

Ocorrência e toxicidade de glicóis em cervejas

Occurrence and toxicity of glycols in beers

Ocurrencia y toxicidad de glicoles en cervezas

Recebido: 28/04/2023 | Revisado: 14/06/2023 | Aceitado: 20/06/2023 | Publicado: 25/06/2023

Amazile Biagioni Maia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1119-8759>

Laboratório LABM, Brasil

E-mail: amazilebram@gmail.com

Elaine Cristina da Conceição

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9834-8598>

Laboratório LABM, Brasil

E-mail: elainecon2008@hotmail.com

Lorena Simão Marinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3732-3041>

Laboratório LABM, Brasil

E-mail: lorena@labm.com.br

Resumo

A cerveja é muito popular no Brasil, e o país é o terceiro maior consumidor dessa bebida, atrás apenas da China e dos Estados Unidos. Em nível internacional, existem registros de episódios fatais atribuídos à ingestão de bebidas fermentadas (cervejas e vinhos) contendo etilenoglicol e dietilenoglicol desde a década de 1980. No Brasil, um caso recente (2020), que levou a vítimas fatais, foi associado à ingestão de cerveja contaminada com etilenoglicol. Nesse trabalho, foi feita uma mini revisão da literatura a fim de caracterizar o entendimento atual no âmbito da origem e dos riscos afetos à presença de glicóis em bebidas. O levantamento permitiu concluir que efeitos agudos e letais somente podem advir de doses relativamente elevadas provenientes de contaminação exógena (acidental ou criminosa). Contudo, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* têm potencial para secretar etilenoglicol pela degradação metabólica da xilose, açúcar de cinco carbonos que advém da hemicelulose. Os níveis de formação espontânea são usualmente baixos, sem riscos de toxicidade aguda/fatal, mas há que se considerar o potencial de toxicidade crônica por efeito acumulativo. Propõe-se o monitoramento periódico dos teores de etilenoglicol e dietilenoglicol em cervejas, tendo em vista a relevância dessa bebida entre os hábitos de consumo dos brasileiros.

Palavras-chave: Glicol; Etilenoglicol; MEG; Dietilenoglicol; DEG; Cerveja.

Abstract

Beer is very popular in Brazil, and the country is the third largest consumer of this drink, after China and United States. At the international level, there are records of fatal episodes attributed to the ingestion of fermented beverages (beers and wines) containing ethylene glycol and diethylene glycol since the 1980s. In Brazil, a recent case (2020), which led to fatal victims, was associated with ingestion of beer contaminated with ethylene glycol. In this work, a mini literature review was carried out in order to characterize the current understanding regarding the origin and risks associated with the presence of glycols in beverages. The survey led to the conclusion that acute and lethal effects can only come from relatively high doses from exogenous contamination (accidental or criminal). However, *Saccharomyces cerevisiae* yeasts have the potential to secrete ethylene glycol through the metabolic degradation of xylose, a five-carbon sugar that comes from hemicellulose. Spontaneous formation levels are usually low, with no risk of acute/fatal toxicity, but the potential for chronic toxicity due to a cumulative effect must be considered. Periodic monitoring of ethylene glycol and diethylene glycol levels in beers is proposed, in view of the relevance of this beverage among Brazilian consumption habits.

Keywords: Glycol; Ethylene glycol; MEG; Diethylene glycol; DEG; Beer.

Resumen

La cerveza es muy popular en Brasil, y el país es el tercer mayor consumidor de esta bebida, después de China y Estados Unidos. A nivel internacional, existen registros de episodios fatales atribuidos a la ingestión de bebidas fermentadas (cervezas y vinos) que contienen etilenglicol y dietilenglicol desde la década de 1980. En Brasil, un caso reciente (2020), que derivó en víctimas fatales, fue asociado a la ingestión de cerveza contaminada con etilenglicol. En este trabajo se realizó una mini revisión bibliográfica con el fin de caracterizar el conocimiento actual en cuanto al origen y riesgos asociados a la ingestión de bebidas que contienen glicoles. La encuesta llevó a la conclusión de que los efectos agudos y letales solo pueden provenir de dosis relativamente altas de contaminación exógena (accidental o criminal). Sin embargo, las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* tienen el potencial de secretar etilenglicol a través de

la degradación metabólica de la xilosa, un azúcar de cinco carbonos que proviene de la hemicelulosa. Los niveles de formación espontánea suelen ser bajos, sin riesgo de toxicidad aguda/mortal, pero existe la posibilidad de toxicidad crónica por efecto acumulativo. Se propone el monitoreo periódico de los niveles de etilenglicol y dietilenglicol en las cervezas, en vista de la relevancia de esa bebida entre los hábitos de consumo de los brasileños.

