fermentação alcoólica. Apesar dos resultados não terem coincidido com a literatura (VOGT, *et al.*, 1984; PEYNAUD, 1999; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003), estão dentro dos limites exigidos pela legislação (BRASIL, 2004).

Os teores de acidez total nos vinhos de Gewürztraminer apresentaram um aumento (91,15 meq.L⁻¹) da segunda colheita em comparação aos da primeira (83,77 meq.L⁻¹), o que não está de acordo com a literatura (PEYNAUD, 1999; FLANZY, 2000; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003), pois teria que diminuir com o passar do tempo das colheitas, o que pode ser explicado em virtude das condições climáticas da Serra Gaúcha, uma vez que durante esta safra, um dos fatores determinantes da época da colheita foi a precipitação pluviométrica. Após, a acidez total diminuiu, ou seja, nos vinhos da terceira colheita o teor de acidez total foi de 86,57 meq.L⁻¹; este comportamento também foi observado com a acidez total dos mostos. A acidez total nos vinhos de Chardonnay da primeira (92,79 meq.L⁻¹) e segunda (92,13 meq.L⁻¹) colheitas diferenciaram-se estatisticamente dos vinhos formados a partir da terceira (87,90 meq.L⁻¹) e quarta (86,66 meq.L⁻¹) colheitas, além disso, concordam com Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), que afirma que com a maturação das uvas, ocorre concentração dos açúcares e diminuição da acidez possivelmente em decorrência da liberação dos ácidos orgânicos.

Assim como nos vinhos de Gewürztraminer, a acidez total nos vinhos de Sauvignon Blanc também se encontraram diferentes estatisticamente entre eles, sendo que a acidez total da segunda colheita (117,28 meq.L⁻¹) foi maior que da primeira (106,71 meq.L⁻¹), e na terceira colheita (104,22 meq.L⁻¹) diminuiu. Estes resultados também foram similares ao teor de acidez total dos mostos.

Em relação ao teor de açúcares totais, tanto os vinhos de Gewürztraminer como os de Chardonnay não tiveram diferenças estatísticas entre os diferentes períodos de colheitas. Apenas os vinhos de Sauvignon Blanc tiveram diferenças entre as colheitas, sendo que não diferenciaram entre a segunda (1,86 g.L⁻¹) e terceira (1,92 g.L⁻¹) colheitas, apenas teve diferença estatística destas para a primeira colheita (1,00 g.L⁻¹). Com estes resultados encontrados, nos vinhos das três variedades, por serem baixos, indicam que os vinhos são classificados segundo o teor de açúcar como vinho seco (BRASIL, 2004). E também se pode evidenciar que houve transformação total dos açúcares dos mostos em álcool pelas leveduras.

O valor do teor alcoólico nos vinhos de Gewürztraminer produzidos a partir da uva da terceira colheita (11,53 %vol.) foi maior estatisticamente que os teores alcoólicos dos vinhos produzidos pelas uvas da primeira e segunda colheita (11,13 e 11,14 %vol., respectivamente). Isto se deve principalmente pelo fato das uvas da terceira colheita estarem mais maduras (maior grau Brix) e ter mais açúcar que as

demaís. Em relação ao teor alcoólico formado nos vinhos de Chardonnay, não houve diferenças da segunda (12,38 %vol.) e a terceira (12,51 %vol.) colheitas. Estes resultados foram diferentes da primeira (11,36 %vol.) e quarta (11,97 %vol.) colheita, além destes se diferenciarem entre si. Para os vinhos formados a partir das uvas de Sauvignon Blanc, o teor alcoólico deles foi diferente estatisticamente entre todos, sendo que na primeira colheita foi de 12,11 %vol, na segunda 12,31 e na terceira 13,35 %vol, o que coincide com o aumento dos °Brix nos respectivos mostos (tabela 3), além de coincidirem com os dados da literatura, que afirma que quanto maior a densidade do mosto, maior o provável teor alcoólico do vinho produzido (OUGH, 1992; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2003). Os valores de álcool observados nos vinhos encontram-se dentro dos limites exigidos pela legislação (BRASIL, 2004), comprovando que as uvas de todas as variedades e em todas as colheitas encontravam-se no seu ponto ideal de maturação e colheita.

Não houve diferença estatística entre os valores dos extratos secos reduzidos nos vinhos de Gewürztraminer produzidos pelas diferentes colheitas (24,96; 25,33 e 23,93 g.L⁻¹, na 1ª, 2ª e 3ª colheitas, respectivamente). Nos vinhos de Chardonnay, não houve diferenças entre a primeira (21,60 g.L⁻¹), segunda (22,96 g.L⁻¹) e terceira (21,73 g.L⁻¹) colheitas entre si, e que a segunda colheita, a terceira e a quarta (20,85 g.L⁻¹) também não se diferenciaram, ou seja, apenas ocorreu diferença estatística nos valores de extrato seco reduzido dos vinhos entre a segunda e quarta colheita. Com relação aos valores do extrato seco reduzido dos vinhos produzidos pelas uvas da variedade Sauvignon Blanc, houve diferenças estatísticas entre eles, sendo o valor maior encontrado nos da segunda (35,06 g.L⁻¹) colheita em comparação aos da primeira (29,23 g.L⁻¹) e da terceira (34,04 g.L⁻¹) colheitas.

A densidade dos vinhos de Gewürztraminer produzidos a partir das uvas da terceira (0,9939 g.mL⁻¹) colheita foi diferente estatisticamente dos vinhos da primeira (0,9948 g.mL⁻¹) e segunda (0,9949 g.mL⁻¹) colheitas, mas estas não se diferenciaram entre si. Estes resultados não sofreram o mesmo comportamento quando comparados à densidade dos seus respectivos mostos (tabela 2). Para a variedade Chardonnay, houve diferença entre os vinhos da primeira (0,9932 g.mL⁻¹) colheita em relação aos demais, e que os da terceira (0,9919 g.mL⁻¹) colheita diferenciaram-se dos vinhos da segunda (0,9926 g.mL⁻¹), mas estes não se diferenciaram estatisticamente dos vinhos da quarta (0,9922 g.mL⁻¹) colheita, assim como os da segunda colheita que também não se diferenciaram dos vinhos da

quarta colheita. Em relação à densidade nos vinhos produzidos pelas uvas da variedade Sauvignon Blanc, foram diferentes estatisticamente entre si, sendo que a densidade dos vinhos da segunda ($0,9976 \text{ g.mL}^{-1}$) colheita foi maior que da terceira ($0,9961 \text{ g.mL}^{-1}$) e esta maior que da primeira ($0,9952 \text{ g.mL}^{-1}$) colheita.

Tabela 4 – Composição físico-química dos vinhos de uvas Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc, em relação a diferentes tempos de colheita, da localidade de Pinto Bandeira, na safra 2006

Variáveis	Gewürztraminer			Média	C.V. (%)	Prob>F
	G1	G2	G3*			
pH (a 25 °C)	3,54 ^a	3,27 ^b	3,20 ^c	3,34	0,537	0,0001
Acidez Volátil (meq.L ⁻¹)	13,11 ^a	13,16 ^a	8,66 ^b	11,64	1,249	0,0001
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	83,77 ^c	91,15 ^a	86,57 ^b	87,166	0,665	0,0001
Açúcares Totais (g.L ⁻¹)	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00		
Teor Alcoólico (% vol.)	11,13 ^b	11,13 ^b	11,53 ^a	11,265	0,85	0,0033
Extrato Seco Reduzido (g.L ⁻¹)	24,96 ^a	25,33 ^a	23,93 ^a	24,744	2,68	0,0942
Densidade do vinho (a 20 °C)	0,9948 ^a	0,9949 ^a	0,9939 ^b	0,9945	0,025	0,0052

