



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E  
NUTRIÇÃO

RAFAELLY RAIANE SOARES DA SILVA

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA,  
MICOTOXICOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE SUCO DE UVA  
INTEGRAL PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NO  
MUNICÍPIO DE TERESINA-PI, BRASIL**

TERESINA, PI

2020

RAFAELLY RAIANE SOARES DA SILVA

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA,  
MICOTOXICOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE SUCO DE UVA  
INTEGRAL PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NO  
MUNICÍPIO DE TERESINA-PI, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí - UFPI, Nível Mestrado, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Christina Sanches Muratori.

Área: Química, Bioquímica e Qualidade de Alimentos.

TERESINA, PI

2020

RAFAELLY RAIANE SOARES DA SILVA

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA,  
MICOTOXICOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE SUCO DE UVA  
INTEGRAL PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NO  
MUNICÍPIO DE TERESINA-PI, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí - UFPI, Nível Mestrado, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Área: Química, Bioquímica e Qualidade de Alimentos.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca examinadora:

---

Presidente: Profa. Dr.<sup>a</sup> Maria Christina Sanches Muratori

---

1<sup>a</sup> examinadora: Profa.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Stella Regina Arcanjo Medeiros

---

2<sup>a</sup> examinadora: Profa. Dr.<sup>a</sup> Gabriela Almeida de Paula

---

Examinador Suplente: Dr. Márcio dos Santos Rocha

Dedico essa conquista à minha família, em especial meus pais, Márcio e Mirian, e minha irmã Taís. Vocês foram peças fundamentais na construção desse sonho antes mesmo que fosse concretizado. Não teria chegado até aqui sem esse apoio!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ser o grande planejador e realizador de tudo que vivo hoje. Pela força e amparo durante toda essa jornada. Não foi fácil! A Ele seja a glória!

A minha querida orientadora Dra. Maria Christina Sanches Muratori, pelo acolhimento, paciência e conhecimento compartilhado durante toda essa caminhada. Orientação que perpassa as estruturas da UFPI. Foi muito prazeroso está sob seu cuidado!

A toda a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), corpo docente e funcionários pela competência em atender ao seu alunado.

À família NUEPPA, em especial Dr. Márcio Santos Rocha, Me. Aline Marques Monte, Me. Rafael Gomes Abreu Bacelar, Me. João Farias de Sousa Júnior, Dra. Aline Maria Dourado Rodrigues, Me. Lusmarina Rodrigues da Silva, Juliana Alexandre Ianiceli e residentes Eveny Silva de Melo, Karina dos Santos Rodrigues e Marília da Silva Sousa. Palavra nenhuma é capaz de descrever o quanto sou grata pela ajuda de vocês em tudo.

Aos meus colegas de turma do mestrado, em especial, Débora Taís Sampaio da Silva, Thaise Kessiane Teixeira Freitas, Antônio Daniel Saraiva da Costa, Jorgiana Araújo Libânio, Daisy Jacqueline Sousa Silva, Crislany de Moura Costa e Denise Maria Nunes Lopes. A caminhada se tornou mais leve com a companhia de vocês. Ter vocês por perto durante todo esse tempo foram um verdadeiro presente. Vou levá-los por toda a vida.

"Ó profundidade da riqueza, da sabedoria e do conhecimento de Deus! Quão insondáveis são os seus juízos, e quão inescrutáveis os seus caminhos! Pois, quem conheceu a mente do Senhor? Quem se tornou seu conselheiro?"

(Romanos 11.33)

## RESUMO

SILVA, R.R.S. **Qualidade Físico-química, Microbiológica, micotoxicológica e microscópica de suco de uva integral esterilizado disponível no mercado.**

2020. 66 f Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI.

**INTRODUÇÃO:** O suco de uva integral é amplamente comercializado e consumido, devido a uma busca cada vez maior por alimentos mais práticos e compatíveis com um estilo de vida saudável. O objetivo desse trabalho foi verificar a adequação para consumo do suco de uva integral disponível em Teresina, PI. **METODOLOGIA:** Foram realizadas as análises: rotulagem; contagem de coliformes a 45° C; quantificação, isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduriformes; detecção de ocratoxina A; análise da concentração de sólidos solúveis totais (BRIX<sup>o</sup>), acidez total titulável, valores de pH, açúcares totais, redutores e não redutores, vitamina C e presença de sujidades. **RESULTADOS:** As marcas pesquisadas atendem, em geral, aos requisitos obrigatórios da legislação vigente para derivados de uva e vinhos. Entretanto, em uma marca foi verificada expressão que estimula o consumo do produto. Não foi observado crescimento de coliformes a 45° C. As contagens para fungos filamentosos e leveduriformes foram de 2,00 a 2,39 UFC/mL em log<sub>10</sub>. e encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Foram identificados e isolados das amostras as espécies *A. ochraceus*, *A. nigger*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, e *A. oryzae*. As amostras se mostraram em conformidade com a legislação em relação aos parâmetros físico-químicos analisados e em quantidades compatíveis com a literatura de açúcares totais, redutores, não redutores e vitamina C. Foram identificadas a presenças de elemento estranhos ao suco de uva como fragmentos de madeira, fios de plástico, tecido vegetal indicando falhas nas Boas Práticas de fabricação. **CONCLUSÃO:** O consumo de sucos de uva integral é seguro, porém, podem apresentar elementos estranhos ao produto. Portanto, deve haver maior atenção no manejo da sua matéria-prima.

**Palavras-chave:** *vitis vinifera L.*, ocratoxina A, *Aspergillus*, CLAE, sujidades.

## ABSTRACT

SILVA, R.R.S. **Physicochemical, Microbiological, Mycotoxicological and Microscopic Quality of commercially available sterile whole grape juice.** 2020. 66 f Essay (Master's Degree) - Postgraduate Program in Food and Nutrition, Health Science Center, Federal University of Piauí, Teresina, PI.

**INTRODUCTION:** Whole grape juice is widely marketed and consumed due to a growing search for more practical and healthy lifestyle foods. The objective of this work was to verify the suitability for consumption of the whole grape juice available in Teresina, PI. **METHODS:** The following analyzes were performed; labeling; coliform count at 45° C; quantification, isolation and identification of filamentous and yeast fungi; detecção de ocratoxina A; analysis of total soluble solids concentration (BRIX°), total titratable acidity, pH values, total reducing and non-reducing sugars, vitamin C and presence of dirt. **RESULTS:** The brands surveyed generally meet the mandatory requirements of current legislation for food and packaging and grape and wine derivatives. However, in a brand was verified expression that stimulates the consumption of the product. No coliform growth was observed at 45° C. The counts for filamentous and yeast fungi were from 2.00 to 2.39 CFU / mL in log10. and are within the limits established by law. The fungi of the species *A. ochraceus*, *A. nigger*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, and *A. oryzae* were identified and isolated, but the genera *Penicillium* and *Fusarium* were not identified. The samples were in compliance with the legislation regarding the physicochemical parameters analyzed and in amounts compatible with the literature of total, reducing, non-reducing sugars and vitamin C. We identified the presence of elements foreign to grape juice such as wood fragments, plastic threads, plant tissue indicating failures in Good Manufacturing Practices. **CONCLUSION:** Consumption of whole grape juices is safe, but may have foreign elements to the product. Therefore, greater attention should be paid to the handling of your raw material.

**Key words:** *vitis vinifera L.*, ochratoxin A, *Aspergillus*, HPLC, dirt.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Etapas do processo de elaboração do suco de uva adaptado de RIZZON; MENEGUZZO (2007) ..... **18**
- Figura 2.** Estrutura da Ocratoxina A ..... **26**
- Figura 3.** Esquema de inoculação e incubação das cepas do gênero *Aspergillus* spp. nos meios CYA, MEA e CY20S em duas condições de temperaturas (25 °C e 37 °C) ..... **33**
- Figura 4.** Esquema para obtenção de sujidades proposto por Wildman..... **41**
- Figura 5.** Espécies de *Aspergillus ochraceus* (a), *A. nigger* (b), *A. japonicus* (c), *A. oryzae* (d) e *A. fumigatus* (e) isoladas nas amostras das marcas D e F de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI nos meios MEA, CYA 25, CYA 37 e CY20S..... **45**
- Figura 6.** Curva de calibração para Ocratoxina A..... **47**
- Figura 7.** Cromatograma do padrão de ocratoxina A (A), Suco de Uva integral (B) e Suco de Uva integral adicionado com padrão de ocratoxina A (C). ..... **47**
- Figura 8.** Imagens de sujidades identificadas em 100 mL de suco de uva integral comercializadas em Teresina, PI. a1, a2 e a3: hifas; b1, b2 e b3: fragmentos de fios de plástico; c1, c2 e c3: fragmentos de madeira; d1, d2 e d3: tecido vegetal; e1, e2, e3: pedaço de casca de fruta ..... **55**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Micotoxinas com limites máximos permitidos estabelecidos em produtos de uva..... **24**
- Tabela 2.** Parâmetros de rotulagem analisados nas embalagens das amostras de suco de uva integral comercializadas em Teresina, PI.....**30**
- Tabela 3.** Resultados das análises microbiológicas das amostras de sucos de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI..... **43**
- Tabela 4.** Parâmetros físico-químicos das diferentes marcas de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI.....**50**
- Tabela 5.** Sujidades identificadas em 100 mL da amostra de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI..... **54**

## LISTA DE SIGLAS

**OTA** - Ocratoxina A

**AFLA** - Aflatoxinas

**ZON** - zearalenona

**DON** – desoxinivalenol

**FUMO** – fumonisinas

**NUEPPA** - Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamento de Alimentos

**UFPI** - Universidade Federal do Piauí

**RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada

**NMP** - Número mais provável

**LST** - Lauril Sulfato Triptose

**EC** - Escherichia coli

**DRBC** - Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol

**MEA** - Agar Extrato de Malte

**CYA** – Czapek

**CY20S** - Czapek 20% sacarose

**CLAE** - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**HPLC** - High performance liquid chromatography

**CFL** - Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduriformes

**UFC** – Unidades Formadoras de Colônias

**PE** – Pernambuco

**RS** – Rio Grande do Sul

**BPF** - Boas Práticas de Fabricação

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1 Suco de uva integral</b> .....	16
<b>2.4 Fungos filamentosos e leveduriformes</b> .....	21
2.4.1 Fungos produtores de ocratoxina A .....	22
2.4.1.2 Micotoxinas.....	23
2.4.1.3 Ocratoxina A .....	25
<b>2.5. Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ)</b> .....	26
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	28
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	28
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
<b>4.1. Amostras</b> .....	29
<b>4.2. Coleta das amostras e delineamento experimental</b> .....	29
<b>4.3 Análise de Rotulagem</b> .....	29
<b>4.4. Métodos Microbiológicos</b> .....	31
4.4.1. Preparo das amostras.....	31
4.4.4. Enumeração de Coliformes a 45 °C .....	32
4.4.2. Contagem de fungos filamentosos e leveduriformes.....	32
4.4.3 Isolamento e Identificação Fúngica .....	32
<b>4.5 Detecção e quantificação de OTA por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> .....	34
4.5.1 Preparo da curva analítica .....	34
4.5.2 Extração e purificação dos extratos .....	34
4.5.3. Teste <i>in vitro</i> sobre a produção de Ocratoxina A .....	35

<b>4.6 Avaliação da qualidade físico-química do suco</b> .....	36
4.6.1. Determinação dos sólidos solúveis (BRIX <sup>o</sup> ) .....	36
4.6.2. Determinação do pH .....	37
4.6.3 Determinação da acidez total titulável.....	37
4.6.4. Determinação de açúcares totais, redutores e não redutores.....	38
4.6.5. Determinação da Vitamina C (método de Tillmans).....	39
<b>4.7 Determinação de sujidades leves pelo método da flutuação em óleo (frasco armadilha de Wildman)</b> .....	40
<b>4.8 Análise Estatística</b> .....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>5.1 Rotulagem</b> .....	42
<b>5.2 Enumeração de coliformes a 45°C</b> .....	42
<b>5.3 Contagem de fungos filamentosos e leveduriformes</b> .....	44
<b>5.4 Isolamento e identificação fúngica</b> .....	44
<b>5.5. Detecção e quantificação de OTA por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> .....	47
5.5.1 Curva analítica de calibração de Ocratoxina A .....	47
5.5.2. Detecção da OTA.....	48
5.5.3. Teste <i>in vitro</i> sobre a produção de Ocratoxina A .....	49
<b>5.6 Avaliação da qualidade físico-química do suco de uva integral</b> .....	49
<b>5.7 Determinação de sujidades leves no suco de uva</b> .....	54
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	60

## 1. INTRODUÇÃO

O suco de uva integral vem sendo bastante valorizado pelo consumidor brasileiro, uma vez que, sendo referido frequentemente como um produto que tem elevado valor nutricional. Seu consumo tem sido associado a proteção cardiovascular devido a seu conteúdo em compostos fenólicos, como antocianinas e resveratrol, que atuam no processo aterosclerótico como antioxidantes, prevenindo a formação de placas de ateroma que bloqueiam a passagem da corrente sanguínea nos vasos sanguíneos (SINGH et al, 2016; SILVA et al, 2018).

Em resposta a uma busca por produtos mais saudáveis, a produção, no Brasil, de suco de uvas vem ganhando destaque no mercado de bebidas. O percentual do fruto transformado em suco teve um aumento consideravelmente, sendo o principal produto a base de uva exportado pelo país. O Instituto Brasileiro de Vinho (IBRAVIN) informou que no primeiro semestre de 2018, houve um aumento de 34,12% na comercialização do suco de uva pronto para o consumo, quando comparado com o mesmo período em 2017 (CARMO et al, 2014; BRASIL, 2019).

Devido à busca cada vez maior por essa bebida, surge a preocupação com a sua qualidade em todos os aspectos. Nesse sentido, o suco de uva bem como os demais derivados da uva, têm sido alvo de inúmeros perigos que podem prejudicar à saúde do consumidor. Dentre eles, podem ser citadas as micotoxinas, contaminantes que podem ocorrer nas uvas nas diversas etapas da produção e estocagem, podendo causar sérios problemas para a saúde humana. A ocorrência dessas substâncias nocivas se deve a presença de fungos toxigênicos que consigam se multiplicam nos alimentos (YUSEFI et al, 2018).

A produção das micotoxinas está relacionada a vários fatores, dentre eles: aspectos fisiológicos e genotípicos do fungo micotoxigênico, fatores intrínsecos ao fruto, tais como: umidade, temperatura, atividade de água e pH e aos fatores extrínsecos relativos ao ambiente de produção e de estocagem. A OTA, principal toxina presente nas uvas e seus derivados, possui ocorrência significativa em alimentos ao redor do mundo, e está associada à nefropatias e câncer (KATSURAYAMA; TANIWAKI, 2017; PATERSON, 2019).

