



REDUÇÃO DE DESOXINIVALENOL POR FORTIFICAÇÃO DE GLUTATIONA EM FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA CERVEJEIRA

D. S. Santos¹, A. F. Vilela², J. G. Buffon³

1- Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-000 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (83) 9 81450520 – e-mail: (nilodansantos7@gmail.com)

2- Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias – Universidade Federal da Paraíba – CEP: 58220-000 – Bananeiras – PB – Brasil, Telefone: +55 (83) 9 93001520 – e-mail: (prof.ufpb.anderson@gmail.com)

3- Escola de Química de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-000 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (83) 9 99666221 – e-mail: (jaquelinebuffon@furg.br)

RESUMO – Estudos indicam que a produção de glutationa (GSH) por células de leveduras na fermentação alcoólica pode estar relacionado com a redução de micotoxinas, o que torna essa molécula uma forma de defesa contra esses contaminantes. Devido a esse motivo, o objetivo desse estudo foi relacionar a fortificação de GSH com a redução da micotoxina desoxinivalenol (DON) durante o processo fermentativo. A fermentação alcoólica foi realizada utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (0,115 g) em 20 mL de mosto contendo 0,02 µg/L de DON e fortificado com 50 mg/L de GSH em 96 h de fermentação, comparado ao controle realizado nas mesmas condições, porém sem adição da GSH. A fortificação de GSH indicou maior redução da contaminação por DON, 66,45% maior quando comparado ao controle, demonstrando que esta é uma alternativa para a degradação da micotoxina e disponibilização de uma bebida segura.

PALAVRAS-CHAVE: Mitigação; Micotoxina; Cerveja; Moléculas de defesa.

ABSTRACT – Studies indicate that the production of glutathione (GSH) by yeast cells in alcoholic fermentation may be related to the reduction of mycotoxins, which makes this molecule a form of defense against these contaminants. For this reason, the objective of this study was to relate GSH fortification to the reduction of the mycotoxin deoxynivalenol (DON) during the fermentation process. Alcoholic fermentation was performed using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* (0.115 g) in 20 mL of wort containing 0.02 µg/L of DON and fortified with 50 mg/L of GSH in 96 h of



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

fermentation, compared to the control performed under the same conditions, but without the addition of GSH. GSH fortification indicated a greater reduction in DON contamination, 66.45% greater when compared to the control, demonstrating that this is an alternative for the degradation of the mycotoxin and provision of a safe beverage.

KEYWORDS: Mitigation; Mycotoxin; Beer; Defense molecules.

1. INTRODUÇÃO

A micotoxina desoxinivalenol (DON) é um contaminante natural produzido pelo metabolismo secundário de espécies fúngicas toxigênicas, sendo algumas do gênero *Fusarium* as principais produtoras dessa micotoxina (Gab-Allah; Choi; Kim, 2023; Li *et al.*, 2022). Os cereais se destacam como principais alvos da contaminação desses fungos que podem levar a produção de micotoxinas, que quando presente pode vir a ser transferido para alimentos que utilizem estes insumos na formulação (Mastanjevic *et al.*, 2019). No caso da cerveja, a via de contaminação por micotoxinas ocorre devido a utilização de cereais (como cevada, milho, trigo e centeio) fonte dos açúcares fermentescíveis, transformados em álcool pela ação das leveduras (Eliodório *et al.*, 2019).

A contaminação da cerveja é relatada na literatura pela transferência da micotoxina do cereal para o produto (Pascari *et al.*, 2022). Devido a isso, estratégias químicas, físicas e biológicas vêm sendo investigadas para a redução desses contaminantes nas matrizes alimentares (Afsah-Hejri; Hajeb; Ehsani, 2020). Os métodos biológicos têm demonstrado resultados promissores quando ressaltado aspectos ambientais e a preservação das características sensoriais da bebida (Tian *et al.*, 2022).

