



REVIEW

Micotoxinas de *Fusarium* na produção de cerveja: Características, toxicidade, incidência, legislação e estratégias de controle

Fusarium mycotoxins in beer production: Characteristics, toxicity, incidence, legislation, and control strategies

Nicole S. Tadei^{ID}; Nathália C.C. Silva^{ID}; Caio H.T. Iwase^{ID}; Liliana O. Rocha^{ID}

Department of Food Science, Faculty of Food Engineering (FEA), University of Campinas (UNICAMP), 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.

Received February 8, 2020. Accepted May 14, 2020.

Resumo

A cerveja é uma bebida alcoólica conhecida mundialmente devido a diversas razões sociais e econômicas e, portanto, o mercado cervejeiro está se expandindo cada vez mais. Com isso, aumentou-se a variedade de cervejas com características organolépticas variadas e diferentes composições através da utilização de adjuntos como trigo, arroz e milho, dentre outros. Entretanto, esses adjuntos são alvos de inúmeras micotoxinas. Dentre as micotoxinas produzidas pelo gênero *Fusarium*, destacam-se o desoxinivalenol, zearalenona e as fumonisinas, que proporcionam efeitos tóxicos para animais e humanos. Podem também ocasionar impacto significativo para a economia, uma vez que legislações são aplicadas para controle destas micotoxinas no produto final. Apesar dos limites para diversas micotoxinas serem estabelecidos para as matérias-primas envolvidas na produção de cerveja, até o momento, não existe legislação específica para os limites de micotoxinas em cerveja, sendo essencial a aplicação de medidas de controle para a presença das micotoxinas de *Fusarium* durante o processamento de cerveja.

Palabras clave: cerveja; micotoxinas; Desoxinivalenol; Fumonisinas; Zearalenona.

Abstract

Beer is a worldwide known alcoholic beverage due to many social and economic reasons and therefore the brewing market is expanding. Because of this, the variety of beers with varied organoleptic characteristics and different compositions was increased using different adjuncts like wheat, rice, corn, among others. However, these adjuncts are targets for numerous *Fusarium* mycotoxins - mainly deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins, these may cause toxic effects to animals and humans. These toxins are also implicated in economic losses, due to worldwide regulations applied for unprocessed and processed food products. Currently, the limits for several mycotoxins have been established for the raw materials involved in brewing, however, there is no specific regulation for mycotoxin contamination in beer; therefore it is essential to apply control measures for the presence of *Fusarium* mycotoxins during the beer processing.

Keywords: beer; mycotoxins; Deoxynivalenol; Fumonisins; Zearalenone.

1. Introdução

A cerveja é a bebida alcoólica mais conhecida e consumida mundialmente devido a diversas razões econômicas e sociais. A junção de uma grande quantidade de empresas transnacionais faz com que o mercado cervejeiro se expanda cada vez mais e, com isso, algumas marcas acabam dominando o mercado em detrimento de outras.

A descoberta e o desenvolvimento de diferentes técnicas de fabricação de cerveja representam um dos maiores efeitos tecnológicos da humanidade. Antigamente, as matérias-primas e os processos utilizados na fabricação dessa bebida variavam significativamente. Há evidências que as primeiras produções de cerveja aconteceram na China e na Mesopotâmia, porém, devido a

Cite this article:

Tadei, N.S.; Silva, N.C.C.; Iwase, C.H.T.; Rocha, L.O. 2020. Micotoxinas de *Fusarium* na produção de cerveja: características, toxicidade, incidência, legislação e estratégias de controle. *Scientia Agropecuaria* 11(2): 247-256.

* Corresponding author
E-mail: caioiwase@yahoo.com.br (C.H.T. Iwase).

uma mudança drástica nas condições climáticas desta região, a produção foi desfavorecida. Além disso, a produção inicial atingiu outras regiões, como o Antigo Egito que, devido à alta contaminação da água, houve um aumento no consumo de cerveja, sendo esta parte da dieta básica dos egípcios, juntamente com o pão (Cabras e Higgins, 2016).

A água é responsável por 90% da composição da cerveja, além de alguns carboidratos não fermentados pela levedura, etanol, dióxido de carbono, glicerol e compostos orgânicos. Estes são muitas vezes encontrados em concentrações muito baixas, assim, apenas os que apresentam sabor significativo são perceptíveis ao paladar e ao olfato. Grande parte do aroma presente na cerveja é proveniente da matéria-prima (malte e lúpulo) ou é derivado do metabolismo das leveduras durante a fermentação (Buiatti, 2009).

O uso de diferentes adjuntos na produção de cerveja como cevada, trigo, arroz e milho têm diversas razões como, por exemplo, a modificação sensorial da cerveja e maior disponibilidade de carboidratos fermentescíveis. Assim, o uso de determinado adjunto varia conforme a disponibilidade e preços mais baixos no mercado local (Piacentini et al., 2017). Esses cereais pertencem à família Poaceae, sendo que nesta família incluem as plantas utilizadas na alimentação humana e animal (Sarwar et al., 2013).

Os cereais podem ser acometidos por uma série de fungos no campo, podendo ocasionar doenças na etapa da pré-colheita, ou ainda, colonizar estas plantas de forma endofítica. Dentre os gêneros mais comumente encontrados em cereais, destacam-

se: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, que são capazes de produzir micotoxinas, produtos do metabolismo secundário fúngico, que quando ingeridos proporcionam efeitos tóxicos em animais vertebrados (CAST, 2003). De acordo com a Food Agriculture Organization (FAO), os prejuízos econômicos gerados por alimentos contaminados por micotoxinas estão em torno de 100 milhões de toneladas por ano (CAST, 2003).