É importante ressaltar que além da preocupação micotoxicológica com o produto, a manutenção da qualidade dos alimentos no que diz respeito à presença de sujidades ou matérias estranhas também deve ser considerada, já que estas além de sinalizarem falhas nas boas práticas de fabricação, podem representar perigo à saúde do consumidor. Outros aspectos como parâmetros físico-químicos também são bons indicadores da qualidade de alimentos, pois são frequentemente utilizados por indústrias, laboratórios e órgãos governamentais para constatarem algum tipo de falha no produto (LOPES et al 2017).

Quanto ao aspecto microbiológico, um dos fatores que pode contribuir para a contaminação em frutas e seus derivados, como sucos, é a presença de células injuriadas e a perda de componentes celulares durante as operações de processamento. O tipo e a espécie, bem como o nível microbiano nos produtos variam de acordo com a fruta, as práticas de cultivo, as condições higiênicas durante o manuseio e processamento, a temperatura de armazenamento, entre outros (SMANIOTO et al, 2009).

Em decorrência da expansão do consumo do suco de uva e da importância em oferecer produto seguro ao consumidor, torna-se necessária a avaliação da qualidade microbiológica, micotoxicológica e outros aspectos como a presença de sujidades que possam oferecer riscos à saúde humana e a qualidade do produto medida por parâmetros físico-químicos. Portanto, com este estudo objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica, micotoxicológica, microscópica e físico-químicas de sucos de uva integrais pronto para o consumo comercializados no município de Teresina, PI.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Suco de uva integral

A uva, fruto da videira (*vitis vinifera L.*), considerada uma das frutas mais cultivadas e consumidas mundialmente, é rica em compostos com atividade antioxidante. O fruto integral (película, bago e sementes) contém fitoquímicos, dentre eles, estilbenos, ácidos fenólicos e flavonoides. Dentre os nutrientes mais relevantes na uva, se destacam os polifenóis (resveratrol, antocianinas, catequinas e outros) que possuem efeitos cardioprotetores, anticarcinogênicos, preventivo para distúrbios nervosos e cerebrais, artrites e outras doenças (SINGH et al, 2016).

Estes fitoquímicos também estão presentes nos produtos e subprodutos de uva, sendo o suco o produto mais consumido como substituto da fruta em natureza. O vinho contém álcool e pode não ser uma opção para uma grande parte dos consumidores devido à idade, intolerâncias, alergias e restrições religiosas (TOSCANO, 2017).

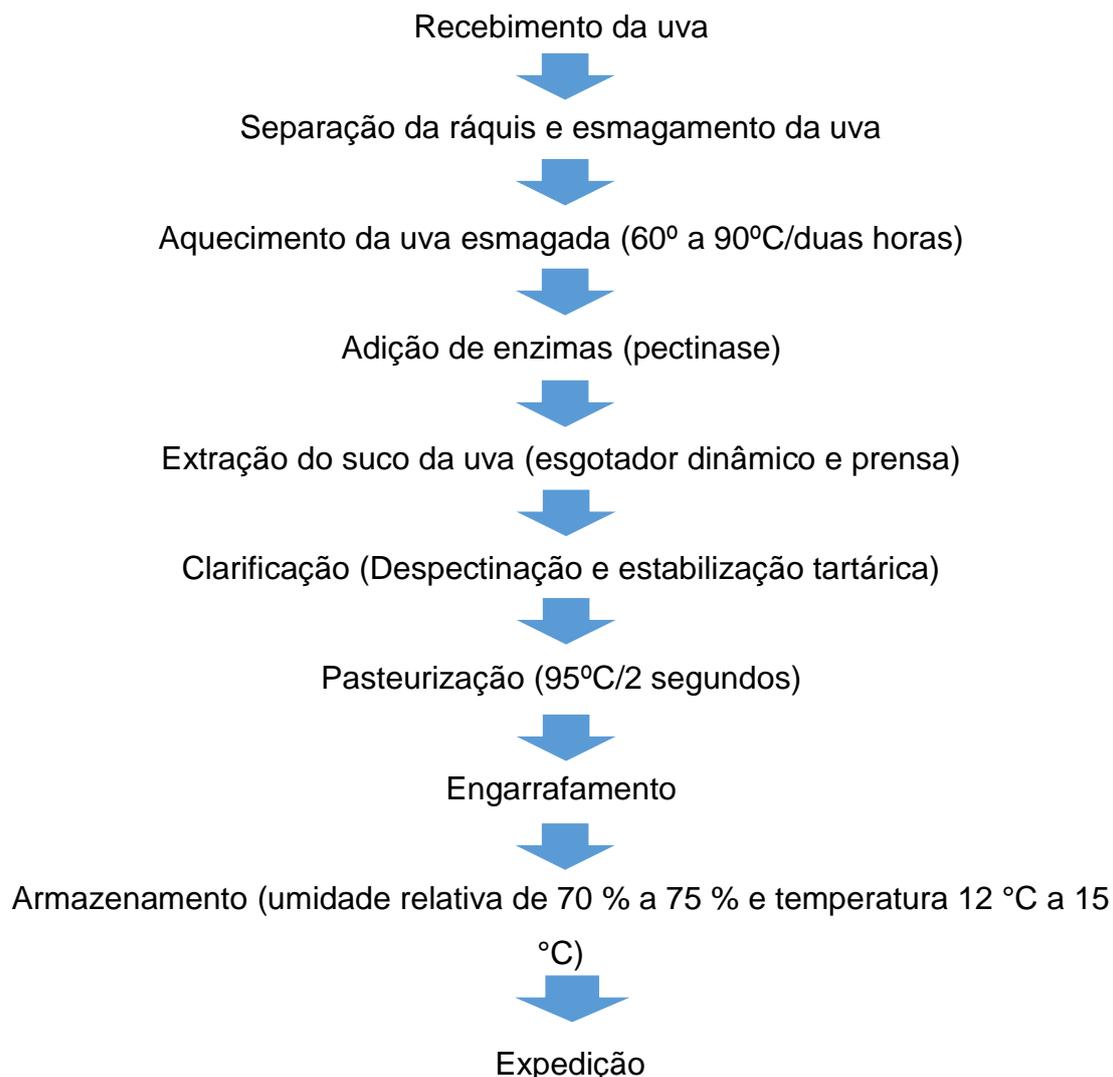
Embora o suco de uva apresente uma grande quantidade de compostos fenólicos, este não possui a mesma quantidade que o fruto. Esses compostos podem variar dependendo da espécie, cultivar, maturidade, condições climáticas e os tratamentos que a uva é submetida no processo de produção do suco. Algumas condições influenciam significativamente nisso, como o tempo de contato entre as partes sólidas da uva e o suco, o método utilizado para a extração, tratamento térmico e prensagem. O uso de altas temperaturas durante a extração, pasteurização e estocagem pode ocasionar perdas na quantidade desses compostos devido à degradação de antocianinas (PINTO, 2011).

Além disso, o armazenamento pode modificar o aroma, cor e sabor do suco de uva devido à redução na concentração de antocianinas monoméricas e formação de pigmentos poliméricos por meio de reações de condensação direta entre antocianinas e flavonóis e a polimerização das próprias antocianinas (MALACRIDA; MOTTA, 2005).

De acordo com a legislação brasileira, “o suco da uva é a bebida não fermentada, obtida do mosto simples, sulfitado ou concentrado, de uva sã, fresca

e madura”. Já a designação integral “é privativa do suco sem adição de açúcares, corantes ou aromas, e na sua concentração natural. A legislação ainda reforça a diferença entre a definição de suco 100% integral e suco 100%, sendo a este último permitida a adição de corantes ou aromatizantes, podendo ser adoçado e reconstituído com adição de água (BRASIL, 2018).

A forma mais frequente do processamento do suco de uva está resumida no fluxograma apresentado na Figura 1. De um modo geral, as uvas são recebidas em na empresa para avaliação das características higiênico-sanitárias, características sensoriais e teor de açúcar. Depois, é realizado a separação da ráquis e esmagamento da uva realizado com auxílio de uma desengaçadeira-esmagadeira, onde irá se obter o mosto que vai ser transformado em suco. Em seguida, é realizado o aquecimento entre 65 a 90°C até duas horas, adição de enzimas pectinases, extração do suco em esgotador dinâmico e prensa, a clarificação mediante despectinação e estabilização tartárica, pasteurização sob temperatura de 95° por dois segundos, engarrafamento e armazenamento em local em local seco, umidade relativa de 70 % a 75 %, com temperatura controlada de 12 °C a 15 °C e pôr fim a expedição do produto final (RIZZON; MENEGUZZO 2007).



**Figura 1.** Etapas do processo de elaboração do suco de uva adaptado de RIZZON; MENEGUZZO (2007).

O suco da uva apresenta semelhança em relação ao fruto, diferindo na quantidade de fibra bruta e óleo encontradas na semente (CHAVES, 2014). A tecnologia de preparo, em relação a temperatura e tempo de extração, regula parâmetros como a solubilidade e intensidade da difusão dos compostos, da casca ao mosto. Esse é um ponto fundamental que influencia na composição química e na classe do produto (RIZZON; MANFROI; MENEGUZZO, 1998).

A composição da uva e a delicadeza de sua casca, favorecem que fungos filamentosos e leveduriformes consigam se desenvolver nos fruto (CHAVES, 2014), por serem capazes de produzir pectinase acessam a polpa, com isso, alteram a qualidade sensorial e microbiológica da uva e de seus derivados.

Tendo em vista a obtenção de produto com a menor contaminação possível, torna-se necessário estudar e controlar fatores e condições que favoreçam a proliferação a contaminação fúngica.

## **2.2 Rotulagem**

Os rótulos são elementos de comunicação entre o produto e o consumidor, e tem por objetivo auxiliá-lo na sua decisão de compra e, conseqüentemente, aumentar a eficiência do mercado e o bem-estar de quem adquire o produto (CAVADA et al, 2012). Por esse motivo, é importante que existam legislações para regulamentar o padrão de identidade, a qualidade e a normatização da rotulagem dos produtos embalados (SMITH; ALMEIDA-MURADIAN, 2011).

A legislação brasileira na área de alimentos é regida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (FERRAREZI et al, 2010). A ANVISA considera “rótulo” como toda inscrição que estiver apresentada na embalagem de um alimento, seja ela legenda, imagem, matéria descritiva ou gráfica, que esteja escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo, litografada ou colada sobre a embalagem de um alimento (BRASIL, 2002).

A RDC nº 259/2002 determina que os alimentos embalados não devem conter em seus rótulos descrições que utilizem vocábulos, sinais, denominações, símbolos, emblemas, ilustrações ou quaisquer representações gráficas que tornem a informação falsa, incorreta, ou induzam o consumidor a erro, confusão ou engano, em relação à procedência e natureza, composição, tipo, qualidade, quantidade, validade, rendimento ou forma de uso do alimento (GARCIA; CARVALHO, 2011).

De modo específico, os sucos devem obedecer à legislação, atendendo aos critérios de definição, classificação, registro, padronização e requisitos de qualidade, devendo também atender à legislação sobre rotulagem geral de alimentos embalados. Todas essas informações consideram, dentre outros, a necessidade de aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, e desse modo, conferindo proteção à saúde do consumidor (BRASIL, 2002). E para produtos derivados da uva e do vinho, temos que a legislação

também define os itens que devem constar no rótulo a fim de regulamentar a sua produção, circulação e comercialização (BRASIL, 2014).

Uma vez que a legislação define os itens obrigatórios que devem constar nas embalagens de forma geral e para produtos derivados da uva, torna-se necessária a verificação da conformidade dos elementos contidos nesses produtos em relação às suas normatizações vigentes.

### **2.3 Padrões Microbiológicos da Uva**

A qualidade microbiológica dos alimentos deve ser assegurada para garantir que a saúde do consumidor seja preservada, e para isso qualquer risco inerente ao seu consumo deve ser eliminado ou reduzido. As Boas Práticas de Fabricação são ferramentas que devem ser implementadas nos processos produtivos de Indústrias de Alimentos a fim de garantir a qualidade (BRASIL, 2002b).

Verifica-se um maior risco ao consumo de alimentos industrializados quando comparado aos preparados para serem consumidos imediatamente, uma vez que a eles são preconizados prazos de validade e são embalados na ausência do consumidor. Portanto, é importante investigar a qualidade microbiológica desses produtos em relação aos seus padrões microbiológicos estabelecidos por órgãos e agências reguladoras oficiais (GUERRA et al, 2019).

Devido ao aumento do consumo de alimentos prontos para o consumo, diversos agravos relacionados a contaminação desses alimentos por micro-organismos patogênicos podem surgir, como as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Essas podem ser identificadas quando, após a ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos patogênicos e suas toxinas, são manifestados sintomas semelhantes em uma ou mais pessoas. Os surtos têm sido relacionados à ingestão de alimentos com características organolépticas intactas, pois a dose infectante de patógenos alimentares geralmente é menor que a quantidade de micro-organismos necessária para alterar essas características (SOUZA et al, 2018).

Coliformes totais (ou a 37°C) e coliformes termotolerantes (ou a 45°C) são considerados como padrões microbiológicos relevantes para a verificação da qualidade higiênica de alimentos em geral e de suco de uva. Os coliformes totais

compõem o grupo das bactérias Gram-negativas, cuja principal característica é fermentação da lactose a 35 a 37°C com produção de ácido e gás. Já os coliformes termotolerantes conseguem fermentar a lactose até 45°C com produção de ácido e gás (FUNASA, 2013).

A RDC nº 12/2001 coliformes regulamenta parâmetros microbiológicos para alimentos e estabelece que o padrão máximo para coliformes a 45°C em amostras de sucos e refrescos seja  $10^2$  unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL) (BRASIL, 2001).

De um modo geral, a maior parte da população microbiana é isolada na superfície externa da fruta, portanto, é necessário observar criteriosamente as BPF durante a higienização da matéria prima. Esse cuidado reduz a contaminação microbiana nas demais etapas do processamento dos sucos, (SALES, 2016). Desse modo, é importante conhecer fatores microbiológicos associados à uva, de forma que orientem boas práticas de manejo para minimizar a contaminação por micro-organismos patógenos, garantindo aos consumidores um produto com qualidade sanitária satisfatória e que, ao mesmo tempo, assegurem às exigências da legislação vigente.

## **2.4 Fungos filamentosos e leveduriformes**

Os fungos são organismos decompositores, mutualistas ou patógenos, que participam de forma fundamental no ciclo de nutrientes, possuem ampla distribuição e diversidade em todos os ecossistemas. Os fungos relatados no Brasil estão distribuídos em 13 filos, 102 ordens, 1.246 gêneros e 5.719 espécies (MAIA et al. 2015).