Variáveis	Chardonnay				Média	C.V. (%)	Prob>F
	C1	C2	C3	C4*			
pH (a 25 °C)	3,23 ^a	3,23 ^a	3,27 ^a	3,26 ^a	3,246	0,435	0,0231
Acidez Volátil (meq.L ⁻¹)	4,99 ^b	4,83 ^b	5,71 ^a	5,16 ^b	5,177	2,647	0,0005
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	92,79 ^a	92,13 ^a	87,90 ^b	86,66 ^b	90,166	0,679	0,0001
Açúcares Totais (g.L ⁻¹)	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00		
Teor Alcoólico (% vol.)	11,36 ^c	12,38 ^a	12,51 ^a	11,97 ^b	12,067	0,564	0,0001
Extrato Seco Reduzido (g.L ⁻¹)	21,6 ^{ab}	22,96 ^a	21,73 ^{ab}	20,85 ^b	21,872	2,731	0,0286
Densidade do vinho (a 20 °C)	0,9932 ^a	0,9926 ^b	0,9919 ^c	0,9922 ^{bc}	0,9925	0,017	0,0002

Variáveis	Sauvignon Blanc			Média	C.V. (%)	Prob>F
	S1	S2	S3*			
pH (a 25 °C)	3,28 ^b	3,30 ^b	3,38 ^a	3,321	0,988	0,0184
Acidez Volátil (meq.L ⁻¹)	7,60 ^b	11,33 ^a	6,77 ^c	8,57	1,835	0,0001
Acidez Total (meq.L ⁻¹)	106,71 ^b	117,28 ^a	104,22 ^c	109,405	0,233	0,0001
Açúcares Totais (g.L ⁻¹)	1,00 ^b	1,86 ^a	1,92 ^a	1,60	13,728	0,0035
Teor Alcoólico (% vol.)	12,11 ^c	12,31 ^b	13,35 ^a	12,59	0,292	0,0001
Extrato Seco Reduzido (g.L ⁻¹)	29,23 ^c	35,06 ^a	34,04 ^b	32,782	0,871	0,0001
Densidade do vinho (a 20 °C)	0,9952 ^c	0,9976 ^a	0,9961 ^b	0,9963	0,016	0,0001

Letras distintas indicam diferença estatística dentro da mesma linha.

*G1, C1, S1 = 1ª colheita; G2, C2, S2 = 2ª colheita; G3, C3, S3 = 3ª colheita; C4 = 4ª colheita.

A partir destes resultados pode-se notar que em qualquer uma das colheitas, nos vinhos de todas as variedades, os parâmetros físico-químicos encontram-se dentro dos requisitos exigidos pela legislação (BRASIL, 2004), para a produção de vinhos ideais para consumo. Dessa forma podemos estabelecer que qualquer uma das colheitas está dentro do ponto ideal de maturação da uva, independente do aumento da percentagem de uvas danificadas pela supermaturação.

4.4 Nível de ocratoxina A nos mostos e vinhos

Com o intuito de avaliar a confiabilidade do método e a confirmação do teor de OTA, fez-se um teste de linearidade em uma amostra de vinho, partindo de sua condição inicial e adicionando-se padrões de OTA em concentrações crescentes de 0,75; 1,5 e 3,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (ppb), conforme a figura 9.

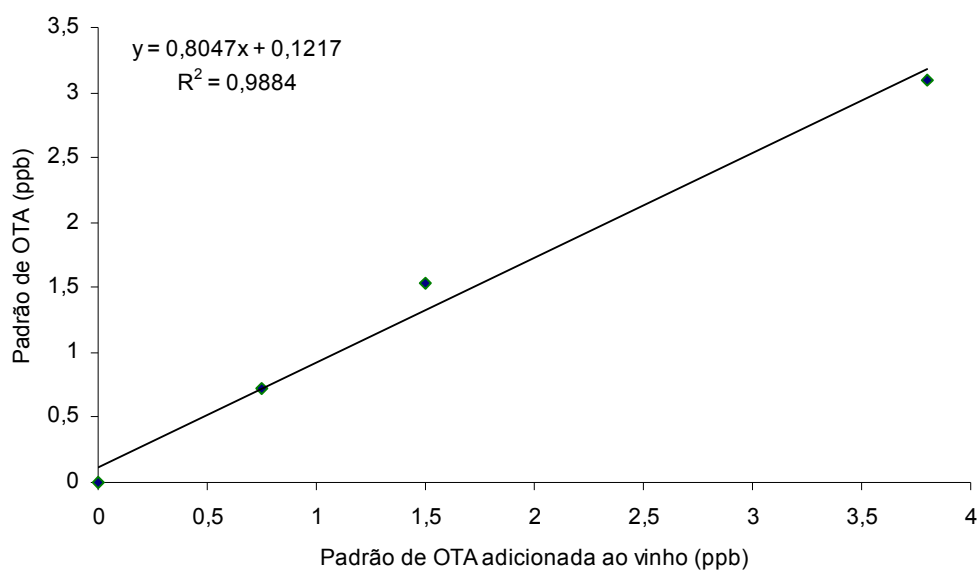


Figura 9 – Curva de linearidade obtida em amostra de vinho em condições crescentes de OTA

A curva de linearidade apresentou coeficiente de correlação de 0,9884, indicando que a resposta obtida na análise de ocratoxina A adicionada na amostra de vinho analisada é proporcional às concentrações dos padrões da ocratoxina.

A figura 10 mostra um cromatograma do padrão 0,75 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ocratoxina A utilizado nas análises para a confirmação da sua presença.

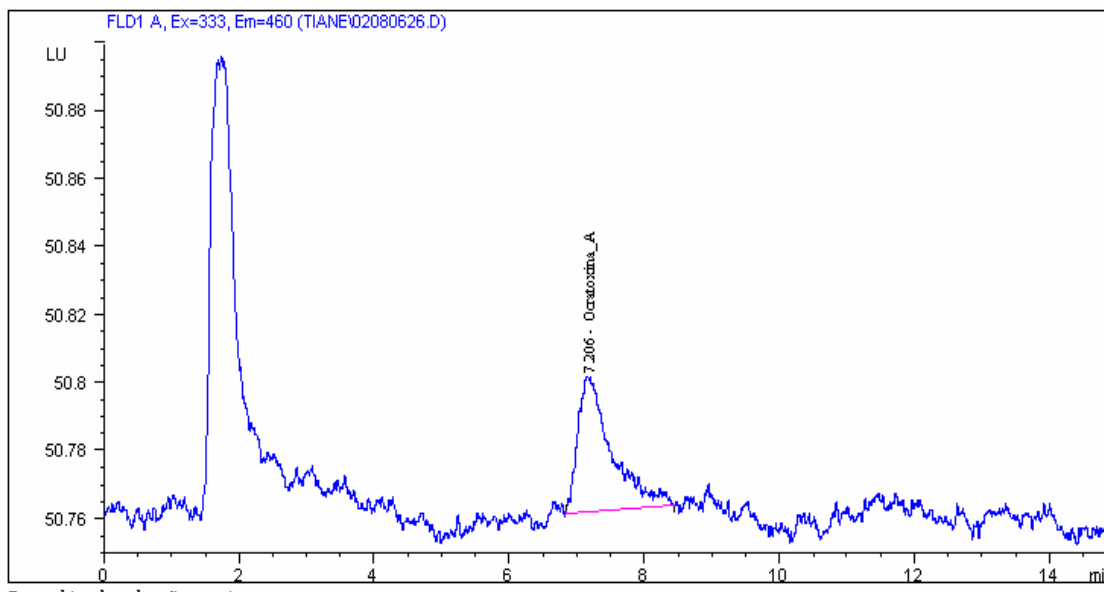


Figura 10 – Cromatograma do padrão 0,75 ppb de ocratoxina A

O pico do padrão de OTA foi detectado no tempo de retenção entre 7 e 8 minutos, isso quer dizer que para uma amostra ser considerada positiva para OTA, o pico deve sair dentro deste limite de tempo. As amostras analisadas tiveram limites não detectáveis de OTA.

A seguir, nas figuras 11, 12 e 13 estão mostrados os cromatogramas de vinhos onde foram adicionados padrões em concentrações crescentes conhecidas, 0,75; 1,50 e 3,80 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente, verificando se este padrão adicionado seria detectado dentro do tempo de retenção do padrão de OTA, o que nos foi confirmado.