O gênero *Fusarium* é bastante recorrente em grãos do mundo todo. De acordo com Nijs et al. (1996), diferentes espécies de *Fusarium* são detectadas em alimentos crus como cereais, legumes e frutas. A espécie *F. graminearum* é comumente encontrada em cereais utilizados para produção de cerveja e é capaz de produzir tricotecenos, como desoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) e diacetoxiscirpenol (DAS), além de zearalenona. Outra espécie comumente isolada de grãos de milho é *F. verticillioides*, capaz de produzir elevados níveis de fumonisinas (Leslie e Summerell, 2006). Vale ressaltar que as micotoxinas presentes nesses cereais podem permanecer na cerveja, devido à estabilidade de alguns destes compostos frente às operações unitárias (Bullerman e Bianchini, 2007).

Fusarium graminearum também pode causar uma doença conhecida como giberela ou *Fusarium Head Blight*, que tem aumentado nos últimos anos; sua ocorrência se dá, principalmente, devido às condições climáticas favoráveis, tais como elevada precipitação pluvial e temperaturas que variam de 20 a 25°C, provocando diversos prejuízos econômicos (Embrapa, 2006).

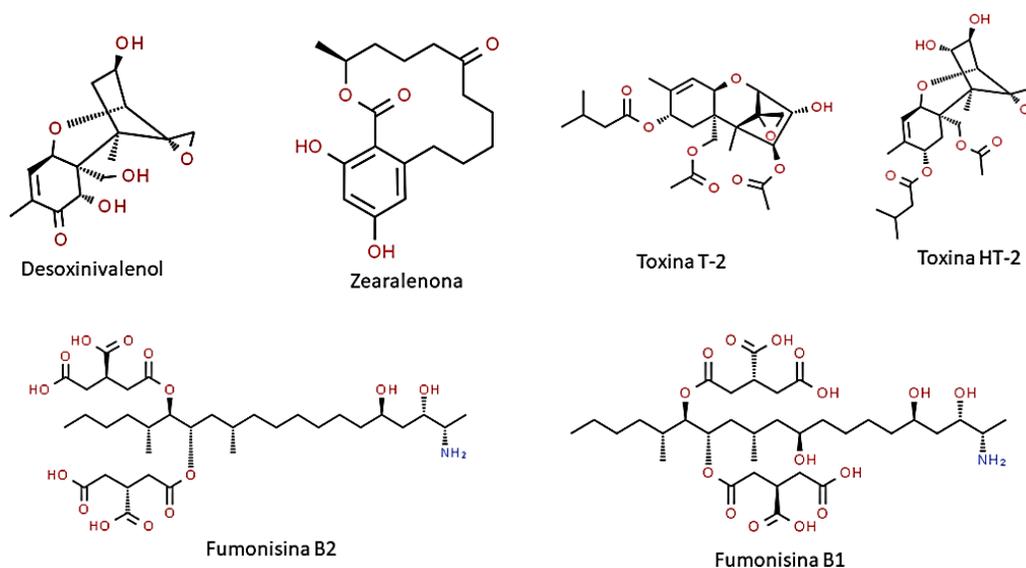


Figura 1. Principais micotoxinas produzidas por *Fusarium* (Adaptado de Desjardins, 2006).

O trabalho em questão tem como objetivo abordar a contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e suas principais micotoxinas de ocorrência na cevada, além de avaliar o efeito do processamento de cervejas industriais nos tricotecenos, zearalenona e fumonisinas e explorar as principais formas de controle dessas micotoxinas em cervejas.

2. Micotoxinas de *Fusarium* presentes em cervejas: características e toxicidade

Os fungos filamentosos que contaminam alimentos, quando expostos às condições ambientais favoráveis, tais como umidade e temperatura, podem crescer e, como consequência, produtos do metabolismo são liberados no substrato utilizado pelo microorganismo (Pascari et al., 2018a).

Grãos de cereais constituem importantes fontes de energia e proteína e, quando estes são colonizados por fungos há a possibilidade da contaminação por seus metabolitos secundários tóxicos, conhecidos como micotoxinas, que são capazes de causar intoxicações em humanos e outros animais (Placinta et al., 1999).

As micotoxinas são compostos de baixo peso molecular que podem provocar efeitos tóxicos no organismo mesmo quando consumidos em baixa concentração. Portanto, qualquer contato com fungos toxigênicos pode ser consideravelmente perigoso. Além disso, as micotoxinas são encontradas em todos os níveis da cadeia alimentar, desde o período pré-colheita, pós-colheita até o armazenamento ou ainda pós-processamento do alimento e, dentre os efeitos mais graves encontrados estão a neurotoxicidade e hepatotoxicidade, além da carcinogenicidade, imunotoxicidade e mutagenicidade, por isso devem ser drasticamente controladas desde a produção agrícola até o processamento final (Beneiová et al., 2012).

Os fungos do gênero *Fusarium* são produtores das principais micotoxinas presentes em cereais utilizados para a produção de cerveja. Espécies pertencentes ao gênero têm sido associadas aos diversos climas, de temperado ao tropical, requerendo elevada atividade de água para seu crescimento e produção de micotoxinas (Antonissen et al., 2014).

Os tricotecenos são micotoxinas provenientes do metabolismo do sesquiterpenos e são produzidas por algumas espécies de *Fusarium* e, também, outros fungos da ordem Hypocreales (Piacentini et al., 2017). Esses tricotecenos são capazes de interromper a função celular através da inibição da síntese de proteínas. Em relação à toxicidade, há uma grande diferença em relação a diferentes espécies, sendo o porco a espécie mais sensível ao DON, seguido por roedores, cães, gatos e ruminantes (Pestka e Smolinski, 2005).