Palabras clave: Glicol; Etilenglicol; MEG; Dietilenglicol; DEG; Cerveza.

1. Introdução

As bebidas fermentadas estão sendo cada vez mais consumidas no Brasil, com especial destaque para as cervejas. Estima-se que seu consumo tenha atingido 13,3 bilhões de litros em 2020, correspondendo a 62,4 litros per capita ano (JEB, 2021). O nível de ingestão per capita é similar ao de vinhos em Portugal, maior consumidor de vinhos do mundo (Ramos & Pandolfi, 2019; JEB, 2021; OIV, 2021).

De modo geral, vinhos e cervejas são considerados seguros no âmbito dos componentes secundários que advêm do processo produtivo. De fato, diferentemente das bebidas destiladas (como a cachaça), a legislação brasileira não estabelece limites para os teores de álcoois secundários, aldeídos e ésteres (entre outros) em bebidas fermentadas. Recentemente (2020), porém, após um episódio trágico de contaminação de cerveja, que chegou a resultar em óbitos, as atenções se voltaram para a ocorrência e potencial de toxicidade do etilenoglicol (MEG) em cervejas e bebidas fermentadas. No referido episódio, foi comprovada a ocorrência de arraste acidental do líquido de refrigeração da camisa externa de uma das dornas.

No entanto, já foi demonstrada a possibilidade de secreção de MEG por vias metabólicas de degradação da xilose, tanto em bactérias como em leveduras. Assim sendo, é importante avaliar a possibilidade de ocorrência e o eventual risco de efeitos adversos para a saúde dos consumidores.

Esse artigo foi concebido como uma mini revisão de literatura, com o objetivo de apontar as possíveis origens e o grau de risco associado à ingestão de cervejas contendo os glicóis MEG e/ou DEG.

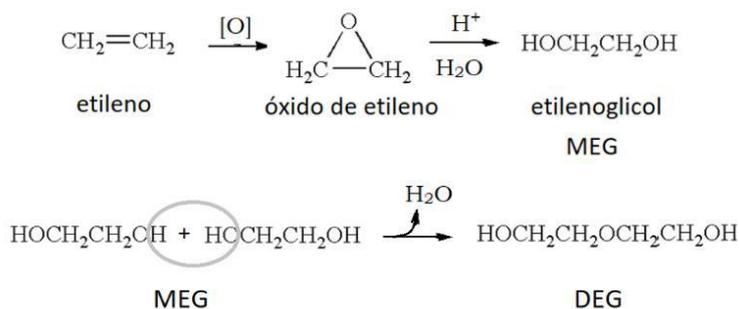
2. Metodologia

Foi feito um levantamento nas plataformas Scielo, Google Acadêmico e PubMed, com foco específico em abordagens afetas à ocorrência, análise e toxicidade de “glicóis”, “etilenoglicol” e “dietilenoglicol” em cervejas e vinhos. Foi coberto o período de 1980 a 2023, sem restrições quanto ao idioma da publicação, tendo em vista os recursos disponíveis *on line* para tradução direta. Para os fins dessa revisão, foram desconsiderados artigos sobre avanços na tecnologia de produção e usos industriais de glicóis, incluindo aplicação de recursos da engenharia genética para aumento da sua produção por via microbiana. Alguns deles acham-se citados, apenas a título de ilustração.

3. Revisão de Literatura

Os glicóis (álcoois dihidroxilados) são compostos largamente usados como anticongelantes e agentes de resfriamento. MEG, o menor deles, além de precursor de uma série homóloga de amplo mercado, encontra extensa aplicação nas indústrias de plásticos (como o PET) e fibras têxteis. Praticamente toda a produção mundial (em torno de 20 milhões de toneladas por ano) se dá por síntese a partir do etileno e mediante reações que levam à produção do DEG como coproduto (BIBRA, 1976; Gomes et al., 2007). Em diversas aplicações, especialmente no emprego como anticongelantes, esses dois glicóis podem ser usados em mistura por terem propriedades termoquímicas similares (Holman, 2002).

Figura 1 – Via de síntese do MEG e DEG a partir do etileno.



