

SUSCEPTIBILIDADE DE DIFERENTES VARIEDADES DE TOMATES À CONTAMINAÇÃO POR *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* e OCRATOXINA A

Marcy Heli Paiva Rodrigues¹, Verônica Simões de Borba, Andressa Cunha Lemos¹, Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira¹, Kelly Cristina Massarolo², Eliana Badiale Furlong¹

1 – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS

2 - Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão BIOPARK – Biopark Educação, Rodovia Pr 182, s/n, km 320/321 Biopark, Toledo, Paraná, Brasil

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é um fruto bastante susceptível a contaminação fúngica e embora seja rico em compostos relacionados a mecanismos de defesa vegetal pouco se tem explorado quanto à relação entre estes e o potencial natural de defesa contra a contaminação micotoxicológica. Dentre os possíveis contaminantes fúngicos em tomates encontram-se espécies toxigênicas do gênero *Penicillium*, como o *Penicillium expansum* e *Penicillium verrucosum*, ambos associados a doenças em frutas secas, uvas e vinhos, e com a produção de ocratoxina A. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito inibidor de extratos fenólicos de tomates de variedades comerciais contra cepas de *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus* e a ocorrência de Ocratoxina A. O conteúdo fenólico entre as diferentes variedades de tomates não apresentou diferença estatística. No entanto a capacidade de inibição destes extratos frente ao crescimento fúngico foi significativamente diferente. OTA não foi detectada em nenhuma das amostras de tomate e sua ausência sugere que os compostos fenólicos estão envolvidos no mecanismo de defesa destes tomates contra os danos destas espécies fúngicas.

INTRODUÇÃO

Os frutos são susceptíveis a doenças no campo, no pós-colheita e durante o armazenamento, em consequência de sua composição rica em carboidratos e água livre ¹. Danos físicos, como cortes e feridas, durante a colheita, embalagem, transporte e armazenamento facilitam a entrada de patógenos. O tomate (*Solanum lycopersicum*), fruto de destaque nas cadeias agroindustriais, é bastante susceptível a contaminação fúngica, embora este fruto possua alegação de funcionalidade por sua riqueza em compostos bioativos (fenilpropanoides e outros) e que estes sejam frequentemente relacionados a mecanismos de defesa vegetal pouco se tem explorado quanto à relação entre estes e o potencial natural de defesa contra a contaminação micotoxicológica.

Dentre os possíveis contaminantes fúngicos em tomates encontram-se espécies toxigênicas do gênero *Penicillium*, como o *Penicillium expansum* ² e *Penicillium verrucosum*, ambos associados a doenças em frutas secas, uvas e vinhos, e com a produção de ocratoxina A ³. Outro fungo, produtor de ocratoxina A, é o *Aspergillus*

ochraceus, contaminante frequente em diversos produtos agrícolas, como cereais, café, cacau e frutas ⁴.

Com relação aos efeitos tóxicos, a ocratoxina A pode causar dano oxidativo, aumento da peroxidação lipídica, distúrbios de homeostase do cálcio, comprometimento da oxidação mitocondrial e indução de apoptose em vários tipos de células ⁵. Considerando os efeitos nocivos causados pela ingestão desta toxina, níveis máximos toleráveis foram estabelecidos para diferentes produtos alimentares, variando de 0,5 a 10 mg kg⁻¹ ⁶.

O efeito antioxidante e antimicrobiano de compostos fenólicos presentes em matrizes alimentares tem se mostrado promissor para prevenir a contaminação fúngica em suas fontes originais ou quando recuperados, para aplicação como conservadores em diferentes etapas da cadeia produtiva (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; SCAGLIONI et al., 2018; TELLES; KUPSKI; FURLONG, 2017). Neste contexto os teores de compostos fenólicos nos tomates merecem destaque em relação a outras fontes e seus efeitos protetores contra danos patológicos estão associados ao perfil deles e não as concentrações totais ¹⁰. No entanto, os compostos fenólicos dos tomates são pouco explorados quanto ao seu papel na inibição da contaminação por fungos toxigênicos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* e/ou contra a manifestação do potencial toxigênico deles. Este conhecimento pode contribuir para o estabelecimento de técnicas de manejo dos cultivos de tomates menos danosas a saúde humana e ao meio ambiente.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito inibidor de extratos fenólicos de tomates de variedades comerciais contra cepas de *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus* e a ocorrência de Ocratoxina A, visando inferir sobre a susceptibilidade de tomates à contaminação micotoxicológica por estes fungos e contribuir com soluções amigáveis para o manejo deste fruto.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta um delineamento experimental do estudo.