A zearalenona, também bastante encontrada em grãos para produção de cervejas industriais, é produzida por *Fusarium* e é rapidamente absorvida após administração oral, embora o grau de absorção seja difícil de dimensionar devido à extensa excreção biliar (Zinedine et al., 2007).

As fumonisinas são micotoxinas produzidas principalmente por fungos do complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (CEFF), sendo *Fusarium verticilloides* a principal espécie produtora desta micotoxina, capaz de produzir níveis acima de 5000 µg/kg (Piacentini et al., 2017).

De acordo com Piacentini et al. (2017), há diversos efeitos toxicológicos provocados pela fumonisina tipo B1, como por exemplo edema pulmonar em suínos, leucoencefalomalácia (LEME) equina e câncer de esôfago em humanos, podendo levar à óbito. Ao ingerirem alimentos contaminados com essas micotoxinas, há também diversos efeitos adversos em gestantes, como por exemplo, a má formação do tubo neural (Benedict, 2018).

Tabela 1

Principais substratos, micotoxinas, espécies de *Fusarium* toxigênicas e efeitos toxicológicos

Principais substratos	Principais fungos produtores	Principal micotoxina	Efeitos toxicológicos
Milho	<i>Fusarium verticilloides</i>	Fumonisinias	Edema pulmonar em suínos; LEME equina; Câncer de esôfago em humanos.
Cevada, aveia, trigo e centeio	<i>Fusarium graminearum</i>	Desoxivalenol (DON), Nivalenol (NIV) e Zearalenona (ZEA)	DON e NIV: Hemorragias, vômitos. ZEA: Baixa toxicidade; síndrome da feminização em suínos; desenvolvimento sexual precoce em humanos.
Arroz	<i>Fusarium graminearum</i>	Desoxivalenol (DON), Nivalenol (NIV) e Zearalenona (ZEA)	DON e NIV: Hemorragias, vômitos. ZEA: Baixa toxicidade; síndrome da feminização em suínos; desenvolvimento sexual precoce em humanos.

Fonte: adaptado de Leslie e Summerell (2006).

Ainda em relação aos efeitos toxicológicos produzidos por essa fumonisina encontra-se uma diminuição na produção de leite e mudanças nos órgãos de reprodução (Vitorino, 2011). A Tabela 1 contém as principais espécies de *Fusarium* produtoras de micotoxinas associadas aos cereais utilizados para a produção de cerveja.

3. Incidência de micotoxinas de *Fusarium* em cereais utilizados na produção de cerveja

A cevada é o cereal mais comumente utilizado na produção de cerveja e é bastante afetada pela doença conhecida como *Fusarium Head Blight* (FHB) ou giberela (Wolf-Hall, 2007), que causa um impacto negativo nas taxas de germinação, resultando em uma pior qualidade de maltagem e redução da produtividade (Pascari et al., 2018a). O principal fungo responsável pela doença é a espécie *F. graminearum*, capaz de produzir elevados níveis de tricotecenos do tipo B, como o DON e a micotoxina estrogênica zearalenona (Wolf-Hall, 2007).

Estudos realizados no Brasil demonstraram que 94% das amostras brasileiras de cevada colhidas em 2015 estavam contaminadas por DON, com níveis médios entre 1.700 e 7.500 µg/kg. Enquanto 73,6% apresentaram contaminação por zearalenona, com níveis médios entre 350 e 630 µg/kg. Vale ressaltar que em safras anteriores, os níveis de DON foram inferiores ao referido (Piacentini et al., 2015; Piacentini et al., 2018). De fato, condições climatológicas tais como aumento da temperatura e precipitação, podem influenciar nos resultados, destacando a importância do monitoramento dessas condições durante o desenvolvimento da planta (Piacentini et al., 2018).

Na Europa a contaminação da cevada por DON possui ocorrência entre 15 e 55%, conforme relatos nos últimos anos (EFSA, 2013). As concentrações médias foram de 484 µg/kg em cevada não processada, 152 µg/kg em cevada destinada para consumo humano e 187 µg/kg em grãos destinados para a alimentação animal (EFSA, 2013; Varga et al., 2013). Comparando estes dados com os obtidos no Brasil, observa-se maior contaminação nos grãos brasileiros, fato que pode ser explicado pelo menor controle dos grãos do plantio à colheita, ou condições climatológicas que favorecem o crescimento do fungo e a produção de DON. Em razão da necessidade de grandes quantidades de cevada para produção de cerveja, as empresas buscam, constantemente, novas estratégias de reduzir os custos e adotaram a utilização de outros cereais, como arroz, milho e trigo, para substi-

tuição parcial do malte e complementar as fontes de carboidratos fermentescíveis (Zhang et al., 2017; Mastanjević et al., 2018; Humia et al., 2019; Mathias et al., 2019).

O arroz também é um cereal que pode ser afetado pela doença FHB, assim como a cevada (Kim et al., 2018). Outros fungos pertencentes ao gênero *Fusarium* também podem ser encontrados neste substrato, destacando o complexo de espécies *Fusarium fujikuroi*, que contém representantes capazes de infectar a planta e causar a doença *bakanae* no arroz, além disso, diversas espécies são capazes de produzir micotoxinas como ácido fusárico, beauvericina, fumonisinas e moniliformina (Desjardins, 2000; Munkvold, 2017).

Algumas espécies de *Fusarium* podem ser associadas ao milho, dentre estas, destaca-se *F. verticillioides*, fungo capaz de ocasionar a podridão do colmo e produzir elevados níveis de fumonisinas nos grãos (Leslie e Summerell, 2006; Rocha et al., 2009). O milho, por sua vez, pode ser utilizado como adjunto na produção de cerveja, podendo contribuir na contaminação por fumonisinas. De fato, Piacentini et al. (2017), demonstraram que cervejas comercializadas no Brasil, apresentaram elevados níveis de FB1, ressaltando a importância do controle e monitoramento desta micotoxina na referida bebida.

