

## Inibição da Reação em Cadeia da Polimerase por compostos presentes no vinho

Gildo Almeida da Silva<sup>1</sup>, Taís Letícia Bernardi<sup>2</sup>, Morgana Menegotto<sup>3</sup>,  
Patrícia D. Carvalho Schaker<sup>4</sup>, Magali Stival Berlesi<sup>5</sup>, Patrícia Valente<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Uva e Vinho – gildo@cnpuv.embrapa.br; <sup>2</sup>Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – UFRGS/RS - Bolsista Capes; <sup>3</sup>Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia – UFRGS/RS – Bolsista Embrapa Uva e Vinho; <sup>4</sup>Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia – Bolsista CNPq; <sup>5</sup>Graduação em Ciências Biológicas – Bolsista PIBIC CNPq; <sup>6</sup>Depto de Microbiologia – UFRGS/RS

O estado do Rio Grande do Sul é responsável pela produção de aproximadamente 90% dos vinhos brasileiros. O mosto, inicialmente, possui diferentes espécies de microrganismos. Durante o processo fermentativo, realizado por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, ocorre uma sucessão de microrganismos. À medida que inicia a produção de álcool, a atividade de bactérias e de determinadas leveduras menos resistentes vai sendo reduzida. No entanto, leveduras pertencentes aos gêneros *Brettanomyces/Dekkera* conseguem sobreviver em condições elevadas de etanol, bem como em ambientes com baixas concentrações de açúcar e oxigênio. Os dois gêneros convertem ácidos hidroxicinâmicos, naturalmente presentes no vinho, em compostos fenólicos capazes de conferir odores desagradáveis, ocasionando significativas perdas econômicas. Estas leveduras apresentam crescimento lento em meio de cultivo sólido, tornando de fundamental importância o desenvolvimento de técnicas moleculares independentes de cultivo para sua detecção. Diante disso, uma metodologia de extração direta do DNA do vinho, para posterior utilização em reação em cadeia da polimerase (PCR) com oligonucleotídeos para fungos e para os gêneros *Brettanomyces/Dekkera*, visando uma redução no tempo de detecção e identificação destes microrganismos contaminantes está sendo investigada. Ao se utilizar este DNA em reações de PCR, não ocorre amplificação do fragmento desejado, o que pode ser devido a ligações de compostos do vinho com o próprio DNA e com a Taq DNA polimerase. Na tentativa de solucionar este problema, primeiramente, homogeneizou-se DNA, extraído de colônias crescidas em ágar mosto, com vinho para realizar a PCR, onde foi confirmada a não amplificação. A partir deste resultado, foi testada a influência de alguns compostos naturalmente presentes no vinho como resveratrol, quercitina e tanino quanto a sua capacidade de inibição da Taq DNA polimerase. A quercitina foi capaz de inibir a PCR quando presente em concentrações elevadas. Enquanto que, a utilização de taninos nas concentrações normalmente presentes no vinho tinto, de 0,1 a 0,2%, não permitiu a amplificação. Estes resultados indicam a necessidade de remoção destes compostos para uso em PCR quando a extração for realizada diretamente de amostras de vinho.