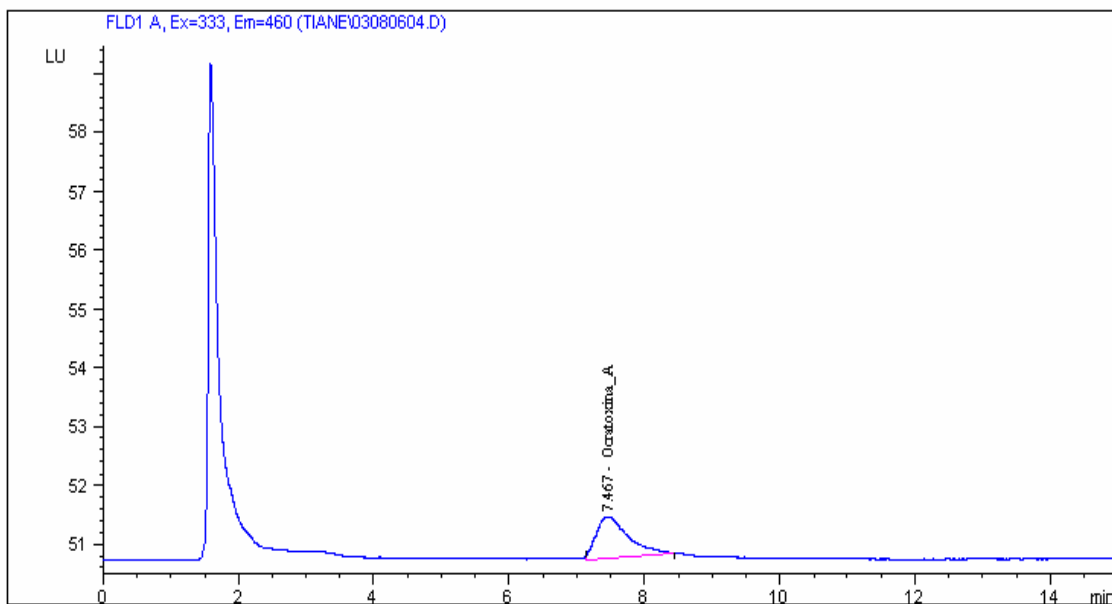


Figura 11 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão 0,75 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de OTA

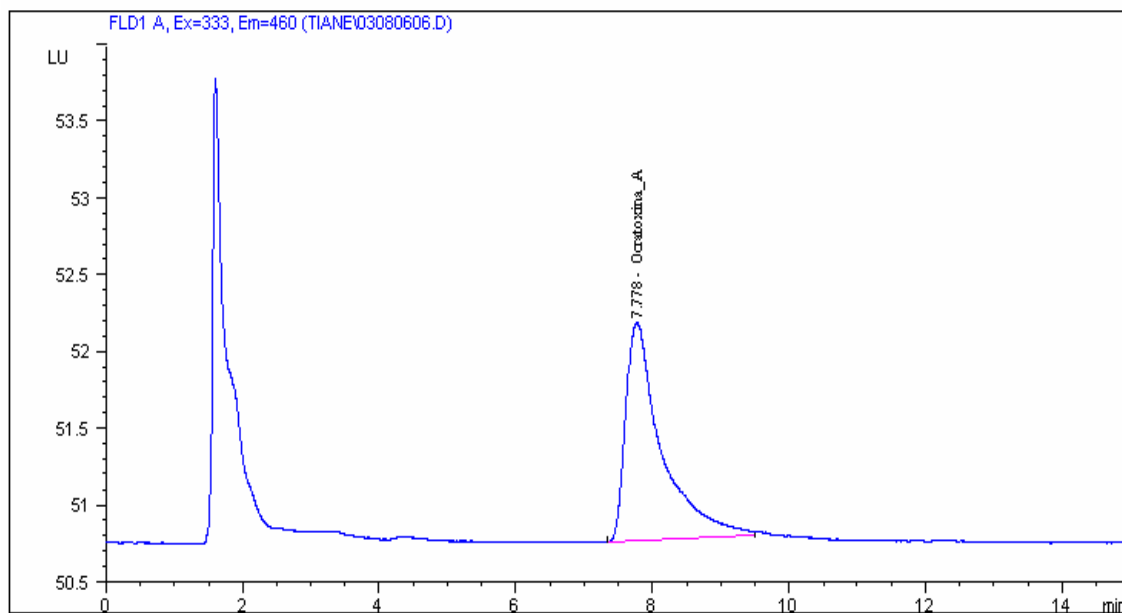


Figura 12 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão 1,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de OTA

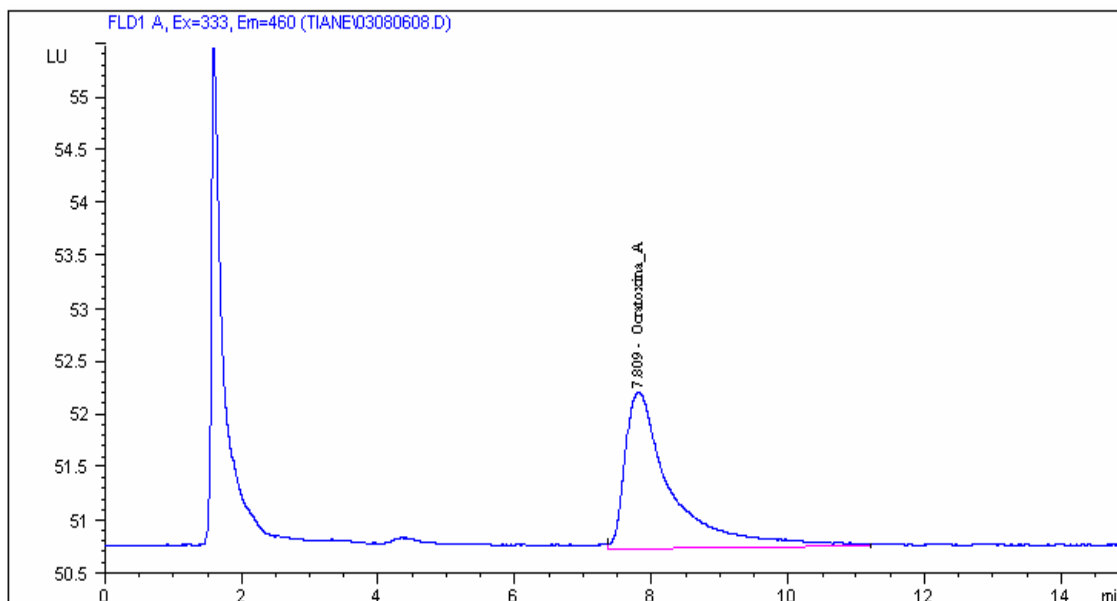


Figura 13 – Cromatograma de uma amostra de vinho adicionado de padrão 3,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de OTA

Estes padrões foram adicionados para confirmar se a OTA possivelmente presente nas amostras dos mostos e vinhos não estaria sendo perdida na coluna de imunoafinidade quando passada nesta.

Nas amostras de vinhos onde foi adicionado padrão de OTA também se pode verificar qual foi a recuperação deste padrão, que foi de aproximadamente 90% do teor de OTA, quando se compara o padrão que é injetado no HPLC diretamente e quando é passado pela IMC (neste caso juntamente com o vinho).

A figura 14 mostra o cromatograma de uma amostra de mosto, sendo que não foi detectada OTA dentro do tempo de retenção quando verificado o padrão no método utilizado.

