

ANALIZA RISCULUI DE CONTAMINARE A VINURILOR CU OHRATOXINA A

AUTOR: ELENA ZUGRAVII

Conducător științific: dr. conf. univ. Aurica CHIRSANOV

Universitatea Tehnică a Moldovei

***Abstract:** It was evaluated the level of contamination by Ochratoxin A (OTA) of wines from different grape varieties at different stages of winemaking. It was made a comparative analysis of OTA concentrations in wine products produced by various technological processes. It was studied the influence of oenological treatments on the evolution of OTA concentrations. Also, it was investigated potential remediation of contaminated products.*

Key Words : Ochratoxine A, mycotoxin, wine, contamination.

1. INTRODUCERE

Din timpuri străvechi strugurii și vinul au fost considerate produse curative, fiind consumate în doze moderate, avînd o influență pozitivă asupra organismului uman. Totuși, în ultimul timp, savanții exprimă un interes față de posibilitatea contaminării strugurilor și a produselor vinicole cu substanțe nocive care pot exercita o influență nefavorabilă asupra sănătății, numite « contaminanți » [1-7].

Micotoxinele sunt compuși naturali toxici, elaborați de numeroase specii de mucegaiuri. Acestea sunt metaboliții secundari produși de ciuperci care nu joacă un rol evident în « economia » celulei vii care îi sintetizează.

Ochratoxina A (OTA) este toxina cel mai frecvent întâlnită, care este raportată nephrotoxică, teratogenă, imunosupresivă și care a fost clasată ca cancerigen din grupa 2B.

Se presupune că ea este implicată în numeroase probleme sanitare umane, ca nephropatia endemică balcanică [8] și dezvoltarea tumorilor tractului urinar și renal în Tunisia [9] și în Egipt [10].

Obiectivul prezentului studiu este dublu: interzicerea consumului produselor contaminate, la fel ca și elaborarea recomandărilor practice vis-a-vis de eliminarea riscului pe parcursul producerii materiei prime agricole și pe parcursul traseului tehnologic de fabricare a produselor finite.

2. MATERIALE SI METODE

Începînd cu 2007, se efectuează analiza OTA prin metoda ELISA. Ochratoxina A din probă intră în competiție cu Ochratoxina A cuplată cu o peroxidază (Horseradish Peroxydase) pentru site-urile de fixare a anticorpilor anti-ochratoxina A. După spălare este adăugat substratul peroxidazei, după ce are loc apariția unei culori albastre. Intensitatea culorii este invers proporțională cu cantitatea de ochratoxina A prezentă în probă. Testul este citit într-un analizor de multipipete unde se determină densitățile optice (DO) ale diferitor probe. Densitățile optice ale probelor de control sunt utilizate pentru trasarea curbei-etalon care servește pentru calculul concentrațiilor exacte de Ochratoxina A. În cazul vinurilor roșii se efectuează sedimentarea taninelor cu ajutorul unui kit Veratox special.

Cu toate acestea, acest test este considerat doar ca test de depistare preliminară din cauza riscului apariției erorilor induse de matricea biologică complexă a probei. Deaceia, pentru probele contaminate cu doze inadmisibile (cu un conținut de OTA mai mare ca $2\mu\text{g}/\text{dm}^3$), ulterior se efectuează un test HPLC (High Performance Liquid Chromatography) pe coloană de imunoafinitate [8].

3. REZULTATE SI DISCUTII

Analiza unui ansamblu de 276 de probe de vin din roada anilor 2006-2008 a arătat următoarele rezultate. Incidența de contaminare (conținut de OTA mai mare ca $0,1\mu\text{g}/\text{dm}^3$) constituie (tab.1) :

Tabelul 1 .Incidența de contaminare a vinurilor moldovenești cu OTA

Anul/ Numărul probelor	Tipul vinului								
	Vin materie primă			Vin sec			Vinuri d/seci, d/d, vin de desert		
	<0,1 µg/dm ³	<2 µg/dm ³	>2 µg/dm ³	<0,1 µg/dm ³	<2 µg/dm ³	>2 µg/dm ³	<0,1 µg/dm ³	<2 µg/dm ³	>2 µg/dm ³
2006/78	19	21	3	11	4	2	3	5	-
2007/105	12	17	8	8	12	-	27	21	-
2008/93	15	12	1	7	12	-	23	23	-

