

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA**

ADRIANE BUCZYNSKI

***METHODI ORDINATIO* PARA ESTUDO DE FUMONISINAS NA PRODUÇÃO DE
CERVEJA**

PONTA GROSSA

2022

ADRIANE BUCZYNSKI

**METHODI ORDINATIO PARA ESTUDO DE FUMONISINAS NA PRODUÇÃO DE
CERVEJA**

***Methodi Ordinatio* for study fumonisins in beer production**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Dra. Juliana Vitória Messias Bittencourt.

Coorientadora: Dra. Elisabete Hiromi Hashimoto.

**PONTA GROSSA
2022**



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es).
Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa**



ADRIANE BUCZYNSKI

METHODI ORDINATIO PARA ESTUDO DE FUMONISINAS NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Biotecnologia.

Data de aprovação: 13 de Dezembro de 2021

Prof.a Juliana Vitoria Messias Bittencourt, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Elisa Yoko Hirooka, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof.a Elisabete Hiromi Hashimoto, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Sabrina Avila Rodrigues, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 13/12/2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus.

Aos meus familiares, pelo incentivo, compreensão e apoio.

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra. Juliana Bittencourt e a minha coorientadora Prof.^a Dra. Elisabete Hiromi Hashimoto por todos os ensinamentos e dedicação ao longo destes anos de mestrado, o meu muito obrigada.

Ao meu esposo Daniel que sempre esteve ao meu lado me incentivando.

Aos meus amigos, pelo apoio emocional e amizade.

Agradeço à Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de estudos. E também a todos os professores do Programa PPGBiotec, pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

RESUMO

A cerveja é constituída de água, lúpulo, malte e leveduras e é uma das bebidas mais consumidas no mundo. Um problema para a indústria cervejeira é a contaminação por micotoxinas. Estes metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos, podem contaminar a matéria-prima e conseqüentemente a cerveja. Os níveis de contaminação em cevada, milho e na cerveja variam muito entre diversas regiões do mundo. Este estudo consiste em uma revisão sistemática, sobre a ocorrência de fumonisinas (FBs) em cereais e na cerveja em diversos países explorando a diferença de concentração na matéria prima e no produto final. Também são elucidados os danos causados pela adição de adjuntos e grãos contaminados. Os trabalhos foram selecionados das seguintes bases: *Science Direct*, *Web of Science* e *Scopus* utilizando as palavras chaves: *fumonisin*, *beer*, *malt*, *brewing*, *biological control*, *degrad*, *degradation*, *biodegrad*, *remove*, *adsorb* e *adsorbent* e sua inclusão na revisão foi definida pelo *Methodi Ordinatio*. Dos 22 trabalhos sobre ocorrência de FBs 5 não detectaram a toxina, 7 detectaram em amostras de cerveja comercial e 8 em amostras de cervejas com adjuntos de milho. Os países do continente africano são os com maiores níveis de contaminação. Entre os 17 estudos selecionados sobre processamento de cerveja, em 6 com uso de adjuntos de milho e sorgo foi verificado FBs na matéria prima e no produto final após o processamento, demonstrando ser necessárias mais medidas que restrinjam o desenvolvimento dos fungos produtores de FBs na matéria prima da cerveja. Com a temática controle de FBs foram selecionados 21 trabalhos que demonstraram que métodos convencionais de processamento de alimentos não são capazes de eliminar a toxina, e que métodos de controle biológico reduzem ou eliminam a FB, as principais estratégias destes controles envolvem métodos de adsorção e métodos enzimáticos de biodegradação.

Palavras-chave: *Fusarium*; micotoxinas; milho; fumonisinas.

ABSTRACT

Beer is made up of water, hops, malt and yeast and is one of the most consumed beverages in the world. A problem for the brewing industry is mycotoxin contamination. These secondary metabolites produced by filamentous fungi can contaminate the raw material and consequently the beer. The levels of contamination in barley, corn and beer vary widely between different regions of the world. This study consists of a systematic review of the occurrence of fumonisins (FBs) in cereals and beer in several countries, exploring the difference in concentration in the raw material and in the final product. We also elucidate the damage caused by the addition of adjuncts and contaminated grain. The works were selected from the following databases: Science Direct, Web of Science and Scopus using the key words: fumonisin, beer, malt and brewing and their inclusion in the review was defined by the Methodi Ordinatio. Of the 22 studies on the occurrence of fumonisins, 5 did not detect the toxin, 7 detected it in samples of commercial beer and 8 in samples of beers with corn adjuncts. The countries on the African continent showed the highest levels of contamination. Among the 17 selected studies on beer processing, in 6 with the use of adjuncts of corn and sorghum, fumonisins were verified in the raw material and in the final product after processing. Our results show the needed to restrict the development of fumonisin-producing fungi in the material cousin of beer. With the theme of fumonisin control, 21 studies were selected that demonstrated conventional food processing methods are not able to eliminate the toxin, and biological control methods reduce or eliminate fumonisin. The main strategies involve adsorption methods and biodegradation enzymes.

Keywords: *Fusarium*; mycotoxins; corn; fumonisins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Etapas da produção de cerveja	16
Figura 2 – Observação de <i>Fusarium verticillioides</i> em microscopia eletrônica. a) Monofiálides com cadeias de conídios. b-d) Conidióforos e microconídios. e-g) Microconídios	26
Figura 3 – Estrutura química de fumonisinas FB ₁ , FB ₂ e FB ₃	27
Figura 4 – Fluxograma indicando as etapas necessárias para a realização do trabalho	41
Figura 5 – Rede de coautores de ocorrência, processamento e controle de fumonisinas	51
Figura 6 – Fluxograma das etapas de processamento da cerveja com destaque para a de adição dos adjuntos	55
Figura 7 – Contaminação por fumonisinas durante as etapas do processamento da cerveja.....	69
Figura 8 – Via esquemática proposta de degradação de FB ₁ em <i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144.....	81
Figura 9 – Métodos de controle biológico nas etapas do processamento da cerveja	88
Figura 10 – Fermentação com levedura Ale (A) e Lager (B). ME: massa específica do mosto (g/cm ³); T: temperatura (°C); E éster (ppm).....	89
Quadro 1 – Métodos de controle biológico para redução de fumonisinas	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas no Brasil	25
Tabela 2 – Resultado da busca nas bases de dados ocorrência e processamento de FBs.....	42
Tabela 3 – Resultado da busca nas bases de dados controle de fumonisinas.....	43
Tabela 4 – <i>Ranking</i> de portfólio dos artigos de ocorrência de fumonisinas com aplicação da equação <i>InOrdinatio</i>	45
Tabela 5 – <i>Ranking</i> de portfólio dos artigos de processamento de fumonisinas com aplicação da equação <i>InOrdinatio</i>	46
Tabela 6 – <i>Ranking</i> de portfólio dos artigos de controle de fumonisinas com aplicação da equação <i>InOrdinatio</i>	48
Tabela 7 – Análise de cervejas comerciais em que não foram detectadas fumonisinas	52
Tabela 8 – Fumonisinas em amostras de cerveja comercial de diversos países.....	54
Tabela 9 – Fumonisinas em amostras de cerveja com adjunto de milho.....	56
Tabela 10 – Variação da concentração de FB ₁ na matéria-prima e no final do processo de produção de cerveja	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP1	Aminopentol
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATP	<i>Adenosine TriPhosphate</i>
CASP	<i>Critical appraisal skills programme</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CI	Número de citações
DDGS	<i>Dried Distillers Grains with Solubles</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DON	Desoxinivalenol
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar
FBs	Fumonisinias
FB _T	FBs totais
FHB	<i>Fusarium Head Blight</i>
FI	Fator de impacto
GlcNAc	N-acetil glucosamina
HFB ₁	FB B ₁ hidrolisada
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HSCAS	Aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado
INESS	<i>Nacional institute of excellence in health services</i>
JCR	<i>Journal citation reports</i>
LAB	<i>Lactic acid</i> bacteria
LMTs	Limites máximos tolerados
MeV	<i>Million electronvolts</i>
MMAT	<i>Mixed methods appraisal tool</i>
MurNAc	Ácido N-acetil murâmico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PGs	Peptidoglicanos
pH	Potencial hidrogeniônico
PMTDI	<i>Provisional maximum tolerable daily intake</i>

ppb	Parte por bilhão
ppm	Parte por milhão
QUOROM	<i>Quality of reporting of metaanalyses</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TCA	Ácido Tricarboxílico
UHPLC	<i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography</i>
ZEA	Zearalenona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 CERVEJA	15
3.1.1 Produção de Malte e Cerveja no Estado do Paraná e Brasil.....	21
3.1.2 Adjuvantes na Produção de Cerveja	19
3.1.2 Micotoxinas em Cerveja	23
3.2 <i>Fusarium verticillioides</i>	25
3.2.1 Fumonisinias	26
3.2.2 Fumonisinias na Produção de Alimentos	28
3.2.3 Controle de <i>Fusarium spp.</i>	29
3.3 REVISÃO DE LITERATURA: CONCEITOS FUNDAMENTAIS	31
3.3.1 Tipos de Revisão de Literatura	32
3.3.1.1 Revisão integrativa de literatura	32
3.3.1.2 Revisão narrativa de literatura.....	33
3.3.1.3 Revisão sistemática de literatura.....	33
3.3.2 Ferramentas para Realizar Revisões Sistemáticas	34
3.3.2.1 PRISMA – <i>Preferred reporting items for systematic</i>	34
3.3.2.2 CASP – <i>Critical appraisal skills programme</i>	35
3.3.2.3 MMAT – <i>Mixed methods appraisal tool</i>	36
3.3.2.4 <i>Methodi Ordinatio</i>	37
3.4 ANÁLISE DE REDES BIBLIOMÉTRICAS (VOSviewer).....	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 APLICAÇÃO DO <i>METHODI ORDINATIO</i>	40
4.1.1 Estabelecer a Intenção da Pesquisa	41
4.1.2 Pesquisa Preliminar com as Intenções de Palavras-Chaves	41
4.1.3 Definição das Palavras-Chaves e Base de Dados	42
4.1.4 Pesquisa Definitiva nas Bases de Dados	42
4.1.5 Procedimentos de Filtragem.....	43
4.1.6 Identificação do Fator de Impacto, Ano de Publicação e Número de Citações	43
4.1.7 Aplicação <i>InOrdinatio</i>	44
4.1.8 Localizar os Artigos em Sua Integralidade	44
4.1.9 Leitura Final e Análise Sistemática dos Artigos.....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51

5.1 OCORRÊNCIA DE FUMONISINAS	51
5.1.1 Fumonisinas em Cervejas com Adjunto de Milho.....	55
5.2 <i>Fusarium</i> sp. e FUMONISINAS NO PROCESSAMENTO DA CERVEJA	62
5.3 BIOCONTROLE PARA REDUÇÃO DE FUMONISINA	70
5.3.1 Biocontrole de Fumonisina	72
5.4 ADSORÇÃO.....	73
5.4.1 Adsorção por Bactérias Ácido Láticas e Leveduras	74
5.5 BIODEGRADAÇÃO DE FUMONISINA	80
6 CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS.....	92

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida alcoólica muito consumida no mundo todo. No Brasil, o consumo médio per capita é de aproximadamente 68 L por ano (RAMOS; PANDOLFI, 2019). Considerando que os grãos e cereais, susceptíveis à contaminação fúngica, são as principais matéria-prima da cerveja, há a preocupação da ocorrência de micotoxinas. Grande parte dos estudos sobre a ocorrência de micotoxinas em cerveja se concentram em toxinas produzidas por *Fusarium graminearum* tais como desoxinivalenol (DON), nivalenol, T-2, HT-2, diacetoxyscirpenol, zearalenona (GONÇALVES *et al.*, 2012). O fato se deve, pois, a principal matéria prima para produção de cerveja é o malte de cevada, cuja condições climáticas são mais favoráveis para o desenvolvimento dessa espécie fúngica *nygamai* (MALLMANN; KOWALSKI; ALMEIDA, 2014).

Entretanto, seja devido à escassez de cevada devido as condições climáticas desfavoráveis e também devido ao custo da matéria-prima, em diversos países os produtores de cerveja fazem uso dos adjuntos (DABIJA *et al.*, 2021). O milho é um dos adjuntos mais utilizados. No Brasil, o milho é bastante viável e acessível a substituição parcial da cevada por este grão (SLEIMAN *et al.*, 2010; D'AVILA *et al.*, 2012). Entretanto com a substituição há o risco de contaminação por outros tipos de micotoxinas, com destaque para fumonisina (FB), produzida por *F. verticillioides*.

A ocorrência, efeito no processamento da cerveja de *F. verticillioides* e de FBs são menos relatadas na literatura quando comparadas com publicações científicas sobre a relação *F. graminearum* e suas micotoxinas em cerveja. Nesse sentido faz se necessário pesquisar e identificar as melhores evidências da ocorrência de FBs em cerveja, sua problemática no processamento de cerveja assim como métodos de controle viáveis ao processamento.

As informações na literatura sobre o tema e o tempo restritos de profissionais, têm estabelecido a necessidade no avanço de processos que propiciem caminhos precisos até os resultados provenientes de pesquisas, assim, a revisão sistemática é uma busca científica a fim de agregar, analisar criticamente e conduzir um resumo com os resultados de vários estudos primários.

Para avaliar a problemática de FBs em cerveja este trabalho teve como

objetivo aplicar o a revisão sistemática do *Methodi Ordinatio*, um método de revisão que classifica os trabalhos de acordo com a sua relevância científica através da equação *Index Ordinatio (InOrdinatio)* nas questões envolvendo a ocorrência de FBs em cerveja, o efeito da contaminação por *F. verticillioides* e FBs no processamento de cerveja, assim como analisar métodos de controle biológico que sejam aplicáveis na produção de cerveja.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a problemática de ocorrência de fumonisinas (FBs) na produção de cerveja por meio da revisão sistemática do *Methodi Ordinatio*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão sistemática sobre a ocorrência de FBs na indústria cervejeira;
- Analisar na literatura estudada quais os problemas relacionados a contaminação fúngica e por FBs no processo de produção de cerveja;
- Avaliar tratamentos de biocontrole demonstrados na literatura que podem ser aplicáveis para redução de FBs no processo produtivo de cerveja.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CERVEJA

A cerveja é uma bebida carbonatada que possui baixo teor alcoólico, produzida a partir da fermentação de malte de cevada contendo lúpulo e água potável de boa qualidade e pode empregar-se diferentes matérias-primas como arroz, trigo ou milho, denominados adjuntos.

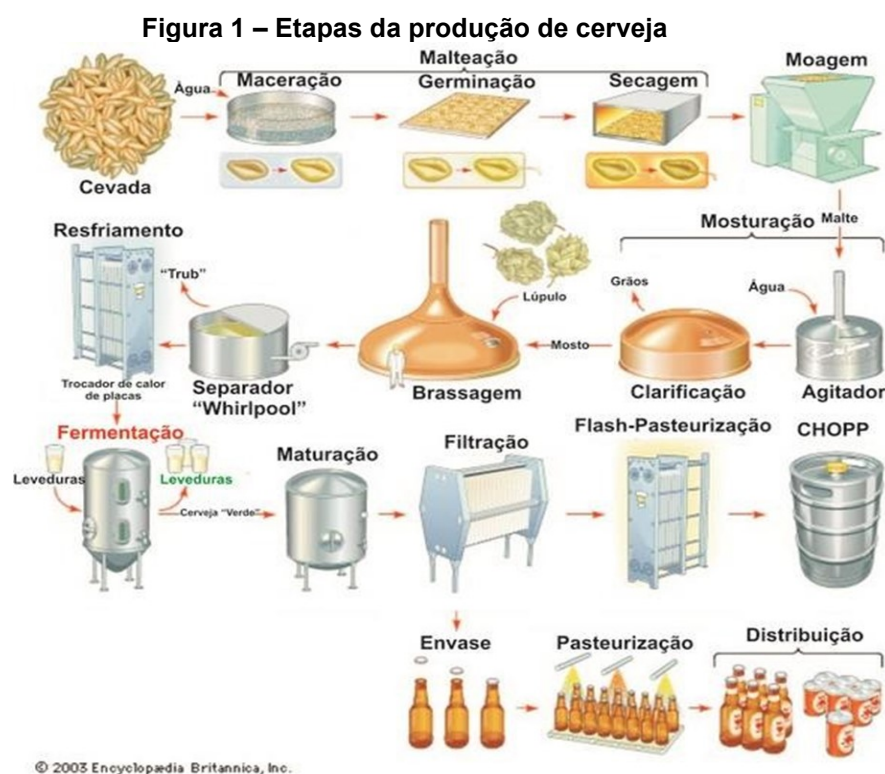
A cevada é o cereal mais usado na produção de cerveja (DABIJA *et al.*, 2021). Este cereal é muito suscetível a doença denominada como *Fusarium Head Blight* (FHB) ou giberela (WOLF-HALL, 2007), impactando negativamente nas taxas de germinação. Na presença de fungos ocorre redução na qualidade e da produtividade do produto durante a maltagem (PASCARI *et al.*, 2018). O fungo da espécie *F. graminearum* é o responsável por esta doença, sendo ele produtor de elevados níveis de tricotecenos do tipo B, como o DON e a micotoxina estrogênica zearalenona (WOLF-HALL, 2007).

Para produção de cerveja a cevada é submetida ao processo de malteação. O processo industrial promove a germinação do grão, gerando o malte. Além da cevada, diversos cereais podem ser maltados como trigo, centeio, aveia, arroz, trigo e milho. O processo de malteação está associado à qualidade da cerveja, dado que as características sensoriais da bebida dependem de um malte de boa qualidade (VENTURINI FILHO, 2010). O objetivo principal de maltagem é desenvolver as enzimas hidrolíticas, que estão ausentes no grão não germinado e o grão maltado é rico em vitaminas (A, B, C e E) e proteínas (MAGAN; OLSEN, 2004). O malte é preparado em três etapas principais maceração, germinação e secagem.

A maceração é a primeira etapa do processo de malteação. Nesta etapa o grão limpo e classificado é imerso em água, elevando o teor de umidade para entre 35 e 45% para que ele possa germinar. A maceração é considerada uma fase crítica pois é necessário que todos os grãos obtenham a umidade adequada de forma homogênea (PORTO, 2011). Em seguida na etapa de germinação, o grão perde cerca de 0,5% de umidade por dia, sendo necessário controlar essa umidade perdida através de aspersão de água nos grãos. A temperatura deve ser controlada entre 16

a 20 °C (BAMFORTH; BARCLAY, 1993; ZSCHOERPER, 2009). E por fim, na secagem, o grão torna-se estável e armazenável (BRIGGS, 1995). Essa etapa inicia-se com um rápido fluxo de ar com temperaturas mais baixas e quando se tem uma redução significativa da umidade, eleva-se a temperatura do ar que percorre pela massa de grãos (GIBSON, 1989). Ao final da secagem é necessário o resfriamento do malte, dentro da própria estufa, para que não ocorra perda enzimática e não haja alteração da cor do malte e do paladar da cerveja. Para isso, deve-se reduzir a temperatura para cerca de 35 °C o que leva aproximadamente de 30 a 40 minutos dependendo do tipo de estufa (ZSCHOERPER, 2009).

O malte produzido é conduzido para produção da cerveja, através das seguintes etapas: moagem, mosturação, filtração ou clarificação do mosto, fervura, resfriamento do mosto, fermentação e envase (Figura 1).



Fonte: Carneiro (2010)

A moagem é uma etapa fundamental e indispensável por disponibilizar no mosto o amido presente nos grãos de cevada, trigo, arroz e outras possíveis fontes de açúcares. Durante a moagem recomenda-se preservar a casca dos grãos, para que ela possa ajudar na filtração do mosto depois (MORADO, 2009; GARCIA, 2012).

Após realizada a moagem inicia-se a etapa de brassagem que compreende

na conversão do amido em açúcares que as leveduras conseguem degradar por meio da adição de água e aquecimento, produzindo o denominado mosto. Vários fatores podem influenciar a qualidade e o rendimento da brassagem e, dentre eles, podemos ressaltar a qualidade do malte e dos adjuntos empregues; a composição química da água utilizada; a relação água/quantidade de matéria sólida; o diagrama de tempos/temperaturas nas caldeiras de mostura e de adjuntos (SANDERSON *et al.*, 2010).

Após a elaboração do mosto ele será filtrado com o objetivo de retirar as impurezas, como as cascas dos cereais. Normalmente são usados filtros de terra diatomácea, separadores centrífugos ou clarificadores e filtros prensa (KUNZE, 2006).

Após a filtração, ferve-se o mosto, com a adição de lúpulo e eventuais outros ingredientes do estilo de cerveja, sucedendo a liberação de outros açúcares. Na fervura o mosto passa pela esterilização já que os microrganismos contaminantes são mortos pela elevada temperatura. Outros compostos que são indesejáveis para a cerveja também são evaporados e degradados (KUNZE, 2006; MEDEIROS, 2010).

Na etapa da clarificação acontece a retirada das proteínas insolúveis (BLEIER *et al.*, 2013), e demais impurezas do líquido, sendo por decantação ou por centrifugação que ocorre por meio de movimentos circulares deixando o material sólido depositado. Após resfria-se o mosto, sendo preparado para a fermentação, podendo também acontecer a oxigenação da mistura (RODRIGUES *et al.*, 2003). Após a fermentação a principal etapa da produção de cervejas, descrita separadamente abaixo no trabalho, ocorre a maturação e envase. Na maturação a cerveja é armazenada durante um tempo em uma menor temperatura do que a utilizada durante a fermentação e na remoção do fermento para que suas características cheguem no aroma, textura e complexidade esperados. Já com a cerveja pronta ocorre o envase, sendo necessário tomar cuidado para evitar contaminações. Nessa etapa pode ocorrer os processos de pasteurização e carbonatação da bebida, a fim de esterilizar e aumentar o tempo de validade. O processo pode ser em garrafas, latas e barris (SILVA, 2005; CERVIERI *et al.*, 2014).

A fermentação é a principal etapa da produção de cervejas, onde adiciona-se as leveduras. O tempo, a temperatura e até o tipo de levedura estão intimamente relacionados com o tipo de cerveja a se produzir (MEDEIROS, 2010).

A fermentação pode ser resumida em três etapas. A fase lag, é o período em

que as leveduras se habituem ao ambiente onde foram inoculadas, não se verifica considerável consumo de carboidratos, no entanto as células já estão metabolicamente ativas e absorvem componentes do mosto como oxigênio e nitrogênio. Na fase de crescimento ou de fermentação é a etapa onde as leveduras usam carboidratos como glicose, frutose, maltose e maltotriose para a reprodução, produção de etanol e CO₂ dentre outros elementos que tem a capacidade de interferir o produto final. Por fim há a fase estacionária, nela os nutrientes do mosto já não contêm concentrações altas o bastante para que as leveduras continuem a metabolização dos carboidratos, então as células entram em estado de quase dormência e as taxas de floculação e sedimentação das leveduras se elevam aumentam (LIVENS, 2016; HARRISON; ALBANESE, 2017).

A fermentação alcoólica ocorre em condições anaeróbicas, com o uso da glicose e frutose, esses açúcares são convertidos através da glicólise em ATPs, gerando etanol e dióxido de carbono como compostos secundários que são originados do ácido pirúvico constituído no processo (ALEXANDRINO, 2012). A maltose, glicose e maltotriose correspondem cerca de 80% do total dos carboidratos presentes na cerveja, os demais são a frutose, sacarose e açúcares que não foram metabolizados pelas leveduras (WILLAERT, 2001; GIBSON, 2007).

O consumo dos carboidratos acontece de forma sequencial, a levedura fermenta a sacarose, quase que conjuntamente com a glicose e em seguida o consome aproximadamente 50% desses açúcares, então inicia o processo de fermentar a maltose; apenas no final da maltose que os microrganismos começam a usar a maltotriose como fonte de energia (LEI *et al.*, 2016). Para que o processo de fermentação aconteça de maneira controlada e de forma correta, é necessário averiguar a viabilidade celular das leveduras e fazer a contagem de células para se tenha um bom indício sobre eventuais complicações. Alguns parâmetros que são utilizados como indicadores são: crescimento celular, floculação, consumo de carboidratos, redução de pH, produção de etanol e CO₂. Perto do último dia de fermentação a análise sobre a existência de bolhas de CO₂ e a medição de densidade possibilitam avaliar a quantidade de açúcar que tem no mosto, sendo também bons parâmetros para checar se o processo se mantém acontecendo e em qual intensidade (WALKER; WALKER, 2018).

Existem várias formas em que a fermentação pode acontecer e varia com a

quantidade de produto que se deseja, com o espaço físico que se tem à disposição e com a quantidade de recurso financeiro investido no processo de fabricação. Dentre as variações podemos citar a fermentação contínua, batelada, batelada alimentada e semi-contínua. A fermentação com a levedura imobilizada é a mais comum e mais observada nas cervejarias (PUTMAN, 2018).

Outro fator importante para uma boa fermentação é deixar as leveduras nutridas quando se almeja elevar o rendimento alcoólico dos microrganismos e dos açúcares. A *Saccharomyces cerevisiae* também precisa de minerais, nitrogênio e oxigênio para o crescimento celular além de um controle correto da temperatura, que muda conforme a cepa utilizada e o tipo de fermentação que irá utilizar (AQUARONE *et al.*, 2001; COSTA, 2019). As leveduras são consideradas a peça chave para que o processo ocorra.

3.1.1 Produção de Cerveja e Malte no Estado do Paraná e Brasil

Um dos insumos que compõe a cerveja é a cevada, que por sua vez é a matéria-prima do malte, principal fonte de açúcares fermentescíveis dessa bebida alcoólica. No caso, o malte confere cor, corpo, sabor e aroma à cerveja.

No Brasil, a cevada cultivada em escala comercial é utilizada na fabricação de malte de forma exclusiva; no entanto, novas propostas sugerem seu uso para a produção de ração animal nos próximos anos (SILVA, 2020). Diante desse cenário, é importante mencionar que em 2021 o Brasil registrou o recorde histórico de produção de grãos de cevada, que chegou a contabilizar 435 mil toneladas (FREITAS, 2022).

Para os especialistas, essa meta foi atingida devido ao crescimento da área plantada no país e à alta produtividade do grão para a fabricação do malte, dois resultados do constante investimento que está sendo feito no setor em relação à pesquisa e inovação agrícola, assim como das condições climáticas favoráveis para o cultivo durante esse período (EMBRAPA, 2021).

No mercado nacional, os estados que lideram a produção deste grão são Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, por apresentarem condições climáticas favoráveis ao cultivo da cevada para malte cervejeiro (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Especificamente, a alta luminosidade, baixa umidade relativa do ar e temperaturas

amenas durante as fases de formação, enchimento e maturação dos grãos, definem essas regiões localizadas no sul do Brasil como áreas adequadas para o cultivo de cevada e a produção de malte, de interesse para esta revisão (BRESSAN, 2018).

Particularmente, o estado do Paraná responde por 72% da produção de cevada no Brasil e quase 62% da área cultivada deste grão (IBGE, 2020a). Em 2020, esse estado apresentou um aumento constante da área plantada (crescimento de 4,8% de 2019 a 2020), atingindo 63,6 mil hectares, e a produção foi de 270,9 mil toneladas de grãos de alta qualidade, com praticamente toda a produção utilizada na indústria de malte (IBGE, 2020b).

Neste ponto, é importante destacar que a maior maltaria da América Latina está localizada na região de Guarapuava (Paraná), responsável por 30% da demanda nacional (AGÊNCIA ESTADUAL DE NOTÍCIAS, 2021). Especificamente, esta região tem um inverno rigoroso, situação que faz com que o grão se adapte e se desenvolva bem (AGÊNCIA ESTADUAL DE NOTÍCIAS, 2021; JORNAL PONTA GROSSA, 2022).