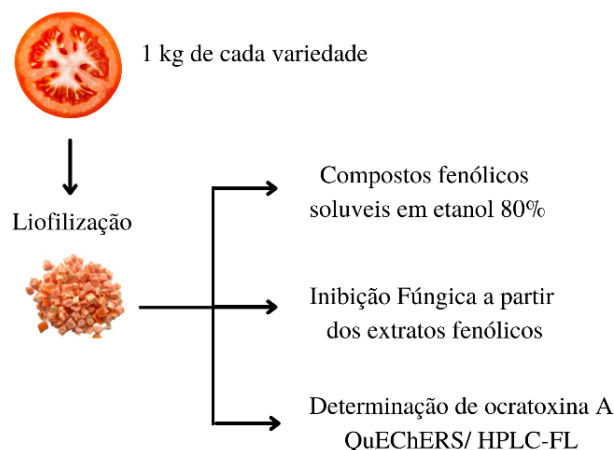


Figura 1. Delineamento experimental

Potencial antifúngico dos extratos fenólicos de tomates

A determinação de compostos fenólicos em matrizes vegetais é bastante complexa devido à grande variedade estrutural e a inúmeros fatores que podem afetar seu conteúdo¹¹ por isto estudos prévios validaram o protocolo para aplicar na caracterização de tomates. O conteúdo fenólico entre as diferentes variedades de tomates não apresentou diferença estatística (Tabela 1). No entanto, a capacidade de inibição destes extratos frente ao crescimento fúngico foi significativamente diferente.

O primeiro indicativo da atividade antifúngica dos extratos foi o diâmetro do halo de inibição dos fungos. Todos os halos foram maiores que 15 mm (Tabela 1), o que indicou que os extratos possuem capacidade de inibir o desenvolvimento fúngico. Os extratos fenólicos das variedades Cereja e Longa Vida foram os que apresentaram maior capacidade de inibir o crescimento por *Penicillium verrucosum*, 29 e 28,8%, respectivamente. Os extratos da variedade Caqui foi o melhor para inibir o crescimento de *Aspergillus ochraceus*, com uma porcentagem de inibição de 32%.

A estimativa do IC₅₀ (concentração de extrato fenólico necessária para inibir 50% do crescimento fúngico) mostrou que os extratos das variedades Cereja e Italiano necessitavam de uma concentração menor para inibir *P. verrucosum* e os extratos de tomate Cereja e Longa Vida foram mais eficientes para inibir *A. ochraceus*.

Tabela 1.: Conteúdo fenólico e capacidade de inibição fúngica dos extratos fenólicos de diferentes variedades de tomates

Tomate	Conteúdo fenólico (mg g ⁻¹)	<i>Penicillium verrucosum</i>		<i>Aspergillus ochraceus</i>	
		% Inibição	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	% Inibição	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
Cereja	36,2 ^a ± 0,5	29,0 ^a ± 1,2	1,3 ^b ± 0,08	26,7 ^b ± 2,0	1,2 ^c ± 0,1
Caqui	33,0 ^a ± 0,2	26,0 ^b ± 0,1	1,5 ^a ± 0,05	32,0 ^a ± 0,5	1,5 ^a ± 0,03
Italiano	33,0 ^a ± 1,0	27,8 ^b ± 1,9	1,3 ^b ± 0,08	30,0 ^a ± 1,0	1,3 ^b ± 0,08
Longa vida	34,5 ^a ± 0,1	28,8 ^a ± 1,0	1,5 ^a ± 0,6	27,0 ^b ± 1,0	1,2 ^c ± 0,2

Ocorrência de OTA em tomates

A curva analítica de OTA, bem como seus parâmetros de confiabilidade estão apresentados na Tabela 2. A recuperação de OTA foi de 80% com desvio padrão relativo de 0,5%, com isso, os dados mostram que o método é adequado para quantificação analítica desta micotoxina em amostras de tomate, pois atendem as diretrizes de validação (ANVISA, 2003)

OTA não foi detectada em nenhuma das amostras de tomate, embora haja relatos de ocorrência dela em várias matrizes alimentares, como cereais, feijão, especiarias, frutas secas, nozes e sementes oleaginosas Mesmo que os tomates possuam atividade de água ao redor de 98%, que é o ótimo para a produção de OTA, não se encontravam contaminados. Importante mencionar que são escassos os levantamentos de ocorrência desta micotoxina em tomates.

Um ponto importante de ser destacado é que a ausência de OTA nessas amostras pode estar relacionada ao mecanismo de defesa destes tomates, em especial os compostos fenólicos. Especialmente porque eles se mostraram capazes de inibir o crescimento

fúngico. Possivelmente os fenóis presentes nos tomates, além de inibirem o crescimento fúngico evitaram o estresse oxidativo, que poderia beneficiar a produção de OTA.