Fontes: BIBRA (1976), Song et al. (2013), adaptada pelos autores.

Por suas características de sabor (doce, agradável) e viscosidade, MEG e DEG chegaram a ser empregados na formulação de medicamentos no início do século XX. Mas logo foram proibidos, tanto em medicamentos como em alimentos, por terem sido associados a eventos graves/fatais de intoxicação (ATSDR, 2010).

Ainda permitidos como coadjuvantes de processo, os glicóis encontram aplicação em cervejarias e vinícolas como componentes de líquidos destinados ao resfriamento das dornas de fermentação/maturação. Nessa aplicação são valorizados por serem inodoros e terem baixa volatilidade; misturados à água formam soluções de baixa corrosividade e dotadas de pontos de congelamento abaixo de -20°C (Holman, 2002).

Desde a década de 1980, há registros esporádicos de contaminação de vinhos e cervejas por MEG/DEG (Kaiser & Rieder, 1987; Hassen & Chotya, 2018). O primeiro episódio, ocorrido na Áustria (1985-1986), marcou o início de desdobramentos importantes no âmbito da ciência e tecnologia. Em seguida ao acidente, as autoridades proibiram a comercialização de vinhos e champagnes cujos teores de MEG estivessem acima do limite de detecção analítica, que era de 10 mg/L (Kaiser & Rieder, 1987). Tendo ensejado imenso prejuízo aos produtores de vinhos, o embargo motivou muitas pesquisas afetas aos níveis de ocorrência espontânea de MEG em mostos de fermentação alcoólica. Os trabalhos evidenciaram que, além dos álcoois superiores monohidroxilados (n-propanol, isobutanol e 3-metil-1-butanol) que advêm da degradação de aminoácidos do mosto, e também do álcool trihidroxílico glicerina, que advêm de uma via específica de degradação da glicose (Maia, 1992, Maia et al., 2021) cepas de *Saccharomyces cerevisiae* podem secretar MEG mediante degradação da xilose – açúcar de cinco carbonos que ocorre na hemicelulose, xilanos e outras pentosanas tanto em grãos e malte de cereais como nos engaços de uvas (Spigno et al., 2008; Atatoprak et al., 2022). De fato, vários autores já comprovaram a ocorrência espontânea de MEG em vinhos (Uchiyama et al., 1986, Werkhoff & Bretschneider, 1986). Ademais, foi demonstrado que, partindo de níveis abaixo do limite usual de quantificação (2 a 6 mg/L) o teor de MEG pode aumentar durante o processamento, chegando a até 60 mg/L (Kaiser & Rieder, 1987).

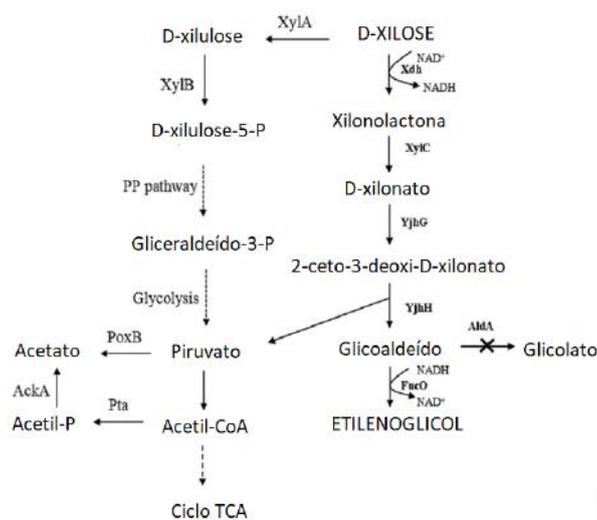
Segundo Uranukul et al. (2019), as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* dispõem de todas as enzimas necessárias para a conversão da xilose em MEG, ainda que essa via nem sempre chegue a se expressar – o que dependeria do efeito sinérgico de especificidades genéticas com características peculiares da matéria-prima, da fermentação e do processo. Ainda não foram identificadas as enzimas que dão origem ao DEG, mas as pesquisas prosseguem.