A sua identificação por gênero é realizada pela observação das características macromorfológicas das colônias como, textura, cor superfície, pigmento difusível no meio de cultura, e velocidade de crescimento. Também são utilizadas para classificação estruturas microscópicas, dentre elas, as hifas que são classificadas quanto ao formato e disposição no substrato. As hifas podem ser hialinas ou demácias, septadas ou cenocíticas. A formação e aspectos externos dos conídios também são utilizados como parâmetro para análise microscópica (PILTA et al, 2014).

Os fungos filamentosos são capazes de se desenvolver em diversas condições ambientais em substratos variados, requerem oxigênio para suas diversas atividades metabólicas e geralmente produzem conídios. Possuem metabolismo secundário capaz de produzir diversas substâncias, os fungos micotoxigênicos, são capazes de produzir micotoxinas que têm efeitos mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos (RAWAT, 2015). Dentre as micotoxinas, destacam-se a aflatoxina, ocratoxina, patulina e citrinina.

#### 2.4.1 Fungos produtores de ocratoxina A

##### 2.4.1.1. *Aspergillus sp*

Os fungos do gênero *Aspergillus* são amplamente distribuídos na natureza em solos, ar, bioaerossóis, matéria orgânica em decomposição, em animais, plantas, habitats de água doce e salgada, e ainda, ambientes domésticos, água potável e poeira. Quanto à sua estrutura, são produtores de conídios assexuados que são facilmente difundidos no ar, sendo extremamente resistentes ao estresse e fatores ambientais. Esse micro-organismos deterioram uma grande variedade de frutas e outros alimentos que são preservados por secagem ou altas concentrações de sal ou açúcar, geram anualmente perdas econômicas consideráveis aos seus países produtores (HUBKA et al, 2013).

Além de estarem relacionadas a deterioração de alimentos, as espécies do gênero *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger* e *A. terreus* também estão associadas a ocorrência de aspergiloses (PAULUSSEN et al, 2016). Espécies de *Aspergillus* também estão associadas a micotoxicoses, causadas pela ingestão de micotoxinas em alimentos. Essas toxinas possuem estruturas químicas de baixo peso molecular estão agrupadas conforme o grau e tipo de toxicidade. As principais micotoxinas são: aflatoxinas (AFLA), ocratoxina A (OTA), zearalenona (ZON), desoxinivalenol (DON) e fumonisinas (FUMO) (IAMANAKA et al., 2010).

#### 2.4.1.2 Micotoxinas

Micotoxinas, do grego *Mykes* (fungo) e do latim *toxicum* (veneno), podem ser definidas como metabólitos secundários, biossintetizados e excretados por meio de um conjunto de vias metabólicas, não essenciais para o crescimento e sobrevivência do organismo, e que apresentam grau variado de toxicidade. São produzidas por diferentes fungos como dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (SANTOS et al, 2014).

A maior ocorrência se dá em produtos agrícolas, e calcula-se que cerca de 25% de toda a produção no mundo estejam contaminadas por essas substâncias. Sendo assim, os produtos agrícolas são propensos a colonização por fungos durante o crescimento da cultura, colheita, transporte ou armazenamento. A colonização do vegetal por uma dada linhagem fúngica pode vir a produzir toxinas que afetam a saúde do consumidor através de sua toxicidade aguda ou crônica, dependendo do nível e frequência da exposição. (UDOVIČKI et al, 2018).

A exposição a essas substâncias pode ocorrer de forma direta pela ingestão de alimentos vegetais, ou indireta pelo consumo de alimentos de origem animal, quando consomem ração contaminada. Uma vez ingeridos, são capazes de causar degeneração na capacidade de órgãos vitais do organismo, devido a sua propriedade neurotóxicas e à sua capacidade de interferir em processos como síntese proteica levando a efeitos diversos como sensibilidade ou necrose da pele até a uma extrema imunodeficiência (PRADO, 2017).

A proporção dos efeitos adversos das micotoxinas na saúde depende da extensão da exposição, incluindo dosagem e período, tipo, estado fisiológico e nutricional, bem como possíveis efeitos sinérgicos de outros produtos envolvidos no processo (LIEW; MOHD-REDZWAN, 2018).

Em relação aos fatores que levam à produção de micotoxinas pelos fungos, não existe um consenso, uma vez que nem toda a espécie é capaz de produzi-las. Entretanto, é preciso adotar métodos a fim de prevenir seu crescimento em alimentos (SANTOS et al, 2014).

As micotoxinas já foram encontradas em quase todos os tipos de produtos alimentícios tanto de origem animal quanto vegetal, em especial, uvas e seus

derivados. A micotoxina mais relatada nesses alimentos é a ocratoxina A, entretanto, também podem ser encontradas outros tipos, sendo possível estabelecer seus limites máximos em alguns países (Tabela 1) (WELKE et al, 2019).

**Tabela 1.** Micotoxinas com limites máximos permitidos estabelecidos em produtos de uva.

<b>Micotoxina</b>	<b>Produtos</b>	<b>Limite (<math>\mu\text{g kg}^{-1}</math>)</b>	<b>País</b>
Ocratoxina A	suco de uva e vinho	2,0	União Europeia
Ocratoxina A	suco de uva	2,0	Indonésia
Ocratoxina A	vinho	2,0	China
Ocratoxina A	vinhos e seus derivados	2,0	Brasil
Ocratoxina A	suco e polpa de uva	2,0	Brasil
Aflatoxina B <sub>1</sub>	vinhos especiais produzidos a partir de uvas desidratadas	2,0	União Europeia
Aflatoxina B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> e G <sub>2</sub>	vinhos especiais produzidos a partir de uvas desidratadas	4,0	União Europeia
Patulina	suco de uva	50,0	China e União Europeia

Fonte: Welke (2019)

Para que haja a presença de micotoxina em um alimento, é necessário que em alguma etapa da cadeia produtiva as condições sejam favoráveis tanto ao desenvolvimento do fungo toxigênico que pode ocorrer antes ou após a colheita (TANIWAKI, 2018).

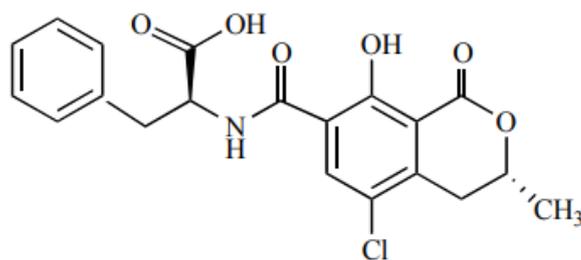
A Ocratoxina A (OTA) pode ter efeito tóxico aditivo ou sinérgico nos consumidores, aumentando, desse modo, o potencial toxigênico da micotoxina (GONÇALVES et al, 2013). Dentre as 15 espécies da estirpe de *A. seção Nigri*, quatro são produtoras de ocratoxina A: *A. carbonarius*, *A. niger sensu stricto*, *A. lacticoffeatus* e *A. sclerotioniger* (IAMANAKA et al. 2010). Neste contexto, a *A. carbonarius* está mais relacionada a produção da ocratoxina A em uvas (WELKE et al, 2019).

O solo e remanescentes da videira são as principais fontes ambientais de *A. carbonarius* e *A. niger* produtores de OTA. Conídios desses fungos foram encontrados em amostras de ar mais próximas do solo contaminavam os cachos de uva devido ação do vento (PATERSON et al 2018). Ressaltando a necessidade de observar as boas práticas agrícolas após a colheita como forma de prevenção da multiplicação fúngica nas uvas.

#### 2.4.1.3 Ocratoxina A

A Ocratoxina é um grupo de micotoxinas que compartilham uma porção de isocumarina substituída por um grupo fenilalanina, um grupo éster de fenilalanina ou um grupo hidroxila. A ocratoxina A (OTA) (Figura 1) é o mais significativo membro do grupo devido à sua incidência em alimentos. É produzida pelas espécies fúngicas *Aspergillus* e *Penicillium* principalmente por *A. ochraceus*, *A. carbonarius* e *P. verrucosum*. A OTA encontrada em alimentos pode ser acompanhada pelo seu análogo não clorado, a ocratoxina B que tem menor toxicidade (UDOVICKI et al, 2018).

Esses dois gêneros que podem estar presentes na uva em natureza necessitam de diferentes condições para multiplicação e produção de micotoxina, portanto, fatores que inibiriam um deles não interfeririam no desenvolvimento do outro. Além disso, mudanças no clima, tais como aumento da umidade ambiente por precipitações pluviométricas e redução da temperatura favorecem a maior multiplicação fúngica e produção de micotoxina. No sul da Europa, onde se encontra a maior produção de vinho no mundo, a contaminação por OTA em uvas e vinho, tem gerado impactos graves na saúde e economia (KHOURY et al, 2018).



**Figura 2.** Estrutura da Ocratoxina A.

**Fonte:** Paterson et al (2018)

Os cereais são os alimentos mais contaminados por OTA, o segundo lugar é ocupado pelas uvas e seus subprodutos. De um modo geral, a presença de OTA em uvas passa, suco da uva e vinho é o resultado da contaminação micotoxina da superfície do fruto, que pode ocorrer antes e após o período da colheita (YUSEFI et al, 2018).

Entretanto, o ponto mais crítico em relação à contaminação do suco de uva por OTA ocorre durante o processo de maceração, devido ao contato com a casca permite a migração da toxina para o mosto. Deste modo, os níveis desta micotoxina são mais elevados em produtos tintos, onde há a necessidade desse procedimento com contato com a sua casca (WELKE, 2019).

Devido aos seus efeitos tóxicos, a Comissão Europeia definiu níveis máximos de concentração de OTA de 2,0 µg / kg para vinho e suco de uva (KHOURY et al, 2018; PATERSON et al, 2018). Dada sua incidência em uvas e seus derivados, é evidente a necessidade da análise de ocratoxina A, uma vez que, essa micotoxina pode trazer efeitos graves para a saúde do consumidor, bem como prejuízos de ordem econômica.

## 2.5. Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ)

O Decreto lei nº 986, de 21 de Outubro de 1969 define como Padrão de Identidade e Qualidade o estabelecido pelo órgão competente do Ministério da Saúde dispendo sobre a denominação, definição e composição de alimentos, matérias-primas alimentares, alimentos in natura e aditivos intencionais, fixando requisitos de higiene, normas de envasamento e rotulagem medidos de amostragem e análise (BRASIL, 1969).

A harmonização dos Padrões de Identidade e Qualidade de alimentos, a nível mundial, é realizada pelo *Codex Alimentarius* cujo objetivo é proteger a saúde do consumidor e encorajar práticas mais justas no mercado internacional. A função do referido código, além disso, é coordenar todos os trabalhos de padrões de alimentos feitos por organizações governamentais e não-governamentais. Embora seus documentos sejam de aplicação voluntária pelos membros do *Codex Alimentarius*, eles são utilizados em muitos casos como referências para a legislação nacional dos países (BRASIL, 2016; SMITH, 2010).

Para isso, foram aprovados Regulamentos Técnicos por órgãos governamentais, no âmbito federal, estadual e municipal, visando fixar padrões por meio de um conjunto de atributos que identificam e qualificam cada produto na área de alimentos. A ANVISA coordena o Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos – PNMQSA (GARCIA, 2005; BRASIL, 2016).

Para regulamentação de atributos de Identidade e Qualidade de Vinho e Derivados da Uva e do Vinho, a Instrução Normativa nº14, de 08 de fevereiro de 2018, estabelece a complementação dos padrões desses produtos comercializados em todo o território nacional, produzidos no Brasil e importados. Essa lei cita, dentre outros parâmetros a serem avaliados: sólidos solúveis, °Brix, a 20°C e Acidez total, mEq/L (pH 8,2) (BRASIL, 2018).

Tendo em vista um relevante consumo de bebidas industrializadas, sobretudo de sucos integrais de uva e a importância da segurança do consumidor, deve-se verificar a padronização desses produtos em relação aos parâmetros de qualidade definidos na legislação.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Verificar a adequação para consumo do suco de uva integral comercializado no município de Teresina, PI.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Verificar se a rotulagem das embalagens de suco de uva estava em conformidade com a legislação;
- Realizar a contagem de coliformes a 45°C;
- Quantificar, Isolar e identificar os fungos filamentosos e leveduriformes em suco de uva integral pronto para o consumo
- Avaliar a presença de ocratoxina A em sucos de uva integrais pronto para consumo;
- Verificar a padronização do suco de uva integral pela análise da concentração de sólidos solúveis totais (BRIX<sup>0</sup>), acidez total titulável, valores de pH, açúcares totais, redutores e não redutores e vitamina C;
- Avaliar a presença de matérias estranhas em sucos de uva integrais pronto para o consumo.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Amostras**

Inicialmente realizou-se uma pesquisa nas cinco principais redes de supermercados em Teresina, PI para realizar um levantamento das marcas de suco industrializado de uva integral comercializadas nesses estabelecimentos. Constatou-se que 25 marcas de suco de uva eram expostas a venda, sendo que seis delas eram comercializadas em todos os supermercados pesquisados.

Na próxima etapa, um supermercado foi escolhido randomicamente para aquisição das amostras de suco de uva. Os critérios de inclusão das marcas para amostragem foram: disponibilidade em todos os supermercados e envasadas em embalagens de vidro com 500 mL ou 1.000 L de suco de uva.

### **4.2. Coleta das amostras e delineamento experimental**

Após os critérios de escolha do local e das marcas a serem amostradas, foram coletadas amostras de seis marcas de suco (denominadas com as letras “A”, “B”, “C”, “D”, “E” e “F”) adquiridas no supermercado sorteado. Deste modo, o delineamento experimental foi casualizado, com seis tratamentos, representados por marcas de suco de uva integral, e seis repetições, totalizando 36 unidades experimentais.

Após aquisição, as amostras eram transportadas até o Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos e Laboratório de Controle Físico-químico de Alimentos pertencentes ao Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamento de Alimentos (NUEPPA), da Universidade Federal do Piauí (UFPI) onde foram realizadas as análises.

### **4.3 Análise de Rotulagem**

Os rótulos das seis marcas de suco de uva integral foram comparados com as legislações em vigor: Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014 (BRASIL, 2014) para produtos derivados da uva e RDC nº 259, de 20 DE

setembro de 2002 para alimentos embalados (BRASIL, 2002). Após aquisição, as amostras foram analisadas verificando os elementos oficiais de rotulagem nutricional (Tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros de rotulagem analisados nas embalagens das amostras de suco de uva integral comercializadas em Teresina, PI.