Tabela 2.: Parâmetros analíticos para determinação de OTA

Parâmetros	OTA
Curva no solvente	$y = 27644x - 842,8$
Linearidade	0,1 – 10 ng mL ⁻¹
Coefficiente de correlação	0,9997
LOD _i	0,03 ng mL ⁻¹
LOQ _i	0,1 ng mL ⁻¹
Curva na matriz*	$y = 16441x - 2784,2$
Efeito de matriz	41%
Linearidade	0,1 – 10 ng mL ⁻¹
Coefficiente de correlação	0,9917
LOD _m	0,6 ng g ⁻¹
LOQ _m	2,2 ng g ⁻¹

CONCLUSÃO

Os conteúdos de compostos fenólicos solúveis em etanol, presentes nas diferentes variedades de tomate variou entre 33,0 e 36,2 mg g⁻¹ não diferindo estatisticamente entre as variedades. O perfil deles foi mais importante que as quantidades totais de fenólico para inibir o crescimento fúngico, visto que os extratos das variedades Cereja e Italiano são melhores para inibir *P. verrucosum* e os extratos de tomates Cereja e Longa Vida para inibir *A. ochraceus*. A ausência de OTA nas amostras reforça o envolvimento dos compostos fenólicos no mecanismo de defesa destes tomates contra os danos destas espécies fúngicas.

REFERÊNCIAS

- Colmán, A. A.; Alves, J. L.; da Silva, M.; Barreto, R. W. Phoma Destructiva Causing Blight of Tomato Plants: A New Fungal Threat for Tomato Plantations in Brazil? *Trop. Plant Pathol.* **2018**, *43* (3), 257–262.
- Perre, E. Van De; Jacxsens, L.; Lachat, C.; El, F.; Meulenaer, B. De. Impact of Maximum Levels in European Legislation on Exposure of Mycotoxins in Dried Products : Case of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Nuts and Dried Fruits. *Food Chem. Toxicol.* **2015**, *75*, 112–117.
- Ortiz de Elguea-Culebras, G.; Sánchez-Vioque, R.; Santana-Méridas, O.; Herraiz-Peñalver, D.; Carmona, M.; Berruga, M. I. In Vitro Antifungal Activity of Residues from Essential Oil Industry against *Penicillium Verrucosum*, a Common Contaminant of Ripening Cheeses. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *73*, 226–232.
- Meng, D.; Garba, B.; Ren, Y.; Yao, M.; Xia, X.; Li, M.; Wang, Y. Antifungal Activity of Chitosan against *Aspergillus Ochraceus* and Its Possible Mechanisms of Action. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *158*, 1063–1070.
- Gallo, A.; Ferrara, M.; Perrone, G. Recent Advances on the Molecular Aspects of Ochratoxin A Biosynthesis. *Curr. Opin. Food Sci.* **2017**, *17*, 49–56.
- Geisen, R.; Touhami, N.; Schmidt-Heydt, M.; Himmelsbach A. New Aspects of Ochratoxin A and Citrinin Biosynthesis in *Penicillium*. *Curr. Opin. Food Sci.* **2018**, *23*, 23–31.
- Christ-Ribeiro, A.; Graça, C. da S.; Kupski, L.; Badiale-Furlong, E.; Souza-Soares, L. Cytotoxicity, Antifungal and Anti Mycotoxins Effects of Phenolic Compounds from Fermented Rice Bran and *Spirulina* Sp. *Process Biochem.* **2019**.
- Scaglioni, P. T.; Blandino, M.; Scarpino, V.; Giordano, D.; Testa, G.; Badiale-Furlong, E. Application of Fungicides and Microalgal Phenolic Extracts for the Direct Control of Fumonisin

- Contamination in Maize. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66* (19), 4835–4841.
9. Telles, A. C.; Kupski, L.; Furlong, E. B. Phenolic Compound in Beans as Protection against Mycotoxins. *Food Chem.* **2017**, *214*, 293–299.
 10. Rodrigues, M. H. P.; Kupski, L.; Souza, T. D. De; Lucas, J.; Arias, D. O.; Oca, M. M. D.; Furlong, E. B. Relations between Nutrients and Bioactive Compounds of Commercial Tomato Varieties by the Principal Component Analysis. *Food Sci. Technol.* **2021**, *2061*, 1–8.
 11. Lajolo, F. M.; Mercadante, Z. & A. *Química e Bioquímica de Alimentos*; Atheneu, Ed.; São Pasulo, Brasil, 2017.
 12. ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos [Guide for validation of analytical and bioanalytical methods], 2003.