Nas duas últimas décadas, muitos esforços têm sido envidados para viabilizar a produção do MEG diretamente pela via fermentativa – o que permitiria reduzir a dependência do petróleo para atendimento à demanda do mercado. Há registros de avanços por meio da engenharia genética, tanto em bactérias (Chen et al., 2016, Liu et al., 2013; Pereira et al., 2016) como em leveduras, com destaque para *Saccharomyces cerevisiae* (Islam et al., 2017; Jung et al, 2011; Kuyper et al., 2002; Salusjarvi et al., 2017, Van Maris et al, 2007). Dentre eles, encontram-se relatos de produção de até 4 g/L de MEG com cepas modificadas

de *Saccharomyces cerevisiae* (Uranukul et al., 2019) e de até 40 g/L com cepas de bactérias (Pereira et al., 2016). Assim sendo, além da existência de cepas de *Saccharomyces* naturalmente habilitadas para a secreção de MEG, a humanidade conta com um acervo de leveduras intencionalmente modificadas para essa finalidade.

Ao nível do conhecimento atual, portanto, além de riscos de contaminação acidental (arraste do líquido de resfriamento) ou intencional (adição criminosa como agente de sabor) é importante considerar que diversas bactérias e leveduras são dotadas do arcabouço enzimático necessário para o metabolismo da xilose, levando à produção de MEG (Kaiser & Rieder, 1987; Aikim et al., 2015; Uranukul et al., 2019), conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2 – Via metabólica de produção do MEG a partir da xilose.



Fonte: Wang et al. (2018).

3.1 Toxicidade dos glicóis

Os riscos para a saúde podem ser inferidos mediante referenciais de toxicidade aguda, como a LD50 (dose média requerida para morte de 50% das cobaias) e de toxicidade crônica, como o NOAEL (*no observed adverse effect level*, ou nível mínimo abaixo do qual não houve efeitos adversos) entre outros. Na prática, os valores advêm de grande multiplicidade de abordagens operacionais e cálculos estatísticos, podendo ser diferentes conforme a fonte selecionada (Patocka & Kuca, 2012). Ainda assim esses parâmetros têm significado para fins comparativos e como referenciais de ordem de grandeza. Na Tabela 1, acham-se dispostos os valores da LD50 (oral, ratos) dos glicóis e de álcoois superiores associados à fermentação em *Saccharomyces cerevisiae*. Para maior rigor, foram selecionados os menores valores encontrados na literatura consultada (sinalizando maior grau de toxicidade afeto à dose ingerida).

Tabela 1 - Valores da LD50 (oral, ratos) para o etanol e álcoois secundários da fermentação alcoólica.

Álcool/glicol	Menor LD50 oral, ratos mg/kg peso	Ingestão correspondente a uma pessoa de 60 kg g
Álcool isoamílico	1.300	78 ⁽¹⁾
n-propanol	1.870	112 ⁽¹⁾
Isobutanol	2.830	170 ⁽²⁾
DEG	3.300	198 ⁽²⁾
MEG	4.700	282 ⁽²⁾
Etanol	7.060	424 ⁽³⁾
Glicerina	13.000	780 ⁽⁴⁾

Fontes: Patocka e Kuca (2012), Anon (2010), Wiberg et al. (1970), Opdyke (1979)

Pela Tabela 1 pode-se observar que os álcoois superiores (monohidroxilados) têm valores de LD50 inferiores aos do MEG e do DEG. Assim sendo, no âmbito do risco agudo, MEG e DEG são praticamente isentos de risco que possa ser atribuído à atividade metabólica do fermento. Os dados se diferenciam, porém, ao considerar os riscos de efeitos acumulativos (EC-SCCP, 2008). Para fins de ilustração, sumariam-se dois, afetos à administração pela via oral (dieta na água) em ratos (Tabela 2).

No âmbito de efeitos crônicos, a toxicidade advém da degradação dos glicóis, que leva à formação de metabólitos como glicolaldeído, glicolato, glioxilato e oxalato (Vale, 1979; Wiener e Richardson, 1989), cujo acúmulo leva à acidose, estado que se caracteriza pela diminuição real ou relativa de álcalis nos fluidos corporais em relação ao conteúdo ácido. O aumento do ácido oxálico no rim causa acúmulo de oxalato de cálcio, sólido que bloqueia o processo de filtração e pode levar à falência renal. Na sequência aos danos renais, surgem efeitos de nefrotoxicidade e neurotoxicidade (Jacobsen et al. 1988). Entre outros efeitos, foi demonstrado que os glicóis (MEG e DEG) afetam a fertilidade e a viabilidade fetal em camundongos e ratos, a função reprodutiva masculina em camundongos e a duração gestacional em ratas (Harris et al., 1992; Lamb et al., 1985; Morrissey et al., 1989; Price et al., 1985).