<b>Legislação</b>	<b>Elementos de rotulagem analisados</b>
BRASIL, 2014	<p>I - Nome empresarial do produtor ou elaborador, do padronizador, do envasilhador ou engarrafador, ou do importador;</p> <p>II - O endereço do estabelecimento produtor ou elaborador, do padronizador, do envasilhador ou engarrafador, ou do importador;</p> <p>III - A classificação do estabelecimento de industrialização com relação à atividade;</p> <p>IV - O número de registro do produto no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ou o número de registro do estabelecimento importador, quando produto importado;</p> <p>V - A denominação e a classificação do produto;</p> <p>VI - Marca comercial;</p> <p>VII - Ingredientes</p> <p>VIII - Expressão indústria brasileira, por extenso ou abreviada, quando for o caso;</p> <p>IX - O conteúdo, expresso na unidade correspondente, de acordo com as normas específicas;</p> <p>X – a graduação alcoólica, expressa em porcentagem de volume alcoólico, quando bebida alcoólica;</p> <p>XI - o grau de concentração e a forma de diluição, quando se tratar de produto concentrado;</p> <p>XII - o grau de concentração acética, em porcentagem, quando se tratar de vinagre;</p> <p>XIII - a identificação do lote ou da partida;</p> <p>XIV - o prazo de validade; e</p> <p>XV - frase de advertência, conforme estabelecido em legislação específica.</p>

---

BRASIL, 2002	<p>a) Não utilize vocábulos, sinais, denominações, símbolos, emblemas, ilustrações ou outras representações gráficas que possam tornar a informação falsa, incorreta, insuficiente, ou que possa induzir o consumidor a equívoco, erro, confusão ou engano, em relação à verdadeira natureza, composição, procedência, tipo, qualidade, quantidade, validade, rendimento ou forma de uso do alimento;</p> <p>b) Não atribuir efeitos ou propriedades que não possuam ou não possam ser demonstradas;</p> <p>c) Destaque a presença ou ausência de componentes que sejam intrínsecos ou próprios de alimentos de igual natureza, exceto nos casos previstos em Regulamentos Técnicos específicos;</p> <p>d) Ressalte, em certos tipos de alimentos processados, a presença de componentes que sejam adicionados como ingredientes em todos os alimentos com tecnologia de fabricação semelhante;</p> <p>e) Ressalte qualidades que possam induzir a engano com relação a reais ou supostas propriedades terapêuticas que alguns componentes ou ingredientes tenham ou possam ter quando consumidos em quantidades diferentes daquelas que se encontram no alimento ou quando consumidos sob forma farmacêutica;</p> <p>f) Indique que o alimento possui propriedades medicinais ou terapêuticas;</p> <p>g) Aconselhe seu consumo como estimulante, para melhorar a saúde, para prevenir doenças ou com ação curativa.</p>
-----------------	--

---

#### **4.4. Métodos Microbiológicos**

##### **4.4.1. Preparo das amostras**

De cada unidade amostral foi transferida assepticamente 25 mL das amostras de suco de uva para um frasco com 225 mL contendo água peptonada a 0,1% esterilizada que formou a diluição inicial ( $10^{-1}$ ). A partir desta, foram feitas diluições seriadas até  $10^{-3}$ .

#### 4.4.4. Enumeração de Coliformes a 45 °C

Para enumeração de coliformes foi utilizado a metodologia conforme APHA (2015) onde os tubos múltiplos foram expressos em número mais provável (NMP). Em cada amostra, foram transferidas alíquotas de 1,0 mL das diluições previamente preparadas para tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), que foram incubados em estufa a 37°C por 48 horas. Para confirmação, os resultados positivos foram transferidos para tubos com caldo EC, incubados em banho-maria a 45 °C por 24 h. Os tubos que apresentaram turvação e gás foram considerados positivos e o resultado foi interpretado em tabela própria para o método, expresso em NMP/mL.

#### 4.4.2. Contagem de fungos filamentosos e leveduriformes

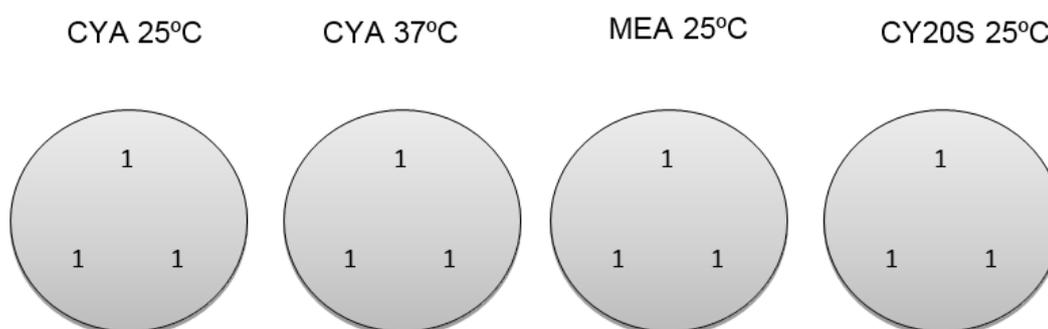
A contagem de fungos filamentosos em unidades formadoras de colônias por mililitro de suco de uva integral foi realizada segundo metodologia de diluição decimal seriada em placas, conforme Pitt e Hocking (2009).

Foram transferidas alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  em duplicata para placa de Petri para semear em superfície no meio de cultivo Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) segundo metodologia de King et al. (1979), com auxílio de alça de Drigalski esterilizada. As placas com DRBC foram incubadas a 25°C por sete dias em estufas microbiológicas. Após esse tempo, todas as placas ficaram sob observação, sendo selecionadas para contagem aquelas que tiverem de 10 a 100 UFC.g<sup>-1</sup> (DALCERO et al., 1997; DALCERO et al., 1998).

#### 4.4.3 Isolamento e Identificação Fúngica

A identificação do gênero das colônias foi feita conforme metodologia de Samson et al. (2000) de acordo com suas características macro e microscópicas. As colônias fúngicas identificadas como *Aspergillus* foram cultivadas em tubos inclinados contendo Agar Extrato de Malte (MEA).

Em seguida, essas colônias fúngicas foram identificadas utilizando as chaves de identificação descritas por Klich (2002) baseada na semeadura padrão em três meios básicos (Figura 3): Ágar Extrato de Levedura Czapek (CYA); Ágar Extrato de Levedura Czapek 20% sacarose (CY20S); Ágar Extrato de Malte (MEA). O inóculo das cepas isoladas foi preparado em microtubos previamente esterilizados.



**Fonte:** KLICH (2002) adaptado por ALVES 2014

**Figura 3** - Esquema de inoculação e incubação das cepas do gênero *Aspergillus* spp. nos meios CYA, MEA e CY20S em duas condições de temperaturas (25 °C e 37 °C).

Preparou-se uma suspensão de conídios em 0,5 mL de meio ágar semissólido constituído de 0,2% de ágar-ágar e 0,05% de Tween®80. A suspensão de conídios foi inoculada por meio de alça de platina em forma de agulha em placas de Petri contendo os meios de cultivo. A agulha foi introduzida na suspensão e o inóculo distribuído em três pontos equidistantes nas placas com os diferentes meios.

Após a inoculação, as placas foram incubadas a 25°C durante sete dias. Transcorrido período de incubação, para identificar as espécies, foram observadas suas estruturas micromorfológicas, bem como as características macroscópicas das colônias (diâmetro, textura, forma, aspecto da superfície e

do reverso, pigmentação dos conídios e pigmento solúvel, produção e cor de exsudado).

#### **4.5 Detecção e quantificação de OTA por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

##### 4.5.1 Preparo da curva analítica

A solução trabalho foi preparada a partir do padrão analítico para ocratoxina A (Ref. 060M404-1 Sigma Aldrich do Brasil) nas concentrações de 20; 50; 100 e 150 µg/Kg, usando acetonitrila grau HPLC como solvente de diluição.

A detecção da ocratoxina A foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se um cromatógrafo SHIMADZU®, modelo PROMINENCE com detector de fluorescência modelo RF 10AXL SUPER. A coluna utilizada foi Kromasil C18 com partículas de 5,0 µm e 100 Å e dimensões de 150 x 4,6 mm, de acordo com a metodologia proposta por (Scudamore et al, 2003).

A fase móvel utilizada foi acetonitrila: água: ácido acético (57: 41: 2 v/v/v) a uma vazão de 1,0mL/min. A fluorescência de derivados de ocratoxina foi gravada em comprimentos de onda de excitação e emissão de  $\lambda$  330 nm e 440 nm  $\lambda$ , respectivamente. A curva padrão foi construída em diferentes níveis de OTA. Esta toxina foi quantificada pela correlação das alturas dos picos do extrato da amostra com o da curva padrão. O limite de detecção do método analítico foi de 0,02 ng.g<sup>-1</sup> e o limite de quantificação foi estabelecido como sendo três vezes o limite de detecção (0,06 ng.g<sup>-1</sup>).

##### 4.5.2 Extração e purificação dos extratos

A extração e purificação dos extratos foram realizadas conforme Soares e Rodriguez-Amaya (1989) e modificada por Teixeira et al. (2008). Foram utilizados 25,0 mL da amostra de suco de uva integral, a qual foi adicionada 70,0

mL de metanol e 10,0 mL de solução de cloreto de potássio 4,0%. Em seguida a amostra foi submetida à agitação em liquidificador doméstico por cinco minutos. Após a homogeneização foi adicionado 75,0 mL de solução clarificante (sulfato de amônio 30%) e 7,5 g de celite. Posteriormente, a amostra foi submetida novamente a agitação por cinco minutos, seguido de repouso de 20 minutos. Em seguida, o extrato resultante foi filtrado com auxílio de papel de filtro de celulose Whatman n° 4 (Whatman, Inc., Clifton, New Jersey, E.U.A.).

Do filtrado retirou-se uma alíquota de 50 mL para um frasco tipo Becker, seguida de adição de 50 mL de água destilada, essa mistura foi transferida para um balão de decantação com capacidade para 500 mL, ao qual adicionou-se 20 mL de clorofórmio, em seguida foi feita agitação manualmente por cinco minutos. Decorrido esse tempo, a torneira do balão foi aberta para retirada do líquido decantado que foi recolhido para um frasco tipo Erlenmeyer com capacidade para 50 mL. Depois, foram adicionados 20 mL de clorofórmio ao balão e feita mais uma agitação manual com posterior retirada do líquido decantado.

Sequencialmente, o solvente foi evaporado em banho-maria a 60 °C por 15 minutos. O extrato seco resultante foi suspenso em 1,0 mL de clorofórmio e depois homogeneizado em agitador tipo Vórtex. Em seguida, a suspensão foi acondicionada em frasco âmbar com capacidade de 4,0 mL para posterior evaporação do solvente em capela de fluxo laminar. O extrato seco resultante foi armazenado em freezer doméstico (-18°C) até o momento da análise de OTA.

Em seguida, a amostra foi ressuspensa em 1,0 mL de acetonitrila com agitação no vórtex durante 30 segundos para seguir com a detecção da ocratoxina A. A detecção da micotoxina nas amostras foram realizadas nas mesmas condições da curva analítica.

#### 4.5.3. Teste *in vitro* sobre a produção de Ocratoxina A

A produção de Ocratoxina A foi determinada a partir de colônias fúngicas da espécie *Aspergillus ochraceus* e *A. nigger* desenvolvidas em placas de MEA a 25°C por sete dias. Decorrido o período de crescimento das colônias, realizou-se uma colheita do micélio mediante uma alça de semeadura em três extremidades do fungo crescido. Em seguida, as partes coletadas foram

transferidas para um microtubo tipo ependorff contendo 0,5 mL de ágar semissólido que foram agitadas em microcentrífuga de bancada (NOVA Mod: NI 1801) por 15 minutos a 3.000 rpm. A mistura foi levada o banho-maria a 60°C até evaporação do extrato. O extrato seco foi ressuspenso em acetonitrila para detecção em CLAE.

A detecção da ocratoxina A foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se um cromatógrafo SHIMADZU®, modelo PROMINENCE com detector de fluorescência modelo RF 10AXL SUPER. A coluna utilizada será Kromasil C18 com partículas de 5,0 µm e 100 Å e dimensões de 150 x 4,6 mm, de acordo com a metodologia proposta por (SCUDAMORE et al, 2003).

A fase móvel utilizada foi acetonitrila: água: ácido acético (57: 41: 2 v/v/v) a uma vazão de 1,0mL/min. A fluorescência de derivados de ocratoxina foi gravada em comprimentos de onda de excitação e emissão de  $\lambda$  330 nm e 440 nm  $\lambda$ , respectivamente. A curva padrão foi construída em diferentes níveis de OTA. Esta toxina foi quantificada pela correlação das alturas dos picos do extrato da amostra com o da curva padrão. O limite de detecção do método analítico foi de 0,02 ng.g<sup>-1</sup> e o limite de quantificação foi estabelecido como sendo três vezes o limite de detecção (0,06 ng.g<sup>-1</sup>).

#### **4.6 Avaliação da qualidade físico-química do suco**

A avaliação da qualidade das amostras de suco de uva integral foi realizada mediante verificação das características físico-químicas: sólidos solúveis totais (°Brix), pH, acidez total titulável, açúcares totais, redutores e não-redutores, e vitamina C.

##### **4.6.1. Determinação dos sólidos solúveis (BRIX°)**

Utilizando-se um conta-gotas foram transferidas duas gotas da amostra para os prismas do refratômetro de bancada modelo Abbe. Após um minuto a leitura foi feita diretamente na escala em grau BRIX° do aparelho. Entre cada

amostra de suco o prisma do refratômetro foi limpo com água destilada e papel toalha (ITAL, 2008). O valor obtido foi comparado com o da legislação vigente para sucos.

#### 4.6.2. Determinação do pH

Inicialmente, foi realizada a calibração do potenciômetro MPA210p (Technopon) com as soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0. Em seguida colocou-se 10 mL da amostra em 100mL de água destilada em um frasco tipo béquer, e o conteúdo agitado até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. O eletrodo foi inserido e a leitura foi feita para comparação com a legislação vigente (ITAL, 2008).

#### 4.6.3 Determinação da acidez total titulável

Transferiu-se 10 mL da amostra para um frasco tipo Erlenmeyer. Completou-se até 100 mL com água destilada, livre de dióxido de carbono, previamente neutralizada. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rosa usando 2 a 3 gotas de fenolftaleína como indicador (ITAL, 2008). Em seguida prosseguiu-se o cálculo para determinação do parâmetro com a fórmula:

$$Att = \frac{n \times N \times Eq}{10 \times V}$$

Att: Acidez total titulável

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio.

n = volume da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação em mL

V = volume da amostra em mL

Eq = equivalente-grama do ácido

#### 4.6.4. Determinação de açúcares totais, redutores e não redutores

Primeiramente, transferiu-se 20 mL da amostra para um balão volumétrico, adicionou-se 1,5 mL da solução de acetato de chumbo saturada e o volume completado para 100 mL com água destilada. Em seguida, a solução foi filtrada e adicionado sulfato de sódio previamente seco, para precipitar o excesso de acetato de chumbo, o que formou a solução 1.