Numărul probelor necontaminate (cantitatea de OTA mai mică de 0,1 µg/dm³) variază de la 42 la 48 %, fiind mai mare pentru vinurile îmbuteliate. Rata vinurilor contaminate, dar cu cantitatea OTA, ce se încadrează în limite admisibile (<2 µg/dm³), variază între 39 – 51 %. Media conținutului OTA în acest tip de probe variază în felul următor (tab.2).

Tabelul 2. Media de repartitie a conținutului de OTA în vinurile moldovenești

Tipul vinului	<0,3 µg/dm ³	0,3 – 0,9 µg/dm ³	1 -2 µg/dm ³	Media
Vin roșu	22	31	25	0,86±0,03
Vin alb	38	6	5	0,27±0,04

Media conținutului OTA este considerabil mai înaltă pentru vinuri roșii în raport cu vinurile albe. Vinificația în roșu presupune o macerație peliculară care intervine pînă la și după fermentație alcoolică. Probabil că toxinele prezente pe partea solidă a bobitei sunt extrase în must concomitent cu substanțele colorante, taninele și aromele.

Probele contaminate cu doze inadmisibile (cu o cantitate de OTA mai mare de 2 µg/dm³) au constituit 6,4% - anul 2006, 7,6% - anul 2007 și 1,1% pentru 2008. Aceste probe au constituit în mod exclusiv vin materie primă, care apoi a fost supus tratamentelor tehnologice, capabile de a diminua cantitatea de OTA.

Pentru a fi posibilă o analiză mai complexă a vinurilor s-au utilizat ca probe vinuri din soiuri ce aparțin diferitor specii de viță de vie din grupurile : grupa eurasiatică (*Vitis vinifera*) și grupa Americii de Nord (*Vitis labrusca*). *Vitis vinifera* este reprezentată de Muscat, Merlot, Cabernet-Sauvignon. Soiurile studiate din grupul *Vitis Labrusca* sunt : Lidia, Zemfira. Rezultatul obținut a contestat ideea că vinurile obținute din *Vitis labrusca* au un conținut mai înalt de OTA decît cele din *Vitis vinifera*. Rezultatele obținute din acest studiu sunt impresionante și sensul acestor rezultate necesită un studiu mai profund în viitor.

Păstrarea vinurilor în sticle implică o diminuare a conținutului în toxină prin procedee slab cunoscute și puțin studiate. Mai multe probe au fost analizate, concluzia reieșită este că conținutul în OTA în sticle a diminuat la fiecare tip de vin (vin roșu sau alb). Diminuarea medie constatată e mai mare decît 20 %. OTA care a « dispărut » din vinul din sticlă se regăsește în cea mai mare parte în precipitat : toxina este probabil precipitată sau absorbită de compușii ce formează precipitatul.

Au fost examinate vinurile seci și demidulei din soiul alb Chardonnay și roșu Pinot Noir, scopul fiind de a determina dependența dintre prezența/absența zahărului rezidual și concentrația în toxină. Rezultatele obținute permit de a afirma că zahărul rezidual nu este un factor de influență a apariției și dezvoltării ciupercilor producătoare de toxine.

Nici un tratament nu permite eliminarea totală a toxinei, dar se observă diminuarea concentrației OTA pe parcursul mai multor procedee oenologice. Unii adjuvanți oenologici au fost testați asupra vinurilor roșii în scopul determinării în ce proporții ei pot fi eficace în diminuarea concentrației OTA în vinuri contaminate. Au fost testați adjuvanți ca cărbunele, silicagelul, silicagelul asociat cu gelatina, celuloza și alți agenți de cleire.