Reconhecendo que o estado do Paraná é o maior produtor e comercializador de cevada do país, os agricultores deste grão desenvolveram uma intercooperação formada pela Cooperativa Agrária (Guarapuava) e outras cooperativas de municípios vizinhos (Arapoti, Castro, Carambeí, Lapa e Ponta Grossa) para a instalação de uma nova maltaria em Campos Gerais (Paraná). De acordo com a coordenação do projeto, a escolha do local visa a atender critérios logísticos de recolocação da cevada e escoamento da produção de malte para potenciais clientes (JORNAL PONTA GROSSA, 2022). O projeto será construído em um terreno de 395 mil m² e estará localizado na cidade de Ponta Grossa.

Sobre o produto final, ou seja, a cerveja, pode se afirmar que a participação do Brasil na indústria desse setor tem despertado a atenção de grandes empresas e investidores ao redor do mundo, e tem sido essencial para a economia do país. Suas operações movimentam uma extensa cadeia produtiva que é responsável por 1,6% do Produto Interno Bruto (PIB) e 14% da indústria de transformação nacional (MARCUSO; MULLER, 2018; PIACENTINI *et al.*, 2018).

Neste ponto, vale a pena destacar que o Brasil tem apresentado um crescimento significativo em relação à quantidade e qualidade da cevada cultivada, produção de malte, processamento, venda e consumo de cerveja, dados que se consideram significativos para o setor nas últimas duas décadas (PIACENTINI *et al.*,

2018). Especificamente, o Brasil ocupa a 3ª posição mundial em produção de cerveja, com 14 bilhões de litros por ano, atrás apenas da China e dos Estados Unidos, que registram 46 e 22 bilhões de litros anuais, respectivamente (LOPES; MORALES; MONTAGNOLLI, 2019).

3.1.2 Adjuvantes na Produção de Cerveja

Na produção de cerveja o malte pode ser parcialmente substituído por adjuvantes, a prática é permitida por legislação de vários países. No Brasil, segundo o decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019, que regulamenta a lei nº 8.918, de 14/07/1994 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a cerveja é estabelecida como “a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo”, sendo possível substituir o malte e o lúpulo por seus extratos. De acordo com a mesma legislação, uma fração do malte de cevada pode ser substituída por adjuvantes cervejeiros, porém eles não podem ultrapassar 45% em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2019).

Os adjuvantes podem ser a cevada cervejeira e outros cereais malteados ou não malteados, bem como amidos e açúcares de origem vegetal de composição adequada e com propriedades benéficas que tem a função de complementar ou suplementar o malte na produção do mosto cervejeiro (SILVA, 2005), além destes com a nova resolução aumentou o número de adjuvantes que podem ser utilizados, sendo incluídos produtos de origem animal nas cervejas como: leite, chocolate com leite e mel (BRASIL, 2019).

Os adjuvantes usados na produção de cerveja permitem reduzir as despesas com as matérias-primas utilizadas em sua fabricação (DABIJA *et al.*, 2021), visto que a cevada produzida no Brasil não consegue suprir a demanda. Sendo assim, o uso de matérias-primas nacionais reduz os custos na produção do extrato cervejeiro, além de melhorar a estabilidade físico-química da cerveja, reduzindo a sua turvação. São também responsáveis por proporcionar a cerveja uma coloração mais clara, com sabor e aroma mais suave e com baixa concentração de sólidos solúveis no malte. No entanto, esta prática não deve afetar a qualidade da cerveja (LEWIS; YOUNG, 1995; VENTURINI FILHO, 2000).

O adjunto mais utilizado em vários países é o griz de milho (milho degerminado), ele viabiliza a produção de uma cerveja mais leve e refrescante (MULLER, 2018). Vale destacar que a produção desse cereal está entre as três maiores do mundo, sendo viável e acessível a sua oferta em grande quantidade, a escolha por ele também se dá devido sua composição possuir alto teor de carboidratos (SLEIMAN *et al.*, 2010; D'AVILA *et al.*, 2012).

O percentual utilizado de adjuntos é diferente em cada país ou região. Um estudo realizado em 2009 demonstrou que na Europa são utilizados cerca de 10 a 30% (m/m) de adjuntos na produção de cerveja, já nos Estados Unidos é usual utilizar cerca de 40 a 60% (m/m) em uma receita comum. Alguns países africanos modificam ainda mais a composição da cerveja, sendo substituído o malte de cevada em 17 até 75% da receita por adjuntos, sendo o sorgo a fonte primária de enzimas (D'AVILA *et al.*, 2012).

No entanto, a adição de algum insumo distinto dos tradicionais, como malte, água, lúpulo e levedura afetam diretamente o produto final. Vários efeitos podem ocorrer quando adicionado os adjuntos, como: alteração no corpo, na espuma, fermentação e perfil diferenciado de aromas e sabores, que acontecem por causa da modificação da composição do mosto na fermentação, a qual pode levar a ocorrer reações como esterificações e desaminação em demasia, além de outras (KUNZE, 2004; D'AVILA *et al.*, 2012).

O malte de cevada é apontado como o padrão, sendo esperado um adjunto com composição semelhante, para que as características principais da cerveja tradicional não sejam modificadas de modo extremo (BRIGGS, 1995; PORTO, 2011).

Além da cevada, o uso de adjuntos no processo de fermentação pode ser uma outra fonte de contaminação de micotoxinas ao produto final após fermentado, pois a bebida fica mais vulnerável a ser contaminada por outras micotoxinas que não são típicas da cevada (MATUMBA *et al.*, 2014). Todavia, se a matéria prima estiver contaminada por micotoxinas, essa contaminação pode ser transferida do malte produzido de cevada ou de outros tipos de cereais adjuntos para a cerveja como resultado da estabilidade térmica e relativa solubilidade em água (KOSTELANSKA *et al.*, 2011; INOUE *et al.*, 2013).

3.1.3 Micotoxinas em Cerveja

A cerveja é uma bebida alcoólica consumida regularmente por muitas pessoas em todo o mundo. No Brasil, por exemplo, o consumo médio de cerveja registrado em 2019 foi de 68 L por pessoa durante o ano (RAMOS; PANDOLFI, 2019). Atualmente, o consumo de cerveja artesanal tem aumentado devido aos diferentes tipos disponíveis no mercado (BATISTA, 2021). Além de serem de menor escala e independentes, a principal característica das cervejarias artesanais é colocar ênfase no sabor e nas técnicas de fermentação (CALORI-DOMINGUES *et al.*, 2007).

A qualidade da cerveja é extremamente importante, pois problemas com isso podem resultar em doenças futuras na população de consumidores. Nesse sentido, é possível destacar o efeito de micotoxinas e seu impacto na bebida (EIZENDEHER *et al.*, 2005).

Como a produção de cerveja requer o uso de grãos e estes podem ter sido expostos a micotoxinas, vários estudos já foram realizados para detectá-las em cervejas. Os resultados mostraram que desoxinivalenol (DON), nivalenol, T-2, HT-2, diacetoxiscirpenol, zearalenona, aflatoxinas, ocratoxina A e fumonisinas (FBs) foram detectados em cervejas em níveis de traço (ppb) (GONÇALVES *et al.*, 2012).

DON, conhecida coloquialmente como “vomitoxina”, é uma das micotoxinas mais encontradas na cevada e é produzida principalmente por *Fusarium graminearum*. A exposição de DON em corpos humanos e animais através da ingestão de alimentos contaminados pode causar efeitos agudos e crônicos, como imunossupressão, neurotoxicidade, embriotoxicidade e teratogenicidade (KRSKA *et al.*, 2016).

Além disso, outro problema importante encontrado com relação à presença de DON na cerveja é o “jorro”, ou seja, espuma excessiva e transbordamento ao abrir uma garrafa. Isso tem sido relatado com frequência nos últimos anos e pode prejudicar seriamente a qualidade da cerveja e a reputação da cervejaria (LAMARDO *et al.*, 2006).

Outro grupo relevante de micotoxinas que pode ser encontrado na cevada e adjuntos (milho, sorgo etc), conseqüentemente, na cerveja são FB1 e FB2. Estes são produzidos por várias espécies de *Fusarium* spp., nomeadamente *F. verticillioides*, *F. proliferatus*, *F. anthophilum* e *F. nygamai* (MALLMANN; KOWALSKI; ALMEIDA,

2014).

O milho é um dos importantes adjuntos na produção de cerveja no Brasil, sendo a incidência de FBs já esperada, pois essas micotoxinas predominam nesse cereal e em seus subprodutos. FB₁ é a mais tóxica e mais frequentemente detectada (LESLIE; SUMMERELL, 2006). No Brasil, a presença de FBs em produtos alimentícios à base de milho vendidos para consumo humano foi descrito por diversos autores (MACHINSKI *et al.*, 2000; WESTHUIZEN *et al.*, 2003; SCAFF; SCUSSEL, 2004; CALDAS; SILVA, 2007; MORENO *et al.*, 2009) apresentando concentrações elevadas que ultrapassam os limites indicados pelo Regulamento da Comissão Europeia N 1126/2007, sendo de 4000 mg/kg para milho não processado e 200 mg/kg para alimentos à base de milho para crianças (EC, 2007).

Evidencia-se pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que a ingestão diária máxima tolerável provisória (PMTDI) é de 2 mg/kg de peso corporal / dia para FB1, FB2 e FB3, ingeridos separadamente ou misturados, com base na falta de quaisquer efeitos adversos observados para nefrotoxicidade em ratos machos pela Organização conjunta para Alimentação e Agricultura (FAO) e Organização Mundial da Saúde (OMS, 2015).

No ano de 2017 foi aprovada pela Anvisa, a Resolução de n° 38, alterando a Resolução n° 7, de 18 de fevereiro de 2011, sobre os limites máximos tolerados de micotoxinas para determinadas categorias de alimentos, evidenciando as categorias em que a matéria prima empregue na produção de cerveja se encaixa (BRASIL, 2017). E, juntamente, foi proposto novos limites a serem vigorados a partir do ano de 2019 (TADEI *et al.*, 2020), conforme demonstrado na Tabela 1.

Em outros locais como União Europeia, Estado Unidos e em alguns países da Ásia como China, Japão, Coreia do Sul e Indonésia os limites variam de acordo com a legislação vigente. Quando não há descrito os limites máximos toleráveis de micotoxinas em cerveja, deve-se almejar que os níveis de micotoxinas detectados no produto encontre-se abaixo dos estabelecidos para a matéria-prima (BERTUZZI *et al.*, 2018).

Tabela 1 – Limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas no Brasil

Micotoxinas	Alimentos	LMT (µg/kg)
Fumonisinás (B ₁ + B ₂)	Milho em grão para posterior processamento	5000
	Milho de pipoca	2000
	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500
	Amido de milho e outros produtos à base de milho	1000
	Alimentos à base de milho para alimentação infantil	200
Desoxinivalenol (DON)	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	750

Fonte: Anvisa (2019)

3.2 *Fusarium verticillioides*

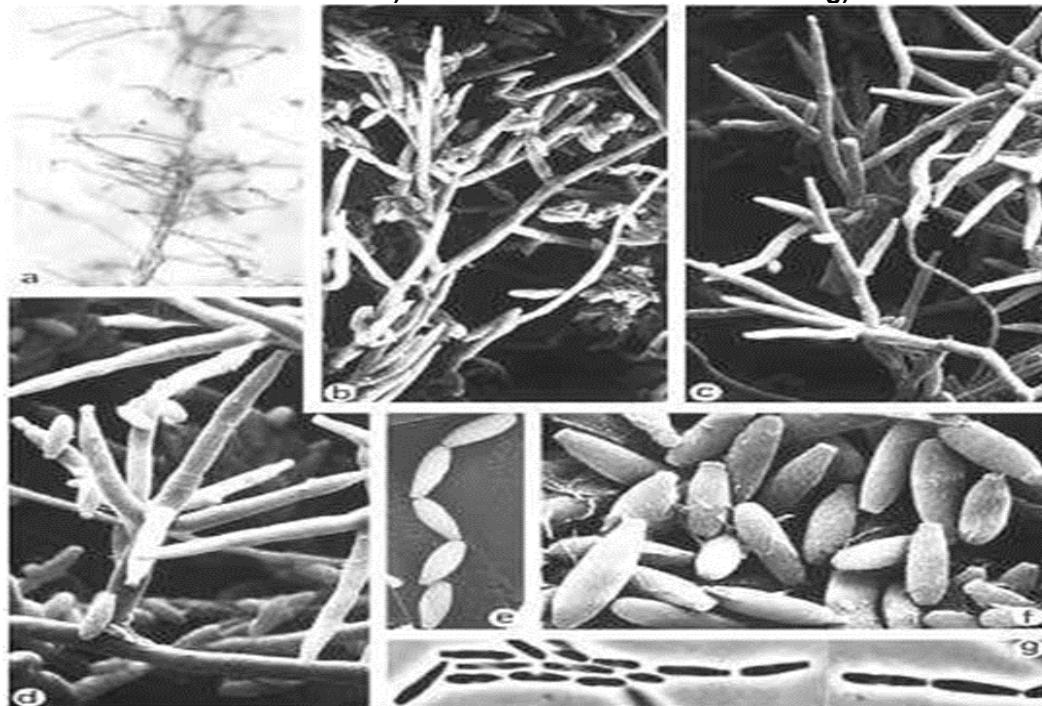
Fusarium verticillioides Sacc. Nirenberg (*Fusarium moniliforme* Sheldon) recebe a maior parte da atenção devido a produção de FBs. *F. verticillioides* é um dos fungos mais prevalentes associado a alimentos básicos humanos e animais (PITT; HOCKING, 2009).

F. verticillioides desenvolve-se sobre culturas como o milho, arroz, soja, feijão, trigo, algodão e sorgo. Acarreta diversos padrões de danos no processo de germinação da semente em que o micélio do fungo está dormente no pericarpo, endosperma ou embrião. O fungo retoma as suas atividades vitais e cresce do interior a superfície da semente atingindo órgãos radiculares e aéreos, colonizando o sistema radicular e a base do colmo. Deste modo, causa a redução da germinação e emergência de plântulas, redução do estande, podridões e, por consequência, a diminuição da produção final com semente ou grãos infectados (KUHNEM JÚNIOR *et al.*, 2013). *F. verticillioides* é categorizado como um fungo de campo, o qual demanda que o teor de umidade relativa entre 90 a 100% (SINHA; SINHA, 1991; MILLER, 1995).

F. verticillioides é identificado morfológicamente pela presença de microconídios em longas cadeias produzidas a partir de monofialides e inexistência de clamidósporos. Os microconídios são unicelulares, clavados e possuem a base

redonda ou truncada. Já os macroconídios tem formatos delgados e septados, apresentando entre 3 a 7 septos, retos ou ligeiramente curvos, fusiformes com célula apical alongada regularmente curvada e célula basal pediculada, conforme Figura 2 (O'DONNELL *et al.*, 2000; LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Figura 2 – Observação de *Fusarium verticillioides* em microscopia eletrônica. a) Monofiáides com cadeias de conídios. b-d) Conidióforos e microconídios. e-g) Microconídios

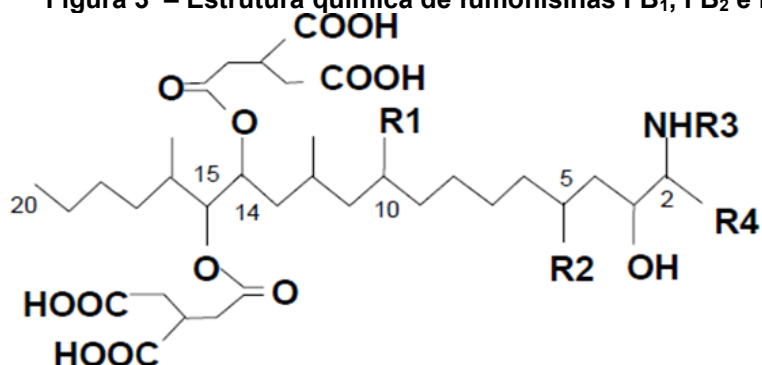


Fonte: Hoog (2000)

3.2.1 Fumonisin

As fumonisin (FBs) são produzidas principalmente por *F. proliferatum* e *F. verticillioides*. Essa micotoxina apresenta na estrutura química uma cadeia hidrocarbônica longa composta por grupos metil, acetil e amino (GUTLEB *et al.*, 2002), representada na Figura 3. Este grupo de micotoxinas foi inicialmente caracterizada por Bezuidenhout *et al.* (1988) em 1988, a partir da purificação de extratos de *F. moniliforme*.

Figura 3 – Estrutura química de fumonisinas FB₁, FB₂ e FB₃



	R1	R2	R3	R4
FB ₁	OH	OH	H	CH ₃
FB ₂	H	OH	H	CH ₃
FB ₃	OH	H	H	CH ₃

Fonte: Minami *et al.* (2004)

As estruturas químicas dos grupos de FBs são semelhantes às da esfingosina e esfinganina. São bases esfingóides que inibem a ceramida sintase, resultando em uma interrupção no metabolismo lipídico. Por esse motivo, o acúmulo de biomarcadores como bases esfingóides livres no soro e na urina indicam exposição a FBs (GRENIER *et al.*, 2015).

FBs interrompem o metabolismo dos esfingolipídios (componentes importantes das membranas celulares e tubos neurais) por meio da inibição da enzima ceramida sintase. Essas micotoxinas são geralmente mal absorvidas pelo trato gastrointestinal, portanto, as células intestinais são expostas aos seus efeitos tóxicos por períodos mais longos e isso pode resultar em danos. FB₁ é considerado o análogo mais tóxico do grupo (GRENIER *et al.*, 2015) com atividade promotora de câncer em ratos, causa leucoencefalomalácia equina, e é associado a edema pulmonar porcino (VALENTA *et al.*, 2002).

Em animais de laboratório, FBs demonstraram ser cancerígenas. Em humanos o consumo de milho contaminado com FBs está associado a altas taxas de câncer de esôfago, fígado e rim, ao retardo no crescimento infantil, e defeitos no cordão umbilical em mulheres grávidas (APS, 2018). Atualmente não existe nenhum medicamento ou tratamento específico para combater a intoxicação por FBs, nem para animais e nem para humanos. A principal ação que se pode tomar contra os danos à saúde causados por tais micotoxinas é a remoção da fonte de grãos

contaminada (KARLOVSKY *et al.*, 2018).

Não existem estudos que definam especificamente o número de pessoas que desenvolvem intoxicação por FBs ao redor do mundo. As informações disponíveis afirmam que cereais, principalmente milho, que são indevidamente armazenados pode ser contaminado *Fusarium* spp.. Portanto, os cereais e os seus produtos derivados podem conter micotoxinas produzidas por estes, sendo umas dessas FBs. Nesse caso, o país que relata mais casos de intoxicação por FBs totais é Malawi (apresentando casos de intoxicação variando de 3.000 a 15.000 ng/kg de peso corporal/dia em adultos) e os países que relatam mais casos de intoxicação por FB₁, a mais comum dessas micotoxinas, são Guatemala, Zimbábue e China, este último registrou um valor máximo de 7,700 ng/kg de peso corporal/por dia para adultos, numa das suas províncias (WHO, 2021).

A primeira forma de prevenir a intoxicação com FBs é a identificação de cereais contaminados. Essa identificação pode ser feita através do teste químico do grão colhido. No caso, a determinação de um nível aceitável e seguro de FBs nos cereais, principalmente o milho, e produtos derivados é um passo fundamental para garantir a qualidade nutricional da alimentação dos animais e dos humanos (TADEI *et al.*, 2020).

Não se encontraram estudos que descrevem o período de duração das doenças em humanos causadas pela ingestão de FBs. Também não se encontraram pesquisas que analisem os impactos econômicos causados por causa da intoxicação por FBs.

3.2.2 Fumonisinas na Produção de Alimentos

O milho e os produtos à base de milho são mais comumente contaminados com FBs, além de sua presença em vários outros grãos (arroz, trigo, cevada, milho, centeio, aveia e painço) e produtos de grãos (tortilhas, frasco de milho, chips) que têm grandes influências na saúde (GIL-SERNA *et al.*, 2013).

Além dos impactos para a saúde relacionados a FB, anualmente, 25 a 50% das safras colhidas em todo o mundo estão contaminadas com micotoxinas. Nas últimas décadas, FBs se tornaram uma das principais causadoras de doenças

fúngicas mais sérias, atribuível às mudanças climáticas e às práticas agrícolas modernas, causando enormes perdas econômicas em todo o mundo (CAO *et al.*, 2013). As temperaturas ideais para a produção de FBs estão em torno de 20 a 28 °C (HENRY; WYATT, 1993).

Há um intervalo de tempo notável entre a compra da *commodities* agrícola no mercado do país exportador e sua chegada ao centro de distribuição do país importador, podendo ser uma longa jornada. Além disso, as condições de armazenamento no nível da fazenda, bem como durante o transporte em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos produtores de toxinas. Por essas razões, há condições consideráveis para a contaminação por fungos e micotoxinas em produção de grãos agrícolas ocorrer em todo o sistema alimentar desde a produção até distribuição e transporte, e isso pode levar a perdas econômicas (CENDOYA *et al.*, 2014).

3.2.3 Controle de *Fusarium* spp.

Os grãos infectados com *Fusarium* spp. representam um problema nas indústrias de cerveja, pois as espécies deste fungo são produtoras conhecidas de micotoxinas (NUNES *et al.*, 2013). Métodos para o tratamento de grãos infectados com *Fusarium* spp. podem prevenir esses problemas oferecendo maior segurança e qualidade aos grãos. Os controles pós-colheita se resumem em processos químicos, físicos e biológicos (WOLF-HALL, 2007).

Dentre os processos químicos se destacam a utilização de ozônio gasoso, um gás azulado de odor pungente que possui fortes propriedades oxidantes (KHADRE *et al.*, 2001; CHIATTONE *et al.*, 2008) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) um agente oxidante versátil que apresenta diversas aplicações práticas (SAPERS *et al.*, 1999). O H₂O₂ é apontado como um dos oxidantes mais ecológicos, pois o subproduto de suas oxidações é a água. Além de ser um dos mais eficientes, pois possui alto teor de oxigênio (VOLOSHIN *et al.*, 2007; NTAJNJA *et al.*, 2011) e as nanopartículas de níquel, cujo uso tem crescido nos últimos anos, considerados como uma solução alternativa para o controle de patógenos fúngicos (KANHED *et al.*, 2014; SEKHON, 2014). Algumas nanopartículas metálicas já foram pesquisadas e comprovadas por

suas propriedades antifúngicas (LEMIRE *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2013).

Dentre os físicos podemos evidenciar a irradiação, método em que o alimento é exposto à energia ionizante, tais como fótons gama, raios X e elétrons acelerados. São utilizadas energias de no máximo 10 MeV pois, esta energia emitida, é baixa não induzindo radioatividade em qualquer material exposto (CALADO *et al.*, 2014). A ação antimicrobiana da radiação ionizante acontece por meio da alteração da composição molecular das células, alterando seu DNA (FARKAS, 2006), o controle de temperatura e aeração, fatores que atuam na inibição do desenvolvimento de fungos. A temperatura em torno de 15 °C reduz a atividade biológica e a aeração compreende em forçar a passagem do ar entre a massa de grãos sendo um processo essencial para reduzir a temperatura e uniformizá-la (REED; ARTHUR, 2000).

Entre os processos biológicos podemos destacar o uso de bactérias lácticas. Nos últimos tempos, a preocupação com a diminuição do uso de aditivos químicos e fungicidas em alimentos expandiu o mercado de processos biológicos de controle de fungos e, conseqüentemente, de micotoxinas. Atualmente diversas pesquisas buscam agentes biológicos com atividade antifúngica, sendo as bactérias do ácido láctico (LAB) as que apresentam maior capacidade para inibição do crescimento fúngico e desintoxicação de micotoxinas (GOURAMA; BULLERMAN, 1995). O potencial de desintoxicação da LAB pode estar associado à adsorção de micotoxinas pela estrutura celular bacteriana ou pela degradação através de seu metabolismo (SHETTY; JESPERSEN, 2006; DALIE *et al.*, 2010). Já outro método biológico que se evidencia é o uso de microrganismos antagonistas que possuem a habilidade de interferir na sobrevivência ou nas atividades determinantes da doença produzida pelo fungo patógeno (BETTIOL; GHINI, 1995). A escolha de um agente de controle biológico adequado deve levar em conta as interações entre o antagonista e o patógeno, e também as condições ambientais que possam influenciar (PALAZZINI *et al.*, 2007).

Para a indústria, os métodos de detoxicação precisam ser econômicos, simples e eficazes para remover as micotoxinas sem deixar resíduos químicos e sem afetar as propriedades nutricionais ou físicas do grão (SINHA, 1998). Em grande parte dos processamentos de alimentos há impactos sobre as micotoxinas, sendo os mais efetivos aqueles que aplicam temperaturas mais elevadas. Geralmente os processos reduzem consideravelmente as concentrações de micotoxinas, mas não as eliminam integralmente (BULLERMAN; BIANCHINI, 2007).

3.3 REVISÃO DE LITERATURA: CONCEITOS FUNDAMENTAIS

Existem muitos tipos de comunicação científica na ciência. O Manual de Publicação da *American Psychological Association* (APA, 2012) reconhece que, nas ciências sociais e comportamentais, os tipos de artigos são estudos empíricos, revisões de literatura, artigos metodológicos, artigos teóricos, e estudos de caso. Uma revisão da literatura, de acordo com o Manual de Publicação da *American Psychological Association* (APA, 2012, p. 26), também conhecida como artigos de revisão, revisão sistemática da literatura ou revisão integrativa da literatura, é definida da seguinte forma:

As revisões de literatura, incluindo sínteses de pesquisa e metanálises, são avaliações críticas de material que já foi publicado. Nas metanálises, os autores usam procedimentos quantitativos para combinar estatisticamente os resultados de estudos. Ao organizarem, integrarem e avaliarem material publicado anteriormente, os autores de revisões de literatura consideram o progresso da pesquisa para esclarecimento de um problema (APA, 2012, p. 26).

Neste sentido, os trabalhos de revisão são explicados como:

Estudos que analisam a produção bibliográfica em determinada área temática, dentro de um recorte de tempo, fornecendo uma visão geral ou um relatório do estado-da arte sobre um tópico específico, evidenciando novas ideias, métodos, subtemas que têm recebido maior ou menor ênfase na literatura selecionada (Noronha; Ferreira, 2000, p. 191).

É, portanto, um tipo de texto que coleta e discute informações geradas na área em estudo. A revisão em si pode ser um trabalho abrangente, pode aparecer como parte de uma publicação ou pode ser organizada em publicações que analisem o desenvolvimento de uma determinada área no período de um ano, estes últimos conhecidos como *annual reviews*. Taylor & Procter (2001) definem uma revisão de literatura como uma descrição do que foi publicado sobre um determinado assunto.

3.3.1 Tipos de Revisão de Literatura

As revisões de literatura são estudos cujo objetivo é sintetizar a literatura ou indicar o estado do conhecimento sobre um determinado tema, bem como identificar lacunas. Em termos didáticos, costuma-se observar que as revisões de literatura se dividem em sistematizadas, ou seja, as revisões integrativas e as revisões sistemáticas, e as não sistematizadas, isto é, as revisões narrativas (SOUSA *et al.*, 2018).

3.3.1.1 Revisão integrativa de literatura

A revisão integrativa é um método que visa coletar e sintetizar resultados de pesquisas sobre um tema ou uma questão específica de forma ordenada, estruturada e abrangente, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre o tema em estudo (ERCOLE *et al.*, 2014). Esse tipo de revisão da literatura é um método específico que resume o passado da literatura empírica ou teórica para fornecer uma compreensão mais completa de um fenômeno específico (BOTELHO *et al.*, 2011). Isso permite a combinação de várias metodologias, como por exemplo as pesquisas experimentais e as não experimentais.

A revisão integrativa da literatura é um método de pesquisa que permite a incorporação de evidências na prática clínica (SOUZA *et al.*, 2010), baseia-se no conhecimento científico e produz resultados qualitativos, além de possibilitar uma melhor eficácia na relação de custo (GALVÃO *et al.*, 2004).

Este método requer formulação do problema, busca na literatura, avaliação crítica do conjunto de dados, análise dos dados e apresentação dos resultados (WHITTEMORE; KNAFL, 2005). Dessa forma, possibilita a coleta e síntese de resultados de pesquisas sobre determinado tema ou questão de forma sistemática e estruturada, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre o tema em estudo (GALVÃO *et al.*, 2004).