Para a análise de açúcares totais transferiu-se 50 mL da solução 1 para um frasco tipo béquer com capacidade para 100 mL que foi previamente acidulado com ácido clorídrico concentrado (1,0 mL). Depois, a solução foi fervida por oito minutos. Após esfriar, neutralizou-se a solução adição da solução de NaOH a 10% até mudança da coloração. A solução foi transferida para o balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água destilada, dando origem a solução 2.

Para titulação com a solução de Fehling, Transferiu-se 90 mL de água destilada para um frasco tipo Erlenmeyer com capacidade para 250 mL e depois acrescentou-se 5,0 mL da solução de Fehling A e 5,0 mL da solução de Fehling B. A solução de Fehling preparada foi aquecida até a ebulição, sendo em seguida titulada utilizando a solução 1 para açúcares redutores acrescida com duas gotas de azul de metileno a 1,0% até viragem da cor para vermelho tijolo. Em seguida, procedeu-se a titulação da solução utilizando a solução 2 para açúcares totais, usando duas gotas de azul de metileno a 1,0%, com a viragem da cor para vermelho tijolo. O volume gasto na titulação foi anotado para efetuar o cálculo, com as equações:

Para açúcares totais (AT):

$$AT = \frac{100 \times A \times a}{P \times V} = \text{açúcares totais em \% p/p}$$

Onde:

A = nº de mL da solução;

a = nº de glicose correspondente a 10 mL de Fehling A e B;

P = nº em g da amostra

V = nº de mL da solução da amostra gasto na titulação

Para açúcares redutores (AR):

$$AR = \frac{100 \times A \times a}{P \times V} = \text{glicídios redutores em \% p/p}$$

Para açúcares não redutores (ANR):

$$ANR = AT - AR$$

Onde:

ANR = Açúcar não redutor

AT = Açúcar total

AR = Açúcar redutor

#### 4.6.5. Determinação da Vitamina C (método de Tillmans)

A análise de determinação da vitamina C pelo método de Tillmans, foi realizada segundo metodologia de Ranganna (1986). Primeiramente, transferiu-se com uma pipeta 2,5 mL da amostra de suco de uva integral para um balão volumétrico e utilizou-se solução de ácido oxálico a 3,0% até completar o volume de 100 mL. Em seguida, a solução foi filtrada em papel filtro Whatman nº 4 (Whatman, Inc., Clifton, New Jersey, E.U.A.). Em seguida transferiu-se 5,0 mL dessa solução para um frasco tipo Erlenmeyer e depois acrescentou-se 5,0 mL da solução do ácido oxálico a 3,0%. Logo após, foi realizada titulação com o corante 2,6 – diclorofenolindofenol (DFI) e o valor gasto na titulação foi anotado para composição dos cálculos para os valores de vitamina C, com a fórmula abaixo:

$$\text{Vitamina C} = \frac{V \times F \times 100 \times 100}{A \times n}$$

V = volume da solução de Tillmans gasto na titulação

F = fator da solução de Tillmans

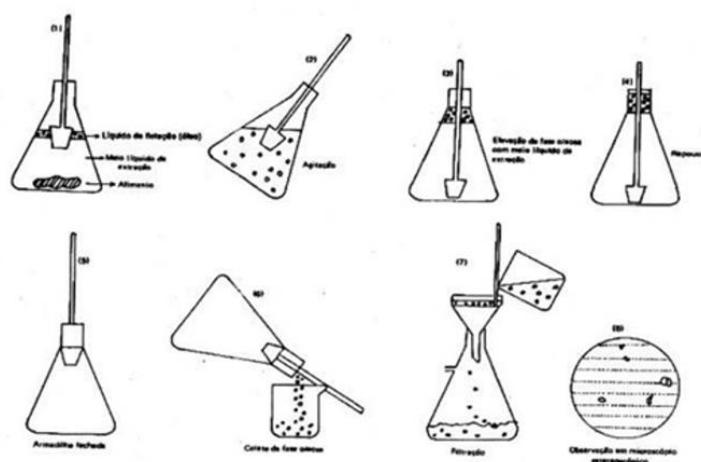
A = mL da amostra utilizada

n = volume de ácido oxálico

#### **4.7 Determinação de sujidades leves pelo método da flutuação em óleo (frasco armadilha de Wildman)**

Para determinação de sujidades leves foi utilizado o método da flutuação em óleo conforme metodologia de Kramer e Twigg (1970), onde, adicionou-se 100 mL da amostra de suco de uva no frasco armadilha de Wildman. Em seguida, adicionou-se 35 mL de querosene e misturou-se utilizando o próprio agitador do frasco. A essa mistura foi adicionada água destilada aquecida ( $\pm 50^{\circ}\text{C}$ ) e agitou-se bem o agitador para cima e para baixo durante dois minutos. Completou-se o volume do frasco até quase o gargalo com água aquecida e adicionada água aquecida vagorosamente pela parede do frasco para evitar a formação de bolas de ar. O frasco foi deixado em repouso durante 30 minutos, agitando-o ocasionalmente.

Com auxílio do agitador as bolhas de óleo foram raspadas da parede do frasco. Quando foi observada a separação das fases, adicionou-se água quente, vagorosamente, elevando o querosene até o gargalo do frasco. Posteriormente, levantou-se o agitador vagorosamente até a parte inferior da camada do querosene e fechou-se a abertura do frasco (Figura 4). A fase oleosa foi transferida para um frasco tipo béquer e o conteúdo da armadilha de Wildman foi descartado. A solução coletada do béquer foi filtrada, com auxílio de papel filtro qualitativo. Logo após a filtragem o papel foi removido e colocado em placa de Petri para observação no microscópio estereoscópico. Os materiais estranhos foram isolados do papel filtro com auxílio de uma pinça e foram montadas lâminas do material suspeito utilizando água glicerinada e observadas no microscópio ótico.



**Figura 4:** Esquema para obtenção de sujidades proposto por Wildman.

**Fonte:** BARBIERI (2001) apud Villela (2004)

#### 4.8 Análise Estatística

Os dados das contagens de fungos filamentosos e leveduras e enumeração de coliformes a 45°C foram transformados em  $\log_{10}^{(x+1)}$ , os demais resultados foram utilizados sem transformação logarítmica. Foi utilizado o teste da normalidade e em seguida a análise de variância pelo método de Kruskal-Wallis e depois as médias foram compradas pelo teste de Tukey utilizando-se o pacote estatístico SigmaStat® v.3,5 (Systat Software, San Jose, CA, 2005) com significância de mínima  $< 0,05$ .

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Rotulagem**

De um modo geral, os rótulos das marcas analisadas estavam em conformidade com as legislações vigentes (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2002). Entretanto, o rótulo da marca E apresentou inconformidade referente ao item “g” (BRASIL; 2002) por estimular o consumo por ser saudável, nutritivo e saboroso, com consequente melhoria da saúde.

Apesar de contribuir e fazer parte de uma alimentação saudável, o suco de uva, assim como qualquer outro alimento por si só não é capaz de ter ação curativa sobre uma doença específica ou sobre o estado de saúde de um indivíduo. Dentro dessa temática, podemos incluir a alegação de propriedade funcional que um dado nutriente possui amparado pela legislação e com base em comprovação científica. Caso o alimento possua tal alegação, deve ser devidamente registrada no rótulo do produto a frase comprovando tal informação com base na recomendação diária recomendada pelo fabricante (SILVA et al, 2016). Sendo assim, a uva, bem como seus nutrientes não possuem alegação de propriedade funcional, não sendo correto o estímulo do seu consumo no rótulo do produto.

Como um intermediário entre o consumidor e o produto, o rótulo deve trazer com clareza e objetividade em suas informações. Sendo assim, qualquer informação desnecessária ou em desacordo com a legislação pode ocasionar dificuldade em adquirir o produto e assim influenciar na economia e na saúde do consumidor. Segundo dados do Ministério da Saúde metade das pessoas que costumam ler os rótulos dos alimentos que consomem não compreendem adequadamente o significado destas informações (CAVADA et al, 2012).

### **5.2 Enumeração de coliformes a 45°C**

Nas amostras analisadas não ocorreu desenvolvimento de coliformes a 45 °C (Tabela 3). Os valores apresentados nesse estudo estão em conformidade com

a legislação para esse parâmetro, sendo que a resolução RDC ANVISA nº 12, de 2 de janeiro de 2001 determina a ausência em sucos prontos para consumo (BRASIL 2001). Sendo assim, por ser um índice higienicossanitário, pode-se sugerir que as etapas de obtenção dos sucos foram eficientes a garantia de valores aceitáveis desse parâmetro microbiológico.

Grande parte da microbiota das frutas se encontra na casca, mantendo seu interior livre de contaminação, a não ser que haja alguma fissura na sua parte externa. A presença de coliformes em alimentos processados é indicador de contaminação pós-processamento, o que comprova práticas de higiene inadequadas e falta de padronização no seu preparo (SALES et al, 2016). A contaminação dos sucos por coliformes pode ocorrer por falhas nas boas práticas de fabricação durante o processamento, pela presença dos micro-organismos nas mãos dos manipuladores e na superfície da matéria-prima migram para o interior da fruta. Desse modo, é necessário a observação de condições adequadas de higiene durante sua manipulação para que não ocorra contaminação e multiplicação desses micro-organismos.

**Tabela 3.** Resultados das análises microbiológicas das amostras de sucos de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI.

Marcas pesquisadas	Coliformes a 45°C (NMP/mL)	CFL (UFC/mL)*	Espécie fúngica isolada
			<i>Aspergillus</i>
A	<0,3	2,00 <sup>b</sup> ± 1,08	-
B	<0,3	2,09 <sup>ab</sup> ±	-
		0,91	
C	<0,3	2,00 <sup>b</sup> ±	-
		1,04	
D	<0,3	2,18 <sup>ab</sup> ±	<i>A. ochraceus</i>
		0,99	
E	<0,3	2,09 <sup>ab</sup> ± 0,33	- <i>A. nigger,</i>

			<i>A. fumigatus, A. japonicus, A.</i>
F	<0,3	2,39 <sup>a</sup> ± 0,18	<i>oryzae</i>

\*(P= 0,013) NMP/mL = Número Mais Provável de coliformes a 45°C por mililitro; CFL (UFC/mL) = Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduriformes em unidades formadoras de colônias por mililitro expressos em logaritmo de base 10.

### 5.3 Contagem de fungos filamentosos e leveduriformes

Moubasher et al (2018), relataram contaminação elevada de fungos nas cascas de uvas do que em seus sucos. Pode-se observar contaminação fúngica em todas as amostras analisadas (Tabela 3) com diferenças entre marcas, porém todas possuíam quantidades que estavam em conformidade com a legislação vigente (BRASIL, 2001). A contagem de fungos filamentosos se dá em maior parte na uva, do que em seus derivados como sucos e vinhos, pois a esterilização é capaz de mantê-los em quantidades aceitáveis para o consumo. Antes da esterilização, os sucos de frutas possuem uma carga microbiológica própria, geralmente, encontrada neles antes da colheita, além de contaminantes que possam ser adicionados após ela, que acabam no produto. Portanto, a higiene inadequada pode representar um risco ao consumidor.

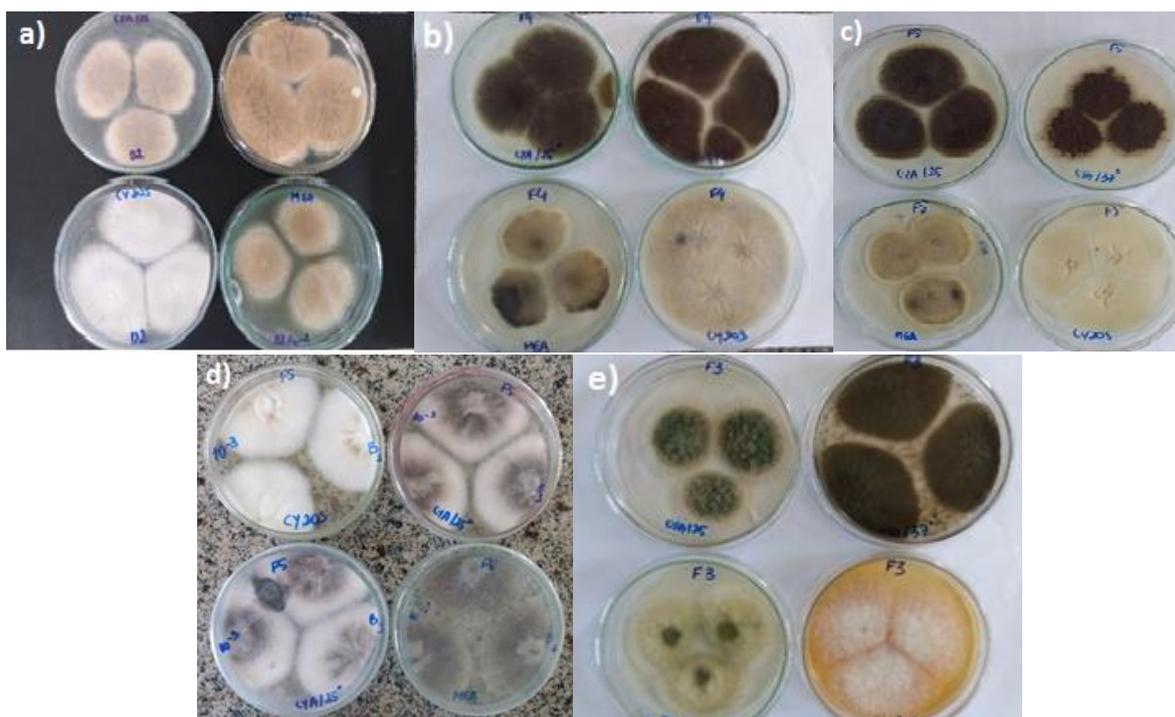
Apesar do processo de pasteurização, os sucos de uva integral podem conter fungos filamentosos e leveduriformes. Ferranti et al (2018) isolaram fungos filamentosos em todas as amostras de suco de uvas integral que pesquisaram, e *Aspergillus* seção Nigri em 72% delas. Embaby et al (2015) quantificaram e identificaram fungos filamentosos e leveduriformes em sucos de uva pasteurizados e observaram contagens médias de 2,21 UFC/ mL em 50,6%.

### 5.4 Isolamento e identificação fúngica

Na tabela 3 estão demonstradas as espécies de fungos filamentosos isolados nas amostras de sucos de uva integral pesquisadas. Observa-se que uma espécie de *Aspergillus* foi isolada na marca D e quatro na marca F (Figura

5). Não foram identificados os gêneros *Penicillium* e *Fusarium* nas amostras de suco analisadas.