O trigo, utilizado como adjunto ou ainda na produção integral de cerveja (Faltermaier et al., 2014), também pode contribuir para o acúmulo de micotoxinas na bebida. A planta pode ser acometida por FHB sendo que, *F. graminearum*, é capaz de produzir DON e ZEA nos grãos (Tralamazza et al., 2016; Dweba et al., 2017). No estudo realizado por Tralamazza et al. (2016), elevada frequência e concentrações de DON foram obtidas em amostras de trigo do Brasil, com níveis entre 183 a 2150 µg/kg.

4. Incidência de micotoxinas de *Fusarium* em cerveja

Como o milho é um dos principais adjuntos utilizados na produção de cerveja no Brasil, é esperada a ocorrência de fumonisinas B1 e B2 (FB1 e FB2), já que estas são as micotoxinas que mais prevalecem nesse cereal e em seus subprodutos, sendo que FB1 é a mais tóxica e a que ocorre em maior frequência e concentração. *Fusarium verticillioides*, a principal espécie produtora de fumonisinas, sendo capaz de produzir níveis acima de 5000 µg/kg (Leslie e Summerell, 2006).

A zearalenona e os tricotecenos do tipo B, principalmente DON, são encontrados em cervejas do mundo todo, uma vez que *F. gra-*

minearum é um fungo com distribuição mundial e isolada com frequência de grãos de cevada (Leslie e Summerell, 2006).

Na África, em estudo realizado com cerveja artesanal à base de milho, altos níveis de fumonisinas foram recuperados (média: 1898 µg/kg). Esse resultado se mostrou preocupante, mediante o elevado consumo da bebida pela população na região de Malawi, sendo este, aproximadamente 5-6 L/dia (Matumba et al., 2014).

Na Polônia, Kuzdraliński et al. (2013) demonstraram que 100% das amostras de cerveja apresentaram contaminação por DON com níveis entre 7,5 µg/L e 70,2 µg/L, enquanto ZEA foi detectada em apenas 14,3% das amostras e, em níveis inferiores. Diferentemente de estudo realizado na Alemanha, em que 100% das amostras de cerveja apresentaram contaminação por ZEA, com níveis entre 0,35 e 2,0 µg/L. Cerca de 75% das amostras apresentaram contaminação por DON, com níveis entre 2,2–20 µg/L (Bauer et al., 2016). Piacentini et al. (2017), ao analisar 114 amostras de cerveja do Brasil, observou que nenhuma continha níveis detectáveis de DON, já os níveis de FB1 foram relevantes, sendo encontradas em aproximadamente 50% das amostras, com níveis variando de 201,70 µg/L a 1568,62 µg/L (média: 367,47 µg/L). Estudos mais recentes na Espanha (Pascari et al., 2018b) e no México (Wall-Martínez et al., 2019) foram detectados a presença de DON, ZEA, toxina HT-2 e FB1 em amostras de cerveja, entretanto a sua frequência foi baixa (menos de 30% de amostras positivas).

Estudos realizados anteriormente também mostraram que a contaminação de micotoxinas para a cerveja final está relacionada à

infecção da safra, às práticas agrícolas e às condições tecnológicas aplicadas durante o processo de fermentação. Além disso, durante o processo de fermentação, a quantidade de DON pode ser eliminada ou reduzida, e por essas razões pode-se explicar a ausência dessa micotoxina nas amostras analisadas de cerveja industrial (Campagnollo et al., 2015).

5. Legislação mundial para as toxinas de *Fusarium*

Ao longo dos anos, foi-se adquirindo um maior conhecimento a respeito das micotoxinas e seus efeitos toxicológicos, e com isso criaram-se legislações para estabelecer um limite máximo para ingestão dessas substâncias, com o propósito de proteger a saúde do consumidor (Varga et al., 2013). Para criar essas legislações e estabelecer esses limites máximos, diversos fatores devem ser levados em consideração, como por exemplo, fatores de risco, consumo dos alimentos e disponibilidade de dados toxicológicos (CAST, 2003).

Com isso, os níveis de toxinas presentes em grãos de cevada, assim como em outros adjuvantes utilizados para a produção de cerveja são bastante importantes já que estes influenciam diretamente na qualidade do produto.

No ano de 2017 foi aprovada a Resolução (nº 138), alterando a Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, com relação aos limites máximos tolerados de micotoxinas para algumas categorias de alimentos, focando nas categorias em que a matéria prima utilizada na produção de cerveja se enquadra. E, juntamente, foi proposto novos limites a serem vigorados a partir do ano de 2019 (BRASIL, 2017).

Tabela 2
Limites máximos tolerados para micotoxinas no Brasil

Micotoxinas	Alimentos	Tolerância (µg/kg)
DON	Arroz beneficiado e derivados	750
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil	200
	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000
	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
Fumonisinas (B1 + B2)	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
Zearalenona	Milho em grão e trigo para posterior processamento	40
	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	100
	Arroz beneficiado e derivados	100
	Arroz integral	400
	Farelo de arroz	600
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil	20
	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos à base de milho	150
Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	200	

Fonte: adaptado de BRASIL (2017).

Abaixo, se encontra a **Tabela 2**, com as principais micotoxinas de *Fusarium* e seus limites tolerados em cada alimento, de acordo com a atual legislação do Brasil.

Tabela 3

Limites máximos recomendáveis para micotoxinas de *Fusarium* nos Estados Unidos

Micotoxina	Alimentos	Tolerância (µg/kg)
Fumonisinias B1+B2+B3	Subprodutos de milho seco e moído	2000
	Milho destinado à produção de massa	4000
	Milho de pipoca	3000
DON	Produtos derivados do trigo para consumo humano	1000

Fonte: Adaptado de FDA (2001, 2010).