3.3.1.2 Revisão narrativa de literatura

A revisão narrativa é uma revisão tradicional ou exploratória, na qual não existem definições de critérios inequívocos, e a seleção dos artigos é feita de forma arbitrária e não sistemática, na qual o autor pode incluir documentos de acordo com seu viés e, sem se preocupar em esgotar as fontes (CORDEIRO *et al.*, 2007). A forma como os documentos são coletados é comumente referida como pesquisa exploratória, que pode complementar a pesquisa sistemática.

Artigos de revisão narrativa são publicações extensas adequadas para descrever e discutir desenvolvimentos ou "estado da arte" em um tópico de um ponto de vista teórico ou contextual. As revisões narrativas não fornecem informações sobre as fontes de informação utilizadas, a metodologia de referência ou os critérios de avaliação e seleção das obras. Basicamente, contam com a análise da literatura publicada em livros, artigos, periódicos impressos e/ou eletrônicos na interpretação e análise crítica pessoal do autor (CORDEIRO *et al.*, 2007).

3.3.1.3 Revisão sistemática de literatura

Uma revisão sistemática é um método de pesquisa com um processo rigoroso e inequívoco de identificação, seleção, coleta de dados, análise e descrição de contribuições de pesquisa relevantes. É um levantamento feito com o planejamento e agrupamento de estudos originais, sintetizando os resultados de muitos estudos básicos usando estratégias para reduzir o viés e o erro aleatório (CORDEIRO *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que uma revisão sistemática começa com uma busca sistemática, mas a análise dos artigos possui suas peculiaridades, que são: a necessidade de dois ou mais pesquisadores; todos devem ler todos os artigos e discutir quais artigos estão no portfólio bibliográfico e quais não estão de acordo com o protocolo de pesquisa (HIGGINS; SALLY, 2011). Em suma, é uma síntese rigorosa de todas as pesquisas relacionadas a uma questão ou pergunta específica (ERCOLE *et al.*, 2014).

Variados fatores são considerados para a realização de uma revisão sistemática: a publicação como um protocolo inicial, a busca efetiva de artigos e de materiais em diversas bases de dados, a avaliação realizada com qualidade nos estudos, a realização de extração e seleção de dados e informações por pesquisadores do tipo independentes, dentre outros fatores (ROTHER, 2007).

Compreende-se que a revisão sistemática é considerada como uma investigação do tipo científica onde analisam-se os estudos e comportamentos relevantes com a utilização de banco de dados por meio de fontes e métodos de identificação ou de reconhecimento, além do procedimento de seleção e, também, de análises de dados aprofundados (BERNARDO; NOBRE; JATENE, 2004).

Levy & Ellis (2006) descrevem uma revisão sistemática como um processo. A entrada consiste em informações anteriores ao processamento. Durante o processamento, há um conjunto de etapas que descrevem como realizar uma revisão bibliográfica sistemática, que é o protocolo RBS. É um documento que descreve o processo, técnicas e ferramentas que serão utilizadas. Por fim, existem "saídas" nas quais são apresentados os relatórios e um resumo dos resultados.

Com isto, considera-se que o estudo é realizado de maneira efetiva mediante ensaios controlados de forma adequada; quando os estudos do assunto são considerados semelhantes os referidos resultados podem ser finalizados e sintetizados numa meta análise ou na decomposição realizada de maneira mental de uma palavra ou trecho (BERNARDO; NOBRE; JATENE, 2004).

3.3.2 Ferramentas para Realizar Revisões Sistemáticas

3.3.2.1 PRISMA – *Preferred reporting items for systematic*

O *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (PRISMA) é uma diretriz para ajudar os autores a melhorar a qualidade dos dados de relatórios de Revisão Sistemática da Literatura e Meta-análises. Ele se concentra em ensaios clínicos randomizados (ECRs), que são considerados os métodos mais confiáveis para avaliar a eficácia de um tratamento ou intervenção. Além disso, o

PRISMA também ajuda a conduzir uma revisão crítica da versão e meta-análises já publicadas (BRASIL, 2012).

O PRISMA surgiu devido à revisão e atualização do *Quality of reporting of metaanalyses* (QUOROM), e a principal razão para a renomeação foi a necessidade de distinguir entre revisão sistemática e meta-análise. O PRISMA consiste em uma lista de verificação de 27 itens e um fluxograma de seleção de artigos de quatro fases (BRASIL, 2012).

O guia do método PRISMA foi adotado para ajudar os autores de revisões sistemáticas a apresentar os resultados da forma mais completa possível e, assim, tornar o processo de relato de cada revisão sistemática mais transparente (LIBERATI *et al.*, 2009). O guia faz a listagem dos itens que devem ser relatados no artigo e sugere um fluxograma dos resultados. A Colaboração Cochrane possui seu próprio guia, que também pode ser adotado por autores não colaboradores como um guia para reduzir erros de revisão sistemática (CHANDLER *et al.*, 2017).

A maior limitação da revisão sistemática com meta-análise é o risco de artefatos estatísticos em vez de associações verdadeiras. Análises de acompanhamento são necessárias para verificar se os resultados são robustos ou se os resultados variam e não são robustos para algumas das características presentes nos estudos incluídos. A segunda grande limitação é que os resultados de estudos com alto risco de viés afetam os resultados da meta-análise, tornando fracas as evidências obtidas na revisão sistemática (BARBOSA *et al.*, 2019).

3.3.2.2 CASP – *Critical appraisal skills programme*

Outra ferramenta comumente utilizada para verificar a adequação de uma revisão sistemática é o *Critical appraisal skills programme* (CASP) *Systematic Review Checklist* (CASP, 2018), que contém uma lista de questões para verificar a revisão sistemática, refletindo os resultados apresentados, a relevância desses resultados e a sua aplicabilidade.

A análise crítica visa verificar a qualidade metodológica dos estudos incluídos e compará-la com o nível de evidência científica. Buscando a excelência na preparação de uma revisão sistemática da literatura. O CASP é um instrumento

desenvolvido pela *Public health resource unit* da Inglaterra para ajudar a interpretar as melhores evidências disponíveis com base em pesquisas conduzidas e publicadas na área da saúde (OLIVO *et al.*, 2008).

Assim, o CASP desenvolveu listas de verificação de avaliação crítica simples para grandes projetos de pesquisa. Eles não pretendem substituir os pensamentos e julgamentos considerados durante a leitura do artigo, mas devem ser usados como um guia. Todas as listas de verificação CASP cobrem três áreas principais: validade, resultados e relevância clínica (CRITICAL, 2018).

Dessa forma, o CASP possui ao todo um conjunto de oito ferramentas de avaliação críticas projetadas para uso em pesquisas. O CASP tem listas de verificação de avaliação projetadas para uso em revisões sistemáticas, ensaios clínicos randomizados, estudos de coorte, estudos de acompanhamento de caso, avaliações econômicas, estudos de diagnóstico, estudos qualitativos e regras de prognóstico clínico (CRITICAL, 2018).

3.3.2.3 MMAT – *Mixed methods appraisal tool*

No contexto de revisões mistas, uma ferramenta para análise de qualidade é a *Mixed methods appraisal tool* (MMAT), desenvolvida por Hong *et al.* (2020), que lista os elementos que devem estar presentes em estudos e revisões mistas. No MMAT, elementos a serem avaliados podem ser observados, tais como: “(1) Existem questões claras de pesquisa? (2) Os dados coletados permitem responder a perguntas de pesquisa? (3) Existe uma justificativa adequada para desenvolver uma revisão da literatura usando métodos combinados? (4) Os elementos individuais do estudo estão efetivamente integrados para responder à pergunta de pesquisa? (5) Os resultados da integração dos componentes qualitativos e quantitativos foram interpretados adequadamente? (6) As discrepâncias e inconsistências entre os resultados quantitativos e qualitativos são devidamente contabilizados? (7) Os elementos individuais do estudo são consistentes com os critérios de qualidade de cada tradição de métodos usados?”.

Neste contexto, o MMAT surge como uma ferramenta única que permite a avaliação simultânea da qualidade metodológica de pesquisas com diversos projetos

(qualitativos, quantitativos e mistos) incluídos nas análises sistemáticas de pesquisas mistas (CROWE; SHEPPARD, 2011). É uma lista de verificação que contém duas questões de triagem e itens que correspondem a cinco domínios metodológicos: estudos qualitativos, ensaios clínicos randomizados, estudos não randomizados, estudos quantitativos descritivos e estudos de método misto (HONG *et al.*, 2020).

Vale destacar que o MMAT é recomendado pelo Instituto Nacional de Excelência em Serviços de Saúde de Quebec (INESS – *Nacional institute of excellence in health services*). Os autores de mais de 50 revisões sistemáticas de estudos mistos publicados usaram o MMAT e os desenvolvedores da ferramenta aconselharam 29 pesquisadores de uma variedade de disciplinas na Austrália, Bélgica, Canadá, China, Dinamarca, Alemanha, Nova Zelândia, Suíça, Grã-Bretanha e Estados Unidos e Holanda sobre o uso do MMAT. Diante disso, compreende-se que o MMAT é baseado na teoria construtivista e tem conteúdo comprovado. Já foi testado e adquiriu resultados excelentes, com qualidade que varia de regular a perfeita (HONG *et al.*, 2020).

Conseqüentemente, a tradução e adaptação intercultural do MMAT para o contexto brasileiro é de grande importância, pois resultará em um instrumento de boa qualidade para avaliação de revisões sistemáticas mistas para promover o aprimoramento desse tipo de pesquisa no Brasil, visto que não foi encontrada nenhuma ferramenta na literatura para avaliar artigos mistos na língua e no contexto do país (HONG *et al.*, 2020; PLUYE; HONG, 2014).

3.3.2.4 *Methodi Ordinatio*

A metodologia de *Methodi Ordinatio* nasceu da necessidade de qualificar os artigos obtidos em uma revisão sistemática de literatura. Assim, *Methodi Ordinatio* é uma metodologia de revisão sistemática da literatura que orienta a busca, coleta, seleção e leitura sistemática de material acadêmico, como artigos, livros e capítulos e documentos de eventos. A metodologia consiste em nove fases. A sétima fase é a *InOrdinatio*, representada por uma classificação e índice de ordem dos artigos, com base em três elementos fundamentais de publicação: o ano de publicação (indicando a situação atual do trabalho), o fator de impacto (a relevância do periódico em que foi

publicado) e o número de citações (reconhecimento do trabalho pela comunidade de pesquisa) (PAGANI *et al.*, 2015).

No entanto, o ano de publicação não pode ser menosprezado, pois é um indicador da atualidade dos dados. Quanto mais recente a pesquisa, maior a probabilidade de alcançar novos avanços e de contribuir para a inovação do conhecimento. Além disso, os artigos mais recentes provavelmente contarão com metodologias já testadas, o que os torna ainda mais valiosos (PAGANI *et al.*, 2015). Além disso, a probabilidade de citar um artigo diminui com o tempo (DIEKS; CHANG, 1976), o que reforça a importância da valorização dos trabalhos mais recentes.

Portanto, a literatura distingue três critérios para a análise da publicação científica relevante: o número de citações, o fator de influência e o ano de publicação. Assim, foi criada a metodologia *Methodi Ordinatio*, baseada no modelo Cochrane e *ProKnow-C* para medição do trabalho (PAGANI *et al.*, 2017).

Assim, a *Methodi Ordinatio* oferece auxílio no processo de tomada de decisão, cujo trabalho cria um sólido portfólio de pesquisas sobre um tema específico. Sua principal vantagem é que a definição de relevância aparece no início do processo. Esse fator beneficia o pesquisador, pois se ele julgar que não está satisfeito com sua pesquisa, poderá refazer o trabalho porque é mais rápido do que se utilizasse metodologias mais complexas (PAGANI *et al.*, 2017).

Desta forma, o objetivo da *Methodi Ordinatio* é apontar os rumos de sua linha de pesquisa, pois todo pesquisador em início de carreira deve necessariamente entrar na linha de pesquisa e falar sobre ela enquanto nela permanecer. É o que distingue a *Methodi Ordinatio* de outras metodologias de revisão sistemática é a organização dos artigos de acordo com sua relevância científica, ou seja, o pesquisador retoma essas informações antes de ler sistematicamente o artigo como um todo, o que reduz o nível de dúvida sobre a relevância do trabalho para seu portfólio de revisão de literatura. (PAGANI *et al.*, 2017).

3.4 ANÁLISE DE REDES BIBLIOMÉTRICAS (VOSviewer)

O VOSviewer é uma ferramenta de software que se destina especialmente à análise de redes bibliométricas comumente usada em revisões sistemáticas, podendo

criar mapas baseados em dados de rede. O mapeamento bibliométrico é um importante item de pesquisa no campo da bibliometria. Dois pontos do mapeamento bibliométrico que podem ser distinguidos são a representação gráfica e a construção gráfica de alguns mapas. Na literatura bibliométrica, o maior destaque é dado para construção de mapas bibliométricos (VAN ECK & WALTMAN, 2010).

Os mapas que são criados com o VOSviewer contêm itens que podem ser visualizados e explorados. Esses itens podem ser publicações, autores ou algum termo. Um mapa usualmente inclui somente um tipo de item. Entre os itens pode haver um *link*, sendo uma conexão ou relação entre eles. Os *links* podem ser de acoplamento bibliográfico entre publicações, *links* de co-autoria entre pesquisadores e *links* de co-ocorrência entre termos. O mapa no VOSviewer geralmente compreende apenas um tipo de link. Além do mais, entre um par de itens, não deve haver mais de um *link*. Cada link tem uma força sendo representada por um valor numérico. Quanto mais elevado for este número, mais forte será o *link*. A força de um *link*, por exemplo, pode demonstrar o número de publicações dos pesquisadores, o número de referências citadas que duas publicações têm em comum (quando *links* de acoplamento bibliográfico), se dois pesquisadores são coautores (quando *links* de coautoria), ou o número de publicações em que dois termos se processam juntos (quando links de co-ocorrência). No VOSviewer o conjunto de itens é chamado de *cluster*, eles não são sobrepostos no mapa, ou seja, um item pode pertencer somente a um *cluster*. Eles são nomeados usando números (VAN ECK & WALTMAN, 2013).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para execução deste trabalho foi optado pelo *Methodi Ordinatio* que é um método de revisão sistemática o qual utiliza a equação *Index Ordinatio (InOrdinatio)*, a qual objetiva eleger e classificar trabalhos conforme a sua relevância científica de acordo com o fator de impacto da revista (FI), o número de citações (CI), e o ano de publicação (PAGANI *et al.*, 2017). A equação para estabelecer esse índice é exposta na Equação 1 (PAGANI *et al.*, 2015).

$$\text{InOrdinatio} = \frac{\text{FI}}{1000} + (\alpha (10 - (\text{Ano}_{\text{pesquisa}} - \text{Ano}_{\text{publicação}}))) + \text{CI} \quad (1)$$

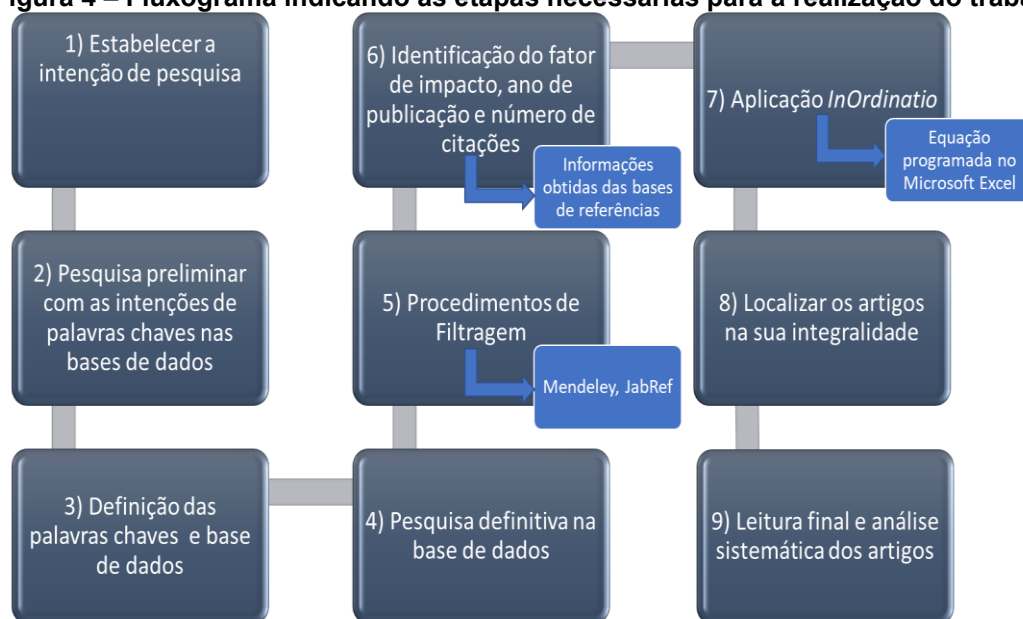
Sendo, FI o fator de impacto do periódico no qual o artigo foi publicado, utilizado o JCR do ano de 2021, α valor que varia de 1 a 10, de acordo com a relevância ao ano de publicação atribuído pelo próprio pesquisador, quanto maior o valor maior a importância do ano; CI o número de citações do artigo.

O software VOSviewer, versão 1.6.15 foi usado para criar um mapa visual que ilustra as cocitações de autores.

4.1 APLICAÇÃO DO *METHODI ORDINATIO*

Nesta parte será apresentado um fluxograma do processo realizado (Figura 4) e descrita as nove etapas da execução da *Methodi Ordinatio*.

Figura 4 – Fluxograma indicando as etapas necessárias para a realização do trabalho



Fonte: Autoria própria (2021)

4.1.1 Estabelecer a Intenção da Pesquisa

Foi desenvolvida uma pergunta para conduzir a elaboração da pesquisa: “como as FBs afetam o processamento da cerveja, e quais os controles biológicos mais eficazes?”.

4.1.2 Pesquisa Preliminar com as Intenções de Palavras-Chaves

As pesquisas para a busca de trabalhos sobre ocorrência de Fumonisinas e processamento de cerveja foram realizadas com quatro palavras-chave “*fumonisin*”, “*beer*”, “*malt*” e “*brewing*” com parênteses e asterisco e com os booleanos “AND” e “OR”. Para a etapa de controle de FBs foram utilizadas as palavras “*fumonisin*”, “*biological control*”, “*degrad*”, “*degradation*”, “*biodegrad*”, “*remove*”, “*adsorb*” e “*adsorbent*” também com uso de parênteses, asterisco e o booleano “AND”.

Para a escolha das palavras chaves, foram selecionadas algumas combinações e realizada as buscas. As bases de dados utilizadas no trabalho foram escolhidas por estarem entre as principais do mundo, sendo elas: *Web of Science*, *Science Direct* e *Scopus*.

4.1.3 Definição das Palavras-Chaves e Base de Dados

Após verificação dos títulos e resumos dos artigos de ocorrência e processamento e das seleções realizadas na etapa 2 foi definido que as palavras escolhidas seriam “*fumonisin*”, “*beer*”, “*malt*” e “*brewing*” e para etapa de controle “*fumonisin*”, “*biological control*”, “*degrad*”, “*degradation*”, “*biodegrad*”, “*remove*”, “*adsorb*” e “*adsorbent*” para elaboração deste trabalho, devido ter sido encontrado mais trabalhos específicos relacionados com o tema.

4.1.4 Pesquisa Definitiva nas Bases de Dados

Logo após definir as palavras-chave e bases de dados para realizar as buscas, as pesquisas foram feitas entre o período de 05/08/2020 a 15/08/2020 para os artigos de ocorrência e processamento. Para os trabalhos com a temática controle de FBs as pesquisas foram realizadas entre o dia 01/09/2021 a 30/09/2021. Não foi realizada restrição de ano de publicação ou idioma para ambas as pesquisas, limitando o campo de busca ao título.

No total foram encontrados 271 trabalhos sobre ocorrência e processamento, sendo está a etapa 4 do *Methodi Ordinatio*. Dos 271 foram encontrados 114 na *Web of Science*, 36 *Science Direct* e 121 *Scopus* (Tabela 2)

Tabela 2 – Resultado da busca nas bases de dados ocorrência e processamento de FBs

Base de dados	Palavras-chave	Campos de busca	Resultados
<i>Web of Science</i>	<i>(fumonisin) AND (beer OR malt* OR brewing)</i>	Título	114
<i>Science Direct</i>	<i>(fumonisin) AND (beer OR malt* OR brewing)</i>	Título	36
<i>Scopus</i>	<i>(fumonisin) AND (beer OR malt* OR brewing)</i>	Título	121
TOTAL			271

Fonte: Autoria própria (2021)

Com a temática controle de fumonisinas foram achados 879 trabalhos, deste total foram encontrados 419 na *Web of Science*, 88 *Science Direct* e 372 *Scopus* conforme Tabela 3. Todos os artigos selecionados foram organizados no *Mendeley*.

Tabela 3 – Resultado da busca nas bases de dados controle de fumonisinas

Base de dados			
Palavras-chave	<i>Web of Science</i>	<i>Scopus</i>	<i>Science Direct</i>
<i>fumonisin AND "biological control"</i>	86	55	17
<i>fumonisin AND degrad* (degradation)</i>	179	196	36
<i>fumonisin AND biodegrad</i>	13	27	2
<i>fumonisin AND remove</i>	72	31	22
<i>fumonisin AND adsorb* (adsorbent)</i>	69	63	11
TOTAL	419	372	88

Fonte: Autoria própria (2021)

4.1.5 Procedimentos de Filtragem

Dentre os 271 artigos selecionados, o *Mendeley* identificou os artigos em duplicatas os quais foram excluídos, restando 234. Dos 819 após a remoção das duplicatas restaram 527.

Estes artigos foram transferidos para o programa *JabRef* onde foi realizada nova revisão para verificar os títulos e resumos que se encaixavam na temática do trabalho. Os dados destes artigos foram exportados para uma planilha no Microsoft Excel para dar sequência nas próximas etapas. Destas seleções os artigos foram separados em novas planilhas sendo demonstrados nas Tabelas 4, 5 e 6.

4.1.6 Identificação do Fator de Impacto, Ano de Publicação e Número de Citações

O número de citações dos artigos foi buscado na ferramenta Google Acadêmico e o Fator de Impacto (FI) utilizado foi do *Journal citation reports* (JCR) do

ano de 2021.

4.1.7 Aplicação *InOrdinatio*

A sétima etapa considerada como *Methodi Ordinatio – InOrdinatio* visa de maneira efetiva mostrar a importância e relevância científica e não ideológica dos trabalhos, levando em conta como fator de relevância o fator de impacto, o ano de publicação além do número de citações de cada artigo. Ao final da classificação pelo *InOrdinatio*, foram selecionados 22 artigos sobre ocorrência de FB, 17 sobre processamento de cerveja e 21 sobre controle de FBs considerados como os mais relevantes para compor os portfólios da presente revisão conforme Tabelas 4, 5 e 6. Os artigos com *InOrdinatio* negativo foram excluídos, apenas 2 trabalhos com a temática controle de FBs que ficaram com valor abaixo de 0, devido ao ano de publicação foram incluídos por contribuírem de forma significativa para a discussão do trabalho.

4.1.8 Localizar os Artigos em Sua Integralidade

Essa etapa foi elaborada simultaneamente com a etapa de “Identificação do fator de impacto e número de citações”. Os artigos foram achados em formato integral para download, fazendo-se possível avançar para a última etapa do *Methodi Ordinatio*.

4.1.9 Leitura Final e Análise Sistemática dos Artigos

Os 22 artigos selecionados sobre ocorrência de FBs, os 17 sobre processamento e 21 trabalhos sobre controle foram analisados em sua integralidade então foram abordados os seus pontos mais expressivos em uma análise sistemática completa.

Tabela 4 – Ranking de portfólio dos artigos de ocorrência de fumonisinas com aplicação da equação *InOrdinatio*

Referência	Título	Periódico	FI*	CI **	IO***
Abia <i>et al.</i> (2013)	<i>Determination of multi-mycotoxin occurrence in cereals, nuts and their products in Cameroon by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)</i>	<i>Food Control</i>	5.55	158	179.006
Bertuzzi <i>et al.</i> (2011)	<i>Mycotoxin occurrence in beer produced in several European countries</i>	<i>Food Control</i>	5.55	90	97.006
Juan <i>et al.</i> (2017)	<i>Multi-mycotoxin determination in barley and derived products from Tunisia and estimation of their dietary intake</i>	<i>Food And Chemical Toxicology</i>	6.02	47	96.006
Beltran <i>et al.</i> (2013)	<i>Development of sensitive and rapid analytical methodology for food analysis of 18 mycotoxins included in a total diet study</i>	<i>Analytica Chimica Acta</i>	6.56	71	92.007
Piacentini <i>et al.</i> (2015B)	<i>Quality and occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in craft beer</i>	<i>Food Control</i>	5.55	48	83.006
Tamzura <i>et al.</i> (2011)	<i>Development of a multi-mycotoxin analysis in beer-based drinks by a modified quechers method and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry</i>	<i>Analytical Sciences</i>	2.08	73	80.002
Pagkali <i>et al.</i> (2018)	<i>Simultaneous determination of aflatoxin B₁, fumonisin B₁ and deoxynivalenol in beer samples with a label-free monolithically integrated optoelectronic biosensor</i>	<i>Journal of Hazardous Materials</i>	10.59	22	78.011
Campone <i>et al.</i> (2020)	<i>Determination of mycotoxins in beer by multi heart-cutting two-dimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry method</i>	<i>Food Chemistry</i>	7.51	7	77.008
Piacentini <i>et al.</i> (2017)	<i>Mycotoxin analysis of industrial beers from Brazil: The influence of fumonisin B₁ and deoxynivalenol in beer quality</i>	<i>Food Chemistry</i>	7.51	27	76.008
Matumba <i>et al.</i> (2014)	<i>A limited survey of mycotoxins in traditional. maize based opaque beers in Malawi</i>	<i>Food Control</i>	5.55	45	73.006
Chilaka <i>et al.</i> (2018)	<i>Quantification of Fusarium mycotoxins in Nigerian traditional beers and spices using a multi-mycotoxin LC-MS/MS method</i>	<i>Food Control</i>	5.55	17	73.006
Adekoya <i>et al.</i> (2018)	<i>Mycobiota and co-occurrence of mycotoxins in South African maize-based opaque beer</i>	<i>International Journal of Food Microbiology</i>	5.28	17	73.006
Rubert <i>et al.</i> (2013)	<i>Mass spectrometry strategies for mycotoxins analysis in European beers</i>	<i>Food Control</i>	5.55	39	60.006
Cano-Sancho <i>et al.</i> (2012)	<i>Occurrence of fumonisins in Catalonia (Spain) and an exposure assessment of specific population groups</i>	<i>Food Additives and Contaminants: Part A</i>	3.06	39	53.003
Puangkham <i>et al.</i> (2017)	<i>Monitoring and health risk of mycotoxins in imported wines and beers consumed in Thailand</i>	<i>World Mycotoxin Journal</i>	3.35	4	53.003

continua...