Foram relatadas diversas espécies de fungos filamentosos em uvas, sendo um dos mais frequentemente relatados o gênero *Aspergillus*, sendo os *A. da seção nigri* os mais frequentes das regiões de vinhedos, causando podridão em uvas antes da colheita, além de serem potencialmente produtores de ocratoxina A (MOUBASHER, 2018). Ferranti et al 2018, em seu estudo que investigou a presença de espécies de *Aspergillus* em 88 amostras de uvas híbridas cultivadas no Brasil, relatou a presença de espécies de *A. nigri* e entre o grupo uniseriado de *A. seção Nigri*, foram encontradas espécies de *A. japonicus*.



**Figura 5.** Espécies de *Aspergillus ochraceus* (a), *A. niger* (b), *A. japonicus* (c), *A. oryzae* (d) e *A. fumigatus* (e) isoladas nas amostras das marcas D e F de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI nos meios MEA, CYA 25, CYA 37 e CY20S.

Vários fatores são relacionados ao crescimento dessas espécies de *Aspergillus* em uvas e seus derivados, sendo sua principal fonte nas vinhas, o

solo. Esses fungos produzem conídios que podem ser disseminados em toda a vinha pelo vento, poeira e pela ação de insetos. O excesso de irrigação e alta umidade durante a estação de crescimento das frutas também são condições que favorecem o desenvolvimento desses micro-organismos (WELKE, 2019).

A incidência de fungos filamentosos em uvas ou seus derivados pode ser relacionada com fatores que podem ser ambientais ou ligados à características da própria fruta. Freire et al (2017) em seu estudo que teve como objetivo avaliar a diversidade de espécies fúngicas em uvas e correlacionar com suas características físico-químicas, concluiu que as espécies identificadas apresentaram correlação positiva com pelo menos um parâmetro físico-químico avaliado, sobretudo no conteúdo de pectina, açúcar total, acidez total e compostos fenólicos.

Aspectos como região do cultivo, práticas agrícolas, condições climáticas e de colheita podem influenciar no crescimento desses microrganismos, assim como a variedade da fruta e suas qualidades físico-químicas como pH, acidez total, presença de compostos fenólicos, açúcares totais e sólidos solúveis. Além disso, as frutas tem uma alto teor de ácido, dentre eles o tartárico típico da uva, que contribui para valores de pH entre 2,5 e 5,0, o que faz com que várias espécies de fungos se desenvolvam abaixo da faixa normal de pH da fruta (GONÇALVES et al, 2018).

Em relação à resistência dos fungos ao processamento industrial, sabe-se que há relatos de micro-organismos resistentes ao calor em produtos à base de frutas há mais de 80 anos, o que tem sido motivo de preocupação para toda a indústria de processamento de frutas, pois isso pode influenciar consideravelmente no mercado de importação e exportação (SANTOS, 2018).

Lupu et al (2018) em seu estudo que avaliou diferentes formas de processamento de esterilização em sucos de uva verificaram que a pasteurização diminuiu a carga microbiológica nesses produtos, dentre eles fungos filamentosos e leveduriformes, mas não foi capaz de retirá-lo por completo.

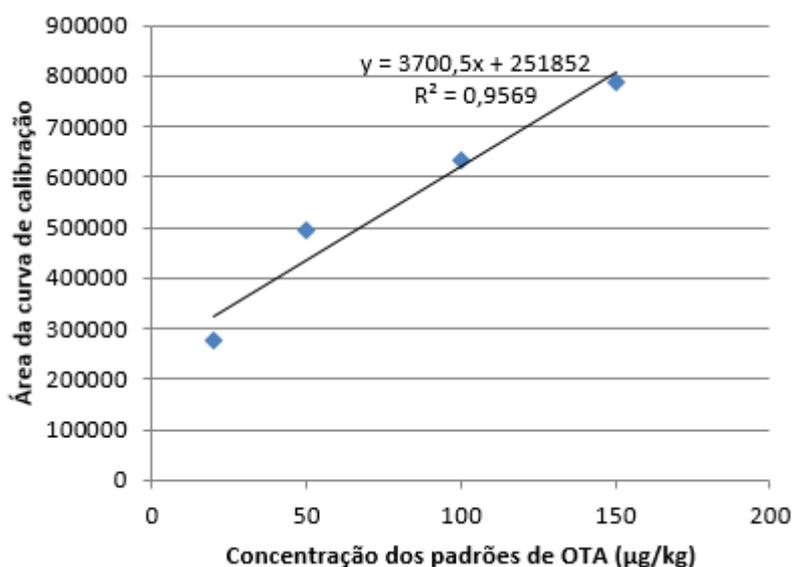
Desse modo, a quantificação de fungos filamentosos e leveduriformes, e a presença das cepas de *Aspergillus* spp. encontradas nas amostras de suco de uva das marcas D e F, podem ter ocorrido pela elevada contaminação inicial das

uvas utilizadas como matéria-prima que não foram inativadas durante o processamento industrial.

## 5.5. Detecção e quantificação de OTA por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

### 5.5.1 Curva analítica de calibração de Ocratoxina A

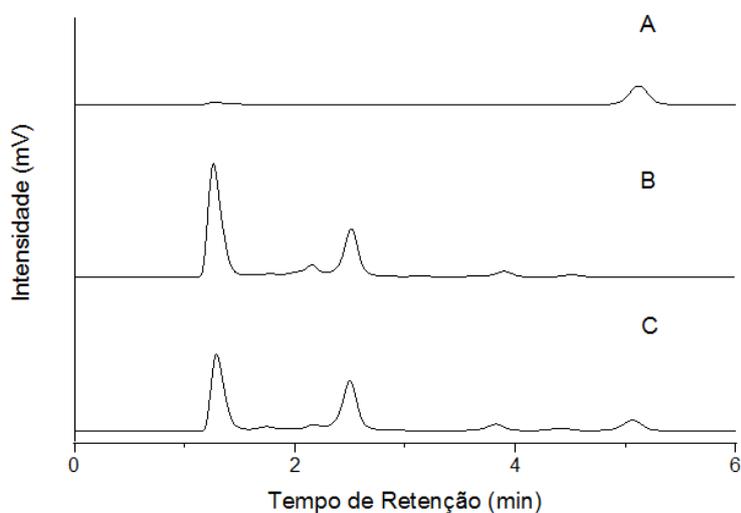
O Gráfico com curva analítica de calibração das concentrações de OTA está demonstrada na Figura 6, onde está expressa a fórmula e o coeficiente de regressão.



**Figura 6.** Curva de calibração para Ocratoxina A.

Analisando os cromatogramas do padrão de ocratoxina A, suco de uva integral e suco de uva integral adicionado de ocratoxina A (Figura 7), observou-se que os componentes do suco de uva não interferiram na leitura da ocratoxina

A, indicando que os resultados encontrados na pesquisa, efetivamente, não possuem o analito em estudo.



**Figura 7.** Cromatograma do padrão de ocratoxina A (A), Suco de Uva integral (B) e Suco de Uva integral adicionado com padrão de ocratoxina A (C).

#### 5.5.2. Detecção da OTA

Dentro da sensibilidade do método analítico utilizado, pode-se constatar que as amostras de suco de uva analisadas não possuíam níveis detectáveis de ocratoxina A, caracterizando, que estes sucos poderiam ser consumidos sem perigo. A RDC nº 07/2011 que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, estabelece a quantidade de 2,0 µg/kg de OTA em suco e polpa de uva, desse modo, as amostras estão em conformidade com a legislação vigente nesse parâmetro. Terra et al (2013) e Dachery et al 2016 também não detectaram ocratoxina A em amostras de derivados de uva.

De um modo geral, os fungos produzem OTA em uvas que estão apodrecendo ou que tenham soluções de continuidade na superfície externa, dessa forma contaminam também os frutos íntegros. Desse modo, sugere-se que os sucos de uva pesquisados foram preparados com uvas bem selecionadas.

Fungos são micro-organismos aeróbicos. Associado a outros fatores tais como umidade, temperatura, constituição do substrato, pH, o oxigênio é um componente importante para o crescimento e multiplicação fúngica

(SCHNEIDER; MOSTARDEIRO, 2007). Embora tenha sido detectada a presença de *Aspergillus* spp. em duas marcas de suco de uva, a integridade do envase das embalagens a vácuo não favoreceu a multiplicação das cepas presentes no suco de uva.

### 5.5.3. Teste *in vitro* sobre a produção de Ocratoxina A

*Aspergillus niger* e *Asperillus ochraceus* são espécies consideradas como produtores prováveis de OTA (VARGA et al, 2015; FERRANTI et al 2018) em uva e seus derivados. Ferranti et al (2018) relataram que 3,2% das cepas de *A. niger* isoladas de uvas para produção de sucos foram capazes de produzir a micotoxinas. Apesar de *A. ochraceus* ter sido considerada anteriormente como produtor mais importante da OTA em alimentos, estudos mais recentes indicam outras espécies como *A. niger* e *A carbonarius* em uvas (VARGA et al, 2015).

Os *A. niger* e *A. ochraceus* que foram isolados nas amostras de suco de uva pesquisadas, não demonstraram capacidade produtora para OTA. Sugere-se que as espécies identificadas e isoladas no experimento, provavelmente, não eram produtoras potenciais da micotoxina.

## 5.6 Avaliação da qualidade físico-química do suco de uva integral

Foram demonstrados na tabela 4 os resultados referentes aos parâmetros físico-químicos das amostras de suco de uva pesquisados. Pode-se observar que houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre marcas quanto aos itens: sólidos solúveis totais (BRIX<sup>o</sup>), pH, acidez total titulável (mEq), acidez total titulável (g de ac. tartárico/100 mL de suco), açúcares totais e açúcares redutores. Porém os níveis de açúcares não redutores e de vitamina C foram iguais.

**Tabela 4.** Parâmetros físico-químicos das diferentes marcas de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI.

Parâmetros			Marca					
			A	B	C	D	E	F
Sólidos Solúveis	Totais		16,07 <sup>a</sup> ±0,69	14,62 <sup>ab</sup> ±0,39	14,47 <sup>ab</sup> ±0,43	14,57 <sup>ab</sup> ±0,56	14,20 <sup>b</sup> ±0,30	12,57 <sup>b</sup> ±4,06
(BRIX°)								
pH			3,75 <sup>a</sup> ± 0,02	3,56 <sup>ab</sup> ± 0,01	3,55 <sup>ab</sup> ± 0,01	3,54 <sup>ab</sup> ± 0,01	3,47 <sup>b</sup> ± 0,03	3,52 <sup>b</sup> ± 0,01
Acidez total titulável (mEq)			115 <sup>ab</sup> ±7,98	114 <sup>ab</sup> ±6,86	108 <sup>ab</sup> ±6,37	125 <sup>a</sup> ±10,01	104 <sup>b</sup> ±3,03	86,50 <sup>c</sup> ±4,93
Acidez total titulável (g de ac. tartárico/100 mL de suco)			0,76 <sup>a</sup> ±0,06	0,76 <sup>a</sup> ±0,05	0,72 <sup>ab</sup> ±0,05	0,84 <sup>a</sup> ±0,07	0,69 <sup>b</sup> ±0,02	0,58 <sup>b</sup> ±0,03
Açúcares Totais (%)			11,48 <sup>a</sup> ±0,78	9,23 <sup>b</sup> ±0,16	9,36 <sup>ab</sup> ±0,54	9,06 <sup>b</sup> ±0,28	10,98 <sup>a</sup> ±0,85	9,25 <sup>b</sup> ±0,21
Açúcares Redutores (%)			10,34 <sup>a</sup> ±0,19	8,24 <sup>ab</sup> ±0,31	8,01 <sup>b</sup> ±0,83	7,86 <sup>b</sup> ±0,36	9,12 <sup>ab</sup> ±0,91	7,67 <sup>b</sup> ±0,28
Açúcares Não redutores (%)			1,02±0,19	0,99±0,31	1,35±0,83	1,20±0,36	1,87±0,91	1,58±0,28
Vitamina C (mg/mL)			1,04 ± 0,3	1,15 ± 0,3	1,15 ± 0,2	1,07 ± 0,2	0,77 ± 0,2	0,98 ± 0,1

<sup>a, b</sup> médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

A determinação da acidez fornece informações referentes a decomposição dos alimentos por hidrólise ou fermentação, causando aumento de íons hidrogênio, deste modo, quanto maiores forem os índices de acidez total, maiores serão as alterações encontradas no produto. (GOMES et al, 2012). O menor valor acidez total titulável para suco de uva é 55 mEq/L e 0,90 g ácido tartárico/100 g (BRASIL, 2018), na análise desse parâmetro, embora tenham ocorrido variações entre as marcas pesquisadas (Tabela 4), todas as amostras estavam em conformidade ao recomendado pela legislação.

Em análise de alimentos torna-se essencial a determinação de parâmetros físico-químicos como o pH, acidez e Brix°, pois tem diferentes finalidades que abrangem controle de qualidade de alimentos, desenvolvimento de novos produtos e a monitorização da legislação. Alguns desses parâmetros expressam basicamente o valor nutritivo de um alimento, sendo assim, tomar conhecimento dos componentes do alimento é de suma importância (LOPES et al, 2017).

A análise de sólidos solúveis totais (Brix°) é utilizada na indústria de alimentos para medir a quantidade aproximada de açúcares em sucos de fruta, vinhos e outras bebidas. O teor de sólido solúvel representa o total de todos os sólidos dissolvidos em água (açúcar, sal, proteínas e ácidos) com valores expressos em grau Brix°. De um modo geral, ocorre relação entre a concentração de sólidos solúveis e às características climáticas do meio ambiente, principalmente no período perto da maturação da fruta (FREITAS et al, 2010).

Os resultados das análises de sólidos solúveis totais e de acidez total titulável caracterizam a qualidade da bebida relativa ao sabor ágridoce, interferindo na aceitação do produto (FREITAS, 2010). Rizzon e Mielle (2012) ao avaliarem as características físico-químicas de sucos de uvas comerciais brasileiros e encontraram valores semelhantes aos obtidos nessa análise dos sucos comercializados em Teresina, PI (tabela 4). A Instrução Normativa nº 14, de 08 de fevereiro de 2018, preconiza valores para Sólidos solúveis totais (BRIX°) de no mínimo 14° para suco de uva (BRASIL 2018), assim, apenas a marca “F” apresentou valor inferior (12°) ao estabelecido.