Especificamente no processamento da cerveja, a fermentação alcoólica pelo emprego de levedura tem sido destacada como uma etapa eficiente na redução da concentração de micotoxinas (Carvalho, 2022), estando relacionada a adsorção da micotoxina a parede celular da levedura ou metabolização pela ação de biomoléculas de defesa (Acosta, 2020). A GSH é um tripeptídeo produzido com este fim, principalmente contra estresse oxidativo, e manutenção de funções básicas, sendo relacionada a redução de contaminantes como as micotoxinas (Binati *et al.*, 2022).

Em estudos como o de Giacomini *et al.* (2023) e Boeira *et al.* (2021) com fermentação alcoólica, a GSH foi descrita como umas das principais moléculas relacionada a redução dos níveis das micotoxinas OTA e NIV em percentuais de 58% e 56,5%, respectivamente. Devido a essas informações acerca da ação da GSH, o objetivo desse estudo foi relacionar a fortificação de GSH com a redução da micotoxina DON no processo fermentativo.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O mosto cervejeiro (Extrato de malte em pó) da marca *Dry Brew* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* UC-05 de alta fermentação foram adquiridos de uma empresa da cidade de Porto Alegre – RS. O padrão da micotoxina DON e a GSH foram adquiridas da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, USA), sendo a GSH na forma de L-glutathiona reduzida com pureza $\geq 99\%$ produzida no Japão, outros reagentes empregados foram adquiridos de grau padrão analítico.

2.2 Preparo do padrão de DON e da solução de GSH

A solução padrão de DON foi preparada a partir de 1 mg da micotoxina, solubilizando em benzeno:acetonitrila (95:5, v/v) até perfazer a concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ e armazenadas a uma temperatura de $-4\text{ }^\circ\text{C}$. A confirmação da concentração foi realizada em espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis) (FEMTO Cirrus-80), em comprimento de onda de 220 nm empregando absorvidade molar de 6808 em acetonitrila. A solução de GSH foi preparada a partir de 0,01 g dissolvido em HCl 0,01 M até o volume de 100 mL (mantida revestida com papel alumínio para evitar oxidação a $-8\text{ }^\circ\text{C}$).

2.3 Preparo do mosto sintético

O mosto sintético foi preparado conforme as indicações do fabricante, onde 14,28 g de extrato de malte em pó foi empregado para o preparo de 100 mL de mosto, solubilizado em água estéril, tendo como composição de carboidratos 88 g/L, proteínas 6,8 g/L.

2.4 Fermentação e Fortificação com GSH

A fermentação alcoólica foi conduzida em um reator tipo tubo Falcon de 50 mL, sendo esse esterilizado em autoclave por 15 min a $121\text{ }^\circ\text{C}$. Os ensaios foram realizados em triplicatas, onde aos reatores foram adicionados DON (0,02 $\mu\text{g/L}$), GSH (50 mg/L) e levedura (5,75 g/L) e avolumados para 20 mL de mosto cervejeiro, mantidos em câmara germinativa a $19\text{ }^\circ\text{C}$ por 96 h, sem agitação (Acosta, 2020). O controle foi preparado e conduzido nas mesmas condições, porém sem a fortificação de GSH. Após decorrido 96 h, foi determinada a concentração residual da micotoxina DON.

2.5 Determinação de DON no meio fermentado

A extração de DON foi realizada pelo método de QuEChERS de acordo com Seus-Arraché (2019) com modificações. A modificação do método consistiu na miniaturização, com reduções na quantidade de amostra (1 mL), da acetonitrila (5 mL), dos sais de extração (2 g de sulfato de magnésio



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

(MgSO₄) e 0,5 g de cloreto de sódio (NaCl)) e dos sais de limpeza (0,45 g de MgSO₄ e 0,15 g de celite). A detecção e quantificação de DON foi efetuada a 220 nm em cromatógrafo a líquido (LC) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD – 10 AXL). A separação ocorreu em coluna de C18 de fase reversa (Gemini®, Phenomenex) 250 x 4,5 mm (5 µm), a fase móvel constituída por MeCN e água Mili-Q (30:70, v/v), com vazão de 0,8 mL/min e volume de injeção de 20 µL (Souza *et al.*, 2015).