Devido ao fato de que a maioria da produção do Brasil, tanto agrícola quanto pecuária, é destinada à exportação, legislações de outros países devem ser consideradas também. Portanto, abaixo se encontram as **Tabelas 3 e 4** com os limites máximos permitidos para as principais micotoxinas de *Fusarium* nos Estados Unidos e da União Européia para alimentação humana.

Muitos países utilizam as legislações dos EUA e da União Européia como referência para os limites de micotoxinas em alimentos, entretanto na Ásia, em alguns países

como China, Japão, Coréia do Sul e Indonésia, possuem legislação própria que regulamentam o limite máximo de desoxinivalenol, zearalenona e fumonisina, como observa-se na **Tabela 5**.

É importante considerar que não foram implementadas regulamentações para micotoxinas em cerveja, uma vez que diversos países aplicam limites estritos para as matérias-primas utilizadas na produção da bebida. Desta forma, espera-se que os níveis de micotoxinas encontrados na cerveja sejam abaixo dos estabelecidos para a matéria-prima (Bertuzzi et al., 2018).

6. Estratégias de controle das toxinas de *Fusarium* na cerveja

O processamento de cerveja consiste em três reações químicas fundamentais: i) ativação enzimática em grãos de cevada durante o processo de germinação, ii) a degradação do amido em açúcares fermentescíveis, iii) fermentação alcoólica realizada por leveduras do gênero *Saccharomyces* com formação de etanol e gás carbônico. Além disso, a qualidade das matérias-primas na produção de cerveja (cevada, lúpulo, água e leveduras) está diretamente relacionada com as características organolépticas do produto (Pascari et al., 2018a).

Tabela 4

Limites máximos recomendáveis para micotoxinas de *Fusarium* na União Européia

Micotoxina	Alimentos	Tolerância (µg/kg)
Fumonisinias B1+B2	Milho não processado	4000
	Milho e produtos de milho para consumo humano direto	1000
	Cereais matinais à base de milho e snacks à base de milho	800
	Alimentos processados à base de milho e alimentos infantis	200
DON	Cereais não processados (excluindo trigo, aveia e milho)	1250
	Trigo e aveia não processados	1750
	Milho não processado	1750
	Farinha de cereais, farinha de milho, milho, grãos	750
	Pão, biscoitos, massas, snacks de cereais e cereais matinais	500
	Massas secas	750
	Alimentos infantis à base de cereais	200
ZEA	Cereais não processados que não sejam milho	100
	Milho não processado	350
	Cereais para consumo humano direto, farinha de cereais	75
	Milho para consumo humano direto, snacks à base de cereais e cereais matinais à base de milho	100
	Óleo de milho refinado	400
	Pão, massas, biscoitos, snacks de cereais e cereais matinais	50
T-2 e HT-2	Alimentos infantis à base de milho e cereais	20
	Cereais não processados:	
	- Cevada (incluindo cevada maltada)	200
	- Aveia (com casca)	1000
	- Trigo, centeio e outros cereais	100
	Cereais para consumo humano direto:	
	- Aveia	200
	- Milho	100
	- Outros cereais	50
	Produtos à base de cereais para consumo humano:	
	- Farelo de aveia e aveia em flocos	200
	- Farelo de cereais exceto aveia e milho	100
	- Outros produtos de cereais moídos	50
	- Cereais matinais	75
- Pão, sobremesas, biscoitos, snacks e massas	25	
- Alimentos infantis à base de cereais	15	

Fonte: Adaptado de EC N°1881 e 165 (2006, 2013).

Tabela 5Limites máximos recomendáveis para micotoxinas de *Fusarium* na Ásia

Pais	Micotoxina	Alimentos	Tolerância (µg/kg)	Referência
China	DON	Milho e produtos derivados de milho	1000	NHFP/CFDA, 2017
		Cevada, trigo, farinha de trigo e outros cereais	1000	
	ZEA	Trigo e farinha de trigo	60	
Japão	DON	Milho e produtos derivados de milho	60	MHLW, 2002
Coréia do Sul	DON	Trigo	1100	MFDS, 2019
		Grãos e derivados processados	1000	
		Milho e produtos derivados de milho	2000	
		Cereais matinais	500	
		Alimentos infantis	200	
	Massas	750		
	ZEA	Grãos e derivados processados	200	
		Produtos de confeitaria	50	
		Alimentos infantis	20	
	Fumonisinias B1+B2	Cereais matinais	50	
Milho		4000		
Indonésia	DON	Produtos derivados de milho e milho de pipoca	1000	BPOM, 2018
		Trigo e milho	1750	
		Produtos derivados de milho e trigo	1000	
		Produtos de trigo pronto para consumo	500	
	Fumonisinias B1+B2	Massas	750	
		Milho	2000	
		Produtos derivados de milho	1000	

O malte é produzido pela germinação da semente de cevada sob condições favoráveis de temperatura e umidade. Além disso, é fonte de enzimas do tipo amilase, que irão atuar sobre o amido resultando em açúcares mais simples para serem metabolizados pelas leveduras durante a fermentação (Wolf-Hall, 2007).

A maioria dos processamentos de alimentos possuem diversos efeitos sobre as micotoxinas, sendo os maiores efeitos aqueles que utilizam temperaturas mais altas. Em geral, os processos diminuem significativamente as concentrações de micotoxinas, porém, sem eliminá-las completamente (Bullerman e Bianchini, 2007).