A acidez total é referente aos níveis de ácidos orgânicos presentes no alimento, tendo como exemplo: ácido tartárico, ácido cítrico e ácido málico. A

concentração desses ácidos no produto diminui os valores de pH. A variação de pH está associada a variabilidade genética dos cultivares e ao processamento, que conferem sabores diferentes aos sucos de frutas (LOPES et al, 2017). Nas amostras de suco de uva avaliadas observou-se variação de 3,47 a 3,75 (Tabela 4). Caracterizando que pode haver diferenças entre as cultivares utilizadas para elaboração dos sucos. A marca A apresentou os maiores índices de pH e foi produzida em Pernambuco, as demais marcas foram preparadas no Rio Grande do Sul, esses estados possuem características climáticas diferenciadas, o que pode influenciar nesse parâmetro avaliado.

Os açúcares nas uvas são fundamentais para características sensoriais, sendo precursores na síntese dos ácidos orgânicos, compostos fenólicos e aromáticos durante a maturação da fruta (BORGHEZAN, 2017). Dependendo da variedade, as uvas maduras valores de açúcares totais entre 13% a 20%, podendo variar conforme o estágio de maturação. Os principais açúcares encontrados na uva são classificados como açúcares redutores (glicose e frutose) e açúcar não redutor (sacarose). No início do processo de maturação (pintor das bagas) a relação glicose/frutose pode chegar a 2:1, na fase final da maturação pode chegar a 1:1. A sacarose só está presente nas uvas no estágio final de maturação, apresentando concentrações mais baixas que a frutose e a sacarose. Sendo assim, os níveis de açúcar não-redutor (sacarose) encontrados nos sucos de uva integrais comercializados (Tabela 4), devem ser provenientes da utilização da fruta no estágio final de maturação.

Os resultados para açúcares totais das amostras de suco analisadas estavam em conformidade ao estabelecido pela legislação vigente (BRASIL 1998) que determina valores inferiores de 20%. Santana et al (2008) analisaram sucos de uva comercializados e obtiveram valores superiores a 20% para açúcares totais, tendo frações de açúcares não-redutores superiores aos dos açúcares redutores, por esse motivo, os autores sugeriram que houve adição de sacarose aos sucos que pesquisaram.

Os sucos de frutas, em geral, são ricos em ácido ascórbico uma vitamina hidrossolúvel que participa na síntese de colágeno, atua como antioxidante, é facilitadora da absorção do ferro no trato gastrointestinal, além de ser fundamental no sistema imune. Entretanto, o teor dessa vitamina encontrado no suco depende do tipo de fruta. Algumas frutas apresentam valores com baixo

valor de vitamina C, como é o caso da uva, uma vez que, possuem elevadas concentrações de açúcares. Os sucos de uva pesquisados apresentaram valores de vitamina C semelhantes ( $p>0,05$ ) como pode ser verificado na tabela 4. Cardoso et al (2015) encontraram valores próximos em sua pesquisa com sucos de uva integrais comerciais.

Conforme informações que constam na rotulagem da marca “D”, para preparar 1.000 mL de suco de uva são utilizados 1,30kg de uva. A Universidade Federal de São Paulo (2019) divulgou que são encontrados 3,2 mg de vitamina C/100g na uva crua. Avaliando essa informação, pode-se estimar que em 100mL de suco de uva sem pasteurização pode-se encontrar 4,16 mg. A vitamina C é termossensível, por esse motivo, os valores observados nos sucos pesquisados devem ter acontecido pelo aquecimento durante o processo de pasteurização (95°C/2 segundos).

### 5.7 Determinação de sujidades leves no suco de uva

Foram identificados 155 fragmentos de sujidades nas amostras de suco de uva integral (Tabela 5, Figura 8). Os resultados mostraram valores aproximados de quantidades de fragmentos estranhos ao produto em cinco marcas (A, C, D, E e F) e a marca B sendo a que menos apresentou componentes alheios ao suco de uva. Com as análises de microscopia foi possível identificar fragmentos de fios de plástico, hifas, madeira, tecido vegetal e cascas de fruta. A presença dessas sujidades no produto reflete uma falha nas (BPF) que pode ter acontecido em qualquer etapa da cadeia produtiva. A RDC/2014 (BRASIL 2014) determina padrões máximos toleráveis para sujidades em alimentos de um modo geral, porém para bebidas só estabelece parâmetros para fungos filamentosos.

**Tabela 5.** Sujidades identificadas em 100 mL da amostra de suco de uva integral comercializadas na cidade de Teresina, PI.

Sujidades identificadas	Marcas						Total
	A	B	C	D	E	F	
Fragmentos de fios de plástico	6	3	7	4	5	3	28
Hifas	11	6	9	9	9	7	51
Fragmentos de madeira	1	1	2	1	2	3	10
Casca da fruta	5	5	6	6	9	9	41
Tecido vegetal	4	6	2	5	4	5	25
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>21</b>	<b>26</b>	<b>25</b>	<b>29</b>	<b>27</b>	<b>155</b>



**Figura 8.** Imagens de sujidades identificadas em 100 mL de suco de uva integral comercializadas em Teresina, PI. a1, a2 e a3: hifas; b1, b2 e b3: fragmentos de fios de plástico; c1, c2 e c3: fragmentos de madeira; d1, d2 e d3: tecido vegetal; e1, e2, e3: pedaço de casca de fruta.

Embora não haja legislação específica para suco de uva integral, foi necessário recorrer às normas de produtos similares como polpas de frutas. Desse modo, a RDC nº 352/2002 que regulamenta as técnicas de BPF para estabelecimentos produtores de frutas estabelece que esses produtos não deverão conter sujidades, parasitas, terra, fragmentos de insetos e pedaços não comestíveis da fruta ou da planta (BRASIL, 2002b).

Sendo assim, as amostras analisadas apresentaram desconformidade ao estabelecido devido a presença de componentes estranhos ao suco de uva. A incidência de elementos como fios de plástico pode ter ocorrido, principalmente, nas fases da colheita da uva, pela utilização sacolas em ráfia para transportar as frutas. Esses segmentos podem ter se infiltrado entre elas, dificultando a identificação nas demais etapas. A presença de fragmentos de madeira e tecido vegetal podem ser inerentes à própria planta, a videira, que juntamente com outros elementos não foram identificados nas demais etapas.

Quanto à presença das hifas identificadas nas amostras, estas devem ser provenientes dos fungos filamentosos quantificados (Tabela 3) em todas as marcas e das espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* isolados das marcas D e F. Em relação a incidência de fungos em alimentos e bebidas, a RDC Nº 14/2014 que dispõe sobre os limites de matérias estranhas macroscópicas e microscópicas nesses produtos, declara que é permitido sua presença em frutas, produtos de frutas e similares desde que sua contagem seja de 40% de campos positivos (BRASIL, 2014b). O que foi possível confirmar nas amostras analisadas através das análises das lâminas preparadas com os fragmentos de fungos.

Desse modo, torna-se necessária a fixação cada vez mais rigorosa de práticas de segurança de alimentos que visem a obtenção de um produto final seguro e isento de elementos estranhos aos produtos que representem risco à saúde do consumidor. Tais medidas devem ser observadas cuidadosamente em todas as etapas da produção, envolvendo desde o recebimento da uva, que deve ser programada de acordo com a capacidade de recebimento/processamento, de estocagem e de elaboração do produto. Os locais de processamento também merecem total atenção, pois devem ser isentos de contaminação e proliferação de pragas e micro-organismos, odores indesejáveis, fumaça e outros (SILVEIRA et al, 2015).

## 6. CONCLUSÕES

Os rótulos dos sucos de uva estavam em conformidade com as legislações vigentes. Apenas em relação ao destaque de expressões que estimulam o consumo do produto houve inconformidade em uma marca.

Os sucos de uva integral não apresentaram contagem de Coliformes a 45°.

Fungos filamentosos e leveduriformes estavam presentes nas amostras em quantidades permitidas pela legislação.

Não foi detectada ocratoxina A nas amostras.

Os sucos de uva integral se encontraram dentro dos padrões físico-químicos, de um modo geral. Porém, apenas uma marca mostrou valor inferior para sólidos solúveis totais (BRIX°);

As amostras apresentaram matérias estranhas.

## REFERÊNCIAS

ALVES, V. C. **Aspectos micológicos e micotoxicológicos de pães tipo hot-dog influenciados pela qualidade da farinha de trigo.** Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, 2014. 59 p.

APHA. **Compendium of Methods for the Microbiological examination of food.** 5ed. Washington: American Public Health Association, 2015.

BARBIERI, M.K. ATIÉ, L.; PAULA, D.C.; CARDOZO, G.M.B.Q. **Microscopia de Alimentos: Identificação histológica e material estranho.** 2. ed. Campinas: Centro de Informação de Alimentos/ITAL, 2001.151P.

BRASIL. Decreto lei nº 986, de 21 de Outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos. Brasília, 1969. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Decreto-Lei/Del0986.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Decreto-Lei/Del0986.htm) Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986.** Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 nov. 1986. Seção 1, pt. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 544, de 16 de novembro de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Refresco. Brasília, 1998. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/portaria-no-544-de-16-de-novembro-de-1998.doc/view> <Acesso em: 07 de outubro de 19>

BRASIL. **Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000.** Aprova o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta (e Suco de Fruta). MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-1-de-7-de-janeiro-de-2000.doc/view> < Acesso em: 02 de outubro de 2019>.

BRASIL. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.** Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15ffdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b) < Acesso em: 02 de outubro de 2019>.

BRASIL. **RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002a.** Aprovar o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

[https://lcga.farmacia.ufg.br/up/912/o/resoluo\\_rdc\\_n\\_259\\_2002\\_-\\_rotulagem\\_em\\_geral.pdf](https://lcga.farmacia.ufg.br/up/912/o/resoluo_rdc_n_259_2002_-_rotulagem_em_geral.pdf) < Acesso em: 07 de outubro de 2019>

BRASIL. **RDC nº 352, de 23 de dezembro de 2002b**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC\\_N%25C2%25BA\\_352.pdf/84837cf4-18d3-441c-92f7-de748e8eaa79](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_N%25C2%25BA_352.pdf/84837cf4-18d3-441c-92f7-de748e8eaa79) <Acesso em : 02 de outubro de 2019>.

BRASIL. **RDC Nº 07, de 18 de fevereiro de 2011**. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC\\_07\\_2011\\_COMP.pdf/](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/)<Acesso em: 02 de outubro de 2019>.

BRASIL. **Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014a**. Regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-8-198-de-20-de-fevereiro-de-2014.pdf/view> < Acesso em: 07 de outubro de 2019>

BRASIL. **RDC nº 14, de 28 de março de 2014b**. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

[http://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2014/rdc0014\\_28\\_03\\_2014.pdf](http://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2014/rdc0014_28_03_2014.pdf)<Acesso em: 02 de outubro de 2019>.

BRASIL. Codex Alimentarius. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2016. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388701/Codex+Alimentarius/10d276cf-99d0-47c1-80a5-14de564aa6d3> <Acesso em: 04 de fevereiro de 2020.

BRASIL. **Instrução normativa nº 14, de 08 de fevereiro de 2018**. Estabelece a Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho e Derivados da Uva e do Vinho. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em < <http://www.agricultura.gov.br/noticias/mapa-atualiza-padroes-de-vinho-uva-e-derivados/INMAPA142018PIQVinhoseDerivados.pdf> < Acesso em:

01/10/2019>

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento. Histórico da Análise Mensal da produção da Uva – Agosto/Setembro de 2019. Brasília, 2019. Disponível

em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-uva> < Acesso em: 14 de dezembro de 2019 >

BORGHEZAN, M. Formação e maturação da uva e os efeitos sobre os vinhos: revisão. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v.32, n.2, p.126-141. 2017.

CARDOSO, J.A.C.; ROSSALES, R.R.; LIMONS, B.; REIS, S.F.; SCHUMACHER, B.O.; HELBIG, E. Teor e estabilidade de vitamina C em sucos in natura e industrializados. **Revista o mundo da saúde**, São Paulo, v.39, n.4, p.460-469, 2015.

CARMO, M.C.L.; DANTAS, M.I.S.; RIBEIRO, S.M.R. Caracterização do mercado consumidor de sucos prontos para o consumo. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.17, n.4, p.305-309, 2014.

CAVADA, G.S.; PAIVA, F.F.; HELBIG, E.; BORGES, L.R. Rotulagem nutricional: você sabe o que está comendo? **Brazilian Journal of Food Technology**. v.4. p.84-88, 2012.

CHAVES, F.F. Análises físico-químicas e microbiológicas do suco de uva integral comercializado na cidade de Goiânia - GO. **Revista Especialize On-line IPOG**, v,1, n.7, p.1-13, 2014.

DACHERY, B.; MANFROI, V.; WELKE, J.E. Exposure to ochratoxin A through consumption of grape juices produced by steam distillation method and intended for school meals. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.46, n.10, p.11868-1871, out, 2016

DALCERO, A. et al. Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia**, v. 137, n. 3, p 179-184, 1997

DALCERO, A. et al. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia**, v. 141, n. 1, p.37-43, 1998.

EMBABY, E.M.; AWNI, N.M.; ABDEL-GALIL, M.M.; EL-GENDY, H. L.; Mycoflora and Mycotoxin Contaminated some Juices. **Journal of Agricultural Technology**, v.11, n.3, p:693-712, 2015.

FERRANTI, L.S.; FUNGARO, M.H.; MASSI, F.P.; SILVA, J.J.; PENHA, R.E.; FRISVAD, J.C.; TANIWAKI, M.H.; IAMANAKA, T.B.; Diversity of *Aspergillus* section *Nigri* on the surface of *Vitis labrusca* and its hybrid grapes. **International Journal of Food Microbiology**, v.268, p.53-60, 2018.

FERRAREZI, A.C.; SANTOS, K.O.; MONTEIRO, M. Avaliação crítica da legislação brasileira de sucos de fruta, com ênfase no suco de fruta pronto para beber. **Revista de Nutrição**, v.23, n.4, p.667-677, 2010.

FREIRE, L.; PASSAMANI, F.R.F.; THOMAS, A.B.; NASSUR, R.C.M.R.; SILVA A, L.M.; PASCHOAL, F.N.P.; PEREIRA, G.E.; PRADO, G.; BATISTA, L.B.; Influence of physical and chemical characteristics of wine grapes on the incidence of *Penicillium* and *Aspergillus* fungi in grapes and ochratoxin A in wines. **International Journal of Food Microbiology**, v.241, p.181-190, 2017.

FREITAS, A.A.; DETONI, A.M.; CLEMENTE, E.; OLIVEIRA, C.C. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.1, p. 001-005, jan/fev, 2010.

FUNASA. **Manual Prático de Análise de Água**. 4. Ed. Brasília, 2013.

Disponível

em:[http://www.funasa.gov.br/site/wpcontent/files\\_mf/manual\\_pratico\\_de\\_analise\\_de\\_agua\\_2.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wpcontent/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf).