Tabela 2 – Testes de toxicidade crônica (em ratos) referentes à ingestão oral de DEG (ratos).

Experimento	Dose mg/kg/dia	Efeito
Grupos de 15 ratos alimentados com dietas variáveis, 255 dias ⁽¹⁾	50	Nenhum efeito
	100	Aumento de ácido oxálico na urina
	300	Alteração no rim e composição da urina
DEG na água por 14-17 semanas ⁽²⁾	50	Efeito na coagulação sanguínea e resposta imune

Fontes: BIBRA (1976), Huber et al. (1986).

A ATSDR (2010) estabeleceu o NOAEL de 1,5 mg/kg/dia para o MEG. O limite foi definido com base num NOAEL de 150 mg/kg/dia advindo de testes com ratos, ao qual foi acrescentado um fator de incerteza de 100 (sendo 10 para a extrapolação de rato para humano e 10 para a variabilidade humana).

Os dados de toxicidade crônica para álcoois superiores são ainda escassos. Há resultados experimentais publicados apenas para o álcool isoamílico, para o qual foi proposto o NOAEL de 1000 mg/kg/dia (OCDE SIDS, 2004, Carpanini et al., 1973). A partir dessa referência, Lachenmeyer et al. (2008) estimaram os limites de 1538 mg/kg/dia e 1892 mg/kg/dia para o n-propanol e o isobutanol, respectivamente. Aplicando o fator de 100, tal como proposto para o etilenoglicol pela ATSDR (2010), chegam-se aos referenciais de 15,4 mg/kg/dia para o n-propanol, 18,9 mg/kg/dia para o isobutanol e 10,0 mg/kg/dia

para o álcool isoamílico. Esses valores permitem estimar que os riscos de toxicidade crônica do MEG e DEG sejam dez a vinte vezes superiores aos dos álcoois superiores.

3.2 MEG e DEG em cervejas brasileiras

Caldeira et al. (2021) analisaram MEG e DEG em 701 amostras de cervejas brasileiras. Segundo os autores, os glicóis foram detectados em oito por cento das amostras analisadas, com teores variando de 15 a até acima de 5000 mg/L. Azevedo et al. (2023) dosaram o teor de DEG em 28 amostras de cervejas brasileiras, dentre as quais apontaram apenas três amostras contaminadas. Em ambos os trabalhos, as amostras contaminadas foram identificadas como provenientes do acidente de contaminação ocorrido em 2020. Em princípio, são resultados tranquilizadores. No entanto, face ao grande número de produtores de cerveja no Brasil, pode-se inferir que muitas marcas ainda não foram avaliadas quanto à ocorrência de MEG e DEG.

Há necessidade de mais estudos e novas abordagens, tanto para prevenção de contaminações externas (acidentais ou intencionais) como espontâneas (inerentes ao processo). É indispensável que se definam padrões seguros para a fabricação das dornas (sem riscos de vazamentos internos) assim como procedimentos rotineiros para certificar a ausência de vazamentos. Lotes de agentes de resfriamento destinados à indústria alimentícia precisam ser analisados e certificados. Leveduras selecionadas e cepas destinadas a efeitos sensoriais peculiares devem ter certificado específico afeto aos metabólitos secundários. Os produtores não devem negligenciar a possibilidade de ativação de vias metabólicas incomuns em face de condições peculiares da matéria-prima e do do processo de produção.

4. Conclusão

Com base em publicações efetuadas nas quatro últimas décadas, deve-se admitir a possibilidade de ocorrência espontânea dos glicóis MEG e DEG em cervejas, advindos do metabolismo das próprias leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Além disso, esses glicóis podem ocorrer como contaminantes acidentais, quando usados na composição do líquido de refrigeração dos tanques de fermentação/maturação da bebida. Efeitos agudos e até letais são raros, mas podem advir de contaminações exógenas. Por outro lado, pode-se questionar a possibilidade de associação de MEG e DEG com efeitos progressivos associados ao consumo acentuado e continuado da cerveja. Face aos hábitos brasileiros de consumo de cerveja, são questões que demandam atenção no mínimo equivalente à aplicada aos vinhos nos países europeus.