Aoyama <i>et al.</i> (2010)	<i>Four-year surveillance for ochratoxin a and fumonisins in retail foods in Japan</i>	<i>Journal of Food Protection</i>	2.08	45	45.002
Shephard <i>et al.</i> (2005)	<i>Fumonisin Mycotoxins in traditional Xhosa maize beer in South Africa</i>	<i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>	5.28	78	43.005
Rubert <i>et al.</i> (2011)	<i>Application of hybrid linear ion trap-high resolution mass spectrometry to the analysis of mycotoxins in beer</i>	<i>Food Additives and Contaminants: Part A</i>	3.06	32	39.003
Roger (2011)	<i>Deoxynivalenol (DON) and fumonisins B₁ (FB₁) in artisanal sorghum opaque beer brewed in north Cameroon</i>	<i>African Journal of Microbiology Research</i>	0.19	19	26.000
Cano-Sancho <i>et al.</i> (2011)	<i>Sphinganine and sphingosine levels and ratio in urine and blood samples from a Catalanian population, Spain</i>	<i>Food Additives and Contaminant: Part A</i>	3.06	5	12.003
Kawashima <i>et al.</i> (2011)	<i>Fumonisin B₁ and ochratoxin A in beers made in Brazil</i>	<i>Food Science and Technology</i>	1.72	33	12.002
Seo <i>et al.</i> (2009)	<i>Fumonisin B₁ and B₂ in Agricultural Products Consumed in South Korea: An Exposure Assessment</i>	<i>Journal of Food Protection</i>	2.08	15	8.002

*FI (Fator de Impacto);

**CI (Número de Citações);

***IO (Classificação *InOrdinatio*).

Fonte: Autoria própria (2021)

Tabela 5 – Ranking de portfólio dos artigos de processamento de fumonisinas com aplicação da equação *InOrdinatio*

Referência	Título	Periódico	FI*	CI **	IO***
Bullerman & Bianchini (2007)	<i>Stability of mycotoxins during food processing</i>	<i>International Journal of Food Microbiology</i>	5.28	585	564.005
Milani & Maleki (2014)	<i>Effects of processing on mycotoxin stability in cereals</i>	<i>Journal of the science of food and agriculture</i>	3.64	83	111.004
Scott (1996)	<i>Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing</i>	<i>Journal of AOAC international</i>	1.91	208	110.002
Bolechova <i>et al.</i> (2015)	<i>Determination of seventeen mycotoxins in barley and malt in the Czech Republic</i>	<i>Food Control</i>	5.55	57	92.006
Pascari <i>et al.</i> (2019)	<i>Transfer of Fusarium mycotoxins from malt to boiled wort</i>	<i>Food Chemistry</i>	7.51	5	68.008

continua...

Piacentini <i>et al.</i> (2015A)	<i>Fungi and the natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (Hordeum vulgare L.)</i>	<i>Food Chemistry</i>	7.51	32	67.008
Chilaka <i>et al.</i> (2018)	<i>Stability of fumonisin B₁, deoxynivalenol, zearalenone, and T-2 toxin during processing of traditional Nigerian beer and spices</i>	<i>Mycotoxin research</i>	3.83	5	61.004
Pietri <i>et al.</i> (2010)	<i>Transfer of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ from naturally contaminated raw materials to beer during an industrial brewing process</i>	<i>Food Additives and Contaminants: Part A</i>	3.06	50	50.003
Pereyra <i>et al.</i> (2011)	<i>Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries</i>	<i>Letters in applied microbiology</i>	2.86	34	41.003
Bowers & Munkvold (2014)	<i>Fumonisin in Conventional and Transgenic, Insect-Resistant Maize Intended for Fuel Ethanol Production: Implications for Fermentation Efficiency and DDGS Co-Product Quality</i>	<i>Toxins</i>	4.55	7	35.005
Klosowski & Mikulsky (2010)	<i>The effect of raw material contamination with mycotoxins on the composition of alcoholic fermentation volatile by-products in raw spirits</i>	<i>Bioresource technology</i>	9.64	30	30.010
Klosowski (2010)	<i>The influence of raw material contamination with mycotoxins on alcoholic fermentation indicators</i>	<i>Bioresource technology</i>	9.64	30	30.010
Nkwe <i>et al.</i> (2005)	<i>Fungi, aflatoxins, fumonisin B₁ and zearalenone contaminating sorghum-based traditional malt, wort and beer in Botswana</i>	<i>Mycopathologia</i>	2.57	54	19.003
Scott <i>et al.</i> (1995)	<i>Fermentation of wort containing added ochratoxin a and fumonisins</i>	<i>Food Additives and Contaminants</i>	3.06	124	19.003
Ivic <i>et al.</i> (2011)	<i>Occurrence of potentially toxigenic Fusarium verticillioides and low fumonisin B-1 content on barley grain in Bosnia and Herzegovina</i>	<i>Journal of applied botany and food quality</i>	1.45	8	15.001
Erzetti <i>et al.</i> (2009)	<i>Haccp in the malting and brewing production chain: mycotoxin, nitrosamine and biogenic amine risks.</i>	<i>Italian journal of food science</i>	0.88	12	5.001
Boeira <i>et al.</i> (2000)	<i>The effect of combinations of Fusarium mycotoxins (deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B₁) on growth of brewing yeasts</i>	<i>Journal of applied microbiology</i>	3.77	73	3.004

*FI (Fator de Impacto);

**CI (Número de Citações);

***IO (Classificação InOrdinatio).

Fonte: Autoria própria (2021)

Tabela 6 – Ranking de portfólio dos artigos de controle de fumonisinas com aplicação da equação *InOrdinatio*

Referência	Título	Periódico	FI*	CI **	IO***
Sadiq <i>et al.</i> (2019)	<i>Lactic Acid Bacteria as Antifungal and Anti-Mycotoxigenic Agents: A Comprehensive Review</i>	<i>Comprehensive Review in Food Science and Food Safety</i>	12.81	79	135.013
Heinl <i>et al.</i> (2010)	<i>Degradation of fumonisin B₁ by the consecutive action of two bacterial enzymes</i>	<i>Journal of Biotechnology</i>	3.31	129	122.003
Niderkorn <i>et al.</i> (2009)	<i>Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B₁ and B₂ by lactic acid bacteria</i>	<i>Journal of Applied Microbiology</i>	3.77	123	109.004
Pfliegler <i>et al.</i> (2015)	<i>Mycotoxins - prevention and decontamination by yeasts</i>	<i>Journal of Basic Microbiology</i>	2.28	78	106.002
Johanna <i>et al.</i> (2021)	<i>Enzymatic detoxification of the fumonisin mycotoxins during dry milling of maize</i>	<i>Food Control</i>	5.55	5	75.006
LI <i>et al.</i> (2021)	<i>Biological detoxification of fumonisin by a novel carboxylesterase from Sphingomonadales bacterium and its biochemical characterization</i>	<i>International Journal of Biological Macromolecules</i>	6.95	2	72.007
Pizzolitto <i>et al.</i> (2012)	<i>Analysis of fumonisin B₁ removal by microorganisms in co-occurrence with aflatoxin B₁ and the nature of the binding process</i>	<i>International Journal of Food Microbiology</i>	5.28	61	68.005
Bzducha-Wrobel <i>et al.</i> (2019)	<i>Candida utilis ATCC 9950 Cell Walls and (1,3)/(1,6)-Glucan Preparations Produced Using Agro-Waste as a Mycotoxins Trap</i>	<i>Toxins</i>	4.55	8	64.005
Bampidis <i>et al.</i> (2020)	<i>Safety and efficacy of fumonisin esterase from Komagataella phaffii DSM 32159 as a feed additive for all animal species</i>	<i>EFSA Journal</i>	3.34	1	64.003

continua...

Zhao et al. (2019)	<i>Biodegradation of mycotoxin fumonisin B₁ by a novel bacterial consortium SAAS79</i>	<i>Applied Microbiology and Biotechnology</i>	4.81	6	62.005
Tuppia et al. (2017)	<i>Yeast and bacteria from ensiled high moisture maize grains as potential mitigation agents of fumonisin</i>	<i>Journal of the Science of Food and Agriculture</i>	3.64	15	57.004
Zhao et al. (2016)	<i>The mechanism of Lactobacillus strains for their ability to remove fumonisins B₁ and B₂</i>	<i>Food and Chemical Toxicology</i>	6.02	20	55.006
Hartinger et al. (2010)	<i>Enhancement of solubility in Escherichia coli and purification of an aminotransferase from Sphingopyxis sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin</i>	<i>Microbial Cell Factories</i>	5.32	60	53.005
Hartinger et al. (2011)	<i>Enzyme characteristics of aminotransferase FumI of Sphingopyxis sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin</i>	<i>Applied Microbiology and Biotechnology</i>	4.81	50	50.005
Hartinger et al. (2011)	<i>Fumonisin elimination and prospects for detoxification by enzymatic transformation</i>	<i>World Mycotoxin Journal</i>	3.35	48	48.003
Haidukowski et al. (2017)	<i>Decontamination of Fumonisin in maize grain by Pleurotus eryngii and antioxidant enzymes</i>	<i>Phytopathologia Mediterranea</i>	2.02	4	46.002
Armando et al. (2013)	<i>Statistical optimization of culture conditions for biomass production of probiotic gut-borne Saccharomyces cerevisiae strain able to reduce fumonisin B₁</i>	<i>Journal of Applied Microbiology</i>	3.77	17	31.004
Heinl et al. (2018)	<i>An aminotransferase from bacterium ATCC 55552 deaminates hydrolyzed fumonisin</i>	<i>Biodegradation</i>	3.91	29	29.004
Benedetti et al. (2006)	<i>Degradation of fumonisin B₁ by a bacterial strain isolated from soil</i>	<i>Biodegradation</i>	3.91	55	20.004

continua...

Heinl <i>et al.</i> (2009)	<i>Identification of a fumonisin B₁ degrading gene cluster in Sphingomonas spp. MTA144</i>	<i>New Biotechnology</i>	5.08	9	-4.995
Keller <i>et al.</i> (1998)	<i>Identification of a variant of Fusarium proliferatum that hydrolyzes fumonisin B₁</i>	<i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>	5.28	3	-87.995

***FI** (Fator de Impacto);

****CI** (Número de Citações);

*****IO** (Classificação *InOrdinatio*).

Fonte: A autoria própria (2021)

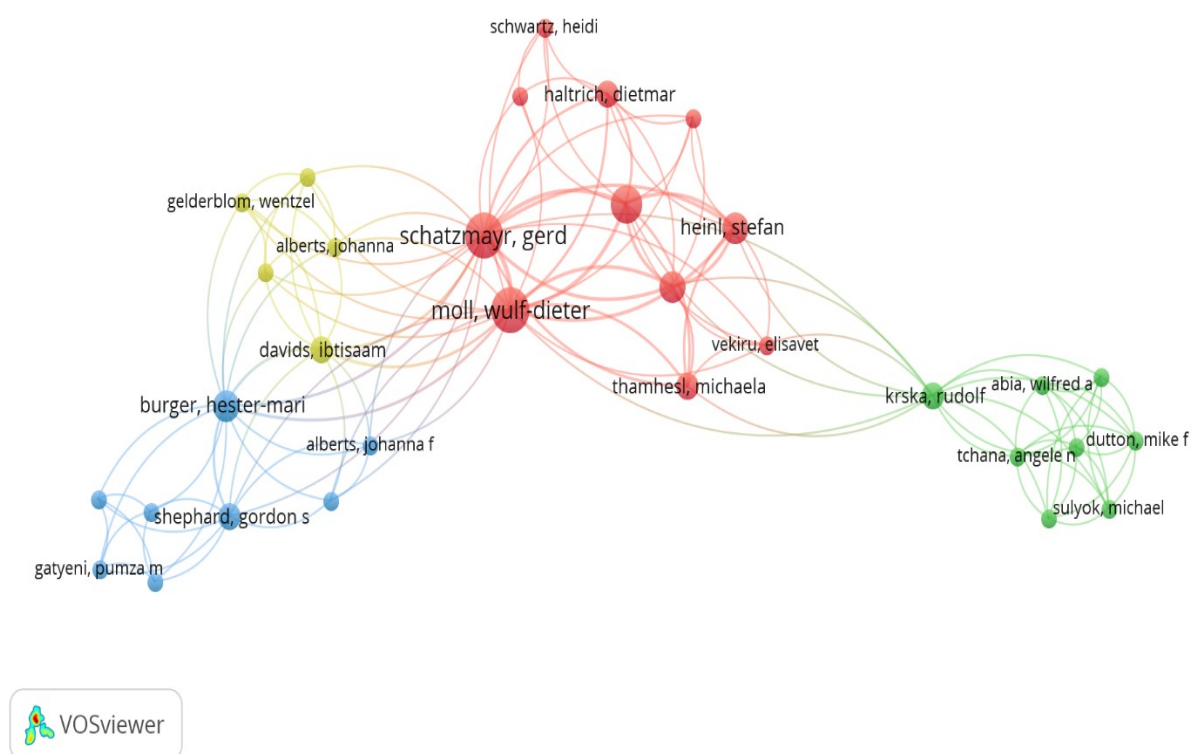
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OCORRÊNCIA DE FUMONISINAS

Foram selecionados 22 trabalhos por meio do *Methodi Ordinatio* e outros 5 foram incluídos fora deste *ranking* sobre ocorrência de fumonisinas (FBs) devido a sua importância científica para o tema, porém não apareceram nos sistemas de busca das bases selecionadas devido palavras-chave buscadas não estarem no título.

Com todos os artigos revisados (ocorrência, processamento e controle) foram feitas as análises de redes. Especificamente, o objetivo desta análise foi verificar o comportamento das redes bibliométricas para os artigos escolhidos, investigar possíveis informações ocultas e identificar tendências e relações do assunto em questão. Essa análise é apresentada na Figura 5, que mostra a rede de co-citações dos co-autores de acordo com o portfólio bibliográfico.

Figura 5 – Rede de coautores de ocorrência, processamento e controle de fumonisinas



Fonte: Autoria própria (2021)

A rede de autores na análise bibliométrica podem ser organizadas em 4 grupos como mostrado na Figura 5, o grupo 1 (vermelho) se caracteriza por trabalhos publicados entre 2010 e 2013, o grupo 2 (verde) trabalhos entre 2011 e 2013, o grupo 3 (azul) contém trabalhos desde 2005 a 2021 e grupo 4 (amarelo) se caracteriza por trabalhos publicados recentemente (>2019). Os autores com mais conexões são Moll Wolf Dieter e Schatzmayr Gerd conectados com 20 trabalhos e 3 grupos de pesquisadores (verde, azul e amarelo) e Hartinger Doris conectado com 11 trabalhos e 1 grupo (vermelho).

Muitos dos autores demonstrados nesta análise possuem trabalhos no continente Africano, devido ao consumo de milho e condições climáticas mais favorável a contaminação por FBs.

Em um total de 22 trabalhos encontrados no período entre 05/08/2020 à 15/08/2020 para análise da ocorrência de FBs em cervejas, alguns artigos não detectaram FBs em nenhuma amostra analisada. Entre os trabalhos (Tabela 7) em que as amostras consistiam de cervejas comerciais, 5 não detectaram FBs, na Coréia do Sul (12 amostras), Irlanda (25 amostras), Japão (24 amostras), Tunísia (34 amostras) e Tailândia (100 amostras). Estas amostras foram analisadas por HPLC, HPLC-Orbitrap-XL, UHPLC/MS/MS, CG-MS, LC-MS, com os limites de quantificação variando 35 ng/kg a 105 ng/mL.

Tabela 7 – Análise de cervejas comerciais em que não foram detectadas fumonisinas

Origem das amostras	Método	N total	Fumonisinas pesquisadas	Referência
Coréia do Sul	HPLC	12	FB ₁ , FB ₂	Seo <i>et al.</i> (2009)
Irlanda	HPLC-Orbitrap XL	25	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃	Rubert <i>et al.</i> (2011)
Japão	UHPLC/MS/MS	24	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃	Tamura <i>et al.</i> (2011)
Tunísia	GC-MS e LC-MS	34	FB ₁	Juan <i>et al.</i> (2017)
Tailândia	LC-MS/ESI	100	FB ₁	Puangkham <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Autoria própria (2021)

Entretanto nos trabalhos em que FBs foram detectadas as amostras consistiram de amostras de cerveja comercial de países como Espanha, Irlanda, Itália e Brasil (Tabela 8). Comparado com outros países em que a faixa de detecção

para FB₁ e FB₂ variaram de 1,3 a 127 ng/mL e 0,7 a 96,1 ng/mL, respectivamente, as amostras de cerveja comerciais do Brasil apresentaram uma elevação na concentração de FB₁, no período de 2007 a 2017.

Kawashima *et al.* (2007), determinaram a presença de FB₁ em amostras de cerveja fabricada no Brasil. A análise por cromatografia líquida (HPLC com detector de fluorescência) de 58 amostras (44 cervejas tipo pilsen e outros tipos de cores claras e 14 cervejas tipo stout e outros tipos de cores escuras), indicou que 25 das 58 amostras estavam contaminadas em concentração de FB₁ variando de 1,2 a 40 ng/mL.

Seguindo com o contexto brasileiro, o trabalho descrito por Piacentini *et al.* (2015A) teve como um dos principais objetivos determinar a ocorrência de FB₁ em cervejas artesanais do sul do Brasil. As análises para FB₁ também foram conduzidas usando HPLC com detector de fluorescência. Os resultados deste estudo, revelaram que das 53 amostras analisadas, 8 foram positivas para FB₁, com níveis variando de 29 a 285 ng/mL.

Na sequência, outro estudo desenvolvido por Piacentini *et al.* (2017) determinou a incidência de FB₁ em cerveja produzida a nível industrial no Brasil. Especificamente, a determinação dessas micotoxinas foi desenvolvida a través do método de HPLC. No caso, das 114 amostras analisadas, FB₁ foi detectada em 56 amostras (aproximadamente 50% do total de amostras) com níveis variando de 201,70 a 1568,62 ng/mL, com uma média de 367,47 ng/mL ($\mu\text{g/L}$) (PIACENTINI *et al.*, 2017). Esses níveis relevantes de contaminação por FB₁ em cerveja industrial podem estar relacionados à adição de adjuvantes contaminados, como o milho, usado a fim de substituir a cevada (devido à sua ampla distribuição e baixo custo no país) ou aumentar o processo de fermentação.

Tabela 8 – Fumonisinias em amostras de cerveja comercial de diversos países

País de origem	Método	N	N positiva (FB)	FBs (faixa de concentração ou média)	Referência
Espanha	HPLC	5	5	FB ₁ (200 µg/kg) FB ₂ (100 µg/kg)	Cano-Sancho <i>et al.</i> (2011)
		216	64 (FB ₁ + FB ₂)	FB ₁ + FB ₂ (média de 36,9±20,1 µg/kg)	Cano-Sancho <i>et al.</i> (2012)
Irlanda	HPLC-QqQ-MS/MS	49	10 (FB ₁ + FB ₂)	FB ₁ (71,2 a 127 ng. mL) FB ₂ (71 a 96,1 ng. mL)	Rubert <i>et al.</i> (2013)
Espanha	UHPLC-(ESI)-MS/MS	10	10 (FB ₁)	FB ₁ (1,3 a 13 µg/kg)	Beltran <i>et al.</i> (2013)
Itália	LC-MS/MS	75	16 (FB ₁) e 2 (FB ₂)	FB ₁ (0,6 a 12,3 ng/ml) FB ₂ (0,7 ng/mL)	Campone <i>et al.</i> (2020)
Brasil	HPLC	58	25 (FB ₁)	FB ₁ (1,2 a 40 ng/mL)	Kawashima <i>et al.</i> (2007)
		53	8 (FB ₁)	FB ₁ (29 a 285 ng/g)	Piacentini <i>et al.</i> (2015A)
		114	56 (FB ₁)	FB ₁ (201,70 a 1568,62 µg/L)	Piacentini <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Autoria própria (2021)

5.1.1 Fumonisinas em Cervejas com Adjunto de Milho

A relação entre a detecção de FBs e o uso de adjuntos a base de milho no processamento de cerveja, vem sendo descrita há mais de 25 anos (SCOTT *et al.*, 1995; HLYWKA e BULLERMAN, 1999). A principal fonte de açúcar fermentescível para produção de cerveja é o malte de cevada. No entanto, devido ao baixo custo de alguns adjuntos e ou disponibilidade local, além de propriedades sensoriais desejáveis, os adjuntos são comumente utilizados na indústria cervejeira na etapa de mosturação conforme Figura 6. Entre os principais adjuntos, destacam-se produtos à base de milho na forma de xarope ou gritz, arroz, cevada não maltada, trigo, sorgo e outros (OLIVEIRA, 2011, POREDA *et al.*, 2014, PIACENTINI *et al.*, 2017).

Figura 6 – Fluxograma das etapas de processamento da cerveja com destaque para a de adição dos adjuntos



Fonte: Autoria própria (2021)

A Tabela 9 apresenta dados de FBs em amostras de cerveja produzidas com adjuntos de milho.

Scott *et al.* (1995) foram os primeiros a relatar a contaminação de cerveja por FBs, embora tenham detectado FB₁ em apenas 4 amostras de um total de 41 amostras analisadas e em concentrações relativamente baixas (> 59 ng/mL).

Tabela 9 – Fumonisinias em amostras de cerveja com adjunto de milho

Método	N total	N positiva (FB)	FBs (faixa de concentração ou média)	Origem das amostras	Referência
HPLC	41	4 (FB ₁)	FB ₁ (2 a 59 ng/mL)	Canadá e outros países	Scott <i>et al.</i> (1995)
	29	25 (FB ₁) 12 (FB ₂)	FB ₁ +FB ₂ (<0,3 a 13,5 ng/mL)	Estados Unidos e outros países	Hlyka & Bullerman (1999).
	18	18 (FB ₁)	FB ₁ (38 a 1066 ng/mL) FB ₁ + FB ₂ + FB ₃ (43 a 1329 ng/mL)	África do Sul	Shephard <i>et al.</i> (2005)
	30	10 (FB ₁)	FB ₁ (média de 4,7 µg/kg) FB ₂ e FB ₃ (nd)	Japão	Aoyama <i>et al.</i> (2010)
CG/MS e HPLC/MS	33	32 (FB ₁) e 19 (FB ₂)	FB ₁ (<0,1 a 30,3 µg/µl) FB ₂ (<0,1 a 3,9 µg/µl)	Diversos países da Europa	Bertuzzi <i>et al.</i> (2011)
LC-MS	14	14(FB ₁) e 1 (FB ₆)	FB ₁ (15-741 µg/g) FB ₂ (0,6 e 127 µg/g) FB ₃ (0,7 a 100 µg/g) FB ₆ (76,13 µg/g)	Camarões	Abia <i>et al.</i> (2013)
	9	9 (FB ₁), 8 (FB ₂) e 6 (FB ₃)	FB ₁ (1522±1192 µg/kg) FB ₂ (251±206 µg/kg) FB ₃ (229±161 µg/kg) FB ₁ + FB ₂ (1745±1294 µg/kg)	Malawi (África)	Matumba <i>et al.</i> (2014)
	32	17 (FB ₁), 10 (FB ₂), 2 (FB ₃),	FB ₁ + FB ₂ + FB ₃ (1898±1405 µg/kg) FB ₁ (151 µg/L) FB ₂ (96 µg/L) FB ₃ (36 µg/L) FB ₁ e FB ₂ (132 µg/L) FB ₁ + FB ₂ + FB ₃ (média de 125 µg/L)	África do Sul	Adekoya <i>et al.</i> (2018)

Fonte: Autoria própria (2021)

A análise de 29 amostras de cerveja (25 de origem americana e 4 de outros países) detectou FB₁ e FB₂ em 86 e 4% das amostras respectivamente, a concentração da somatória de FB₁+FB₂ em 25 amostra positivas variou de <0,3 a 12,7 ng/mL (HLYWKA; BULLERMAN, 1999).

FB₁, FB₂ e FB₃ também foram detectadas em amostras de cervejas com adjuntos de milho coletadas em duas áreas da África do Sul. Os resultados do estudo demonstraram que todas as amostras (18 no total) foram positivas para FB₁, com um nível médio de 262 ng/mL, em um intervalo de 38 a 1066 ng/mL. FBs totais (FB₁+FB₂+FB₃) variaram de 43 a 1329 ng/mL, com um nível médio de 345 ng/mL. Dessa forma, a FB₁ foi o principal análogo das FBs presentes nas cervejas e representou uma média de 76% (variação de 65-84% do total) em amostras contendo todos os três análogos (SHEPHARD *et al.*, 2005).

Em alguns países da Europa como a Croácia, França, Itália, Romênia e Espanha, utilizam griz de milho como adjunto na produção de cerveja, sendo que de acordo com o regulamento destes países é possível a substituição do malte de cevada em até 50% por adjuntos. A análise de 33 amostras de diversos países da Europa, detectou FBs de amostras provenientes da República Tcheca, França, Itália, Romênia, Eslovênia e Espanha. FB₁ foi detectada em 32 amostras (97%) e FB₂ em 19 amostras (57,6%), sendo que as maiores concentrações detectadas para estas toxinas foram de 30,3 ng/mL e 3,9 ng/mL, respectivamente, para amostras de cerveja provenientes da Itália (BERTUZZI *et al.*, 2011).

Abia *et al.* (2013), também investigou a ocorrência de múltiplas micotoxinas em 14 amostras de cervejas à base de milho, foram analisadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem, associada a ionização por eletrospray (LC-ESI-MS/EM). Os autores detectaram FB₁, FB₂, FB₃ e FB₆. Especificamente FB₁ foi detectada com uma média de 334 µg/kg, em um intervalo de 15-741 µg/kg. FB₂ foi identificada com uma média de 55 µg/kg, em um intervalo de 0,6 e 127 µg/kg e FB₃ foi detectada em uma média de 43 µg/kg, com intervalo entre 0,7 a 100 µg/kg. Os autores ainda detectaram FB₆ em uma amostra (que representa o 7% do total de amostras), em uma concentração de 76,13 µg/kg.

Em 2012, um total de 9 amostras de cervejas tradicionais à base de milho foram coletadas aleatoriamente de rituais tribais e de cervejeiros de vilas comerciais em Malawi, com o propósito de avaliar múltiplas micotoxinas nas quais se incluíam FB₁, FB₂ e FB₃. O método de análise foi LC-MS/MS (MATUMBA *et al.*, 2014). Todas as 9 amostras de cervejas foram positivas para FB₁ apresentando uma concentração média de 1522+1192 µg/kg, 8 amostras foram positivas para FB₂ com uma concentração média de 251+206 µg/kg, e 6 amostras foram positivas para FB₃ com uma concentração média de 229+161 µg/kg. Os autores deste estudo também descreveram que todas as amostras foram positivas para FB₁ e FB₂ apresentando uma concentração média de 1745±1294 µg/kg, e também foram positivas para FB₁, FB₂ e FB₃, apresentando uma concentração média de 1898±1405 (MATUMBA *et al.*, 2014).

Outro estudo, desenvolvido por Adekoya *et al.* (2018), teve como objetivo investigar a contaminação por fungos e micotoxinas nas cervejas artesanais à base de milho, comercializadas na África do Sul. Tal contaminação foi analisada por LC-

MS. Os resultados revelaram que dentre as 32 amostras de cervejas, 17 amostras foram positivas para FB₁ (53% com relação ao total das amostras), apresentando uma concentração média de 151 ng/mL, 10 amostras foram positivas para FB₂ (32% com relação ao total das amostras), com uma concentração média de 96 ng/ml, e 2 amostras foram positivas para FB₃ (6% com relação ao total das amostras), com uma concentração média de 36 ng/mL (ADEKOYA *et al.*, 2018).

Os resultados referentes aos países da África podem revelar tendências sobre a contaminação por FBs importantes para serem compreendidas. O clima tropical, desses países favorecem o desenvolvimento de *Fusarium* spp.

Uma outra questão se refere a fiscalização, a falta de leis e de medidas de controle mais rigorosas na produção de cervejas artesanais é outro quesito que pode favorecer a presença de tais contaminantes nesses produtos. Na África, tradicionalmente alimentos e bebidas fermentados são fabricados de forma caseira, sem o controle adequado para garantir a segurança durante a produção (MATUMBA *et al.*, 2014).

A literatura argumenta que a presença de múltiplas micotoxinas em amostras de cerveja produzidas nos países africanos são uma consequência direta das condições de processamento pobres e descontroladas dos produtos, particularmente no processo de maltagem, que envolve o aumento das micotoxinas dos grãos, que ao mesmo tempo interagem com um ambiente úmido, propício para o seu desenvolvimento (MATUMBA *et al.*, 2014; ADEKOYA *et al.*, 2018). Assim, o armazenamento impróprio, a utilização de grãos contaminados, de adjuntos como maltes de sorgo e milho, pode contribuir significativamente para o aumento da formação destas micotoxinas.