Tratamentul cu cărbune oenologic a permis o diminuare de 50 % a concentrației OTA. Însă el nu este permis pentru utilizare pentru vin roșu și roz, deoarece implică o pierdere considerabilă a intensității

colorante. Degradarea organoleptică, ca consecință a utilizării cărbunelui, limitează aplicarea sa în scopul diminuării contaminării cu OTA. Silicagelul și celuloza asociate cu cleirea cu gelatină permite o decontaminare parțială. Bentonita a arătat o afinitate joasă față de OTA.

CONCLUZII

Cercetările efectuate asupra mustului și vinului în scopul posibilității reducerii dozelor de OTA au permis de a cunoaște mai bine comportamentul moleculei pe parcursul procesului vinificării în scopul adaptării următoarelor procedee oenologice:

- Cleirea și filtrarea vinurilor au permis o eliminare parțială a moleculei (tratamentul cel mai eficient fiind cărbunele activ, acesta însă fiind o problemă pentru vinurile roșii).
- Drojdiile prin mecanismul său de adsorbție permit o eliminare parțială a OTA, în funcție de sușă. Un test asupra sușelor selecționate ar putea permite depistarea celor mai eficiente.
- Etanolul se comportă ca un solvent de extracție a moleculei de OTA în timpul fermentației alcoolice pe boștină.
- Vinificarea în roz permite eliminarea OTA prin mecanismul drojdiilor, dar preponderent absența boștinei exclude extracția OTA odată cu apariția etanolului. La fel, o macerație scurtă în vinificația pe roșu a strugurilor contaminați permite extragerea unei cantități mai mici de OTA.

Soluțiile curative rămân, însă, incomplete : este necesar de a controla strict starea sanitară a strugurilor pentru a obține concentrații joase de OTA la recoltă. Doar în acest caz, Ochratoxina A poate fi totalmente eliminată cu ajutorul diferitor procedee oenologice.

BIBLIOGRAFIE

1. Miraglia, M and Brera, C. 2002. Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU Member States. Reports of experts participating.
2. Lopez de Cerain, A., Gonzalez-Penas, E., Jimenez, A.M., Bello, J. 2002. Contribution to the study of ochratoxin A in Spanish wines. Food and Additives Contaminants. 19, 1058-1064.
3. Medina, A., Mateo, R., Lopez-Ocana, L., Valle-Algarra, F.M., Jimenez, M. 2005. Study of Spanish Grape Mycobiota and ochratoxin A Production by Isolates of *Aspergillus tubingensis* and Other Members of *Aspergillus* section *Nigri*. Applied and Environmental Microbiology. 71, 4696-4702.
4. Ratulo, N., Martins, L., Alves, A. 2004. Ochratoxin A in wines-assessing global uncertainty associated with the results. Analytica Chimica Acta. 513, 319-324.
5. Stefanaki, I., Foufa, E., Tsatsou-Dritsa, A., Dais, P. 2003. Ochratoxin A concentrations in Greek domestic wines and dried vine fruits. Food Additives and Contaminants. 20 (1), 74-83.
6. Serra, R., Abrunhosa, L., Kozakiewicz, Z., Venancio, A. 2003. Black *Aspergillus* species as ochratoxin A producers in Portuguese wine grapes. International Journal of Food Microbiology, 88, 63-68.
7. Shephard, G.S., Fabiani, A., Stockenstrom, S., Mshicileli, N. 2003. Quantitation of ochratoxin A in south African wines. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51, 1102-1106.
7. Petrova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N., and Castegnaro, M., 1988. Ochratoxin A in human blood in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary system tumours in Bulgaria. Food additives and Contaminants 5, 299-301.
8. Maaroufi, A., Achour, A., Zakhama, A., Ellouz, F., El May, M., Creppy, E.E., and Bacha, H. 1996. Human nephropathy related to ochratoxin A in Tunisia. Journal of Toxicology: Toxin Reviews . 15:223-237
9. Waffa, E.W., Yahya, R.S., Sobh, M.A., Eraky, I., El Baz, M., El Gayar, H.A.M., Betbeder, A.M., and Creppy, E.E. 1998. Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: a preliminary study. Human Experimental Toxicology, 17,124-129.
10. Résolution oeno 16/2001, MA-F-AS315-10-OCHRAT. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts. Ed. 2007.