De acordo com Wolf-Hall (2007), uma das etapas da maltagem é a maceração, que consiste em ciclos de pulverização de água ou imersão no líquido até que os grãos atinjam um teor de umidade de aproximadamente 45%, sendo que essa umidade está relacionada ao tipo de malte que se pretende obter. O objetivo dessa etapa é criar condições favoráveis dentro do grão e ativar as enzimas responsáveis pela germinação. Como o processo de maceração implica em um tratamento do grão com uma grande quantidade de água, este processo pode ter um impacto no nível de micotoxinas solúveis em água, como por exemplo, o DON. Porém, embora o desoxinivalenol possa ser reduzido durante esse processo, o fungo *Fusarium* ainda é capaz de crescer, se desenvolver e produzir micotoxinas na fase de maceração e germinação. O uso da técnica de irradiação como forma de prevenir o crescimento do fungo durante a etapa de maltagem é promissor, além de trata-

mentos químicos como a ozonização, desde que não deixem resíduos químicos no produto, porém ainda são necessários estudos mais concretos a respeito desse assunto (Wolf-Hall, 2007; Mastanjević et al., 2018).

Depois da maltagem ocorre a moagem, que tem como objetivo aumentar a superfície de contato entre o líquido de infusão e o malte. Normalmente, para esse processo são utilizados rolos ou moinhos de martelo para a obtenção de melhores resultados, já que desta forma as cascas se mantêm intactas, evitando a liberação de taninos e outros compostos que podem causar características indesejáveis ao produto final. Quanto menor for o tamanho das partículas, melhor será a quebra do malte em açúcares mais simples, porém, se a partícula for muito pequena pode ter um impacto negativo, resultando em um mosto mais turvo. Nessa etapa não há um impacto direto sobre os níveis de micotoxinas, porém, essa etapa poderia resultar em uma disseminação da micotoxina por todo o malte e, conseqüentemente, em sua solubilização na água utilizada na etapa de brassagem (Pascari et al., 2018a).

A brassagem nada mais é do que a mistura do malte em uma grande quantidade de água sob temperaturas ideais para a ativação de todas as enzimas ali presentes, permitindo a conversão de amido em açúcares fermentescíveis. Nesta etapa, pode haver um aumento da concentração da micotoxina do tipo DON (Pascari et al., 2018a), porém, de acordo com Kostelanska et al. (2011), as concentrações de DON no produto final estão diretamente relacionadas com as concentrações dessa micotoxinas na matéria-prima. Nesta etapa deve-se prestar bas-

tante atenção também aos adjuntos adicionados, como por exemplo o milho, já que este é um ingrediente propenso à presença de fumonisinas.

As etapas de separação e fervura do mosto são feitas após a separação das partículas sólidas, e nesta etapa também é adicionado o lúpulo. As principais etapas da fervura do mosto são: inativação enzimática, evaporação da água, volatilização de compostos, precipitação de proteínas e reação de Maillard. Seguido dessas etapas, o mosto é resfriado, filtrado e transferido para tanques de fermentação. O lúpulo é um ingrediente susceptível à contaminação fúngica, porém, como utilizado em pequenas quantidades, não possui um grande impacto. Além disso, a fervura do mosto como ocorre em temperaturas acima de 100 °C pode provocar uma diminuição das micotoxinas (Pascari et al., 2018a).

De acordo com Campagnollo et al. (2015), em um estudo foi investigada a presença de micotoxinas nos resíduos de fermentação de cerveja, pelo fato de ocorrer uma ligação glicosídica da micotoxina com a parede celular da levedura. Porém, a presença de micotoxinas no mosto, mesmo que em altas concentrações, não tem influência direta nos parâmetros da fermentação (Nathanail et al., 2016).

A etapa de maturação consiste em melhorar os aspectos qualitativos do processo final. Essa etapa dura em torno de três meses e envolve a redução da temperatura para cerca de 0°C. Além disso, durante esse processo, há a combinação de proteínas e taninos, resultando na clarificação da cerveja, que pode ser acelerado através da filtração ou centrifugação. As próximas etapas, como a pasteurização, visam principalmente a estabilização microbiológica da cerveja e inativar células de leveduras que possam estar presentes após a etapa de filtração, a fim de evitar uma fermentação posterior. O uso de aditivos para ajudar na clarificação da cerveja pode estar envolvido também na diminuição do nível de micotoxinas no produto final, caso estes funcionem como adsorventes (Pascari et al., 2018a).

Para reduzir a incidência das micotoxinas no produto final, diversas estratégias podem ser consideradas em todas as etapas de produção, como o tratamento dos cereais no campo para evitar a contaminação por fungos, uso de bactérias lácticas durante a maltagem, ozonização e tratamento dos grãos de cevada com água, para as micotoxinas hidrossolúveis (Pascari et al., 2018a). Nos dias de hoje, o controle atual mais eficaz relacionado às cevadas infectadas é simplesmente evitar o seu uso. Porém, para

os locais produtores de cevada e que dependem dessa produção, evitar o seu uso pode trazer sérios problemas econômicos. Portanto, várias técnicas estão sendo estudadas para que se consiga utilizar pelo menos uma parte da cultura infectada (Wolf-Hall, 2007).

Além disso, sabe-se que o crescimento e desenvolvimento dos fungos estão diretamente relacionados ao ambiente em que vivem, ou seja, são favorecidos pela umidade. Portanto, a secagem dos grãos posteriormente à colheita é uma forma de prevenir a contaminação dos mesmos (Mastanjević et al., 2018).

Deve-se também proteger os grãos ao máximo durante o processo de secagem, evitando qualquer tipo de dano, uma vez que os grãos com qualquer tipo de avaria tendem a ter uma maior invasão por fungos, podendo resultar na contaminação por micotoxinas. Por esse motivo, deve-se evitar também a presença de insetos no setor de armazenamento, já que eles também são responsáveis por provocar danos aos grãos (Agriopoulou et al., 2020).