Neste ponto, vale a pena destacar que o fungo *F. verticillioides* é um fungo parasita não obrigatório, micotoxigênico em potencial, de ocorrência comum em culturas de milho, que causa a podridão da raiz, do colmo, da espiga e a deterioração de grãos armazenados. Esse fungo, comumente encontrado em amostras de milho e produtos derivados, pode produzir várias micotoxinas; no entanto, a mais proeminente é FB₁ (BOWERS; MUNKVOLD, 2014). Essa micotoxina pode ser introduzida na cerveja, tanto a partir de insumos contaminados quanto de adjuntos adicionados durante o processo de mosturação.

F. verticillioides é considerado mundialmente como um dos mais

importantes produtores de FBs em cereais utilizados na dieta humana e em rações animais, que uma vez contaminados, são prejudiciais aos homens e animais que os ingerem. Condições ambientais quentes e secas, como as apresentadas em algumas regiões da África, predispõem à cultura do milho à infecção deste fungo e, portanto, à contaminação por FBs (PIACENTINI *et al.*, 2015B).

Além do milho outros trabalhos relatam também o uso de sorgo como adjunto ou como substituto em cervejas tradicionais de países da África. Um estudo desenvolvido em Camarões investigou a presença de micotoxinas em cervejas artesanais de sorgo caseiro. No caso, FB₁ foi analisada nessas amostras, sendo extraídas pelo método HPLC e posteriormente identificadas pelo procedimento de ensaio imunoenzimático ELISA (ROGER, 2011). No caso, foram analisadas um total de 120 amostras, das quais 70 eram de cerveja tipo bil-bil e 50 amostras de cerveja kpata. Especificamente, 55 das 70 cervejas tipo bil-bil (78,5%) variaram de 0,0 a 230 ng/mL com média de 150±24 ng/mL, e o total de cervejas kpata (100%) também foram positivas, demonstrando concentrações de 0,5 a 340 ng/mL com média de 210±10 (ROGER, 2011). O estudo desenvolvido na Nigéria teve como principal objetivo investigar a ocorrência de micotoxinas de *Fusarium* em diversos produtos alimentícios comercializados em supermercados deste país, entre os quais se incluíam cervejas tradicionais denominadas burukutu e pito, produzidas a base de sorgo. Tal ocorrência foi analisada através do método de detecção por LC-MS/MS (CHILAKA *et al.*, 2018).

Entre as toxinas analisadas encontravam-se FBs, e os resultados revelaram que das 54 amostras de cervejas burukutu, 12 amostras foram positivas para FB₁ (22% com relação ao total das amostras), apresentando uma concentração média de 138±77 µg/L, e 7 amostras foram positivas para FB₂ (13% com relação ao total das amostras), com uma concentração média de 105±58 µg/L. Com relação às amostras de cervejas pito, 45 amostras foram analisadas, sendo que 8 amostras foram positivas para FB₁ (18% com relação ao total das amostras), com uma concentração média de 114±43 µg/L, e 5 amostras foram positivas para FB₂ (11% com relação ao total das amostras), apresentando uma concentração média de 57±7,4 µg/L (CHILAKA *et al.*, 2018). Os valores de FB₁ e FB₂ de amostras produzidas com sorgo apresentaram-se inferiores a amostras de cervejas utilizando milho como adjunto.

Particularmente, a cerveja é basicamente definida como uma bebida carbonatada, com um baixo teor alcoólico, que é produzida a partir da fermentação das leveduras introduzidas juntamente com o malte de cevada, lúpulo e água potável de boa procedência, sendo que ainda pode haver incremento de outros produtos, considerados adjuntos cervejeiros, como o arroz, o trigo e o milho (HATOUM *et al.*, 2012). No caso, leveduras do gênero *Saccharomyces* possuem diversas cepas relativamente seguras e com capacidade de produção de dois metabólitos primários importantes na produção de cerveja, que são o etanol e o dióxido de carbono (CARVALHO *et al.*, 2006). Esses organismos são desenvolvidos para propiciar fermentação uniforme, rápida e com alto rendimento em etanol. Elas podem crescer na presença ou na ausência de oxigênio e, em um ciclo normal de fermentação, usam o oxigênio no início do processo até que ele seja todo consumido para seu crescimento. Somente durante o período anaeróbio é que as leveduras produzem o etanol (OLIVEIRA, 2011).

O método geral de produção de cerveja é similar para a maioria das cervejarias e não mudou fundamentalmente ao longo do tempo. As situações nas quais mudanças e diferenças são observadas são aquelas que dependem de fatores como: tipo de cerveja fabricada e o tamanho da cervejaria. Por exemplo, cervejarias menores normalmente só produzem cerveja de cevada maltada para dar um sabor mais forte. A cerveja de mercado de massa, por outro lado, é produzida a partir de uma combinação de malte e milho para tornar a cerveja mais leve e o sabor menos intenso (FANGEL *et al.*, 2018).

Mas a partir da publicação da nova resolução nº 9.902 de 8 de julho de 2019 (BRASIL, 2019), há atualmente a possibilidade de utilizar-se uma variedade maior de adjuvantes. A possibilidade de adjuntos diversos é interessante para geração de produtos sensorialmente diversificados, no entanto, destaca-se a importância do controle da qualidade da matéria-prima, uma vez que esta pode refletir no produto final.

Após a fermentação, a cerveja é armazenada durante alguns dias conforme o fabricante, no tempo de ocorrer a precipitação de leveduras, proteínas e substâncias indesejáveis. E por fim, a cerveja é carbonatada, clarificada, filtrada, engarrafada e pasteurizada. Especificamente, a cevada brasileira apresenta alto índice de contaminação por micotoxinas que podem prejudicar a qualidade da

cerveja produzida neste país e, conseqüentemente, a saúde do consumidor (PIACENTINI *et al.*, 2015B). Sobre este quesito, é importante ressaltar que o Brasil possui um clima tropical propício para a contaminação por fungos o que também reforça a importância da pesquisa de micotoxinas nesses produtos.

Assim, considerando a ampla disponibilidade de milho no Brasil e no mundo e o uso deste como adjunto nas amostras de cerveja, um monitoramento constante da contaminação por FBs se faz necessário, assim como um rigoroso controle de qualidade das matérias primas utilizadas para a produção de cerveja.

A principal via de contaminação de FBs em cerveja tem origem o adjunto de milho. *F. verticillioides* é menos comum em cevada, no entanto alguns trabalhos relatam a infecção do grão pela espécie, assim como pela toxina. A análise de quatro amostras de cevada da Bósnia Herzegovina, mostrou que *Fusarium* sp. estava presente em todas as amostras, sendo *F. verticillioides* a espécie mais frequente. E embora tenha sido detectada em todas as amostras, a contaminação por FBs tenha sido baixa de 1,01 a 5,35 ng/g (IVIC *et al.*, 2011). Baixas concentrações de FBs também foram detectadas em amostras de cevada da República Tcheca, a análise de 52 amostras de cevada, detectou FB₁ e apenas uma amostra e FB₂ em duas amostras em concentrações que variaram de 11,08 a 15,64 ng/g (BOLECHOVA *et al.*, 2015). A análise de cinquenta amostras de cevada brasileira, mostrou que 12% estavam contaminada com *F. verticillioides* e 26% por *F. graminearum*, FB₁ e FB₂ foram detectadas em 10 e 2% das amostras, com concentração média de 6 e 90 ng/g, respectivamente (PIACENTINI *et al.*, 2015).

Em 2011, um trabalho desenvolvido por Pereyra *et al.* (2011), avaliou a contaminação por micobiota e FB₁ em diferentes tipos e marcas de cevada maltada e bagaço do malte coletados de uma grande cervejaria argentina. Leveduras foram isoladas de todas as amostras de malte e grãos de cerveja. Gêneros contendo algumas das espécies mais importantes produtoras de micotoxinas, entre elas *Fusarium* spp., foram isolados das amostras analisadas. Todas as amostras estavam contaminadas com 104 a 145 µg/kg de FB₁.

Por outro lado, a análise de 20 amostras de radículas de cevada de maltarias do Rio de Janeiro, Brasil, mostrou que além de *F. verticillioides* ser a espécie mais frequente, presente em 65% das amostras. Sendo que em todas as amostras foi detectado FB₁ em concentração variando de 564 a 1383 ng/g. Embora

as radículas seja um subproduto da malteação e seja destinada à ração de suínos a contaminação e não para produção de cerveja, a contaminação pela espécie toxigênica representa um alerta, pois indica que embora a cevada não seja um substrato usual, as condições climáticas podem favorecer o desenvolvimento de *F. verticillioides*, assim como a produção de FBs (CAVAGLIERI *et al.*, 2009).

5.2 *Fusarium* sp. e FUMONISINAS NO PROCESSAMENTO DA CERVEJA

A maioria dos processos para produção de alimentos tem efeitos variáveis sobre micotoxinas, sendo que aqueles que utilizam as temperaturas mais altas apresentam os melhores resultados (SCOTT, 1996; BOEIRA *et al.*, 2000; BULLERMAN; BIANCHINI, 2007). Em geral, os processos reduzem significativamente as concentrações de micotoxinas, mas não as eliminam completamente (BULLERMAN; BIANCHINI, 2007; MILANI; MALEKI, 2014). Diversos estudos têm analisado as contaminações com FB1 em mosto, grãos e cervejas. Foram selecionados 17 trabalhos através do *Methodi Ordinatio* sobre o tema e outros 3 incluídos fora deste ranking pois não apareceram nos sistemas de busca das bases selecionadas e possuem uma importante relevância científica. Especificamente, estudos têm investigado a possível transferência de FBs do grão maltado para a cerveja, a Tabela 10 apresenta resultados de trabalhos que utilizaram adjuntos a base de milho e cerveja de sorgo.

Tabela 10 – Variação da concentração de FB₁ na matéria-prima e no final do processo de produção de cerveja

Amostra inicial	Contaminação	Produto final	[FB ₁] inicial	[FB ₁] final	Referência
Mosto	Artificial	Cerveja	0,95 µg/mL	0,02 a 0,26 µg/mL	Scott <i>et al.</i> (1995)
Milho	Natural	Cerveja	1146 a 3194 µg/kg	37 a 89 µg/l	Pietri <i>et al.</i> (2010)
	Artificial	Mosto	50 a 750 µg/kg	50 a 300 µg/kg	Pascari <i>et al.</i> (2019)
	Artificial	Cerveja	201,7 a 1568,62 µg/L	367,47 µg/kg (média)	Piacetini <i>et al.</i> (2017)
Sorgo	Natural	Cerveja	47 a 1316 µg/kg	0 µg/kg	Nkwe <i>et al.</i> (2005)
	Artificial	Cerveja	806 µg/kg	20 µg/kg	Chilaka <i>et al.</i> (2018)

Fonte: Autoria própria (2021)

Em geral, as micotoxinas são compostos estáveis ao processamento. As micotoxinas que ocorrem comumente em grãos de cereais não são destruídas durante a maioria das operações de processamento de alimentos, o que pode levar à contaminação de alimentos à base de cereais acabados (BULLERMAN; BIANCHINI, 2007). Estudos com FB₁ e FB₂ adicionadas em vários estágios do processo de fermentação têm mostrado que essas micotoxinas podem ser transferidas de grãos contaminados para a cerveja (SCOTT, 1996). Dessa forma, elas podem ser introduzidas nesta bebida se os grãos e cereais ou os produtos deles contaminados forem usados no processamento (SCOTT, 1996; BOEIRA *et al.*, 2000).

Um dos primeiros trabalhos a relatar a contaminação de cerveja por FBs foi realizado por Scott *et al.* (1995) analisou-se do efeito da fermentação sobre FB₁ e FB₂ adicionadas ao mosto, na concentração de 0,95 µg/mL, e fermentação por até 8 dias por três cepas diferentes da *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados desta pesquisa demonstraram que essas FB₁ e FB₂ foram bastante estáveis no processo de fermentação. As perdas estimadas de FB₁ e FB₂ foram de 3 a 28% e de 9 a 17%, respectivamente, ao longo dos 8 dias. A pesquisa indica que o processo fermentativo desenvolvido pela levedura afetou parcialmente a produção de FBs (FB₁ e FB₂).

Em outro estudo, desenvolvido por Pietri *et al.* (2010), o objetivo foi

determinar o destino de FBs que ocorrem naturalmente no grão de milho e na cevada maltada durante quatro processos de fabricação de cerveja industrial. O nível de FB₁ (apenas no grão de milho) variou de 1146 a 3194 µg/kg. Em contraste, a concentração na cerveja acabada variou de 37 a 89 µg/L para FB₁.

Em outro trabalho subsequente, determinou o destino do desoxinivalenol, desoxinivalenol-3-glucosídeo, 3- e 15-acetil-desoxinivalenol, zearalenona, α-zearalenol, β-zearalenol e FB₁ e FB₂ através da mosturação e fervura do mosto. Três cenários diferentes de contaminação por micotoxinas foram considerados: dois cenários de inoculação de grãos com cepas de *Fusarium* produtoras de micotoxinas e um de inoculação com soluções padrão de micotoxinas. Em quase todas as amostras, foi observado um aumento no nível de micotoxinas no mosto durante o processo de mosturação devido a adição de adjuntos cervejeiros, seguido por uma diminuição após 30 minutos do processo, com os níveis permanecendo constantes até o final da ebulição. FBs foram reduzidas entre 50 e 100% durante a mosturação e ebulição (PASCARI *et al.*, 2019). A adição de adjuntos leva ao aumento dos tipos de micotoxinas e de suas concentrações, que podem ser parcialmente reduzidas com o tratamento térmico na mosturação.

Bolechova *et al.* (2015), pesquisaram 17 micotoxinas em 52 amostras de cevada e malte na República Tcheca. Todas as amostras estavam contaminadas com pelo menos uma das micotoxinas, entre as quais se destacavam as FBs. FB₁ estava presente em apenas uma amostra; no entanto, FB₂ foi encontrada em duas amostras de cevada. Os valores não excederam o limite máximo permitido para as micotoxinas selecionadas em cereais não processados ou processados, seguindo o estabelecido pela União Europeia.

Em 2011, um trabalho desenvolvido por Pereyra *et al.* (2011), avaliou a contaminação por micobiota e FB₁ em diferentes tipos e marcas de cevada maltada e grãos de cerveja coletados de uma grande cervejaria argentina. Leveduras foram isoladas de todas as amostras de malte e grãos de cerveja. Gêneros contendo algumas das espécies mais importantes produtoras de micotoxinas, entre elas *Fusarium* spp., foram isolados das amostras analisadas. Todas as amostras estavam contaminadas entre 104 a 145 µg/kg de FB₁. Outro estudo similar, desenvolvido em Bósnia e Herzegovina, determinou a micobiota, a presença de potenciais produtores de FBs e a eventual contaminação por FB₁ em quatro

amostras de grãos de cevada (IVIC *et al.*, 2011). Foram encontradas cepas do fungo *Fusarium* spp. em todas as amostras, em 26, 40, 49 e 60% dos grãos, respectivamente. Novamente, a cepa mais frequente foi a *F. verticillioides*, presente em três amostras (40, 49 e 60%). O teor de FB₁ no grão foi muito baixo (5,35; 1,68; 1,48; e 1,01 ng/g), com uma média de 2,40 ng/g para todas as quatro amostras analisadas. Embora a ocorrência de *F. verticillioides* não sejam comuns em climas frios e secos, as observações na Argentina e Bósnia podem ser consequência de infecções pontuais. Isso demonstra a importância do monitoramento mesmo em condição não propícias ao desenvolvimento do fungo.

Resultados semelhantes foram relatados por Piacentini *et al.* (2015A). Esses autores determinaram a micobiota e a ocorrência de FBs na cevada para malte de uma cervejaria localizada no Brasil. As amostras apresentaram baixa contagem de colônias de fungos, com valores variando de 10,5 a $0,5 \times 10^1$ UFC/g e as espécies mais encontradas foram *F. verticillioides* e *F. graminearum* com 12 e 26% de incidência, respectivamente. Em 12% das amostras analisadas, houve presença de FBs; no entanto, nenhuma delas estava acima da regulamentação nacional e internacional (PIACENTINI *et al.*, 2015A).

Em conjunto, os estudos revelam que as matérias-primas e os produtos finais cumpriram os limites fixados pelos Regulamentos da Comissão Europeia, e outros regulamentos nacionais e internacionais. Portanto, a contribuição de um consumo diário moderado de cerveja para FBs não contribui significativamente para a exposição de risco do consumidor. No entanto, análises devem ser desenvolvidas rotineiramente.

Além do milho, em alguns países do continente africano é comum a produção de cervejas a base de sorgo. A análise de quarenta e seis amostras à base de sorgo (incluindo malte, mosto e cerveja tradicional) de três aldeias em Botswana. Quarenta e seis amostras de malte foram analisadas e fungos do gênero *Fusarium* foram isolados e se descreveram como os mais comuns. Entre as 46 amostras de malte, 63% estavam contaminadas com *F. verticillioides*. FB₁ foi detectada em 3 amostras de malte, com concentrações variando de 47 a 1316 µg/kg, mas não foi detectada nas amostras de mosto e cerveja correspondentes às amostras de malte contaminado (NKWE *et al.*, 2005).

Também a estabilidade de FB₁ foi investigada durante o processamento de

cerveja artesanal de sorgo (*burukutu*) usando matérias-primas contaminadas artificialmente (CHILAKA *et al.*, 2018). Os resultados desse estudo revelaram a redução dessa toxina em todos os produtos finais. Dessa forma, se considerou que a fervura desempenhou um papel significativo na redução de FB₁ na produção da cerveja tradicional, com a maltagem e a fermentação tendo um grande impacto na redução observada. Em contraposição, outros metabólitos como *desoxinivalenol-3-glicosídeo*, *15-acetil-desoxinivalenol*, *α-zearalenol* e *β-zearalenol* foram detectados no produto final de cerveja. É importante destacar que esses metabólitos inicialmente não estavam presentes no sorgo cru. As conclusões desse último estudo afirmam que embora tenha havido uma redução das micotoxinas durante o processamento, concentrações apreciáveis de outras toxinas ainda foram detectadas nos produtos finais. Daí a importância de usar matérias-primas de boa qualidade, com o propósito de reduzir significativamente a contaminação por micotoxinas na cerveja tradicional (CHILAKA *et al.*, 2018).

Embora os grãos destinados a produção de cerveja possam estar contaminados por FBs, devido a sua solubilidade em água estas são diluídas na etapa de maceração (*steeping*) durante a germinação no processo de malteação (MAENETJE; DUTTON, 2007). Uma preocupação em relação ao adjunto é que este é adicionado na etapa de brasagem, para formação do mosto, embora a etapa envolva aquecimento (~72 °C) esta não é suficiente para degradação de FB, por exemplo que é resistente a temperaturas superiores as 100 °C (BULLERMAN *et al.*, 2002). No Brasil, entre os adjuntos os derivados de milho correspondem a maioria. A análise de 161 amostras de cervejas avaliadas, 95,6% utilizavam malte e adjunto cervejeiro. Do total analisado, 91,3% foram produzidas com adjuntos derivados de milho ou açúcar de cana, 4,3% apresentaram arroz e 4,3% eram cervejas classificadas como “puro malte” (SLEIMAN *et al.*, 2010).

Além do risco de FBs no produto final, a contaminação da matéria prima, pode também afetar a fermentação durante o processamento da cerveja. Em relação as leveduras cervejeiras, há a possibilidade de adsorção de micotoxinas, reduzindo assim a sua concentração no produto ou inibição da levedura pelo efeito tóxico da micotoxina (PINHEIRO *et al.*, 2017). Um trabalho, desenvolvido por Scott *et al.* (1995), analisou o efeito da fermentação sobre FB₁ e FB₂ adicionadas ao mosto. Essas micotoxinas foram adicionadas em concentrações de 0,95 µg/ml, e o

mosto foi fermentado por até 8 dias por três cepas diferentes da *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados desta pesquisa demonstraram que FB₁ e FB₂ foram bastante estáveis no processo de fermentação. As perdas estimadas de FB₁ e FB₂ foram de 3 a 28% e de 9 a 17%, respectivamente, ao longo dos 8 dias. Essa informação denota que a adsorção de FBs pela levedura foi insignificante, de < 1% para FB₁ e < 2% para FB₂.

Boeira *et al.* (2000) avaliaram o possível efeito interativo de uma combinação de micotoxinas produzidas por *Fusarium* spp., especificamente da *desoxinivalenol* (DON), *zearalenona* (ZEA) e de FB₁, no crescimento da levedura, principalmente em cepas de produção de cerveja. Objetivando determinar se as combinações de micotoxinas presentes no mosto poderiam ter um efeito deletério no crescimento da levedura, levando a um impacto adverso no processo de fermentação. Os efeitos da combinação de outras micotoxinas testadas com FB₁ não teve nenhum efeito significativo. Por outro lado, a interação sinérgica entre as micotoxinas DON e ZEA foi observada apenas em altas concentrações, que eram muito maiores do que seria esperado em grãos de boa qualidade (BOEIRA *et al.*, 2000).

Além disso, estudos têm demonstrado que a matéria-prima contaminada com micotoxinas produzidas pelos fungos *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, têm impacto negativo no rendimento e nos indicadores de fermentação (KOSOWSKI; MIKULSKI, 2010). Sobre isso, pode se comentar que Kosowski & Mikulski (2010) analisaram o efeito de FB₁ e outras micotoxinas adicionadas à pasta de grãos de milho na composição de subprodutos voláteis da fermentação em destilados crus. Especificamente, FB₁ não aumentou a concentração de acetaldeídos, álcoois superiores e estéreis totais nos destilados obtidos. Em contraste, outras micotoxinas como a ocratoxina A e as aflatoxinas provocaram o aumento de acetaldeídos e/ou ésteres nos mesmos destilados. Por outra parte, a contaminação com FB₁ e ocratoxina A diminuiu a concentração de 3-metil-1-butanol. Esses resultados mostram que as mudanças quantitativas na composição dos subprodutos voláteis da fermentação em destilados crus podem estar relacionadas à presença de nível elevado de micotoxinas na matéria-prima, especialmente na ausência de outros fatores identificáveis que perturbem o curso normal do processo.

Neste processo os álcoois superiores e o etanol são formados durante a

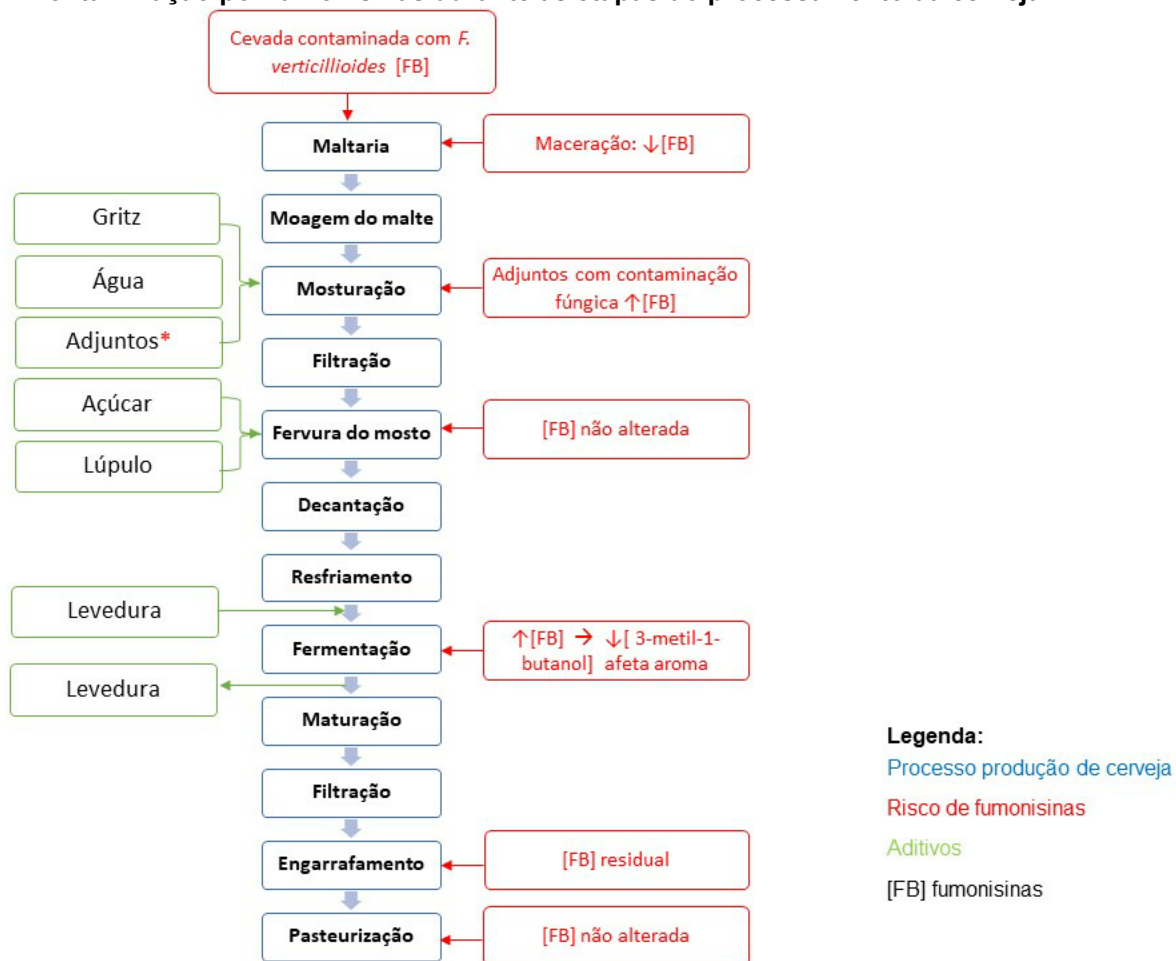
fermentação alcoólica contribuindo para um aroma alcoólico. Um dos mais predominantes é o 3-metil-butanol, compostos presentes no malte e importantes para o aroma da cerveja. Desta forma, as micotoxinas não afetaram as desidrogenases envolvidas na síntese desses álcoois, a menos que estejam presentes em concentrações mais altas.

Também Kosowski & Mikulski (2010) descreveram a influência de micotoxinas selecionadas sobre os principais fatores que são característicos do processo de fermentação de mostos de milho, tais como concentração de álcool, produtividade, rendimento e energia. Indicadores de fermentação alcoólica de mostos feitos de matéria-prima com baixo nível de contaminação foram comparados com mostos obtidos de matéria-prima contaminada seletivamente com micotoxinas FB₁ (1875 ppb), FB₂ (609 ppb), e FB₃ (195 ppb). Os autores descreveram que essas FBs não afetaram substancialmente o curso das fases de fermentação subsequentes, em particular a primeira e as principais fases de fermentação da cerveja.

Um estudo examinou a magnitude do enriquecimento de FBs em grãos de destilaria desidratados e solúveis (DDGS) para analisar os impactos sobre a contaminação por FBs na produção final de etanol (BOWERS; MUNKVOLD, 2014). Este estudo foi conduzido com amostras de grãos naturalmente contaminados com 0 a 35 mg/kg de FBs. Posteriormente, esses grãos foram fermentados e o DDGS foi coletado e analisado quanto ao conteúdo dessas micotoxinas. Os resultados do estudo, demonstram que a produção de etanol não foi afetada pelas FBs na faixa analisada (BOWERS; MUNKVOLD, 2014). Assim entre os principais efeitos das FBs sobre a fermentação, destacam-se a geração de subprodutos voláteis indesejáveis e o menor rendimento de etanol.

A Figura 7 mostra as principais fases no processamento da cerveja (destacadas na parte central, em caixas azuis), matérias-primas acrescentadas ao processo (destacadas na parte esquerda, com caixas verdes) e as possíveis ações que podem provocar a contaminação por FBs, assim como as transformações que acontecem com essas micotoxinas durante o processamento da cerveja (destacadas na parte superior e direita, em caixas vermelhas).

Figura 7 – Contaminação por fumonisinas durante as etapas do processamento da cerveja



Fonte: Autoria própria (2021)

Entre essas ações é importante mencionar que o acréscimo de cevada contaminada com *F. verticillioides* na fase da maltaria, a adição de adjuntos contaminados com fungos na fase da mosturação e a fase da fermentação, se apresentam como as três principais etapas com maior risco de desenvolver a contaminação por FBs na produção dessa bebida alcoólica.