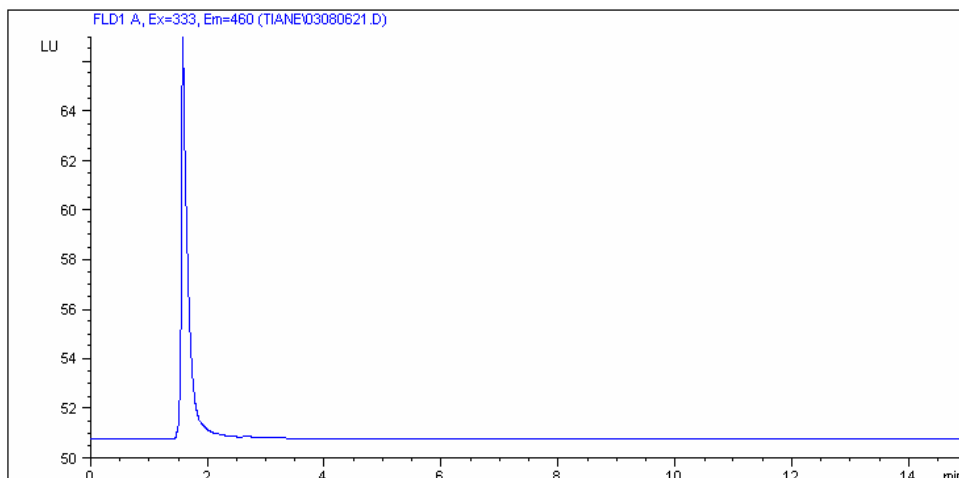


Figura 14 – Cromatograma de uma amostra de mosto negativa para a presença de OTA

Assim como nas amostras de mosto, em todas as amostras de vinhos, de todas as variedades e diferentes tempos de colheitas, a OTA também não foi detectada dentro do tempo de retenção quando verificado o padrão no método utilizado, como mostra a figura 15, de uma das amostras analisadas.

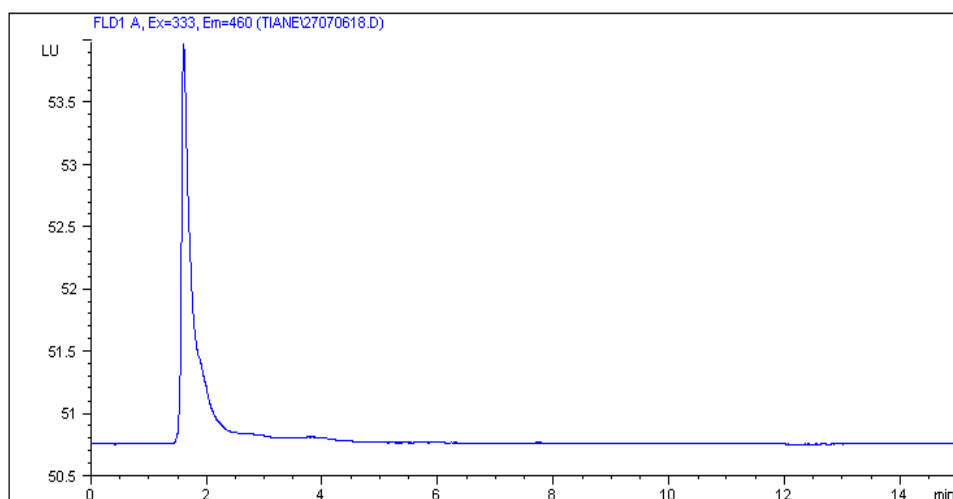


Figura 15 – Cromatograma de uma amostra de vinho negativa para a presença de OTA

As amostras tanto dos mostos quanto dos vinhos tiveram limites não detectáveis de OTA, possivelmente devido a pouca maceração que tiveram, já que sofreram processo de vinificação em branco; portanto estiveram em contato com

suas partes sólidas durante pouco tempo. Segundo Moruno (2002), a toxina encontra-se principalmente nas cascas da uva, estando esta presente mais nos vinhos tintos em relação aos brancos.

Em relação à não detecção de OTA nos mostos e vinhos, Otteneder & Majerus (2000) citam que o suco de uva é mais contaminado que os vinhos, o qual há ausência do processo de fermentação; mas concentrações similares de ocratoxina A foram observadas em suco de uva e vinho tinto, mostrando que a OTA não era degradada durante o processo de vinificação (ZIMMERLI & DICK, 1996). Portanto, se não foi detectado OTA nos mostos analisados, dificilmente seria encontrado nos seus respectivos vinhos.

Além disso, os vinhos sofreram processo de microvinificação, e conforme Ratola *et al.* (2005), observou-se uma forte diminuição da concentração de OTA no vinho do Porto que sofreu processo de microvinificação.

Outro fato da ausência de OTA nos mostos e vinhos analisados pode ser porque os fungos e podridões presentes nas uvas danificadas não eram os fungos causadores e produtores de OTA, pois o fato de que a uva seja ou não atacada por fungos produtores de OTA, depende em grande parte de muitos aspectos dificilmente controláveis.

Em algumas regiões geográficas é raro encontrar *Aspergillus carbonarius*, enquanto que em outras, sua presença é habitual. Por esta razão, recentemente estudos estão analisando a microbiota fúngica habitual no vinhedo a fim de poder estabelecer o risco real de que se produza o desenvolvimento de um fungo produtor de OTA (ROUSSEAU, 2004; SAGE *et al.*, 2004).

Segundo Rosa *et al.* (2002), a diversidade fúngica depende de vários fatores como a variedade de uva, grau de maturação e danos físicos dos grãos, das práticas de viticultura e condições climáticas.

Ainda, Vanderlinde *et al.* (2005) afirmam que nas últimas safras, os vinhos brasileiros, principalmente os brancos não tiveram níveis muito altos de OTA e muitos não atingiram os limites detectáveis de OTA, indicando que a presença de OTA está relacionada diretamente as condições climáticas.

Além do mais, fatores como atividade de água (a_w), temperatura e umidade são importantes para o desenvolvimento fúngico e produção da micotoxina (LILLEHOJ & ELLING, 1983; MAGAN & LACEY, 1988; RAMOS *et al.*, 1998).

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que:

- Não foi possível estabelecer uma relação direta entre a sanidade da uva com o teor de Ocratoxina A dos mostos e dos vinhos provenientes das variedades Gewürztraminer, Chardonnay e Sauvignon Blanc da safra de 2006.
- O teor de Ocratoxina A nos mostos e nos vinhos analisados não foi detectado, mesmo estes sendo microvinificados com uvas de diferentes condições de sanidade, como ataques fúngicos, de insetos, abelhas e vespas.
- Não se pode afirmar qual foi o ponto ideal de colheita da uva em relação ao seu nível de maturação, de sanidade e a composição físico-química do mosto e do vinho, pois todas as uvas encontravam-se em boa maturação.
- Todos os parâmetros físico-químicos analisados nos mostos e vinhos encontraram-se dentro dos limites exigidos pela legislação para a produção de vinhos ideais para consumo, indicando que independente da época de colheita, a uva encontrava-se em seu ponto ideal de maturação.

6 PERSPECTIVAS

Como perspectivas de continuidade deste trabalho, sugerimos que:

- O teor de ocratoxina seja analisado em vinhos de outras safras, uma vez que cada safra é particular, devido as diferentes condições climáticas, bem como utilizar uvas de diferentes regiões geográficas para vinificação, já que a localização dos vinhedos é fator importante na determinação de OTA.
- Uma vez que foi analisado o teor de OTA em vinhos brancos, é relevante que este estudo seja repetido, mas com uvas tintas, pelo fato de serem maceradas com as suas partes sólidas, onde se alojam os fungos e ficam concentradas as micotoxinas produzidas.
- Sabendo-se que os tipos de fungos são indicadores relevantes para a produção de OTA, seria bastante válido, nas próximas safras, isolar e analisar qual é o tipo de fungo que ataca os vinhedos, se são os causadores de ocratoxina ou não.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA M.L.; BRAGULAT M.R.; CASTELLA G.; CABAÑES F.J. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied Environmental Microbiology**. v. 60, p. 2650–2652, 1994.

ABARCA, M.L.; BRAGULAT, M.R.; CASTELLA, G.; ACCENSI, F.; CABAÑES, F.J. New ochratoxigenic species in the genus *Aspergillus*. **Journal of Food Protection**. v. 60, p. 1580-1582, 1997.

BATITILANI, P.; PIETRI, A. Ochratoxin A in grapes and wine. **European Journal of Plants Pathology**. v. 108, p. 639-643, 2002.