Dessa forma, alguns estudos sugerem utilizar estratégias de controle contra FHB, como o uso de agentes de biocontrole, que incluem bactérias e fungos para reduzir a contaminação por *F. graminearum* e suas micotoxinas associadas nas plantas de trigo e cevada (Khan e Doohan, 2009; Matarese et al., 2012). Contudo, são necessários mais estudos para avaliar a efetividade e a interação agro-ecológica que esses agentes podem provocar no ambiente (Dweba et al., 2017). Além disso, o controle por agentes químicos como fungicidas podem se mostrar eficazes, entretanto, muito fatores devem ser considerados como o cultivar utilizado, o clima, custos econômicos, tipo e dose do fungicida (Dweba et al., 2017).

7. Conclusões

Como as micotoxinas apresentam efeitos toxicológicos em humanos e animais, é necessária a aplicação de regulamentações de limites toleráveis em alimentos que são passíveis de contaminação pelas mesmas. Através dessa revisão, foi observado que não existe legislação para micotoxinas em cerveja no Brasil, embora a regulamentação seja expressiva para os cereais utilizados como ingredientes da cerveja, como no caso trigo, milho e cevada. E, em diversos países, é adotado um controle de qualidade rigoroso nas matérias-primas utilizadas na produção da bebida.

Neste sentido, trabalhos visando formas de maximizar a produção de cerveja, incluindo estratégias para controle (ou biocontrole)

de micotoxinas em cereais e utilização de outros adjuntos menos susceptíveis à contaminação fúngica são essenciais para redução dos custos e melhoria da qualidade do produto final. Também, há a necessidade da adoção de medidas regulatórias para cerveja, uma vez que, foram relatados em estudos de diversas localizações do mundo, a presença de micotoxinas produzidas por *Fusarium* em níveis significativos.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sob o projeto nº 2017/04811-4.

ORCID

N.S. Tadei  <https://orcid.org/0000-0003-1293-5965>

N.C.C. Silva  <https://orcid.org/0000-0002-2839-1416>

C.H.T. Iwase  <https://orcid.org/0000-0002-3428-0261>

L.O. Rocha  <https://orcid.org/0000-0003-2820-4470>

Referências bibliográficas

- Agriopoulou, S.; Stamatelopoulou, E.; Varzakas, T. 2020. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *Foods* 9(2): 137.
- Antonissen, G.; Martel, A.; Pasmans, F.; et al. 2014. The Impact of *Fusarium* Mycotoxins on Human and Animal Host Susceptibility to Infectious Diseases. *Toxins* 6: 430-452.
- Bauer, J.I.; Gross, M.; Gottschalk, C.; et al. 2016. Investigations on the occurrence of mycotoxins in beer. *Food Control* 63: 135-139.
- Benedit, P. 2018. Impacto Económico de la Infección con *Fusarium verticillioides* y Acumulación de Fumonisinas em Maíz. PhD thesis, Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Pergamino, Argentina.
- Benelová, K.; Belaková, S.; Mikulíková, R.; et al. 2012. Monitoring of selected aflatoxins in brewing materials and beer by liquid chromatography/mass spectrometry. *Food Control* 25: 626-630.
- Bertuzzi, T.; Rastelli, S.; Mulazzi, A.; et al. 2018. Known and emerging eycotoxins in small- and large-scale brewed beer. *Beverages* 46: 1-8.
- BPOM, National Agency of Drug and Food Control of Indonesia. 2018. BPOM Regulation No. 8/2018 of Maximum Limit of Chemical Contaminants in Processed Food.
- Brasil. Resolução RDC nº 138, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União nº29, 09/02/2017.
- Buiatti, S. 2009. Beer Composition: An Overview. *Beer in Health and Disease Prevention*: 213-225.
- Bullerman, L.B.; Bianchini, A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology* 119: 140-146.
- Cabras, I.; Higgins, D.M. 2016. Beer, brewing, and business history. *Business History* 58: 609-624.
- Campagnollo, F.B.; Franco, L.T.; Rottinghaus, G.E.; et al. 2015. In vitro evaluation of the ability of beer fermentation residue containing *Saccharomyces cerevisiae* to bind mycotoxins. *Food Research International* 77: 643-648.
- CAST, Council for Agricultural Science and Technology. 2003. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems. Task Force Report, Ames, Iowa, USA, n. 139.
- Desjardins, A.E.; Manandhar, H.K.; Plattner, R.D.; et al. 2000. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1020-1025.
- Desjardins, A. 2006. *Fusarium* mycotoxins: Chemistry, genetics and biology. American Phytopathological Society. St. Paul, MN, USA. 268 pp.
- Dwebi, C.C.; Figlan, S.; Shimelis, H.A.; et al. 2017. *Fusarium* head blight of wheat: pathogenesis and control strategies. *Crop Protection* 91: 114-122.
- EC, European Commission. 2006. Commission Regulation No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* L364: 5-24.
- EC, European Commission. 2013. Commission Recommendation of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. *Official Journal of the European Union* L91: 12-15.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2013. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006. Doenças na Cultura do Milho. Circular Técnica 83, ISSN 1679-1150. Sete Lagoas – MG, dezembro.
- Faltermaier, A.; Waters, D.; Becker, T.; Arendt, E.; Gastl, M. 2014. Common wheat (*Triticum aestivum* L.) and its use as a brewing cereal – a review. *Journal of The Institute of Brewing* 120: 1-15.
- FDA, Food and Drug Administration. 2001. Guidance for Industry: Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds.
- FDA, Food and Drug Administration. 2010. Guidance for Industry and FDA: Advisory Levels for Deoxynivalenol (DON) in Finished Wheat Products for Human Consumption and Grains and Grain By-Products used for Animal Feed.
- Humia, B.V.; Santos, K.S.; Barbosa, A.M.; et al. 2019. Beer molecules and its sensory and biological properties: a review. *Molecules* 24(8): 1568.
- Kim, Y.; Kang, I.J.; Shin, D.B.; et al. 2018. Timing of *Fusarium* Head Blight infection in rice by heading stage. *Microbiology* 46: 283-286.
- Kostelanska, M.; Zachariasova, M.; Lacina, O.; et al. 2011. The study of deoxynivalenol and its masked metabolites fate during the brewing process realised by UPLC-TOFMS method. *Food Chemistry* 126: 1870-1876.
- Kuzdraliński, A.; Solarska, E.; Muszyńska, M. 2013. Deoxynivalenol and zearalenone occurrence in beers analysed by an enzyme-linked immunosorbent assay method. *Food Control* 29: 22-24.
- Leslie, J.F.; Summerell, B.A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Iowa, Blackwell Publishing, 388 pp.
- Mastanjević, K.; Šarkanj, B.; Krška, R.; et al. 2018. From malt to wheat beer: a comprehensive multi-toxin screening, transfer assessment and its influence on basic fermentation parameters. *Food Chemistry* 254: 115-121.
- Mathias, T.R.S.; Menezes, L.M.; Sérvulo, E.F.C. 2019. Effect of maize as adjunct and the mashing proteolytic step on the brewer wort composition. *Beverages* 5(4): 65.
- Matumba, L.; Van Poucke, C.; Biswick, T.; et al. 2014. A limited survey of mycotoxins in traditional maize based opaque beers in Malawi. *Food Control* 36: 253-256.
- MFDS, Ministry of Food & Drug Safety of Korea. 2019. Food Code.
- MHLW, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. 2002. Department of Food Safety Notification No. 0521001.
- Munkvold, G.P. 2017. *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: Clifton, N.J. (Comp.). *Mycotoxigenic fungi: methods and protocols*. Human Press. New York. Pp. 51-106.
- Nathanail, A.V.; Gibson, B.; Han, L.; et al. 2016. The lager yeast *Saccharomyces pastorianus* removes and transforms *Fusarium* trichothecene mycotoxins during fermentation of brewer's wort. *Food Chemistry* 203: 448-455.