Sobre isso, é válido afirmar que a contaminação de milho por *F. verticillioides* é mais relatada na literatura do que a contaminação da cevada, como foi relatado no decorrer deste trabalho. Assim, a maioria das pesquisas revisadas neste estudo indicam que a produção de toxinas do tipo DON são as mais encontradas na cevada, sendo produzidas principalmente pela espécie de fungos *F. graminearum*. Contudo, estudos como o de Bolechova *et al.* (2015), Cavaglieri *et al.* (2009), Gil-Serna *et al.* (2013), Kovacevik, Vasilj e Idzakovic (2011), Pereyra *et al.* (2011) e Piacentini *et al.* (2015) demonstram que a contaminação da cevada também pode ocorrer devido à presença de fungos da espécie *F. verticillioides*,

produtores de FBs. Em conjunto, os resultados indicam que a cevada é susceptível à contaminação fúngica e, portanto, representa um risco para os processos que usam esse cereal.

Diante dessa situação, este trabalho também evidenciou uma fase envolvida no processamento da cerveja que diminui a concentração de FBs de forma substancial: a maceração. Nesta fase, os grãos destinados à produção de cerveja são colocados em água, elevando o teor de umidade para que eles possam germinar. Devido a essa ação, FBs que podem estar presentes nesses grãos são diluídas e, portanto, eliminadas na utilizada para maceração (MAENETJE; DUTTON, 2007).

Frente a este contexto, reconhece-se a necessidade de estudar as possíveis estratégias para evitar e/ou controlar a concentração de FBs no processamento da cerveja.

5.3 BIOCONTROLE PARA REDUÇÃO DE FUMONISINA

A principal matéria-prima para produção de cerveja é o grão de cevada maltado. No entanto, cada vez mais o setor cervejeiro vem utilizando cereais como adjuntos na produção de cerveja. A substituição da cevada maltada por fontes adicionais de carboidratos fermentescíveis varia de 10-50% de acordo com proporção permitida pela legislação de cada país (DABIJA *et al.*, 2021).

Um dos motivos do uso de adjuntos se deve às condições climáticas desfavoráveis para produção de cevada em alguns países, levando os produtores de cerveja a buscar matéria prima mais versáteis. No Brasil, o milho é o segundo grão mais produzido, sendo cultivado em praticamente todo o território nacional. No país, é permitido o uso de até 45% de adjuntos na produção de cerveja (BRASIL, 2009), no entanto estudos apontam que a substituição em 30% com milho como adjuvante há uma redução em até 8% no custo de produção da cerveja (PIACENTINI *et al.*, 2018).

O amido de milho é bastante fermentescível por leveduras na produção de cerveja. O milho pode ser usado como adjuvante na cervejaria na forma de: grão, farinha, sêmola, amido, grão expandido, extrusado, xarope etc. Flocos de milho e flocos pré gelatinizados reduzem o tempo de mosturação. No entanto, o uso de

milho e derivados com o adjuvante na produção de cerveja resulta em risco de contaminação por FBs, devido a susceptibilidade do grão à *Fusarium verticillioides*. Fato menos comum em grãos de cevada, classificado como cereal de inverno, é cultivado em condições climáticas menos favoráveis ao desenvolvimento da espécie fúngica (DABIJA *et al.*, 2021).

Para reduzir a contaminação por FBs em milho são aplicados métodos pré-colheita, durante a colheita e no processamento. Muitas estratégias foram desenvolvidas para reduzir o desenvolvimento de *Fusarium* spp. assim como a produção de FBs. As estratégias no campo incluem boas práticas agrícolas, controle de insetos, seleção de cultivares resistentes. Na indústria além da gestão em APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), desde a seleção de matéria prima, são aplicados também métodos físicos e químicos, tais como: seleção, flotação, extração por solventes, detoxicação química por alcalinização (com amônia, hidróxido de sódio e dióxido de enxofre), oxidação (com ozônio), irradiação e pirólise. Devido à baixa eficácia, alto custo, perda de nutrientes provocados por métodos físico-químicos estes são considerados limitados para redução da contaminação por micotoxinas. Neste sentido, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para aplicação de métodos de biocontrole. Muitos métodos biológicos utilizando microrganismos são relatados na literatura para controle do crescimento de *Fusarium verticillioides* e também para redução da produção de FBs, tais métodos são aplicados na etapa pré-colheita ou pós-colheita no armazenamento (ALBERTS, *et al.*, 2016).

Para identificar o conhecimento existente relacionado aos métodos de biocontrole foram selecionados 21 trabalhos através do *Methodi Ordinatio* sobre esta temática e 4 incluídos fora deste ranking devido a sua importância científica e por possuírem pesquisas atualizadas sobre o tema, porém não apareceram nos sistemas de busca das bases selecionadas devido palavras chave não estarem no título.

5.3.1 Biocontrole de Fumonisina

Embora a prevenção da contaminação por fungos micotoxigênicos seja objetiva nas etapas pré-colheita e armazenamento, a ausência de micotoxina não pode ser totalmente assegurada no produto para consumo. FBs exibem considerável estabilidade química em temperaturas de até 100 °C em pH neutro e são estáveis em uma faixa de pH de 4 a 10 em temperatura ambiente (KELLER, 1998). Assim métodos convencionais de processamento de alimentos não são capazes de eliminar a toxina. Neste sentido, nesta revisão o foco será em pesquisas envolvendo métodos de controle biológico que reduzem ou eliminem FB, visando o estudo de métodos que sejam mais facilmente aplicáveis na indústria cervejeira, quando da contaminação da matéria prima por esta micotoxina.

As principais estratégias de controle biológico para redução de FBs envolvem métodos de adsorção e métodos enzimáticos de biodegradação. Um total de 5 artigos descreveram o controle por adsorção, principalmente por bactérias ácido lácticas, cepas de *Lactobacillus* e *S. cerevisiae*. Já, o método enzimático inclui a ação dos microrganismos *Fusarium proliferatum*, *Sphingopyxis* sp. MTA144, *Pleurotus eryngii*, grupo *Delftia/Comamonas*, cepas de *Lactobacillus*, consorcio bacteriano SAAS79 (com dominância de *Pseudomonas*) e FB esterase FumD (FUMzyme®) (Quadro 1).

Quadro 1 – Métodos de controle biológico para redução de fumonisinas

Mecanismo	Microrganismo teste	FBs	Referência
Adsorção	Bactérias ácido lácticas	FB ₁	Mokoema; Chelule; Gqaleni (2005)
	Bactérias ácido lácticas	FB ₁ e FB ₂	Niderkorn <i>et al.</i> (2009)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CECT 1891 e <i>Lactobacillus acidophilus</i> 24	FB ₁	Pizzolitto; Salvano; Dalcerro (2012)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Armando <i>et al.</i> (2013)
	Cepas de <i>Lactobacillus</i>	FB ₁ e FB ₂	Zhao <i>et al.</i> (2016)
Enzimático	<i>Fusarium proliferatum</i>	FB ₁	Keller; Sullivan (1998)
	Grupo <i>Delftia/Comamonas</i>		Benedetti <i>et al.</i> (2006)
	<i>Sphingomonas</i> sp. MTA144		Hartinger <i>et al.</i> (2009)
	<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144		Heinl <i>et al.</i> (2010)
	<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144		Hartinger <i>et al.</i> (2010)
	<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144		Hartinger <i>et al.</i> (2011)
	<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144		Li <i>et al.</i> (2021)
	<i>Pleurotus eryngii</i>		Haidukowski <i>et al.</i> (2017)
	Cepas de <i>Lactobacillus</i>		Tuppia <i>et al.</i> (2017)
	Enzimático	Consórcio bacteriano SAAS79 (com dominância de <i>Pseudomonas</i>)	FB ₁
FB esterase FumD (FUMzyme®)			Alberts <i>et al.</i> (2019)
FB esterase FumD (FUMzyme®)		FB total	Alberts <i>et al.</i> (2021)

Fonte: Autoria própria (2021)

5.4 ADSORÇÃO

Adsorventes são substâncias com grupos funcionais com capacidade de interagir com micotoxinas, adsorvendo-as reduzindo sua absorção no trato gastrointestinal do consumidor. Os adsorventes são utilizados na alimentação animal como aditivos que ao adsorver as toxinas podem suprimir ou reduzir a

absorção e promover a excreção de micotoxinas. Diversos agentes adsorventes químicos são descritos na literatura, como os aluminossilicatos como as bentonitas, zeolitas e aluminossilicatos de sódio e cálcio hidratados (HSCAS), além de diatomitas e sepiolitas, carvão ativado e polímeros como a colestiramina (VILA-DONAT *et al.*, 2018). Nos processamentos em que não há outra etapa para remoção do complexo adsorvente-micotoxina, avaliar a estabilidade da ligação é fundamental, pois caso o complexo seja desfeito há risco de absorção antes da excreção. Entre os adsorventes de origem biológica, os estudos relatam pesquisas com leveduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias ácido lácticas (PIZZOLITTO *et al.*, 2012).

5.4.1 Adsorção por Bactérias Ácido Lácticas e Leveduras

As bactérias ácido lácticas e a *S. cerevisiae* têm sido usadas como probióticos e como potenciais microrganismos descontaminantes de micotoxinas, devido à sua capacidade de se ligar a esses metabólitos tóxicos (HERNANDEZ-MENDOZA *et al.*, 2009; BUENO *et al.*, 2007; PIZZOLITTO *et al.*, 2011).

O potencial da fermentação de bactérias ácido lácticas na redução da concentração de micotoxinas e toxicidade em produtos de farinha de milho foi avaliada por Mokoema *et al.*, 2005. A análise de 8 amostras de bebidas fermentadas, enriquecidas com 2 µg/g de FB₁. A de redução de FB₁ foi avaliada por 4 dias a 25 °C. Durante este período houve uma variação de pH de 6,6 a 5,0. As maiores taxas de redução de FB₁ foram no 3° e 4° dia em que o pH 5,0 se manteve constante com porcentagem de redução de FB₁ de 55,8 e 74,6%, respectivamente. Os resultados indicaram que a fermentação de produtos de milho com bactérias ácido lácticas pode reduzir significativamente a concentração de FB₁. No entanto, essa redução pode não alterar significativamente os possíveis efeitos tóxicos da micotoxina, já que a fermentação parece não afetar a biodisponibilidade da FB₁, indicando possíveis mecanismos de adsorção (MOKOEMA *et al.*, 2005).

Os mecanismos de adsorção de FBs foram amplamente estudadas com bactérias ácido lácticas. Células viáveis e não viáveis foram capazes de se ligar à FBs de maneira dependente de pH, gênero, densidade bacteriana e análogo da toxina em condições *in vitro*. Dentre as 202 cepas testadas, *Streptococcus*

thermophilus foi capaz de se ligar e remover 24 e 62% de FB₁ e FB₂, respectivamente. O teste foi conduzido a 25 °C com FBs diluídas em tampão PBS (pH 7,4). Apesar de estruturalmente muito parecidas, FB₁ apresenta e, R2 uma hidroxila, ausente em FB₂ o que pode ter interferido na adsorção (NIDERKORN *et al*, 2007).

Lactobacillus paraplantarum CNRZ 1885 e *S. thermophilus* RAR1 submetidas a diferentes tratamentos físico-químicos e enzimáticos foram avaliadas quanto a capacidade de adsorção à grupos funcionais em FB₁ e FB₂. Entre os tratamentos testados verificou-se que o congelamento/descongelamento e tratamentos térmicos das bactérias aumentaram as frações ligadas de FB₁ e FB₂ em ambas as cepas testadas (NIDERKORN *et al*, 2009).

Diversos gêneros de bactérias ácido lácticas são capazes de se ligar a FB₁ e FB₂, sugerindo que o sítio de ligação é um componente amplamente conservado na parede celular dessas bactérias. Este componente é sintetizado no início do ciclo de crescimento bacteriano, uma vez que a ligação foi observada na fase de latência. A ligação foi observada ao longo do ciclo de crescimento com um máximo no final da fase exponencial. A ligação ocorre na subsuperfície da parede celular em locais expostos pelo calor ou por tratamentos com ácido. Dessa forma, o sítio de ligação de FBs não são os polissacarídeos, lipídeos ou proteínas de superfície, mas podem ser os peptidoglicanos (PGs) ou compostos fortemente associados a eles. A estrutura dos PGs é definida como uma estrutura conservada, composta por cadeias de glicano lineares alternando com N-acetil glucosamina (GlcNAc) e ácido N-acetil murâmico (MurNAc), em uma ligação β (1→4). Essas cadeias são reticuladas por meio de peptídeos curtos. A sequência de aminoácidos específica das pontes peptídicas e, conseqüentemente, a estrutura molecular dos PGs variam com as espécies bacterianas. Como a fração ligada de FBs variou entre os peptidoglicanos testados, mas também entre os gêneros de bactérias de ácido láctico, os autores afirmam que é provável que a sequência de aminoácidos desempenhe um papel importante na eficiência do mecanismo (NIDERKORN *et al*, 2009).

A estrutura dos PGs varia principalmente no aminoácido na posição 3 (AA3) da ponte peptídica e nos aminoácidos de reticulação. Essa diferença poderia explicar sua eficiência diferente na ligação à FB. A maior eficiência de ligação do

gênero *Streptococcus* em comparação com o gênero *Lactobacillus* pode ser resultante da sequência de aminoácidos de ponte cruzada, conformada por duas a três moléculas de l-Ala no primeiro e d-Asp no último (BOUHSS *et al.*, 2002).

Entre os tratamentos químicos, o ácido tricloroacético causou um grande aumento na proporção das FBs ligada. Já, a cepa de *L. lactis*, mutante (defeituosa na produção de ácidos lipoteicóicos) ligou-se mais a FB₁ e FB₂ do que a cepa selvagem. Para identificar o papel dos principais grupos funcionais de FBs na formação do complexo micotoxina-parede celular, as cadeias da amina livre e do ácido tricarboxílico (TCA) foram hidrolisados e removidos. Os resultados mostraram que uma ligação de hidrogênio na estrutura de FB₁ é formada entre o hidrogênio do grupo hidroxila no C₁₀ e entre o oxigênio do grupo carbonila do TCA no C₁₅ (NIDERKORN *et al.*, 2009).

Sobre a relação entre a estrutura de FBs e a ligação, os autores descrevem que a maior taxa de ligação do derivado de FBs com o ortoftaldeído em comparação com FBs não modificadas, sugere que o grupo amina livre possui propriedades nucleofílicas que não estão envolvidas na interação de FB₁ e FB₂ com bactérias. Além disso, em condições ácidas, o estado ionizado desta função pode até diminuir a ligação, em particular para FB₁. Os pesquisadores também afirmam que, inversamente, a menor taxa de ligação das FBs hidrolisadas em comparação com FBs puras, indica que um ou ambos as cadeias do TCA desempenham um papel positivo no mecanismo. Apesar de sua estrutura semelhante, a FB₂ foi em todos os experimentos mais ligada do que FB₁. A única variação estrutural entre FB₁ e FB₂ consiste em um grupo hidroxila adicional em C₁₀ para FB₁. Assim, é razoável postular que este grupo hidroxila desempenha direta ou indiretamente um papel negativo na ligação (NIDERKORN *et al.*, 2009).

A conformação espacial induzida pela ligação de hidrogênio de FB₁ torna a molécula mais enrolada e aparentemente menos favorável à ligação pela parede celular bacteriana. Esta conformação pode atrapalhar as interações com os PGs. Essas conformações moleculares foram conservadas através da variação do pH, pois a adição de cargas nos grupos funcionais de FB₁ e FB₂ não afetou os resultados da modelagem. Os PGs de bactérias ácido lácticas mais geralmente PGs de bactérias Gram-positivas, são os locais mais prováveis de ligação de FBs. Este resultado ajuda a explicar a ligação generalizada de FBs por este tipo de bactérias.

A observação deve permitir selecionar cepas eficientes em termos de ligação a essas micotoxinas, como iniciadores de fermentação e/ou misturas probióticas na base de seu tipo peptidoglicano. Destaca-se ainda que pelo menos uma cadeia do TCA de FBs desempenha um papel importante em sua ligação às bactérias. Como foi relatado que a cadeia TCA também desempenham um papel favorável na absorção no intestino da FB₁, a ligação de FB₁ e FB₂ poderia diminuir ainda mais sua absorção e seus efeitos tóxicos nas células da mucosa intestinal (NIDERKORN *et al*, 2009).

Duas cepas de *Lactobacillus*, *L. plantarum* B7 e *L. pentosus* X8 isoladas de produtos de milho, exibiram alta eficiência na remoção de FB₁ e FB₂ do meio aquoso. Para determinar o efeito da temperatura na capacidade de ligação, as células e FBs foram incubadas por 4 h a 4, 20, 37 e 50 °C, respectivamente. Já, para determinar o efeito do pH na capacidade de remoção, as células foram incubadas em tampão citrato de sódio 0,1 M que continha FBs. O pH do tampão foi ajustado para 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 e 9,0 com Tris-HCl 0,1 M, respectivamente. Após incubação por 1 h a 37 °C, as amostras foram analisadas por HPLC. *L. pentosus* X8, *L. plantarum* B7, *L. lactis* subsp. *lactis* BY21 e *Bacillus subtilis* 168 apresentaram melhor capacidade de remoção específica. Para a FB₁, tais capacidades variaram de 10,3% a 63,9% e o valor da FB₂ variou de 17,8% a 87,3%. Já, sobre as taxas de ligação e temperatura, os pesquisadores relatam uma correlação positiva que variou de 4 a 37 °C. Quando a temperatura estava alta, 37 °C, a capacidade de ligação da *L. plantarum* B7 para FB₁ aumentou, mas a de *L. pentosus* X8 para FB₁ e FB₂ diminuíram. As taxas de ligação diminuíram com o aumento do pH, a taxa de ligação máxima de *L. plantarum* B7 e *L. pentosus* X8 com FBs foi observada em pH 3. No entanto, em pH 7 a taxa de ligação de FB₁ com ambas as cepas foi próxima de zero. A taxa de ligação de FB₂ também foi menor do que FB₁. As taxas de ligação aumentaram com o tempo de incubação estendido para ambas as cepas. O valor de *L. plantarum* B7 para FB₁ foi baixo em 10 min e o pico em 60 min foi de 55,8%. Já, o aquecimento das células não teve efeito na taxa de ligação para ambas as cepas (ZHAO *et al.*, 2016). Esses resultados foram consistentes com o relato de Niderkorn *et al.* (2007). A explicação se baseia na estrutura de cada FB: FB₁ está composta de um grupo adicional hidroxila em C10. Niderkorn *et al.* (2009) relataram que este grupo hidroxila desempenha direta ou

indiretamente um papel negativo no processo de ligação. FB₁ pode formar ligação de hidrogênio intramolecular; portanto, a conformação espacial torna a molécula mais enrolada e aparentemente menos favorável à ligação pela parede celular bacteriana.

Os resultados indicaram que a interação entre *Lactobacillus* e FBs podem resultar do processo de fisissorção e pode estar relacionado à sua parede celular. No caso, no ensaio de ligação de componentes da parede celular, o peptidoglicano intacto exibiu a maior capacidade de remoção de FBs que foi uniforme e mais forte do que as células normais. Ao contrário, o peptidoglicano desintegrado mostrou baixa capacidade de remoção. Também foi demonstrado que os ácidos teicóicos e os esferoplastos não eram os locais de ligação. Portanto, os autores demonstram os peptidoglicanos desempenharam um papel importante na remoção de FBs e sua integridade estrutural é essencial. *Lactobacillus* tem a capacidade de remover FBs, enquanto a habilidade é específica de algumas linhagens. Os resultados deste trabalho demonstraram que a interação entre *Lactobacillus* e FBs se dá pela adsorção física, em que os peptidoglicanos são os principais sítios de ligação, e sua integridade estrutural é necessária. Ambas as cepas exibiram boa capacidade de ligação a FBs, mas entre as duas a que mais se destacou foi FB₂. A modo de encerramento, os pesquisadores afirmam que as cepas de *Lactobacillus* são adequadas e promissoras para sua aplicação em suplementos alimentícios funcionais, especialmente usados para desintoxicação dietética em humanos e na ração animal (ZHAO *et al.*, 2016)

A capacidade de *S. cerevisiae* CECT 1891 e *Lactobacillus acidophilus* 24 em remover a FB₁ em meio líquido (pH 7,4) foi avaliada com o objetivo de determinar a natureza do mecanismo envolvido na interação FB₁-microrganismo. As concentrações de FB₁ testadas variaram de 3,125 a 100 µg/mL em período de incubação que variou de 1 a 270 min em temperatura de 37 °C. *S. cerevisiae* CECT 1891 e *L. acidophilus* 24 foram capazes de remover cerca de 60 e 20% de FB₁, respectivamente. O processo de remoção foi considerado rápido, observável a partir de 1 min de incubação, porém reversível. Células de *S. cerevisiae* CECT 1891 e *L. acidophilus* 24 foram tratadas termicamente para avaliar o efeito na adsorção. A viabilidade celular não foi necessária para a adsorção, células autoclavadas (20 min a 121 °C) mantiveram a capacidade de adsorção desde que fosse mantida a

integridade estrutural da parede celular dos microrganismos. Considerando que o processo de adsorção foi reversível com cinética rápida, os autores indicaram que a remoção de FB₁ por *S. cerevisiae* CECT 1891 e *L. acidophilus* 24 seja por adsorção física (fisissorção) da molécula da toxina para a célula, com ligação em componentes da parede celular dos microrganismos (PIZZOLITTO *et al.*, 2012).

A interação adsorvente-micotoxina são reversíveis sob algumas condições físico-químicas e as toxinas são propensas a ser liberadas no trato digestivo dos consumidores (FERRER *et al.*, 2017). Ainda assim, capacidade de adsorção por parede celular de *S. cerevisiae* merece destaque, pois a levedura é responsável pela fermentação do mosto nas cervejarias. No caso de instabilidade de adsorção, etapas de filtração e/ou sedimentação antes do envase podem evitar o risco de absorção no trato gastrointestinal dos consumidores de cerveja.

A parede celular de leveduras consiste em proteínas, lipídios e polissacarídeos formado principalmente por glucanas e mananas (RINGOT *et al.*, 2007). *Candida utilis* ATCC 9950 foi pesquisada como fonte de material adsorvente. A levedura foi cultivada para posterior produção de microestruturas em pó parede celular e β (1,3)/(1,6)-glucanas. Baixa eficiência de adsorção foi observada na ligação com FB₁. A característica da micotoxina determina a afinidade com o adsorvente e a eficiência de ligação. A estrutura polar complexa da toxina assim como as condições do meio e o adsorvente podem interferir na ligação das estruturas adsorventes. O ensaio foi conduzido a 37 °C com período de incubação de 1,5 h. Embora em pH 3,0 as β -glucanas tenha sido capaz de adsorver apenas 19% (19 ng) de FB, a taxa de adsorção foi de apenas 2% em pH 6,0. Por outro lado, a parede celular da levedura foi capaz de adsorver até 12% nas duas faixas de pH testado: 3,0 e 6,0 (BZDUCHA-WRÓBEL *et al.*, 2019).

O probiótico *Saccharomyces cerevisiae* RC016 foi avaliado quanto a capacidade de reduzir concentrações de FB₁ *in vitro*. As porcentagens de redução da FB₁ foram maiores com o aumento da concentração de FB₁, reduzindo 27% a 1 μ g/mL, 43% a 5 μ g/mL, 68,5% a 20 μ g/mL e 78,66% a 50 μ g/mL de FB₁. Neste ensaio, os autores testaram a adsorção com FB₁ diluídas em tampão fosfato em pH 7,3 e incubados a 37 °C por 1 h. (ARMANDO *et al.*, 2013).

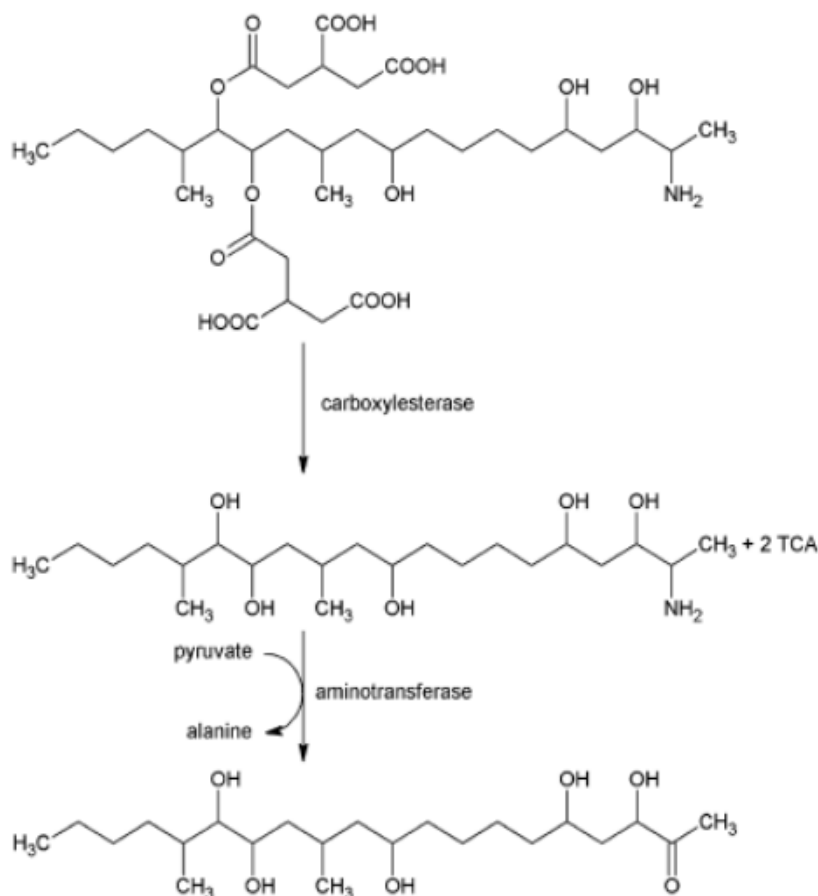
5.5 BIODEGRADAÇÃO DE FUMONISINA

As pesquisas envolvendo a degradação de FBs avançaram com a descoberta de novas cepas com aparato enzimático capazes de degradar a toxina, mas também com o avanço dos métodos de análise.

Duvick *et al.* (1998) foram os primeiros pesquisadores a relatar a existência de microrganismos capazes de metabolizar FB₁. Esses organismos foram isolados por enriquecimento em diferentes tecidos de milho e identificados como *Exophiala spinifera*, *Rhinochrysiella atrovirens* e uma bactéria, presumivelmente pertencente ao gênero *Sphingomonas* ou *Xanthomonas*. O metabolismo das FBs na levedura *E. spinifera* e na bactéria designada como isolado 2412.1 (depositado com o registro ATCC 55552 na *American Type Culture Collection*). Os resultados destes estudos revelaram que a primeira de pelo menos duas etapas de biodegradação da FB₁ é a desesterificação por uma carboxilesterase, que resulta na FB₁ hidrolisada (HFB₁), também conhecida como aminopentol 1 (AP1). A cepa bacteriana ATCC 55552 demonstrou metabolizar o ¹⁴C da FB₁ e liberar o ¹⁴CO₂, ao passo que *E. spinifera* não foi capaz de metabolizar o ácido tricarbóxico da HFB₁.

A desaminação oxidativa do produto da hidrólise HFB₁ por *E. spinifera* foi investigada por Blackwell *et al.* (1999) por cromatografia em camada delgada acoplada a espectrometria de massa. Eles mostraram que a HFB₁ é convertida em N-acetil HFB₁ e 2-oxo-12,16-dimetil-3,5,10,14,15-icosanepentol hemicetal. Sobre isto, os autores descrevem que na patente WO 00/04158 (DUVICK *et al.*, 2000), um grupo de genes da bactéria ATCC 55552, associada à degradação de FBs foi descrito (HEINL *et al.*, 2010). Dois genes promissores para a degradação de FBs foram identificados em *Sphingopyxis* sp. MTA144 (Figura 8), cepa bacteriana isolada por Täubel (2005).