BATTILANI, P.; PIETRI, A.; BERTUZZI, T.; LANGUASCO, L.; GIORNI, P.; KOZAKIEWICZ, Z. Occurrence of ochratoxin A – producing fungi in grapes grown in Italy. **Journal of Food Protection**. v. 66, p. 633-636, 2003.

BAU, M.; BRAGULAT, M.R.; ABARCA, M.L.; MINGUEZ, S.; CABAÑES, F.J. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**. v. 98, p. 125-130, 2005.

BELLÍ, N.; MARÍN, S.; DUAIGUES, A.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V. Ochratoxin A in wines, musts and grape juices from Spain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 84, p. 591-594. 2004.

BENNETT, J.W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 16, n. 3, p. 497-516. July 2003.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Lei nº 10.970, de 12 de novembro de 2004. Altera dispositivos da Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e a comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho, e dá outras providências.

CABAÑES, F.J. Micotoxinas emergentes. Introducción. **Revista Iberoamericana de Micología**. v. 17, p. 61-62, 2000.

CAMARGO, V.A. **Uvas do Brasil**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho. Brasília, 1994, 90p.

CASTEGNARO, M.; PLESTINA, R.; DIRHEIMER, G.; CHERNOZEMSKY, I.N.; BARSTCH, H. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. **IARC Scientific Publicatio**. 115 (Lyon: International Agency for Research of Cancer), 1991.

CREPPY, E.E.; BAUDRIMONT, I.; ANNE, M. How aspartame prevents the toxicity of ochratoxin A. **Journal of Toxicological Sciences**. 23 Suplemento. v. 2, p. 165-172, 1998.

DAI, J.; PARK, G.; PERRY, J.L.; IL'ICHEV, Y.; BOW, D.A.; PRITCHARD, J.B.; FAUCET, V.; PFOHL-LESZKOWICZ, A.; MANDERVILLE, R.A.; SIMON, J.D. Molecular aspects of the transport and toxicity of ochratoxin A. **Accounts Of Chemical Research**. v. 37, p. 874-881, 2004.

Diario Oficial de la Unión Europea. Reglamento nº 123/2005 de la Comisión de las Comunidades Europeas, 28/01/2005.

Disponível em: <<http://www.cde.ua.es/cde/doce.htm>> Acesso em: 17 ago 2006.

FERNANDES, A.; VENÂNCIO, A.; MOURA, F.; GARRIDO, J.; CERDEIRA, A. Fate of ochratoxin A during a vinification trial. **Aspects in Applied Biology**. v. 68, p. 73-80, 2003.

FESTAS, I.; HERBERT, P.; SANTOS, L.; CABRAL, M.; BARROS, P.; ALVES, A. Ochratoxin A in some portuguese wines: method validation and screening in Port wine an Vinho Verde. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 51, n. 2, p. 150-154, 2000.

FILALI, A.; OUAMMI, L.; BETBEDER, A.M.; BAUDRIMONT, I.; SOULAYMANI, R.; BENAYADA, A.; CREPPY, E.E. Ochratoxin A in beverages from Morocco: a preliminary survey. **Food Additives and Contaminants**. v. 18, n. 6, p. 565-568, 2001.

FLANZY, C. (Coord.). **Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos**. Ediciones Mundi-Prensa. 1ª ed. 2000, 783p.

FLORES, C.A.; MANDELLI, F.; FALCADE, I.; TONIETTO, J.; SALTON, M.A.; ZANUS, M.C. Vinhos de Pinto Bandeira: características de identidade regional para uma Indicação Geográfica. **Circular Técnica**. n. 55. Dez. 2005.

FRISVAD, J.C. Physiological Criteria and Mycotoxin Production as Aids in Identification of Common Asymmetric Penicillia. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 41, p. 568-579, 1981.

FRISVAD, J.C.; FILTENBORG, O. Classification of terverticillate penicillia based on profiles of mycotoxins and other secondary metabolites. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 46, p. 1301-1310, 1983.

GIOVANNINI, E. **Produção de Uvas**: para vinho, suco e mesa. Editora Renascença. 2ª. Edição, 2005, 368p.

GUERRA, C.C.; MANDELLI, F.; TONIETTO, J.; ZANUS, M.C.; CAMARGO, U.A. **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 48).

GUERRA, C.C.; ZANUS, M.C. **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado** - Maturação e Colheita. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/colheita.htm>>. Acesso em 10 out. 2006.

HIDALGO, L. **Tratado de Viticultura General**. 2 ed Madri: Mundi-Prensa, 1999, 1172p.

HOCKING, A.D.; VARELIS, P.; PITT, J.I.; CAMERON, S.F.; LEONG, S.L.L. Occurrence of ochratoxin A in Australian wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. v. 9, p. 72-78, 2003.

IBRAVIN, **Instituto Brasileiro do Vinho**. 2006: Disponível em <<http://www.ibravin.org.br>>. Acesso em: 20 set. 2006.

JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*). Safety evaluations on certain mycotoxins in food. **WHO Food Additives Series 47**, 2001. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je01.htm>>. Acesso em: 17 ago. 2006.

JELÉN, H.H.; GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J. Volatile Compounds of *Aspergillus* Strains with Different Abilities To Produce Ochratoxin A. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p.1678-1683, 2005.

JOOSTEN, H.M.L.J.; GOETZ, J.; PITTET, A.; SCHELLENBERG, M.; BUCHELI, P. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. **International Journal of Food Microbiology**. v. 65, p. 39-44, 2001.

LARSEN, T.O.; SVENDSEN, A.; SMEDSGAARD, J. Biochemical Characterization of Ochratoxin A-Producing Strains of the Genus *Penicillium*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 67, p. 3630-3635, 2001.

LILLEHOJ, E.S.; ELLING, F. Environmental conditions that facilitate ochratoxin contamination of agricultural commodities. **Acta Agricultural Scand**. v.33, p. 113-128, 1983.

LO CURTO, R.; PELLICANÒ, T.; VILASI, F.; MUNAFÒ, P.; DUGO, G.; Ochratoxin A occurrence in experimental wines in relationship with different pesticide treatments on grapes; **Food Chemistry**. v. 84, p. 71-75, 2003.

MACDONALD, S.; WILSON, P.; BARNES, K.; DAMANT, A.; MASSEY, R.; MORTBY, E.; SHEPHERD, M.J. Ochratoxin A in dried vine fruit: method development and survey. **Food Additives and Contaminants**. v. 16, p. 253-260, 1999.

MAGAN, N.; LACEY, J. Ecological determinants of mould growth in store grain. **International Journal of Food Microbiology**. v. 7, p. 245-256, 1988.

MANDELLI, F. Comportamento Meteorológico e sua Influência na Vindima 2006 na Serra Gaúcha. **Comunicado Técnico**. n. 67. Jul. 2006.

MANDELLI, F.; ZANUS, M.C. **O clima e a safra vitícola**. In: Guerra, C.C.; Mandelli, F.; Tonietto, J.; Zanus, M.C.; Camargo, U.A. Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. p. 31-37 (Documento 48). 2005.

MELLO, L.M.R. de. **Produção e Comercialização de Uvas e Vinhos: Panorama 2004**. Artigos Técnicos. 2005. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama2004-producao.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2006.

MELLO, L.M.R. de. **Produção e Comercialização de Uvas e Vinhos: Panorama 2005**. Artigos Técnicos. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/panorama2005-producao.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2006.

MORUNO, E. G. La determinación de la Ocratoxina A en la uva y en los cultivos de hongos. **Bulletin O.I.V.**; n. 1170. mar. 2002.

MOSS, M.O. Mode of formation of ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**. v. 13, Supplement, p. 5-9, 1996.

O'BRIEN, E.; DIETRICH, D.R. Ochratoxin A: the continuing enigma. **Critical Reviews in Toxicology**. v. 35, p. 33-60. 2005.

Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.). Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. Paris: O. I. V., 1990. 368p.

Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.). Determination de L'Ochratoxine A par colonne d'immunoaffinite, Resolution Oeno 16/2001. Paris, France, 2001.

Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.). Reduction de L'Ochratoxine A dans les Vins, Resolucion CST 1/2002. Paris, France, 2002.

OSPITAL, M. ; CAZABEIL, J.M.; BETBEDER, A.M. ; TRICARD, C.; CREPPY, E.E. ; MEDINA, B. L'ochratoxine A dans les vins. **Office International de la Vigne et du Vin**. Feuillet Bleu 45. 1998.

OTTENEDER, H.; MAJERUS, P. Occurrence of ochratoxin A (OTA) in wines: influence of the type of wine and its geographical origin **Food Additives and Contaminants**. v. 17, n. 9, p.793-798, 2000.

OUGH, C.S.; **Tratado básico de enología**. Zaragoza: Acribia, 1992.

PEYNAUD, E. **Enología practica. Conocimiento y elaboración del vino**. 3ed. Ediciones Madrid: Mundi-Prensa. 1999. 406p.

PETZINGER, E.; WEIDENBACH, A. Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins. **Livestock Production Science**. v. 76, p. 245-250, 2002.

PIETRI, A.; BERTUZZI, T.; PALLARONI, L.; PIVA, G.; Occurrence of ochratoxin A in Italian Wines. **Food Additives and Contaminants**. v. 17, n. 7, p. 647-654, 2001.

PITT, J.I. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 53, p. 266-269, 1987.

RAMOS, A.J.; LABERNIA, N.; MARÍN, S.; SANCHIS, V.; MAGAN, N. Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. **International Journal of Food Microbiology**. v. 44, p. 133-140, 1998.

RATOLA, N., MARTINS, L.; ALVES, A. Ochratoxin A in wines-assessing global uncertainty associated with the results. **Analytica Chimica Acta**. v. 513, p. 319-324, 2004.

RATOLA, N.; ABADE, E.; SIMÕES, T.; VENÂNCIO, A.; ALVES, A. Evolution of ochratoxin A content from must to wine in Port Wine microvinification. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 382, p. 405-411, 2005.

RIBERAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONECHE, B.; LONVAUD, A., **Tratado de Enología. Vol 1. Microbiología del vino. Vinificaciones**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1ed. 2003, 655p.

ROMBALDI, C.V.; BERGAMASQUI, M.; LUCCHETTA, L.; ZANUZO, M.; SILVA, J.A. Produtividade e qualidade de uva, cv. Isabel, em dois sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26, n. 1, 2004.

ROSA, C.A.R.; PALACIOS, V.; COMBINA, M.; FRAGA, M.E.; REKSON, A.O.; MAGNOLI, C.E.; DALCERO, A.M. Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. **Food Additives and Contaminants**. v. 19, n. 4, p. 408-414, 2002.

ROUSSEAU, J. Ochratoxin A in wines; Current knowledge. Second part : Mycotoxins and wine. **Vinidea**. v. 5, p. 1-5, 2004.

SAGE, L.; KRIVOBOK, S.; DELBOS, E.; SEIGLE-MURANDI, F.; CREPPY, E.E. Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 1306-1311, 2002.

SAGE, L.; GARON, D.; SEIGLE-MURANDI, F.; Fungal Microflora and Ochratoxin A risk in French Vineyards. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 5764-5768, 2004.

SATO, G.S. **Panorama da Viticultura no Brasil**. Informações Econômicas, v. 30, n. 11, nov. 2000.

SERRA, R.; ABRUNHOSA, L.; LIMA, N.; VENÂNCIO, A. **Ochratoxin a risk assesment in portuguese wines: A one-year case study**. XXVIIème Congrès

Mondial de la Vigne et du Vin et 82ème Assemblée Générale de l'Office International de la Vigne et du Vin (O.I.V.), Bratislava, 2002.

SERRA, R. **Micoflora das Uvas Portuguesas e seu Potencial para a Contaminação das Uvas com Micotoxinas, com Destaque para a Ocratoxina A.** 2005. 399f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Universidade do Minho, Portugal, 2005.

SHEPHARD, G.S.; FABIANI, A.; STOCKENSTROM, S.; MSHICILELI, N.; SEWRAM, V. Quantitation of ochratoxin A in South African wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 1102-1106, 2003.

SOUFLEROS, E.H.; TRICARD, C.; BOULOUMPASI, E.C. Occurrence of ochratoxin A in Greek wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 83, p. 173-179, 2003.

STEFENAKI, I.; HALD, B.; MANTLE, P.G. Ochratoxin A concentrations in Greek domestic wines and dried vine fruits. **Food Additives and Contaminants**. v. 20, p. 74-83, 2003.

STOEV, S.D.; DJUVINOV, D.; MIRTICHEVA, T.; PAVLOV, D.; MANTLE, P. Studies on some feed additives giving partial protection against ochratoxin A toxicity in chicks. **Toxicology Letters**. v. 135, p. 33-50, 2002.

TATEO, F.; BONONI, M.; LUBIAN, E. Survey on Ochratoxin A in wines. Data concerning the market of table wines in brik; **Bulletin O.I.V.**; v. 73, n. 837-838, p. 772-783, 2000.

TJAMOS, S.E.; ANTONIOU, P.P.; KAZANTZIDOU, A.; ANTONOPOULOS, D.F.; PAPAGEORGIOU, I.; TJAMOS, E.C. *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* in Corinth Raisin and Wine-Producing Vineyards in Greece: Population Composition, Ochratoxin A Production and Chemical Control. **Journal of Phytopathology**. v. 152, p. 250-255, 2004.

UENO, Y.; KAWAMURA, O.; SUGIURA, Y.; HORIGUCHI, K.; NAKAJIMA, M.; YAMAMOTO, K.; SATO, S. Use of monoclonal antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoaffinity column chromatography to determine ochratoxin A in porcine sera, coffee products and toxin-producing fungi. **IARC Scientific Publications**. v. 115, p. 71-75, 1991.

URBANO, G. R.; TANIWAKI, M. H.; LEITAO, M. F.; VICENTINI, M. C. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**. v. 64, p. 1226-1230, 2001.

UVIBRA, UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. **Produção de Uvas, Elaboração de Vinhos e Derivados (1998-2006)**. Disponível em: < <http://www.uvibra.com.br/pdf/comercializacao2000a2005.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2006.

VANDERLINDE, R. ; PEDRUZZI, I. ; DUTRA, S.V. ; ADAMI, L. ; MARCON, A.R. ; BOSCATO, G.M. ; ORLANDIN, A. Ochratoxina A em vinhos e sucos de uva; In: X CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA... **Anais...** Bento Gonçalves-RS, Brasil, 2005. p. 337.

VARGA, J.; RIGÓ, K.; TÉREN, J. Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. **Journal of Food Microbiology**. v. 59, p. 1-7, 2000.

VISCONTI, A.; PASCALE, M.; CENTONZE, G. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 864, p. 89-101, 1999.

VOGT, E.; JACOB, L.; LEMPERLE, E.; WEISS, E. **El vino: obtención, elaboración y análisis**. Zaragoza: Acribia, 1984. 294p.

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 B**. v. 666, p. 85-99, 1995.

ZIMMERLI, B.; DICK, R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. **Food Additives and Contaminants**. v. 13, n. 6, p. 655-668, 1996.