A redução da micotoxina DON (%) foi estimada pela relação entre a concentração inicial adicionada ao reator e a determinada no tempo final de fermentação (Equação 1), sendo CM: a concentração da micotoxina.

$$\text{Redução (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{CM}(\text{final}) \cdot 100}{\text{CM}(\text{inicial})} \right) \quad (1)$$

2.6 Análise Estatística

O Teste de Student (t) foi aplicado para comparação das médias de cada ensaio com um nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido as condições de estresse as quais as leveduras podem ser submetidas durante a fermentação (*ex.* presença de micotoxinas), uma das estratégias deste micro-organismo é a alteração do seu metabolismo e a produção de moléculas de defesa como a GSH, molécula antioxidante presente no meio intracelular, porém não suficiente para a redução total das micotoxinas (Boeira *et al.*, 2021).

Neste estudo, a redução de 82,6% foi observada no ensaio realizado com fortificação do peptídeo GSH, quando comparado ao ensaio controle (16,13% de redução) (sem fortificação com GSH), verificando um aumento de 66% quando empregado a fortificação de 50 mg/L (Figura 1). Logo, pode-se evidenciar a importância da fortificação para a eficiência da levedura na redução do contaminante DON do meio fermentado.

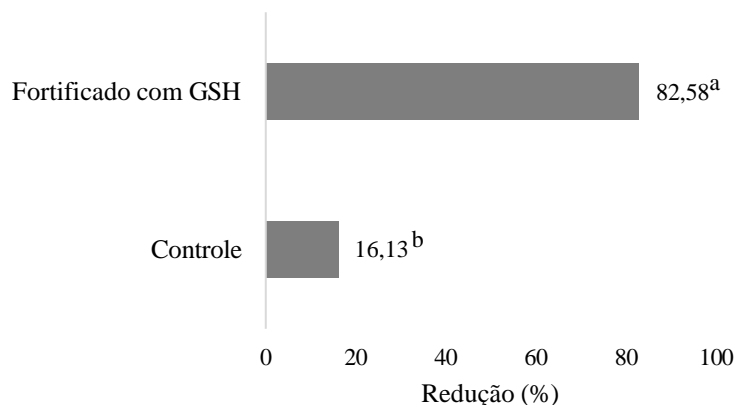
Até o presente momento não foram encontrados estudos na literatura envolvendo a fortificação com GSH em processos fermentativos. No entanto, estudos indicam que a produção de moléculas de defesa por parte da levedura leva a redução das micotoxinas. No estudo de Giacomini *et al.* (2023), a fermentação alcoólica foi avaliada como forma de reduzir os níveis de agrotóxicos e da micotoxina ocratoxina A (OTA), sendo observado ao final da fermentação de 168 h redução de



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

58% dos níveis da micotoxina, redução associada a produção de GSH e peroxidase produzidas pelas células de levedura. Com os resultados apresentados na Figura 1, ficou evidente que a fortificação com GSH, no processo fermentativo cervejeiro demonstrou resultados promissores, podendo vir a ser uma opção para a redução dos níveis desse contaminante em cerveja.

Figura 1 – Redução de DON em fermentação alcoólica cervejeira pela fortificação com GSH



Letras distintas acima dos resultados mostra diferença significativa pelo teste (t).

4. CONCLUSÃO

O presente estudo explorou pela primeira vez a fortificação com GSH para a redução de DON em fermentação alcoólica cervejeira, 66% superior ao controle. Logo, a fortificação pode ser uma alternativa para a indústria cervejeira e de alimentos, visando a oferta de uma bebida segura para os consumidores.

5. AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Rio Grande (FURG), ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos (PPGECA), ao Laboratório de Micotoxinas e Ciências dos Alimentos (LAMCA) e as agências de fomento de bolsas (Capes e CNPq).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, E. R. **Fermentação alcoólica: caracterização química e degradação de micotoxinas**. 2020. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2020.

AFSAH-HEJRI, L., HAJEB, P., EHSANI, R. J. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. **Comprehensive Reviews. In Food Science and Food Safety**, v. 19, p. 1777 – 1808, 2020.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

BINATI, R. L., LARINI, I., SALVETTI, E., TORRIANI, S. Glutathione production by non-Saccharomyces yeasts and its impact on winemaking: A review. **Food Research International**, v. 156, p. 111333, 2022.

BONOW, F. **Produção de glutatona por *Saccharomyces cerevisiae* utilizando coproduto industrial e sob ação de campos magnéticos**. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2016.

BOEIRA, C. Z., SILVELLO, M. A. C., REMEDI, R. D., FELTRIN, A. C. P., SANTOS, L. O., GARDA-BUFFON, J. Mitigation of nivalenol using alcoholic fermentation and magnetic field application. **Food Chemistry**, v. 340, p. 127935, 2021.

ELIODÓRIO, K. P., CUNHA, G. C. G., MULLER, C., LUCAROLI, A. C., GIUDICI, R. WALKER, G. M. JR, S. L. A., BASSO, T. O. Chapter Three - Advances in yeast alcoholic fermentations for the production of bioethanol, beer and wine. **Advances in Applied Microbiology**, v. 109, p. 61 – 119, 2019.

GAB-ALLAH, M., CHOI, K., KIM, B. Type B Trichothecenes in Cereal Grains and Their Products: Recent Advances on Occurrence, Toxicology, Analysis and Post-Harvest Decontamination Strategies. **Toxins**, v. 15, p. 1 – 62, 2023.

GIACOMINI, R. X., ACOSTA, E. R., CERQUEIRA, M. B. R., PRIMEL, E. G., GARDA-BUFFON, J. Alcoholic Fermentation as a Strategy to Mitigate Pesticides and Mycotoxins. **Food and Bioprocess Technology**, v. 16, p. 2315 – 2327, 2023.

LI, J., WANG, Y., DENG, Y., WANG, X., WU, W., NEPOVIMOVA, E., WU, Q., KUCA, K. Toxic mechanisms of the trichothecenes T-2 toxin and deoxynivalenol on protein synthesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 164, p. 113044, 2022.

MASTANJEVIC, K., SARKANJ, B., MASTANJEVIC, K., SANTEK, B., KRSTANOVIC, V. Fusarium culmorum mycotoxin transfer from wheat to malting and brewing products and by-products. **World Mycotoxin Journal**, v. 12, p. 55 – 66, 2019.

PASCARI, X., MARIM, S., RAMOS, A. J., SANCHIS, V. Relevant Fusarium mycotoxins in malt and beer. **Foods**, v. 11, p. 246, 2022.

SEUS-ARRACHÉ, E. R. **Micotoxinas em insumos e produtos cervejeiro: desenvolvimento de método analítico e aplicação de adsorventes alternativos**. 2019. 156 f. Tese (Doutorado em Química Tecnológica e Ambiental). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2019.

SOUZA, T. D., CALDAS, S. S., PRIMEL, E. G., BADIALE-FURLONG, E. Exposure to deoxynivalenol, HT-2 and T-2 toxins by consumption of wheat-based product in southern Brazil. **Food Control**, v. 50, p. 789 – 793, 2015.

TIAN, D., ZHANG, D., CAI, P., LIN, H., YING, H., HU, Q., WU, A. Elimination of Fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON) via microbial and enzymatic strategies: Current status and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 124, p. 96 – 107, 2022.