Figura 8 – Via esquemática proposta de degradação de FB₁ em *Sphingopyxis* sp. MTA144



Fonte: Hein (2010)

Os genes revelaram sequências homologas com carboxilesterases, tipo B. Posteriormente, foi revelada toda a sequência do gene *fumD*, do qual foi predita uma proteína de 540 aminoácidos, e outro gene de especial interesse, o *fumI*. A sequência deduzida do *fumI* (422 aminoácidos) mostrou similaridade com aminotransferases, classe III e o polipeptídeo codificado foi assumido como uma aminotransferase, envolvida na segunda etapa da degradação da FB, a desaminação de HFB₁, na presença de piruvato e pirodoxal fosfato. As atividades enzimáticas para hidrólise da FB₁ e desaminação da HFB₁ foram confirmadas por análise de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (HEIN *et al.*, 2010).

Os efeitos tóxicos causados pelo FB₁ são atribuídos à inibição competitiva da enzima ceramida sintase. O grupo C2-amino da FB₁ e as cadeias laterais do ácido carboxílico (TCA) estão envolvidos na imitação dos substratos da enzima e, portanto, na ligação de FB₁ ao sítio ativo da enzima. A HFB₁, o produto da hidrólise do FB₁, é um inibidor dez vezes mais fraco da ceramida sintase do que o FB₁, mas

também funciona como substrato. Portanto, a eliminação das cadeias laterais de TCA não é suficiente para a desintoxicação da FB₁, e a eliminação do grupo C2-amino é essencial. Portanto, a atividade enzimática das duas enzimas é necessária para uma detoxificação completa de FB₁ (HEIN *et al.*, 2010).

Uma diferença importante entre as aminotransferases bacterianas, das aminoxidases de levedura, por exemplo de *E. spinifera* investigada por Blackwell *et al.* (1999) é que as enzimas bacterianas não requerem oxigênio molecular para sua atividade. Sendo, portanto, mais adequadas para aplicações em ambientes anaeróbicos, por exemplo, como rações ou enzimas alimentares para detoxificação diretamente no trato intestinal de animais ou humanos. Outra possível aplicação seria na fermentação com etanol do farelo de milho, onde FBs normalmente se acumulam nos grãos secos e solúveis dos destiladores, que posteriormente são usados como ração animal (HARTINGER *et al.*, 2011).

Para estudar melhor a atividade da aminotransferase FumI e o seu potencial tecnológico, pesquisadores promoveram a expressão do gene correspondente *fumI* em *Escherichia coli*, seguido da purificação da enzima. Várias estratégias foram testadas para obter a expressão da enzima solúvel em *E. coli*, incluindo a expressão em temperatura reduzida. O enovelamento correto da aminotransferase recombinante FumI em *E. coli* foi melhor expressa em temperatura reduzidas (11 °C). A aminotransferase FumI recombinante assim produzida e purificada foi suficiente para estudos sobre as características da enzima, parâmetros cinéticos e avaliação do potencial de aplicação (HARTINGER *et al.*, 2010).

A caracterização da enzima FumI purificada, marcado com His, produzido de forma recombinante em *Escherichia coli* na forma solúvel mostrou que piruvato é o co-substrato preferido e o receptor do grupo amino da FumI, mas outros α -cetoácidos também foram aceitos como co-substratos. A adição do fosfato de piridoxal da coenzima à atividade da preparação enzimática aumentou e a saturação já foi atingida na concentração mais baixa testada de 10 μ M. A enzima apresentou atividade na faixa de pH 6 a 10 com ótima atividade em pH 8,5, e na faixa de 6 a 50 °C com ótima atividade em 35 °C. A aminotransferase funcionou melhor em baixa concentração de sal. A atividade da FumI pode ser recuperada após a pré-incubação em pH 4 ou superior, mas não inferior. A aminotransferase foi desnaturada após pré-incubação a 60 °C por 1 h, e a atividade residual também foi

reduzida após pré-incubação em temperaturas mais baixas (HARTINGER *et al.*, 2011). Recentemente um aditivo alimentar à base de enzimas (FUMzyme®, Biomin, Tulln Áustria) produzido a partir de uma cepa geneticamente modificada de *Komagataella pastoris* foi avaliado quanto à sua segurança e eficiência na desintoxicação de FB₁ pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e algumas equipes de pesquisa (FEEDAP, 2020). A aplicação da enzima comercial FUMzyme®, a FB esterase FumD (EC3.1.1.87) foi avaliada em milho e na moagem seca de milho por Alberts *et al.* (2019) e Alberts *et al.* (2021). FumD foi capaz de reduzir FB₁ em mais de 80% em amostras de milho intacto (ALBERTS *et al.*, 2019).

A capacidade da FumD para degradar as FBs totais presentes no milho comercial, foi avaliada utilizando uma planta experimental de moagem a seco. A enzima comercial foi aplicada durante o estágio de condicionamento do grão. A eficácia da FumD pode estar relacionada às FBs localizadas na camada externa do pericarpo do grão. Isto tornou-se evidente uma vez que a redução mais proeminente de FBs foi observada na razão total, enquanto os produtos de farinha de milho Super e Special mostraram uma redução muito pequena (ALBERTS *et al.*, 2019).

Os autores também definem que uma maior eficácia de redução de FBs foi observada ao considerar o produto de moagem de semolina, uma vez que é conhecido por conter mais pericarpo. A diminuição da taxa de hidrólise em função do aumento da atividade da enzima FumD está relacionada ao excesso de atividades da enzima, resultando na depleção do substrato. Portanto, a seleção de uma concentração ótima da enzima é complicada não apenas pela disponibilidade de FBs na interface da superfície/aquosa, mas também em função da taxa de difusão de FBs nas camadas internas do milho. Como a enzima parece interagir principalmente na superfície do grão e tende a não entrar no grão, a taxa de difusão das camadas internas durante o período de condicionamento de 4 h 10 min foi insuficiente para afetar os níveis de FBs nos produtos de farinha de milho Super e Special (ALBERTS *et al.*, 2021).

Recentemente, pesquisadores identificaram uma nova enzima de desintoxicação de FBs FumDSB de uma bactéria *Sphingomonadales* expressa em *E. coli*. FB₁ é degradada por FumDSB para formar HFB₁ ao liberar dois grupos de ácido tricarbóxicos. Os resultados mostraram que as identidades de sequência de

carboxilesterases no banco de dados Genbank para FumD estavam todos abaixo de 46%. Entre essas sequências, FumDSB a bactéria *Sphingomonadales* (KUO56785) consistia em um polipeptídeo de 511 aminoácidos com um ponto isoelétrico teórico de 6,39. A FumDSB recombinante purificada degrada FB1 com a maior atividade em pH 6,0, e ainda reteve mais de 73,05% da atividade relativa em pH 7,0 a 9,0. Além disso, o FumDSB apresentou excelente estabilidade de pH em uma ampla faixa de pH de 4,0 a 9,0, retendo mais de 55,77% em relação a atividades a 37 °C por 1 h. FumDSB exibiu temperatura ótima de reação em 30 °C, retendo 67,33% e 34,73% da atividade relativa a 37 e 40 °C, respectivamente. Além disso, FumDSB permaneceu 76% e 58% da atividade relativa a 40 e 50 °C por 10 min, respectivamente. A termoestabilidade das enzimas é essencial para aplicações industriais por causa dos processos especiais como o processo de peletização. Neste estudo, FumDSB permaneceu 76 e 58% da atividade relativa a 40 e 50 °C por 10 min. Assim, comparada com outras três diferentes carboxilesterases já descritas, os autores concluem que a FumDSB possui condições de reação adequadas, excelente estabilidade de pH e a termoestabilidade, o que possibilita a aplicação tecnológica desta enzima como um candidato ideal nas indústrias de alimentos e rações (LI *et al.*, 2021).

A degradação de FBs também foi relatada por diferentes tipos de microrganismos, tais como fungos filamentosos, leveduras, bactérias e basidiomicetos. A hidrólise de FB1 foi detectada em cultivo aerado de *Fusarium proliferatum* (M5991) em biorreator, contendo 500 ppm de FB1. A hidrólise por uma esterase apresentou como produto o aminopentol (AP1) da FB₁. Especificamente, a FB1 foi hidrolisada no C₂₂ do AP1. Após cultivo extensivo, o AP1 também deixou de ser detectada e seus produtos de degradação não foram identificados (KELLER *et al.*, 1998).

A cepa NCB 1492 (*Delftia/Comamonas*) demonstrou ter a capacidade de degradar a FB₁ (0,5 mg/mL) quando foi fornecida como a única fonte de carbono após 24 h de experimento (HEINL *et al.*, 2011). A detecção de produtos de degradação no sobrenadante do cultivo celular indicou que a ação enzimática seja extracelular na fase inicial, nas primeiras 2 horas de incubação. Entre os produtos finais, quatro foram identificados: heptadecanona, isononadeceno, octadecenal e eicosano, todos atóxicos. Com base nos resultados, os autores indicam que a cepa

NCB 1492 possui atividades de desaminação rápida (sendo possivelmente uma esterase); por outro lado, a degradação da cadeia alifática (remanescente após a liberação de ácidos tricarbóxicos) em tampão de fosfato parece ser lenta, requer co-substratos ou a contribuição metabólica de outros organismos para a sua finalização (BENEDETTI *et al.*, 2006).

Também testando FB₁ como única fonte de C e N, um total de 98 isolados de bactérias e leveduras foram avaliadas. Entre os isolados *Lactobacillus brevis* N195 foi capaz de degradar aproximadamente 33% da toxina. Por outro lado, mais de 90% da degradação de FB₁ foi observada em amostra de silagens. Considerando a origem dos isolados, os autores sugerem que a matriz do grão milho é mais propícia à expressão de atividades enzimáticas envolvidas na degradação de FB₁, em comparação com o meio de cultura que os pesquisadores usaram para o teste *in vitro*. A associação com a matriz pode envolver tantas interações covalentes e não covalentes entre as frações tricarbóxicos de FB₁ e grupos hidroxila de carboidratos ou aminoácidos de milho, esterificação com ácidos graxos ou aprisionamento físico de FB₁ em macromoléculas de milho, como amido e proteínas. Os autores salientam ainda que a degradação significativa de FB₁ em silagens é também resultante de interações microbianas que levam a um mecanismo de cooperação, ou seja, as enzimas envolvidas na degradação de micotoxinas são induzidas por metabólitos produzidos por outro microrganismo. Neste estudo, dois isolados *Lactobacillus brevis* N195 (NC-008497) e *Lactobacillus brevis* N197 (KP773479.1) como culturas relevantes pela sua capacidade de degradar FB₁. No entanto, as percentagens aparentes de conversão de FB₁ em HFB₁ foram baixas (até 17%). Os autores explicam que existem três razões principais que podem explicar essas baixas porcentagens. Em primeiro lugar, eles descrevem que não se pode excluir que os mecanismos de adsorção e degradação ocorreram concomitantemente no meio líquido e que, conseqüentemente, a diminuição observada em FB₁ só pode ser parcialmente atribuída a uma atividade de degradação. Em segundo lugar, a via de degradação FB₁ pode ter parado antes da síntese de HFB₁ (MARTINEZ-TUPPIA, 2017).

De fato, Fodor *et al.* (2007) relataram uma cultura microbiana mista composta por *Escherichia coli* e bacteroides spp. foi capaz de transformar *in vitro* 49% de FB₁ e também foi caracterizada por uma baixa porcentagem de conversão

de FB₁ em HFB₁ (menos de 1%). A baixa porcentagem pode ser atribuída ao acúmulo de um metabólito parcialmente hidrolisado chamado pHFB₁ que corresponde a FB₁ menos uma porção de ácido tricarbóxico. Degradação pouco expressiva também foi observada com *Bacillus megaterium* BM344-1 capaz de degradar FB₁ e FB₂ em 14 e 12%, respectivamente (HASSAN *et al*, 2021).

Destaca-se ainda o basidiomiceto, *Pleurotus eryngii* que foi capaz de reduzir o teor de FB₁ após 12 e 20 dias de incubação em até 40 e 61%, em milho contaminado com 65,9 ug/g e 41,4 ug/g, respectivamente. A degradação não determinou a produção de formas hidrolisadas de FB₁, o estudo indica possível envolvimento de complexos enzimáticos da catalase e peroxidase no processo de remoção, mas mais estudos serão necessários (HAIDUKOWSKI *et al.*, 2017).

Muitos estudos relatam a aplicação de microrganismos isolados para degradar FB₁. Uma outra abordagem é o uso de consórcio microbiano. Um consórcio bacteriano SAAS79 apresentou atividade altamente degradante de FB₁, sendo capaz de degradar 90% de 10 µg/mL de FB₁ após incubação por 24 h em pH de 5 a 7 e temperatura de 28 a 35 °C. o consórcio inicial SAAS79 consistia principalmente em *Pseudomonas* (86,4%), *Comamonas* (5,6%), *Delftia* (2,6%), *Sphingobacterium* (1,8%), *Achromobacter* (1,8%) e outras espécies (3,6%). O principal membro degradador de FB₁ foi o gênero *Pseudomonas*. As enzimas do espaço intracelular mostraram-se responsáveis pela degradação de FB₁. Dois produtos de degradação de FB₁ foram avaliados quanto a toxicidade sendo significativamente menor em comparação com FB₁ original. Embora nenhuma cepa ativa tenha sido isolada do consórcio após a triagem de centenas de colônias, os autores relatam que a contribuição do consórcio bacteriano pode ser no fornecimento de uma nova fonte de genes para o desenvolvimento de agentes de desintoxicação enzimática (ZHAO *et al*, 2019).

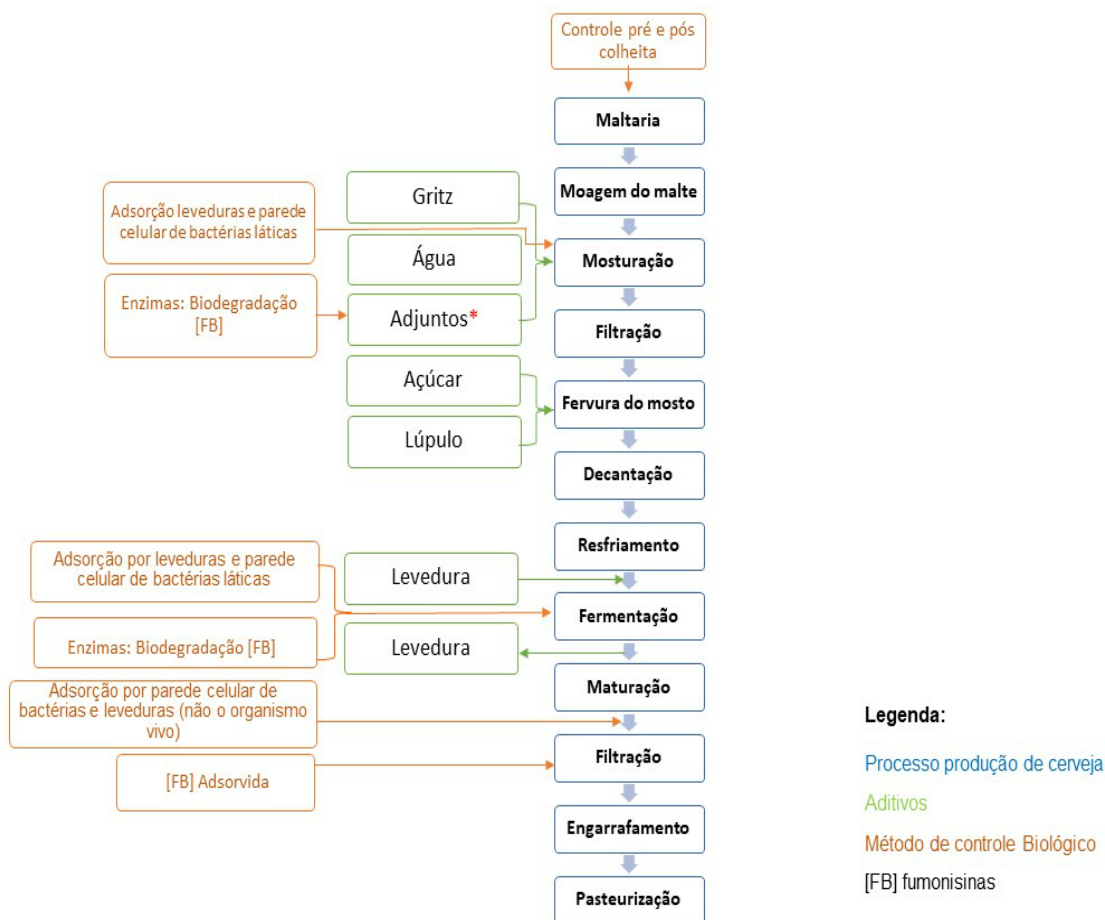
Vários métodos para a descontaminação de FBs foram explorados por meio do processamento de alimentos, as FBs só podem ser reduzidas em concentrações detectáveis, mas não completamente eliminadas. Além disso, a natureza, biodisponibilidade e toxicidade de algumas das reações dos produtos ainda é desconhecida. Por essas razões, a transformação enzimática das FBs pode ser uma contribuição favorável para a saúde animal e a segurança do consumidor (HARTINGER & MOLL, 2011).

As características específicas das enzimas, como requisito de cofator, pH e temperatura ótima, devem ser consideradas. A toxicidade dos produtos de reação precisa ser sempre avaliada, bem como as interações com a matriz alimentar. Apesar do grande potencial das enzimas específicas para biotransformação de FBs o controle deve ser ao longo de toda a produção incluindo melhoramento de plantas e agricultura, processamento de rações e alimentos, nutrição, estudos toxicológicos e biotecnologia, que ainda serão necessários (HARTINGER & MOLL, 2011).

A Figura 9 descreve as principais fases no processamento da cerveja (destacadas na parte direita, em caixas azuis), matérias-primas acrescentadas ao processo (destacadas na parte central, com caixas verdes) e os possíveis métodos de controle biológicos das FBs durante o processamento da cerveja (destacados na parte esquerda, em caixas laranjas).

Destaca-se a importância dos métodos de controle na pré e na pós-colheita da cevada e dos adjuntos como prevenção, pois é nessas fases que se podem criar estratégias para impedir a contaminação dos grãos por fungos e/ou eliminar os grãos e cereais contaminados (PIACENTINI *et al.*, 2019). Mas no caso, de contaminação residual de FBs pós-colheita, intervenções no processo faz-se necessário, a Figura 9 aponta as principais medidas aplicáveis em cada etapa.

Figura 9 – Métodos de controle biológico nas etapas do processamento da cerveja



Fonte: Autoria própria (2021)

Os resultados desta revisão permitiram reconhecer que entre as principais estratégias de controle biológico para a redução de FBs no processamento da cerveja estão os métodos de adsorção por leveduras e bactérias ácido lácticas (que agem nas fases de mosturação, fermentação e maturação-filtração) e os métodos enzimáticos de biodegradação (que agem nos adjuntos e na fase de fermentação) (Tabela 7).

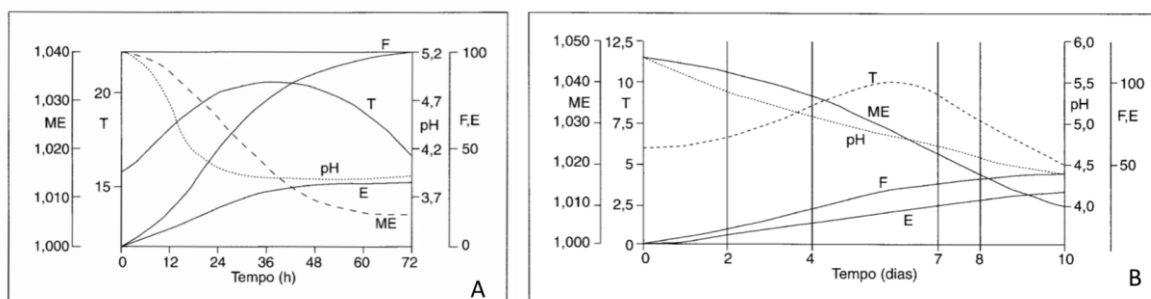
De todo o conjunto de dados, destacam-se a ação das bactérias ácido lácticas (MOKOEMA; CHELULE; GQALENI, 2005; NIDERKORN *et al.*, 2009), das bactérias *Sphingopyxis* sp. MTA144 (HARTINGER *et al.* 2009; 2010, 2011; HEINL *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2021) e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (ARMANDO *et al.*, 2013; PIZZOLITTO; SALVANO; DALCERO, 2012).

A adsorção tem sua relevância caso haja uma etapa posterior de filtração, capaz de eliminar a toxina com o material biológico adsorvente. A interação adsorvente-micotoxina são reversíveis sob algumas condições físico-químicas e as

toxinas são propensas a ser liberadas. Caso a toxina adsorvida não seja eliminada faz-se necessário estudos sobre a estabilidade da ligação adsorvente e a toxina no trato gastro-intestinal para que não haja liberação de FBs do material adsorvente a absorção da toxina pelo organismo. De acordo com o relato de Niderkorn et al, 2007 e Zhao *et al.*, 2016, a ligação das FBs com material adsorvente de bactéria lácticas é estável em condições ácidas às condições de pH e temperatura da produção de cerveja o pH é levemente ácido a (AQUARONE 2001)

Destaca-se ainda a possibilidade de aplicar enzimas de biodegradação que clivam a molécula de FBs em produtos de biodegradação com menor toxicidade ou atóxicos. Estas enzimas poderiam ser aplicadas antes da adição da matéria-prima no processo cervejeiro, ou seja, um pré-tratamento dos adjuntos. Considerando que a etapa de fervura do mosto poderia desnaturar a enzima, uma outra etapa em que as enzimas de biodegradação poderiam ser adicionadas seria durante a fermentação. Para tal, as condições de pH e temperatura da fermentação da cerveja devem ser adequadas também para a ação das enzimas de biodegradação. A faixa de pH que compreende o processo fermentativo da cerveja tanto para do tipo Ale como Lager, varia de 5,5 a 4,0 ao longo do processo fermentativo. Em relação a temperatura estas variam de 10 a 15 °C e 20 a 25 °C, para cervejas do tipo Lager e Ale, respectivamente (Figura 10, AQUARONE *et al.*, 2001).

Figura 10 – Fermentação com levedura Ale (A) e Lager (B). ME: massa específica do mosto (g/cm³); T: temperatura (°C); E éster (ppm).



Fonte: Adaptado de Hough (1985) apud Aquirone (2001)

A enzima aminotransferase *FumI* apresentou atividade na faixa de pH 6 a 10 com ótima atividade em pH 8,5, e na faixa de 6 a 50 °C com ótima atividade em 35 °C (HARTINGER *et al.*, 2011). Em relação ao pH *FumDSB* apresenta pH ótimo de 6,0 mas apresenta excelente estabilidade de pH em uma ampla faixa de pH de 4,0 a 9,0 e a temperatura ótima foi descrita como 30 °C (LI *et al.*, 2021). Nesse

sentido, em relação ao pH as enzimas relatadas apresentam ótima estabilidade nos valores de pH da fermentação da cerveja, embora a faixa de temperatura ótima (30-35 °C), seja um pouco mais elevada do que no processo fermentativo (10-25 °C) é possível que estas enzimas possam manter sua estabilidade nessas condições. Destaca-se ainda que a esterase FumD (FUMzyme®) (ALBERTS *et al.*, 2019; (ALBERTS *et al.*, 2021), foi aprovada como aditivo alimentar para ração animal. Considerando as questões de segurança do produto, essa aprovação abre perspectivas promissoras para sua aplicação no processamento da cerveja.

6 CONCLUSÃO

A ocorrência de FBs (FBs) em cerveja decorre do uso de matéria prima contaminada, principalmente de adjunto a base de milho, mas também por cevada contaminada. Durante o processamento da cerveja os níveis de FBs tendem a diminuir devido aos tratamentos térmicos e a água de drenagem devido a hidrossubibilidade da toxina. A presença de FBs não afeta o processo fermentativo das leveduras na cerveja e a produção de álcoois e compostos de aroma só são afetados em altas concentração da toxina. No entanto, o maior problema é o risco da exposição às FBs com o consumo de cerveja contaminada, pois alguns estudos demonstraram que a contaminação pelas FBs pode persistir ao longo do processo de produção, especificamente quando a concentração inicial é elevada. Portanto, são necessárias além de uma boa seleção da matéria prima, medidas de controle que sejam capazes de reduzir os níveis de FBs no produto final. Entre os métodos de controle biológico aplicáveis ao processamento destacam-se a adsorção por leveduras e bactérias lácticas, cuja aplicação requer uma etapa posterior de filtração para remoção das FBs adsorvidas. Como método de detoxicação a aplicação de enzimas capazes de degradar FBs gerando produtos com menor toxicidade ou atóxicos depende ainda de adaptações no processamento, principalmente na adequação do pH e temperatura ótima das enzimas e do processo fermentativo.

REFERÊNCIAS

ABIA, W. A. *et al.* Determination of multi-mycotoxin occurrence in cereals, nuts and their products in Cameroon by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 438-453, 2013.

ADEKOYA, I. *et al.* Mycobiota and co-occurrence of mycotoxins in South African maize-based opaque beer. **International Journal of Food Microbiology**, v. 270, p. 22-30, 2018.

ALBERTS, J. *et al.* Detoxification of the fumonisin mycotoxins in maize: An enzymatic approach. **Toxins**, v. 11, n. 9, p. 523, 2019.

ALBERTS, J. F. *et al.* Enzymatic detoxification of the fumonisin mycotoxins during dry milling of maize. **Food Control**, v. 123, p. 107726, 2021.

ALEXANDRINO, N. **Melhoramento de leveduras para fermentação com alto teor alcoólico mediante hidratação e evolução adaptativa**. 2012. 102 f. Dissertação. (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2012.

AGÊNCIA ESTADUAL DE NOTÍCIAS. **Puxado pela região de Guarapuava, Paraná lidera produção nacional de cevada**. 2021. Disponível em: <<https://www.aen.pr.gov.br/Noticia/Puxado-pela-regiao-de-Guarapuava-Parana-lidera-producao-nacional-de-cevada>>. Acesso em: 03 jan. 2022.

AOYAMA, K. *et al.* Four-year surveillance for ochratoxin A and fumonisins in retail foods in Japan. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 2, p. 344-352, 2010.

APA. **Manual de publicação da APA**. American Psychological Association. 6.ed. Porto Alegre: Penso, 2012.

APS MEMBERSHIP. **Micotoxinas nas lavouras (culturas, pt): Um perigo à saúde humana e de animais domésticos**. 2021. Disponível em: <<https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Micotoxinas/Pages/FumonisinsPort.aspx>>. Acesso em 8 de set. 2021.

AQUARONE, E. **Biotechnology Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher. v. 4, cap. 4, p. 91-144, 2001.

ARMANDO, M. R. *et al.* Statistical optimization of culture conditions for biomass production of probiotic gut-borne *Saccharomyces cerevisiae* strain able to reduce fumonisin B1. **Journal of applied microbiology**, v. 114, n. 5, p. 1338-1346, 2013.

BAMFORTH, C. W.; BARCLAY, A. H. P. Malting technology and the uses of malt. In: MACGREGOR, A. W.; BHATTY, R. S. B.: **Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists**, p. 297-332, 1993.