GARCIA, C.C.B. Qualidade e Inocuidade alimentar na seção de rotisseria em supermercados: um estudo. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo – USP, 2005. 132p.

GARCIA, P.P.C.; CARVALHO, L.P.S. Análise Da Rotulagem Nutricional De Alimentos Diet E Light. **Ensaios e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. v.15, n. 4, 2011.

GOMES, M.J.N.; KADER, Y.N.A.M.; ELLEN SOHN, R.M.; CUNHA, M.E.T.; BARIN, C.S. Análise físico-química do suco de caju concentrado. **Enciclopédia Biosfera**. v.8, n.15, p.2019-2014, 2012.

GONÇALVES, C.C.S.; MARSAIOLI, A.J. Fatos e Tendências da Biocatálise. **Química Nova**, v.36, n.10, p.1587-1590, 2013.

GONÇALVES, B.L.; COPPA, C.S.C.; NEEFF, D.V.; CORASSIN, C.H.; OLIVEIRA, C.A.F.; Mycotoxins in fruits and fruit-based products: occurrence and methods for decontamination. **Toxin Reviews**, p.1-10, 2018.

GUERRA, D.A.G.P.; DUARTE, L.G.C.V.C.; VIEIRA, P.R.N.; BARBOSA, R.S.; LEONARDO, G.M.N. Padrões microbiológicos de produtos amiláceos industrializados em Fortaleza, CE. **Cadernos da Escola de Saúde Pública – CE**. v.13, n.2, p.109-119, 2019.

HUBKA, V.; KOLARIK, M.; KUBÁTOVÁ, A.; PETERSON, S.W. Taxonomic revision of *Eurotium* and transfer of species to *Aspergillus*. **Mycologia**, v.105, n.4, p.912-937, 2013.

IAMANKA, B.T.; OLIVEIRA, I.S.; TANIKAWI, M.H. Micotoxinas em Alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p.138-161, 2010.

- ITAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.
- KATSURAYAMA, A.M.; TANIWAKI, M.H. Fungos e aflatoxinas no arroz: ocorrência e significado na saúde do consumidor. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.20, p.1-13, 2017.
- KHOURY, R.; CHOQUE, E.; KHOURY, A.; SNINI, S.P.; CAIRNS, R.; ANDRIANTSIFERANA, C.; MATHIEU, F. OTA Prevention and Detoxification by Actinobacterial Strains and Activated Carbon Fibers: Preliminary Results. **Toxins**, v.10, n.137, p.1-16, 2018.
- KING, A. D.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran – Rose bengal medium for enumeration and isolation of fungi from foods. **Applied Environmental Microbiology**. v.37, n. 5, p. 959-964, 1979.
- KLICH, M. A. **Identification of Common Aspergillus Species**. Utrecht, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002. 122 p.
- KRAMER, A.; TWIGG, B. **Quality Control for the Food Industry**, 3<sup>o</sup> ed. Westport: AVI, 1970. P.155-178.
- LIEW, W.; MOHD-REDZWAN, S. Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.8, n.60, p.1-17, 2018.
- LOPES, I.A; SILVA, J.R.; LIMA, L.T.; SANTOS, V.L.V.; SILVA, S.P. Análises físico-químicas em sucos de uva: integral, reprocessado, concentrado e desidratado comercializados em Garanhuns, PE. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**. v.7, n.2, p.45-48, 2017.
- LUPU, M.; GHEORGHE PUCHIANU, G.; PĂDUREANU, V.; CANJA, C.; MAIER, A. The influence of ultrasound and pasteurization on microbiological properties of grape juice. **Section Advances in Biotechnology**. p.1-7, 2018.
- MAIA, L. C; CARVALHO JÚNIOR, A. A.; CAVALCANTI, L. H.; GUGLIOTTA, A.M.; DRECHSLER-SANTOS, E.R.; SANTIAGO, A.L.M.A.; CÁCERES, M.E.S.; GIBERTONI, B.T.; APTROOT, A. GIACHINI, A.J.; SOARES, A.M.S.; SILVA, A.C.G; MAGNAGO, A.C.; GOTO, B.T.; LIRA, C.R.S.; CARLOS A.S.; MONTOYA, C.A.S.; PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A.; SILVA, D.K.A.; SOARES, D.J.; REZENDE, D.C.; LUZ, E.D.M.N.; GUMBOSKI, E.L.; WARTCHOW, F.; KARSTEDT, F.; FREIRE, F.M.; COUTINHO, P.F.; MELO, G.S.N.; SOTÃO, H.P.S.; BASEIA, I.G.; PEREIRA, J.; JADSON J.S. DE OLIVEIRA, SOUZA, F.J.; BEZERRA, J.L.; ARAUJO NETA, L.S.; PFENNING, L.H.; GUSMÃO, L.F.P.; NEVES, M.A.; CAPELARI, M.; JAEGER, M.C.W.; PULGARÍN, M.P.; MENOLLI JUNIOR, N.; MEDEIROS, P.S.; FRIEDRICH, R.C.S.; CHIKOWSKI, R.S.; PIRES, R.M.; MELO, R.F.; SILVEIRA, R.M.B.; URREA-VALENCIA, S.; CORTEZ, V.G.; SILVA, V.F. Diversity of Brazilian Fungi. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1033-1045, 2015.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. Compostos Fenólicos Totais e Antocianinas em Suco de Uva. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.25, n.4, p.659-664, 2005

MOUBASHER, A.H.; ABDEL-SATER, M.A.; SOLIMAN, Z. Biodiversity of filamentous and yeast fungi in citrus and grapefruits and juices in assiut area, Egypt. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**. v.7, n.4. p.353-365, 2018.

PATERSON, R.R.M.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N.; GUILLOUX-BÉNATIER, M.; ROUSSEAU, S. Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine. **Food Research International**, v.103, p.478–491, 2018.

PAULUSSEN, C.; HALLSWORTH, J.E.; ALVAREZ-PEREZ, S.; NIERMAN, W.C.; HAMILL, G.P.; BLAIN, D.; REDIERS, H.; LIEVENS, B. Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. **Microbial Biotechnology**, v. 10, n. 2, p.1-27, 2016.

PILTA, F.G.; ALMEIDA, R.A.; GONÇALVES, F.B. Desenvolvimento de automação para identificação macroscópica de fungos filamentosos. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v.5, n.2, p.40-48, 2014.

PINTO, E.P.; MOREIRA, A.S.; MACHADO, M.R.G.; RODRIGUES, R.S. A uva como um alimento funcional. *Revista Brasileira de Viticultura e Enologia*, v. 3, p. 66-73, 2011.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**, 3. ed. New York: Springer. 2009.

PRADO, G.; Contaminação de Alimentos por Micotoxinas no Brasil e no Mundo. **Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v.2, n.2, 2017.

RANGANNA, S. **Handbook of analysis and quality control for fruits and vegetable products**. New Delhi: Mcgraw-Hill, 1986. 112p.

RAWAT, S. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. **Asian Journal of Plant Science and Research**. v.5, n.4, p.47-56, 2015.

RIZZON, L.A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de Suco de Uva na Propriedade Vitícola**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e vinho, 1998. 24p. (EMBRAPA Uva e vinho. Documentos,21).

RIZZON, L.A.; MENEUZZO, J. **Suco de uva**. Brasília, DF: Informação Tecnológica, 2007. 45 p. (Embrapa - Informação Tecnológica, 2007/Coleção Agroindústria Familiar).

RIZZON, L.A.; MIELLE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.1, p.93-97, jan-mar. 2012.

ROBASKEWICZ, F.; DAMBRÓS, B.P.; SANTIN, N.C. Determinação do teor de Polifenóis Totais e outras características físico-químicas em sucos de uva comerciais. **Unoesc & Ciência – ACBS**. Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 159-166, jul./dez. 2016.

SALES, W.B.; CAVEIÃO, C.; GRILLO, F.R.; RAVAZANNI, E.D.A.; VASCO, J.F.M. Presença de coliformes totais e termotolerantes em sucos de frutas cítricas. **Revista Saúde e desenvolvimento**, v. 9, n.5, jan.jun, 2016.

SAMSON, R. A.; Hoekstra, E. S.; Frisvad, J. C. **Introduction to food and airborne fungi**. 6 ed., Utrecht, The Netherlands: Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 2000. 388 p.

SANTANA, M.T.A.; SIQUEIRA, H.H.; REIS, K.C.; LIMA, L.C.O.; SILVA, R.J.L. Caracterização de diferentes marcas de sucos de uva comercializados em duas regiões do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 32, n. 3, p. 882-886, maio/jun., 2008.

SANTOS, M.C.; SOUSA, R.B.; OLIVEIRA, S.E.M.; LIMA, K.S.C.; LIMA, A.L.S. Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra. **Revista Virtual de Química**, v.6. n.3, p.761-778, 2014.

SANTOS, G.L.; GEMMER, R.E.; OLIVEIRA, E.Z. Análise de açúcares totais, redutores e não-redutores em refrigerantes pelo método titulométrico de eynon-lane. **Destques Acadêmicos**, Lajeado, v. 8, n. 4, p. 186-197, 2016.

SANTOS, J.L.P.; SAMAPUNDO, S.; BIYIKLI, A.; IMPE, J.V.; AKKERMANS, S.; HÖFTE, M.; ABATIH, E.N.; SANT'ANA, A.S.; DEVLIEGHIERE, F. Occurrence, distribution and contamination levels of heat-resistant moulds throughout the processing of pasteurized high-acid fruit products. **International Journal of Food Microbiology**. v.281, p.72-81, 2018.

SCHNEIDER, E.M.; MOSTARDEIRO, C.P. Aflatoxinas em amendoim e toxicidade no organismo humano. **Revista Contexto e Saúde**. Ijuí, v.7, n.13, p.45-52, jul/dez. 2007.

SCUDAMORE, K. A.; BANKS, J.; MACDONALD, S. J. Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production. **Food Additives and Contaminants**. v. 20, n. 12, p. 1153–1163, 2003.

SigmaStat [computer program]. Version 3.5 for Windows. San Jose (CA): Systat Software Inc.; 2005.

SILVA, A.C.C.; SILVA, N.A.; PEREIRA, M.C.S.; VASSIMON, H.S. Alimentos Contendo Ingredientes Funcionais em sua Formulação: Revisão de Artigos Publicados em Revistas Brasileiras. **Revista Conexão Ciência**, v.11, n.2, p.133-144, 2016.

- SILVA, P.S.; VIANA, J.G.A.V.; MORAES, M.R.E. O mercado vitivinícola Brasileiro: uma análise a partir do comércio exterior. **Brazilian Journal of Development**. v.4, p.2059-2080, 2018.
- SILVEIRA, S.V.; GARRIDO, L.R.; HOFFMAN, A. **Produção integrada de uva para processamento: processos de elaboração de sucos e vinhos, BPA e PPHO**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. v. 5, 55 p.
- SINGH, K.C.; SIDDIQUI, I.A.; EL-ABD, S.; MUKHTAR, H.; AHMAD, N. Combination chemoprevention with grape antioxidants. **Molecular Nutrition & Food Research**. v.60, p.1406–1415, 2016.
- SMANIOTO, T.F.; PIROTO, N.J; SIMIONATO, E.M.R.S.; ARRUDA, M.C. Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.68, n.1, p.150-154, 2009.
- SMITH, A.C.L. Rotulagem de Alimentos: avaliação da conformidade frente à legislação e propostas para a sua melhoria. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo – USP, 2010. 97p.
- SMITH, A.C.L.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Rotulagem de alimentos: avaliação da conformidade frente à legislação e propostas para a sua melhoria. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v.70, n.4, p.463-72, 2012.
- SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.
- SOUZA, G.S.F.; SOUZA, V.K.S.; SILVA, E.C.A.; CORDEIRO, S.A.; OLIVEIRA, J.C.S.; SILVA, E.C.A.; BARROS, A.L.S.; MARTINS, A.C.S. Características Gerais de Doenças Transmitidas Por Alimentos (DTA). *International Journal of Nurtology*. v.11, n.01, 2018.
- TANIWAKI, M.H.; PITT, J.I.; MAGAN, N. Aspergillus species and mycotoxins: occurrence and importance in major food commodities. **Current Opinion of Food Science**. v.23, p:38–43, 2018.
- TEIXEIRA, A. D. S. et al. Métodos de extração e quantificação de aflatoxinas por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em amostras de castanha-do-Brasil. **Revista Ciência Vida**, v. 28, p. 144-146, 2008.
- TERRA, M.; PRADO, G. GIULIANO E PEREIRA, G.E.; EMATN´EA, H.J.; BATISTAD, L.R. Detection of ochratoxin A in tropical wine and grape juice from Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.93, p.890-894, 2013.
- TOSCANO, L.T.; SILVA, A.S.; TOSCANO, L.T.; TAVARES, R.L. BIASOTO, A.C.T; CAMARGO, A.C.; SILVA, C.S.O.; GONÇALVES, M.C.R.; SHAHIDI, F.

Phenolics from purple grape juice increase serum antioxidant status and improve lipid profile and blood pressure in healthy adults under intense physical training. **Journal of Functional Foods**, v.33, p.419-424, 2017.

UDOVICKI, B.; AUDENAERT, K.; SAEGER, S.; RAJKOVIC, A. Overview on the Mycotoxins Incidence in Serbia in the Period 2004–2016. **Toxins**, v.10, n.279, p.1-22, 2018.

VARGA, J.; BARANYI, CHANDRASEKARAN, M.; VÁGVÖLGYI, C.; KOCSUBÉ, S. Mycotoxin producers in the *Aspergillus* genus: an update. **Acta Biologica Szegediensis Acta Biologica Szegediensis**. v.59, n.2, p.151-167, 2015.

VILLELA, M R . L. **Pesquisa de sujidades em farinha de trigo e seus derivados entre 1987 e 2002; a importância do Controle da Qualidade na higiene e segurança alimentar, sua influência na Legislação Sanitária e promoção da Saúde.** (Dissertação de mestrado) Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2004. 114 p.

UNIFESP. Relatório básico: Uva, rosa ou verde (tipo Italia), crua. Departamento de Informática em Saúde. Escola Paulista de Medicina. Disponível em: <<https://tabnut.dis.epm.br/alimento/09132/uva-rosa-ou-verdetipo-italia-crua>> Acesso em: 12 de outubro de 2019.

WELKE, J.E. Fungal and mycotoxin problems in grape juice and wine industries. **Current Opinion of Food Science**. v.29, p.7–13, 2019.

YUSEFI, J.; VALAEE, M.; NAZARI, F.; MALEKI, J.; MOTTAGHIANPOUR, E.; KHOSROKHAVAR, R.; HOSSEINI, M. Occurrence of Ochratoxin A in Grape Juice of Iran. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.17, n.1, p.140-146, 2018.