8 ANEXOS

8.1 ANEXO A – Produção de Uvas, Elaboração de Vinhos e Derivados (1998-2006).

PRODUTOS/ANOS	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Uvas Viníferas	45.769.421	58.677.923	74.258.989	49.805.889	47.765.702	43.367.979	62.593.792	70.609.245	56.596.447
Uvas Comuns	267.901.856	368.588.406	447.498.066	386.292.199	426.632.853	339.744.071	516.396.102	422.637.749	367.039.121
Total-Uvas (Kg)	313.671.277	427.266.329	521.757.055	436.098.088	474.398.555	383.112.050	578.989.894	493.246.994	423.635.568
Vinhos Viníferas	33.898.630	45.830.497	56.209.739	34.159.277	31.655.226	23.918.885	42.902.608	45.496.898	32.193.976
Vinhos Comuns	150.814.943	226.520.776	273.025.576	228.932.458	259.645.740	179.280.945	313.962.284	226.037.432	185.075.887
Total-Vinhos (litros)	184.713.573	272.351.273	329.235.315	263.091.735	291.300.966	203.199.830	356.864.892	271.534.330	217.269.863
Derivados	28.597.537	38.954.609	43.681.795	33.486.024	48.646.739	29.156.088	51.923.276	53.502.201	59.512.689
Total de Vinhos e Derivados (litros)	213.311.110	311.305.882	372.917.110	296.577.759	339.947.705	232.355.918	408.788.168	325.036.531	276.782.552

Fonte: UVIBRA - UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA e Secretaria da Agricultura do RS; Bento Gonçalves, 07/2006.

8.2 ANEXO B



RESOLUCION CST 1-2002

REDUCCION DE OCRATOXINA A EN LOS VINOS

LA ASAMBLEA GENERAL,

según propuesta del Comité Científico y Técnico, una vez tomado conocimiento de los datos de la Comisión "Viticultura", del Grupo de expertos "Tecnología del vino", de la Subcomisión "Vino, Nutrición y Salud" y de la "Subcomisión Convencional de los Métodos de Análisis y de Apreciación de los Vinos" relativos a la ocratoxina A,

CONSIDERANDO que esta toxina ha sido objeto de una evaluación toxicológica por parte del Comité mixto de expertos FAO/OMS acerca de los aditivos alimentarios (JECFA) en su 56ª sesión y que ha sido fijada en esa oportunidad una dosis de ingestión semanal tolerable provisoria de 100 ng/kg de peso corporal;

CONSTATANDO que en ciertos casos se observa la presencia de ocratoxina A en numerosos alimentos, incluídas las uvas,

CONSIDERANDO que el desarrollo de las especies de hongos responsables de la presencia de ocratoxina A tiene lugar en las uvas de los viñedos.

PIDE que los contenidos de ocratoxina A en los vinos sean establecidos a un nivel tan bajo como sea tecnológicamente realizable,

DECIDE fijar para los vinos obtenidos a partir de la cosecha 2005 un contenido máximo en ocratoxina A de 2µg/L.

PIDE que sean examinadas desde ahora las condiciones para la reducción de este contenido máximo teniendo en cuenta los datos tecnológicos y toxicológicos para permitir su ulterior revisión.

RECOMIENDA a los Estados miembros que continúen la investigación sobre las medidas de prevención y de protección adecuadas para evitar la formación y el

desarrollo de la ocratoxina A en las uvas de los viñedos, así como sobre las prácticas que deben ponerse en obra para reducir la presencia de esta toxina en las uvas, los vinos y los otros productos derivados de las uvas; continuar las investigaciones en el plano de la toxicología y, en particular, poner en marcha los trabajos científicos apropiados relativos a la matriz vino;

RECOMIENDA que la OIV establezca un código de buenas prácticas vitivinícolas para limitar al máximo la presencia de ocratoxina A en los productos derivados de la viña.

Declaración de Finlandia

“Finlandia lamenta que la Asamblea general no se haya puesto de acuerdo para fijar un límite máximo de dos microgramos de Ocratoxina A por litro en los vinos ya a partir del año 2002.”

8.3 ANEXO C

28.1.2005

ES

Diario Oficial de la Unión Europea

L 25/3

REGLAMENTO (CE) Nº 123/2005 DE LA COMISIÓN

de 26 de enero de 2005

por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 466/2001 con respecto a la ocratoxina A

(Texto pertinente a efectos del EEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Visto el Reglamento (CEE) nº 315/93 del Consejo, de 8 de febrero de 1993, por el que se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios⁽¹⁾, y, en particular, el apartado 3 de su artículo 2,

Considerando lo siguiente:

- (1) El Reglamento (CE) nº 466/2001 de la Comisión⁽²⁾, fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- (2) Con arreglo al Reglamento (CE) nº 466/2001, la Comisión revisará las disposiciones con respecto a la ocratoxina A en las uvas pasas y con vistas a la inclusión de un límite máximo aplicable a la ocratoxina A contenida en el café verde y tostado y los productos a base de café, el vino, la cerveza, el zumo de uva, el cacao y los productos del cacao, y las especias, atendiendo a las investigaciones realizadas y las medidas preventivas aplicadas para reducir la presencia de ocratoxina A en dichos productos.
- (3) El Comité científico de la alimentación humana señaló en su dictamen sobre la ocratoxina A, emitido el 17 de septiembre de 1998, que dicha sustancia es una micotoxina con propiedades carcinógenas, nefrotóxicas, teratógenas, inmunotóxicas y, posiblemente, neurotóxicas. El Comité indicó también que se están realizando nuevos estudios para aclarar los mecanismos implicados en la carcinogenicidad inducida por la ocratoxina A se concluirá como muy tarde a finales de 2004. Cuando se disponga de los resultados completos de la investigación, la Comisión pedirá a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) que actualice el dictamen científico del Comité científico de la alimentación humana en función de los nuevos resultados.
- (4) En el marco de la Directiva 93/5/CEE del Consejo, de 25 de febrero de 1993, relativa a la asistencia a la Comisión por parte de los Estados miembros y a su cooperación en

materia de examen científico de las cuestiones relacionadas con productos alimenticios⁽³⁾, se ha evaluado la ingesta alimenticia de ocratoxina A por parte de la población de la Comunidad. Los cereales y los productos a base de cereales son los que más contribuyen a la exposición a la ocratoxina A. El vino, el café y la cerveza contribuyen significativamente a dicha exposición. Las uvas pasas y el zumo de uva contribuyen de manera importante a la exposición de determinados grupos vulnerables de consumidores, por ejemplo los niños.

- (5) El Reglamento (CE) nº 466/2001 ha fijado el contenido máximo de ocratoxina A para los cereales, los productos a base de cereales y las uvas pasas. El contenido de ocratoxina A en la cerveza está indirectamente controlado, ya que en este producto la ocratoxina A tiene su origen en la presencia de esta micotoxina en la malta, para la que se ha establecido un límite máximo. En consecuencia, no es urgente establecer un límite máximo de ocratoxina A en la cerveza para proteger la salud pública, pero deberá considerarse en el contexto de la revisión prevista.
- (6) En vista de la contribución significativa del vino y el café tostado, así como del café soluble, a la exposición humana a la ocratoxina A, y la del zumo de uva a la exposición de los niños a esta micotoxina, procede fijar, ya en esta fase, límites máximos para estos productos a fin de proteger la salud pública evitando la distribución de productos alimenticios con niveles de contaminación inaceptablemente altos.
- (7) También se ha constatado la presencia de ocratoxina A en las uvas pasas, el cacao y los productos del cacao, las especias y el regaliz. La conveniencia de fijar un contenido máximo de ocratoxina A en estos productos alimenticios, incluido el café verde, así como la revisión de los niveles máximos actuales se estudiarán cuando se disponga de la evaluación de la EFSA sobre los resultados de la investigación relativa a la toxicología de la ocratoxina A.
- (8) Debe modificarse por lo tanto el Reglamento (CE) nº 466/2001 en consecuencia.
- (9) Las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal.

⁽¹⁾ DO L 37 de 13.2.1993, p. 1. Reglamento modificado por el Reglamento (CE) nº 1882/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo (DO L 284 de 31.10.2003, p. 1).

⁽²⁾ DO L 77 de 16.3.2001, p. 1. Reglamento cuya última modificación la constituye el Reglamento (CE) nº 684/2004 (DO L 106 de 15.4.2004, p. 6).

⁽³⁾ DO L 52 de 4.3.1993, p. 18. Directiva modificada por el Reglamento (CE) nº 1882/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo.