- NHFPC/CFDA, National Health and Family Planning Commission/China Food and Drug Administration. 2017. National Food Safety Standard for Maximum Levels of Mycotoxins in Foods.
- Nijs, M.; Rombouts, F.; Notermans, S. 1996. *Fusarium* molds and their mycotoxins. *Journal of Food Safety* 16: 15-58.
- Pascari, X.; Ramos, A.J.; Marín, S.; et al. 2018a. Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review. *Food Research International* 103: 121-129.
- Pascari, X.; Ortiz-Solá, J.; Marín, S.; et al. 2018b. Survey of mycotoxins in beer and exposure assessment through the consumption of commercially available beer in Lleida, Spain. *LWT-Food Science and Technology* 92: 87-91.
- Pestka, J.J.; Smolinski, A.T. 2005. Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 8: 39-69.
- Piacentini, K.C.; Savi, G.D.; Pereira, M.E.V.; et al. 2015. Fungi and the natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). *Food Chemistry* 187: 204-209.
- Piacentini, K.C.; Rocha, L.O.; Fontes, L.C.; et al. 2017. Mycotoxin analysis of industrial beers from Brazil: The influence of fumonisin B1 and deoxynivalenol in beer quality. *Food Chemistry* 218: 64-69.
- Piacentini, K.C.; Rocha, L.O.; Savi, G.D.; et al. 2018. Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in brewing barley grains from Brazil. *Mycotoxin Research* 34: 173-178.
- Placinta, C.M.; D'Mello, J.P.F.; Macdonald, A.M.C. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 78: 21-37.
- Rocha, L.O.; Nakai, V.K.; Braghini, R.; et al. 2009. Mycoflora and Co-Occurrence of Fumonisin and Aflatoxins in Freshly Harvested Corn in Different Regions of Brazil. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 5090-5103.
- Sarwar, H. 2013. The importance of cereals (Poaceae: Gramineae) nutrition in human health. *Journal of Cereals and Oilseeds* 4: 32-35.
- Tralamazza, S.M.; Bemvenuti, R.H.; Zorzete, P.; et al. 2016. Fungal diversity and natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in freshly harvested wheat grains from Brazil. *Food Chemistry* 196: 445-450.
- Varga, E.; Malachova, A.; Schwartz, H.; et al. 2013. Survey of deoxynivalenol and its conjugates deoxynivalenol-3-glucoside and 3-acetyl-deoxynivalenol in 374 beer samples. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30: 137-469.
- Vitorino, O.C.L. 2011. Micotoxinas na Alimentação e na Saúde Animal e Humana. Master thesis, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo. Portugal. 77 pp.
- Wall-Martínez, H.A.; Pascari, X.; Ramos, A.J.; et al. 2019. Frequency and levels of mycotoxins in beer from the Mexican Market and exposure estimate for deoxynivalenol mycotoxins. *Mycotoxin Research* 35: 207-216.
- Wolf-Hall, C.E. 2007. Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. *International Journal of Food Microbiology* 119: 89-94.
- Zhang, D.; He, Y.; Ma, C.; et al. 2017. Improvement of beer flavour with extruded rice as adjunct. *Journal of The Institute of Brewing* 123: 259-267.
- Zinedine, A.; Soriano, J.M.; Moltó, J.C.; et al. 2007. Review of the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicity* 45: 1-18.