- BARBOSA, F. T. *et al.* Tutorial para execução de revisões sistemáticas e metanálises com estudo de intervenção em anestesia, **Brasilian Journal of Anesthesiology**, v. 69, n. 3, p. 299-306, 2019.
- BATISTA, E. L. de A. **Cerveja artesanal: uma revisão sobre o seu processo de produção e seu potencial antioxidante**. 2021. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.
- BENEDETTI, R. *et al.* Degradation of fumonisin B1 by a bacterial strain isolated from soil. **Biodegradation**, v. 17, n. 1, p. 31-38, 2006.
- BERTUZZI, T. *et al.* Known and emerging mycotoxins in small-and large-scale brewed beer. **Beverages**, v. 4, n. 2, p. 46, 2018.
- BERTUZZI, T. *et al.* Mycotoxin occurrence in beer produced in several European countries. **Food Control**, v. 22, n. 12, p. 2059–2064, 2011.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. In: BERGAMIN, A. F *et al.* **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.717-728, 1995.
- BEZUIDENHOUT, S. C. *et al.* Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. **Journal of the Chemical Society**, n. 11, p. 743-745, 1988.
- BOEIRA, L. S. *et al.* The effect of combinations of *Fusarium mycotoxins* (deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B1) on growth of brewing yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 3, p. 388-403, 2000.
- BOLECHOVA, M. *et al.* Determination of seventeen mycotoxins in barley and malt in the Czech Republic. **Food Control**, v. 47, p. 108-113, 2015.
- BOTELHO, L. L. R. *et al.* O método da revisão integrativa nos estudos organizacionais. **Gestão e Sociedade**, v. 5, n. 11, p. 121-136, 2011
- BOWERS, E. L.; MUNKVOLD, G. P. Fumonisins in conventional and transgenic, insect-resistant maize intended for fuel ethanol production: implications for fermentation efficiency and DDGS co-product quality. **Toxins**, v. 6, n. 9, p. 2804-2825, 2014.
- BRASIL. **Decreto nº 9.902 de 8 de julho de 2019**. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2019. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2019/decreto/D9902.htm#:~:text=DECRETO%20N%C2%BA%209.902%2C%20DE%208,e%20a%20fiscaliza%C3%A7%C3%A3o%20de%20bebidas.>>. Acesso em 28 jun. 2021.
- BRASIL. **Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e**

metanálise de ensaios clínicos randomizados. Ministério da Saúde. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. **Resolução RDC nº 487 de 26 de março de 2021**. 2021. Diário Oficial da União. 2021. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-487-de-26-de-marco-de-2021-311593455>>. Acesso em 28 jun. 2021.

BRESSAN, P. **Qualidade das sementes de cevada em função da maturidade fisiológica: parâmetro fisiológico e expressão gênica diferencial de enzimas associadas à germinação**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018).

BULLERMAN, L. B. *et al.* Stability of fumonisins in food processing. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 195-204, 2002.

BULLERMAN, L. B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 140-146, 2007.

BZDUCHA-WRÓBEL, A. *et al.* Candida utilis ATCC 9950 cell walls and β (1, 3)/(1, 6)-glucan preparations produced using agro-waste as a mycotoxins trap. **Toxins**, v. 11, n. 4, p. 192, 2019.

CALADO, T *et al.* Irradiation for mold and mycotoxin control: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 5, p. 1049-1061, 2014.

CALDAS, E.; SILVA, A.C. S. Mycotoxins in corn-based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7974-7980, 2007.

CALORI-DOMINGUES, M. A. *et al.* Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 27, p. 181-185, 2007.

CAMPONE, L. *et al.* Determination of mycotoxins in beer by multi heart-cutting two-dimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry method. **Food Chemistry**, v. 318, p. 126496, 2020.

CANO-SANCHO, G. *et al.* Occurrence of fumonisins in Catalonia (Spain) and an exposure assessment of specific population groups. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 29, n. 5, p. 799-808, 2012.

CANO-SANCHO, G. *et al.* Sphinganine and sphingosine levels and ratio in urine and blood samples from a Catalonian population, Spain. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 28, n. 8, p. 1055-1065, 2011.

CAO, X. *et al.* A high-throughput method for the simultaneous determination of multiple mycotoxins in human and laboratory animal biological fluids and tissues by

PLE and HPLC–MS/MS. **Journal of Chromatography**, v. 942, p. 113-125, 2013.

CARVALHO, G. *et al.* Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: As leveduras. **Revista Analítica.**, v. 1 n. 25 p.3 6-42, 2006.

CASP. **Critical appraisal skills programme. CASP Systematic Review Checklist.** 2018. Disponível em: <<https://casp-uk.net/casp-tools-checklists/>>. Acesso em: 28 jun. 2021.

CENDOYA, E. *et al.* Fumonisin occurrence in naturally contaminated wheat grain harvested in Argentina. **Food Control**, v. 37, p. 56-61, 2014.

CERVIERI, O. J. *et al.* **O setor de bebidas no Brasil.** BNDES Setorial, n. 40, p. 93-129, 2014. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3462>>. Acesso em: 28 jun. 2021.

CHANDLER, J. *et al.* **The cochrane collaboration methodological expectations of cochrane intervention reviews (MECIR).** Methodological Expectations of Cochrane Intervention Reviews, 2017. Disponível em: <<http://methods.cochrane.org/mecir>>. Acesso em: 07 jan. 2021.

CHIATTONE, P. V. *et al.* Aplicação de ozônio na indústria de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-349, 2008.

CHILAKA, C. A. *et al.* Quantification of *Fusarium* mycotoxins in Nigerian traditional beers and spices using a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. **Food Control**, v. 87, p. 203–210, 2018A.

CHILAKA, C. A. *et al.* Stability of fumonisin B 1, deoxynivalenol, zearalenone, and T-2 toxin during processing of traditional Nigerian beer and spices. **Mycotoxin Research**, v. 34, n. 4, p. 229-239, 2018B.

CORDEIRO, A. M. *et al.* Revisão sistemática: Uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, n. 6, p. 428-431, 2007.

COSTA, P. S. P. da. **Estudo da fermentação de cervejas Ale e Lager.** 2019. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

CROWE, M.; SHEPPARD, L. A review of critical appraisal tools show they lack rigor: Alternative tool structure is proposed. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 64, n. 1, p. 79-89, 2011.

D'AVILA, R. F. *et al.* Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60-68, 2012.

DABIJA, A. *et al.* Maize and Sorghum as Raw Materials for Brewing, a Review. **Applied Sciences**, v. 11, n. 7, p. 3139, 2021.

DALIE, D. K. D *et al.* Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. **Food Control**, v. 21, n. 4, p. 370-380, 2010.

DIEKS, D.; CHANG, H. Differences in impact of scientific publications: Some indices derived from a citation analysis. **Social Studies of Science**, v. 6, n. 2, p. 247-267, 1976.

EC. **Commission regulation n° 1126/2007**. 2007. Official Journal of the European Union. Disponível em: < <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:255:0014:0017:EN:PDF>>. Acesso em 28 jun. 2021.

EIZENDEHER, L. B. *et al.* Incidência de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em doces de amendoim e amendoim *in natura* comercializados no Estado do Paraná. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 101-104, 2005.

EMBRAPA. **Cenário favorável para a cevada**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/62654017/cenario-favoravel-para-a-cevada>. Acesso em: 6 de fev. 2022.

ERCOLE, F. F. *et al.* Revisão integrativa *versus* revisão sistemática. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 18, n. 1, p. 9-12, 2014.

ERZETTI, M. *et al.* HACCP in the malting and brewing production chain: mycotoxin, nitrosamine and biogenic amine risks. **Italian Journal of Food Science**, v. 21, n. 2, 2009.

FANGEL, J. *et al.* Tracking polysaccharides through the brewing process. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 465–473, 2018

FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 4, p. 148-152, 2006.

FREITAS, C. Brasil bate recorde de produção de cevada com safra de 2021. **Revista Catalisi**. 2022. Disponível em: <<https://catalisi.com.br/brasil-bate-recorde-de-producao-de-cevada-com-safra-de-2021/>>. Acesso em 6 de fev. 2022.

JORNAL PONTA GROSSA. **Estado entrega licença de instalação para primeira fase de construção da Maltaria Campos Gerais**. 2022. Disponível em: <<https://www.jornalpontagrossa.com.br/noticia/31411/estado-entrega-licenca-de-instalacao-para-primeira-fase-de-construcao-da-maltaria-campos-gerais>>. Acesso em 6 de fev. 2022.

GALVÃO, C. M. *et al.* Revisão sistemática: Recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da enfermagem. **Revista Latino-americana Enfermagem**, v. 12, n. 3, p. 549-556, 2004.

GARCIA, C. C. Retórica e cenário microcervejeiro nas regiões sul e sudeste. **Faculdade de Tecnologia de Araçatuba**, 2012.

GIBSON, B. R. *et al.* Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 5, p. 535-569, 2007.

GIBSON, G. Malting plant technology. In: PALMER, G. H. **Cereal Science and Malting Technology – the future**. American Society of Brewing Chemists, 1989.

GIL-SERNA, J. *et al.* Contamination of barley seeds with *Fusarium* species and their toxins in Spain: an integrated approach. **Food Additives and Contaminants**, v. 30, n. 2, p. 372-380, 2013.

GONÇALVES, S. S. *et al.* *Aspergillus novoparasiticus*: a new clinical species of the section flavi. **Medical Mycology**, v. 50, n. 2, p. 152-160, 2012.

GOURAMA, H; BULLERMAN, L. B. Antimycotic and antiaflatoxigenic effect of lactic acid bacteria: A review. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 11, p. 1275-1280, 1995.

GRENIER, B. *et al.* Dose-dependent effects on sphingoid bases and cytokines in chickens fed diets prepared with *Fusarium verticillioides* culture material containing fumonisins. **Toxins**, v. 7, n. 4, p. 1253-1272, 2015.

GUTLEB, A. C. *et al.* Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by *Fusarium* strains: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, n. 3-4, p. 309-320, 2002.

HAIKOWSKI, M. *et al.* Decontamination of Fumonisin B₁ in maize grain by *Pleurotus eryngii* and antioxidant enzymes. **Phytopathologia Mediterranea**, p. 134-145, 2017.

HARRISON, M. A.; ALBANESE, J. B. Beer/Brewing. **Reference Module in Life Sciences**, p. 1-2, 2017.

HARTINGER, D. *et al.* Enhancement of solubility in *Escherichia coli* and purification of an aminotransferase from *Sphingopyxis* sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin B 1. **Microbial cell factories**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2010.

HARTINGER, D. *et al.* Enzyme characteristics of aminotransferase FumI of *Sphingopyxis* sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin B 1. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 757-768, 2011.

HARTINGER, D. *et al.* Fumonisin elimination and prospects for detoxification by enzymatic transformation. **World mycotoxin journal**, v. 4, n. 3, p. 271-283, 2011.

HATOUM, R. *et al.* Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: From fundamental to novel applications. **Frontiers in Microbiology**. v. 3, a.421, p. 1-12. 2012.

HEINL, S. *et al.* An aminotransferase from bacterium ATCC 55552 deaminates hydrolyzed fumonisin B 1. **Biodegradation**, v. 22, n. 1, p. 25-30, 2011.

HEINL, S. *et al.* Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes. *Journal of biotechnology*, v. 145, n. 2, p. 120-129, 2010.

HEINL, S. *et al.* Identification of a fumonisin B1 degrading gene cluster in *Sphingomonas* spp. MTA144. **New Biotechnology**, n. 25, p. S61-S62, 2009.

HENRY, M. H.; WYATT, R. D. A review of fumonisin production by *Fusarium moniliforme* and fumonisin toxicosis in animals. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 2, n. 2, p. 188-192, 1993.

HIGGINS, J.; SALLY, G. **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <www.handbook.cochrane.org>. Acesso em: 07 jan. 2021.

HONG, Q. N. *et al.* Tradução e adaptação transcultural do instrumento *mixed methods appraisal tool* ao contexto brasileiro. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental**, v. 12, p. 510-516, 2020.

HOOG, G. S. **Atlas of clinical fungi**, 2 ed. Amer Society for Microbiology, 2000.

IBGE. Indicadores IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Estatística da Produção Agrícola**. Online. 2020a. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2020_out.pdf>. Acesso em 6 de fev. 2022.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. Online. 2020b. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2020_v47_br_informativo.pdf>. Acesso em 6 de fev. 2022.

INOUE, T. *et al.* Fate of mycotoxins during beer brewing and fermentation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 77, n. 7, p. 1410-1415, 2013.

IVIC, D. *et al.* Occurrence of potentially toxigenic *Fusarium verticillioides* and low fumonisin B1 content on barley grain in Bosnia and Herzegovina. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 84, n. 2, p. 121-124, 2011.

JUAN, C. *et al.* Multi-mycotoxin determination in barley and derived products from Tunisia and estimation of their dietary intake. **Food and Chemical Toxicology**, v. 103, p. 148-156, 2017.

KANHED, P. *et al.* *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. **Materials Letters**, v. 115, p. 13-17, 2014.

KARLOVSKY, P. *et al.* Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. **Mycotoxin Res.**, v. 32, p. 179-205, 2018.

KAWASHIMA, L. M. *et al.* Fumonisin B1 and ochratoxin A in beers made in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, p. 317-323, 2007.

- KELLER, S. E.; SULLIVAN, T. M. Identification of a variant of *Fusarium proliferatum* that hydrolyzes fumonisin B1. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2823-2826, 1998.
- KHADRE, M. A. *et al.* Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.
- KLOSOWSKI, G. *et al.* The influence of raw material contamination with mycotoxins on alcoholic fermentation indicators. **Bioresource technology**, v. 101, n. 9, p. 3147-3152, 2010A.
- KLOSOWSKI, G.; MIKULSKI, D. The effect of raw material contamination with mycotoxins on the composition of alcoholic fermentation volatile by-products in raw spirits. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 24, p. 9723-9727, 2010B.
- KOSTELANSKA, M. *et al.* Effects of milling and baking technologies on levels of deoxynivalenol and its masked form deoxynivalenol-3-glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 9303–9312, 2011.
- KRSKA, R. *et al.* Safe food and feed through an integrated toolbox for mycotoxin management: the MyToolBox approach. **World Mycotoxin Journal**, v. 9, n. 4, p. 487-495, 2016.
- KUHNEM JÚNIOR, P. R. *et al.* Características patogênicas de isolados do complexo *Fusarium graminearum* e de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho. **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 583-588, 2013.
- KUNZE, W. *Technology Brewing and Malting*. 3. ed. Berlim: VLB, 2004.
- KUNZE, W. **Tecnología para cerveceros y malteros**. VLB Berlin, 2006.
- LAMARDO, L. C. A *et al.* *Desoxinivalenol* (DON) em trigo e farinha de trigo comercializados na cidade de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 32-35, 2006.
- LEI, H. *et al.* Fermentation performance of lager yeast in high gravity beer fermentations with different sugar supplementations. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 122, n. 5, p. 583-588, 2016.
- LEMIRE, J. A. *et al.* Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 6, p. 371-384, 2013.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. *Fusarium* laboratory workshops: a recent history. **Mycotoxin Research**, v. 22, n. 2, p. 73-74, 2006.
- LEVY, Y.; ELLIS, T. J. A systems approach to conduct an effective literature review in support of information systems research. **Informing Science: International Journal of Emerging Transdiscipline**, v. 9, n. 1, p. 181-212, 2006.

LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. London: Chapman & Hall, 1995.

LI, X. *et al.* Detoxification of mycotoxin patulin by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. **Food Control**, v. 96, p. 47-52, 2019.

LI, Z. *et al.* Biological detoxification of fumonisin by a novel carboxylesterase from Sphingomonadales bacterium and its biochemical characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 18-27, 2021.

LIBERATI, A. *et al.* The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: Explanation and elaboration. **Plos Medicine**, v. 6, n. 7, 2009.

LIVENS, S. Beer: Fermentation. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 339-344. 2016.

LOPES, P.; MORALES, E.; MONTAGNOLLI, R. Cerveja brasileira: do campo ao copo. **Contexto**, v. 31, n. 10, p. 1-4, 2017.

MAENETJE, P. W.; DUTTON, M. F. The incidence of fungi and mycotoxins in South African barley and barley products. **Journal of Environmental Science and Health: Part B**, v. 42, n. 2, p. 229-236, 2007.

MAGAN, N.; OLSEN, M. **Micotoxins in Food: Detection and control**. Cambridge: CRC Press, 2004.

MARTNEZ TUPPIA, C. *et al.* Yeast and bacteria from ensiled high moisture maize grains as potential mitigation agents of fumonisin B1. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2443-2452, 2017.

MATUMBA, L. *et al.* A limited survey of mycotoxins in traditional maize based opaque beers in Malawi. **Food Control**, v. 36, n. 1, p. 253–256, 2014.

MEDEIROS, C. D. de. **Efeito de variáveis de processo no tempo de fermentação e na concentração das dicetonas vicinais totais**. 2010. 62 f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2010.

MILLER, J. D. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. **Journal Stored Products Research**, Missouri, v. 31, n. 1, p. 1-16, 1995.

MINAMI, L. *et al.* FBs: Efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. **Ciência Agrária**, v. 25, p. 207-24, 2004.

MOKOENA, M. P. *et al.* Reduction of fumonisin B1 and zearalenone by lactic acid bacteria in fermented maize meal. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 10, p. 2095-2099, 2005.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. 1 ed. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009.

MORENO, E. C. *et al.* Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 220-226, 2009.

MULLER, C. V. **O controle oficial de fraudes em cerveja no Brasil: estudo de caso**. 2018. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) – Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

NIDERKORN, V. *et al.* Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B1 and B2 by lactic acid bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 977-985, 2009.

NIDERKORN, V. *et al.* Screening of fermentative bacteria for their ability to bind and biotransform deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins in an in vitro simulated corn silage model. **Food additives and contaminants**, v. 24, n. 4, p. 406-415, 2007.

NKWE, D. O. *et al.* Fungi, aflatoxins, fumonisin B I and zearalenone contaminating sorghum-based traditional malt, wort and beer in Botswana. **Mycopathologia**, v. 160, n. 2, p. 177-186, 2005.

NORONHA, D. P.; FERREIRA, S. M. S. P. Revisões de literatura. In: CAMPELLO, B. S. *et al.* **Fontes de informação para pesquisadores e profissionais**, p. 191; 2000.

NTAINJUA, E. N. *et al.* Direct synthesis of hydrogen peroxide using ceria-supported gold and palladium catalysts. **Catalysis today**, v. 178, n. 1, p. 47-50, 2011.

NUNES, I. L. *et al.* **Arroz comercializado na região sul do Brasil: Aspectos micotoxicológicos e microscópicos**. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, v.23, n.2, p.190-164, 2013.

O'DONNELL, K. *et al.* A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. **Mycoscience**, v. 41, n. 1, p. 61-78, 2000.

OLIVEIRA, N. de. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais. 45 f. 2011.

OLIVEIRA, K. *et al.* Export of N, P and K in barley subjected to fertilizer doses formulated with and without humic substance at sowing. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 4, 2019.

OLIVO, S. A. *et al.* Scales to assess the quality of randomized controlled trials: A systematic review. **Physical Therapy**, v. 88, n. 2, p. 156-175, 2008. (OLIVO *et al.*,

2008).

ONO, E. Y. S. *et al.* Mycotoxicological quality evaluation of corn samples used by processing industries in the Northern region of Parana State, Brazil. **Food additives and contaminants: Part A**, v. 25, n. 11, p. 1392-1399, 2008.

PAGANI, R. *et al.* Avanços na composição da *Methodi Ordinatio* para revisão sistemática de literatura. **Ciência da Informação**, v. 46, n. 2, p. 161-187, 2017.

PAGANI, R. *et al.* *Methodi Ordinatio*: a proposed methodology to select and rank relevant scientific papers encompassing the impact factor, number of citation, and year of publication. **Scientometrics**, p. 1–27, 2015.

PAGKALI, V. *et al.* Simultaneous determination of aflatoxin B1, fumonisin B1 and deoxynivalenol in beer samples with a label-free monolithically integrated optoelectronic biosensor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 359, p. 445-453, 2018.

PALAZZINI, J. M. *et al.* Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. **Crop Protection**, v. 26, n. 11, p. 1702-1710, 2007.

PASCARI, X. *et al.* Mycotoxins and beer: Impact of beer production process on mycotoxin contamination – a review. **Food Research International**, v. 103, p. 121-129, 2018.

PASCARI, X. *et al.* Transfer of *Fusarium* mycotoxins from malt to boiled wort. **Food Chemistry**, v. 278, p. 700-710, 2019.

PEREYRA, M. L. G. *et al.* Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 649-655, 2011.

PFLIEGLER, W. P. *et al.* Mycotoxins—prevention and decontamination by yeasts. **Journal of basic microbiology**, v. 55, n. 7, p. 805-818, 2015.

PIACENTINI, K. C. *et al.* Fungi and the natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). **Food Chemistry**, v. 187, p. 204-209, 2015A.

PIACENTINI, K. C. *et al.* Mycotoxin analysis of industrial beers from Brazil: The influence of fumonisin B1 and deoxynivalenol in beer quality. **Food Chemistry**, v. 218, p. 64-69, 2017.

PIACENTINI, K. C. *et al.* Quality and occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in craft beer. **Food Control**, v. 50, p. 925-929, 2015B.

PIACENTINI, K. C. *et al.* Beer industry in Brazil: Economic aspects, characteristics of the raw material and concerns. **Kvasny Prumysl**, v. 64, n. 6, p. 284-286. 2018.

- PIETRI, Amedeo *et al.* Transfer of aflatoxin B1 and fumonisin B1 from naturally contaminated raw materials to beer during an industrial brewing process. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 10, p. 1431-1439, 2010.
- PINHEIRO, R. E. E *et al.* Avaliação in vitro da adsorção de aflatoxina B1 por produtos comerciais utilizados na alimentação animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, 2017.
- PITT, J.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3 ed. Springer; 2009.
- PIZZOLITTO, R. P. *et al.* Analysis of fumonisin B1 removal by microorganisms in co-occurrence with aflatoxin B1 and the nature of the binding process. **International journal of food microbiology**, v. 156, n. 3, p. 214-221, 2012.
- PLUYE, P.; HONG, Q. N. Combining the power of stories and the power of numbers: mixed methods research and mixed studies reviews. **Annual review of public health**, v. 35, p. 29-45, 2014.
- PORTO, P. de D. **Tecnologia de fabricação de malte: uma revisão**. 2011. 58 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.
- PUANGKHAM, S. *et al.* Monitoring and health risk of mycotoxins in imported wines and beers consumed in Thailand. **World Mycotoxin Journal**, v. 10, n. 4, p. 401-409, 2017.
- PUTMAN, R. What goes around comes around – The rise and fall and rise gain of continuous brewery operations. *Brewer and Distiller International*, 2018.
- RAMOS, G. C. B.; PANDOLFI, M. A. C. A evolução do mercado de cervejas artesanais no Brasil. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 1, p. 480-488, 2019.
- REED, C.; ARTHUR, F. H. Aeration. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. **Alternative to pesticides in stored-product IPM**. Norwell: Kluwer Academic Publishers, p.51-72, 2000.
- RODRIGUES, A. A. F. M. *et al.* **Optimização do processo de fabrico da cerveja**. 2003.
- ROGER, D. D. Deoxynivalenol (DON) and fumonisins B1 (FB1) in artisanal Sorghum opaque beer brewed in north Cameroon. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 12, p. 1565-1567, 2011.
- RUBERT, J. *et al.* Application of hybrid linear ion trap-high resolution mass spectrometry to the analysis of mycotoxins in beer. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 28, n. 10, p. 1438-1446, 2011.

RUBERT, J. *et al.* Mass spectrometry strategies for mycotoxins analysis in European beers. **Food Control**, v. 30, n. 1, p. 122–128, 2013.

SADIQ, F. A. *et al.* Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 5, p. 1403-1436, 2019.

SANDERSON, K. *et al.* **Controle estatístico da etapa fermentativa no processo de produção da cerveja**. v.3, n.3, p.73-84, 2010.

SAPERS, G. M. *et al.* Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 4, p. 734-737, 1999.

SCAFF, R. M. C.; SCUSSEL, V. M. Fumonisin B1 and B2 in corn-based products commercialized in the state of Santa Catarina-southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 911-919, 2004.

SCOTT, P. M. *et al.* Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisins B1 and B2. **Food Additives and Contaminants**, v. 12, n. 1, p. 31-40, 1995.

SCOTT, P. M. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. **Journal of AOAC International**, v. 79, n. 4, p. 875-882, 1996.

SEKHON, B. S. Nanotechnology in agri-food production: an overview. **Nanotechnology, Science and Applications**, v. 7, p. 31, 2014.

SEO, E. *et al.* Fumonisin B1 and B2 in agricultural products consumed in South Korea: An exposure assessment. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 436-440, 2009.

SHEPHARD, G. S. *et al.* Fumonisin mycotoxins in traditional Xhosa maize beer in South Africa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 9634-9637, 2005.

SHETTY, P. H.; JESPERSEN, L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 48-55, 2006.

SILVA, J. B. A. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. cap. 15, p. 347-382. São Paulo: Edgard Blücher, 2005.

SILVA, M. **A bebida de Ninkasi em terras tupiniquins: uma abordagem teórica da química de diferentes cervejas**. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Bacharelado em Química Industrial). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2020.

SINGH, M. *et al.* Metallic silver nanoparticle: A therapeutic agent in combination with antifungal drug against human fungal pathogen. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 36, n. 4, p. 407-415, 2013.

SINHA, K. K. Detoxification of mycotoxins and food safety. **Mycotoxins in Agriculture and Food Safety**, v. 1, p. 381-406, 1998.

SINHA, K. K.; SINHA, A. K. Effect of *Sitophilus oryzae* infestation on *A. flavus* infection and aflatoxin contamination in stored wheat. **Journal Stored Products Research**, v. 27, n. 1, p. 65-68, 1991.

SLEIMAN, M. *et al.* Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 163-172, 2010.

SOUSA, L. M. M. *et al.* Revisões da literatura científica: Tipos, métodos e aplicações em enfermagem. **Revista Portuguesa de Enfermagem de Reabilitação**, n. 1, v. 1, p. 45-54, 2018.

SOUZA, M. T. D *et al.* Integrative review: What is it? How to do it?; Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein**, v. 8, n. 1, 2010.

TADEI, N. S. *et al.* *Fusarium* mycotoxins in beer production: characteristics, toxicity, incidence, legislation, and control strategies. **Scientia Agropecuaria**, v. 11, n. 2, p. 247-256, 2020.

TAMURA, M. *et al.* Development of a multi-mycotoxin analysis in beer-based drinks by a modified QuEChERS method and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 27, n. 6, p. 629-629, 2011.

TAYLOR, D.; PROCTER, M. **The literature review**: A few tips on conducting it. 2001. Disponível em: <<http://www.utoronto.ca/writing/litrev.html>>. Acesso em: 07 jan. 2021.

VALENTA, H. *et al.* Mycotoxins in soybean feedstuffs used in Germany. **Mycotoxin Research**, v. 18, n. 2, p. 208-211, 2002.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas**. Ciência e Tecnologia. v. 1, cap. 3. São Paulo: Blücher, 2010.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja**. Jaboticabal: Funep, 2000.

VILA-DONAT, P. *et al.* A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination. **Food and chemical toxicology**, v. 114, p. 246-259, 2018.

VOLOSHIN, Y. *et al.* Kinetics of hydrogen peroxide synthesis by direct combination of H₂ and O₂ in a microreactor. **Catalysis Today**, v. 125, n. 1-2, p. 40-47, 2007.

WALKER, G. M.; WALKER, R. S. K. Enhancing yeast alcoholic fermentations. **Advances in Applied Microbiology**, v. 105, p. 87-129, 2018.

WESTHUIZEN, L.V. D. *et al.* Fumonisin contamination and *Fusarium* incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5574-5578, 2003.

WHITTEMORE, R; KNAFL, K. The integrative review: Updated methodology. **Journal Advanced Nursing**, v. 52, n. 5, p. 546-553, 2005.

WILLAERT, R. Sugar consumption kinetics by brewer's yeast during the primary beer fermentation. **Cerevisia**, v. 26, n. 1, p. 43-49, 2001.

WOLF-HALL, C. E. Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 89-94, 2007.

HASSAN, Z. U. *et al.* Selection of *Bacillus* spp. with decontamination potential on multiple *Fusarium mycotoxins*. **Food Control**, v. 127, p. 108119, set. 2021.

ZHAO, H. *et al.* The mechanism of Lactobacillus strains for their ability to remove fumonisins B1 and B2. **Food and Chemical Toxicology**, v. 97, p. 40-46, 2016.

ZHAO, Z. *et al.* Biodegradation of mycotoxin fumonisin B1 by a novel bacterial consortium SAAS79. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 17, p. 7129-7140, 2019.

ZSCHOERPER, O. P. **Apostila curso cervejeiro e malteador**. AMBEV. 71 f. 2009.