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

El Reglamento (CE) nº 466/2001 quedará modificado como sigue:

- 1) La letra b) del apartado 2 del artículo 4, «y 2.2.2» se sustituirá por «2.2.2, 2.2.3, 2.2.4 y 2.2.5».
- 2) El apartado 2 bis del artículo 5, se sustituirá por el texto siguiente:

«2. bis. Sobre la base de una determinación del riesgo actualizada de la ocratoxina A efectuada por la EFSA y teniendo en cuenta las medidas preventivas aplicadas para reducir el contenido de ocratoxina A, la Comisión revisará lo dispuesto en el punto 2.2 de la sección 2 del anexo I para el 30 de junio de 2006 a más tardar. Dicha revisión se referirá en particular al contenido máximo de ocratoxina A de las uvas pasas y el zumo de uva y considerará el establecimiento de un límite máximo de esta micotoxina en el café verde, los frutos secos distintos de las uvas pasas, la cerveza, el cacao y los productos del cacao, los vinos de licor, la carne y los productos cárnicos, las especias y el regaliz.

A tal fin, los Estados miembros y las partes interesadas deberán comunicar cada año a la Comisión los resultados de las investigaciones realizadas y los avances registrados en la aplicación de medidas preventivas para evitar la contaminación por ocratoxina A. La Comisión difundirá estos resultados entre los Estados miembros.».

- 3) El anexo I quedará modificado de conformidad con el anexo del presente Reglamento.

Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor el vigésimo día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de la Unión Europea*.

Se aplicará a partir del 1 de abril de 2005.

El presente Reglamento no se aplicará a los productos comercializados antes del 1 de abril de 2005 de conformidad con las disposiciones aplicables. La carga de la prueba relativa a cuándo se han comercializado los productos recaerá sobre el operador económico de la empresa alimentaria.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, 26 de enero de 2005.

Por la Comisión
Markos KYPRIANOU
Miembro de la Comisión

ANEXO

En el anexo I, sección 2 (Micotoxinas), el punto 2.2 (Ocratoxina A) se sustituirá por el texto siguiente:

Productos	Ocratoxina A: contenido máximo	Método de toma de muestras	Método de análisis de referencia
«2.2. OCRATOXINA A			
2.2.1. Cereales (incluido el arroz y el alforfón) y productos derivados de los mismos			
2.2.1.1. Cereales en grano sin transformar (incluido el arroz sin transformar y el alforfón)	5,0	Directiva 2002/26/CE de la Comisión (*)	Directiva 2002/26/CE
2.2.1.2. Productos derivados de los cereales (incluidos los productos transformados a base de cereales y los cereales en grano destinados al consumo humano directo)	3,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.2. Uvas pasas (pasas de Corinto, sultanas y otras variedades de pasas)	10,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.3. — Café tostado en grano y café tostado molido, con excepción del café soluble	5,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
— Café soluble (café instantáneo)	10,0		
2.2.4. — Vino (tinto, blanco y rosado) (**) y otras bebidas a base de vino y/o mosto de uva (***)	2,0 (***)	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.5. — Zumo de uva, ingredientes de zumo de uva en otras bebidas, incluido el néctar de fruta y el zumo de uva concentrado reconstituido (****)	2,0 (***)	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
— Mosto de uva y mosto de uva concentrado reconstituido, destinados al consumo humano directo (****)	2,0 (***)	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.6. Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (*****)	0,50	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.7. Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales (*****) dirigidos específicamente a los lactantes	0,50	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.8. Café verde, frutos secos distintos de las uvas pasas, cerveza, cacao y productos del cacao, vinos de licor, productos cárnicos, especias y regaliz	—		

(*) DO L 75 de 16.3.2002, p. 38. Directiva cuya última modificación la constituye la Directiva 2004/43/CE (DO L 113 de 20.4.2004, p. 14).

(**) Vinos, incluidos los vinos espumosos, pero excluidos los vinos de licor y los vinos con un grado alcohólico volumétrico no inferior al 15% vol., tal como se definen en el Reglamento (CE) n° 1493/1999 (DO L 179 de 14.7.1999, p. 1), y los vinos de fruta.

(***) Vinos aromatizados, bebidas aromatizadas a base de vino y cócteles aromatizados de productos vitivinícolas, tal como se definen en el Reglamento (CEE) n° 1601/91 del Consejo (DO L 149 de 14.6.1991, p. 1). El contenido máximo de ocratoxina A aplicable a estas bebidas está en función de la proporción de vino y/o mosto de uva presente en el producto acabado.

(****) El contenido máximo se aplica a los productos procedentes de la cosecha de 2005 en adelante.

(*****) Zumos de frutas, incluidos los zumos de frutas a base de concentrado, los zumos de frutas concentrados y el néctar de frutas, tal como se definen en los anexos 1 y 2 de la Directiva 2001/112/CE del Consejo, de 20 de diciembre de 2001, relativa a los zumos de frutas y otros productos similares destinados a la alimentación humana (DO L 10 de 12.1.2002, p. 58), y los productos derivados de la uva.

(******) Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad, tal como se definen en el artículo 1 de la Directiva 96/5/CE de la Comisión, de 16 de febrero de 1996, relativa a los alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (DO L 49 de 28.2.1996, p. 17). Directiva cuya última modificación la constituye la Directiva 2003/13/CE (DO L 41 de 14.2.2003, p. 33).

El contenido máximo relativo a los alimentos elaborados a base de cereales y los alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad se refiere a la materia seca, que se determina con arreglo a lo dispuesto en la Directiva 2002/26/CE.

(******) Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales, tal como se definen en el apartado 2 del artículo 1 de la Directiva 1999/21/CE de la Comisión, de 25 de marzo de 1999, sobre alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales (DO L 91 de 7.4.1999, p. 29).

El contenido máximo relativo a los alimentos dietéticos para usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes se refiere:

— en el caso de la leche y los productos lácteos, a los productos listos para el consumo (comercializados como tales o reconstituidos de acuerdo con las instrucciones del fabricante),

— en el caso de los productos distintos de la leche y los productos lácteos, a la materia seca, que se determina con arreglo a lo dispuesto en la Directiva 2002/26/CE.

9 APÊNDICE

9.1 APÊNDICE A



UVA E VINHO

BENTO GONÇALVES - RS

DADOS METEOROLÓGICOS
ESTAÇÃO AURORA - PINTO BANDEIRA***Fevereiro de 2006***

Coordenadas Geográficas: Latitude- 29° 07' 16" S ; Longitude- 51° 26' 4" W ; Altitude- 725 m

Variável	Temperatura	Temperatura	Temperatura	Umidade	Precipitação
Dia	Máxima	Mínima	Média	do Ar	Pluviométrica
1	31,2	16,8	22,6	70	0,0
2	31,9	18,3	23,8	67	0,0
3	34,5	19,6	25,6	68	0,0
4	34,8	20,8	26,2	51	
5	31,0	20,3	23,4	74	
6	26,3	19,1	21,3	93	8,0
7	25,8	17,2	20,0	69	10,4
8	26,4	14,0	19,0	79	0,0
9	26,1	15,9	20,1	74	0,0
10	25,0	15,9	18,7	68	0,0
11	25,2	13,9	19,1	72	
12	28,9	17,0	21,7	75	
13	26,9	16,8	21,0	77	0,0
14	28,2	17,0	21,7	67	0,0
15	27,3	18,1	21,2	76	0,0
16	22,1	17,9	19,4	95	8,4
17	26,8	17,9	20,9	80	5,6
18	27,4	16,3	21,2	75	
19	27,1	18,1	20,9	82	
20	25,8	18,7	21,2	90	9,0
21	26,9	16,2	20,0	86	15,0
22	27,4	16,9	21,2	65	0,0
23	29,1	16,3	21,6	72	0,0
24	25,0	17,1	19,4	80	2,4
25	17,6	12,8	15,6	91	
26	24,2	15,0	18,2	78	
27	26,6	13,4	19,3	62	13,0
28	30,0	15,2	21,6	55	0,0
MÊS	27,3	16,9	20,9	75	71,8

Obs: A ausência de alguns dados de precipitação, refere-se a sábados, domingos, feriados ou impossibilidade de coleta. A quantidade total ocorrida é a registrada no dia posterior.

Estes dados ainda não se encontram disponíveis ao público.