Referências

- Alkim, C., Cam, Y., Trichez, D., Auriol, C., Spina, L., Vax, A., Bartolo, F., Besse, P., François, J. M. & Walther, T. (2015). Optimization of ethylene glycol production from (D)-xylose via a synthetic pathway implemented in *Escherichia coli*. *Microb. Cell. Fact.*, 14: 127. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0312-7>
- Anon. (2010). Soil and groundwater remediation guidelines for ethylene glycol and triethylene glycol. Canada, Government of Alberta.
- Atatoprak, T., Amorim, M. M., Ribeiro, T., Pintado, M. & Madureira, A. R. (2007). Grape stalk valorization for fermentation purposes. *Food Chem. Molec. Sci.*, 4: 100067. [10.1016/j.fochms.2021.100067](https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100067)
- ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2010). Toxicological profiles for ethyleneglycol. <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp96-p.pdf>
- Azevedo, M. M., Miranda, L. D. L., Queiroz, M. E. L. R., Oliveira, A. F., Pereira, A. F., Neves, A. A. & Silva, T. L. R. (2023). Low-temperature partitioning: a simple screening method for determining diethylene glycol in beer by gas chromatography. *J. Braz. Chem. Soc.*, 34(3): 452-460. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220123>
- BIBRA - British Int. Biol. Res. Association. (1976). Studies of the toxicity of diethyleneglycol in rats. BIBRA Int. Report #5/1976
- Caldeira, L. R., Madureira, F. D., Maia, T. F., Muller, C. V. & Fernandes, C. (2021). Simultaneous quantification of ethylene glycol and diethylene glycol in beer by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 346: 128871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128871>
- Carpannini, M. B., Kiss, G. I. F., Grasso, P., & Gamgoli, S. D. (1973). Short-term toxicity of isoamyl alcohols in rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, 11: 713-724.

- Chen, Z., Huang, J., Wu, Y. & Liu, D. (2016). Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for the de novo production of ethylene glycol from glucose. *Metab. Eng.*, 33: 12–18. 10.1016/j.ymben.2015.10.013
- EC-SCCP – Scientific Committee on Consumer Products (2008). Opinion on Diethyleneglycol. SCCP/1181/08. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/risk_en.htm
- Gomes, R., Liteplo, R. G. & Meek, M. E. (2002). Ethylene glycol: human health aspects. WHO, World Health Org. & Intern. Progr. Chem. Saf. Org. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42530>.
- Harris, M. W., Chapin, R. E. & Lockhart, A. C. (1992). Assessment of a short-term reproductive and developmental toxicity screen. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 19 (2):186-196. 10.1016/0272-0590(92)90150-g.
- Hassen, M. & Chotya, Y. (2018). Unintentional diethylene glycol poisoning following the consumption of a shared alcoholic beverage. *African J. Nephrology*, 21(1): 8-11. <https://doi.org/10.21804/21-1-2776>
- Holman, J. P. (2002). Heat Transfer. (9a ed.), McGraw-Hill. p. 600–606.
- Huber, H. C. & Ritter, U. (1986). [Diethyleneglycol. Effects of experimental long-term exposure]. *Fortschritte der Medizin*, 104: 268-270.
- Islam, Z. U., Klein, M., Abkamp, M. R., Odum, A. S. R. & Nevoigt, E. (2017). A modular metabolic engineering approach for the production of 1,2-propanediol from glycerol by *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab. Eng.*, 44: 223-235. 10.1016/j.ymben.2017.10.002
- JEB – J. Ed. Brasil (2021). Brasil é o terceiro país que mais consome cerveja no mundo. 11/06/2021. <https://edicaodobrasil.com.br/2021/06/11/brasil-e-o-3o-pais-que-mais-consome-cerveja-no-mundo/>
- Jung, J. Y., Yun, H. S., Lee, J., Oh, M. K. (2011). Production of 1,2-propanediol from glycerol in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 846-853. 10.4014/jmb.1103.03009.
- Kaiser, R. E. & Rieder, R. I. (1987). Native ethylene glycol in wine: application of a dead volume free, very fast “deans heart-cut” system on-line with multi-chromatography. *J. High Resolution. Chromat.*, 10 (5): 240-243. <https://doi.org/10.1002/jhrc>.
- Kuyper, M., Hartog, M. M., Toirkens, M. J., Almering, M. J., Winkler, A. A., Dijken, J. P. & Pronk, J. T. (2005). Metabolic engineering of a xylose-isomerase-expressing *Saccharomyces cerevisiae* strain for rapid anaerobic xylose fermentation. 10.1016/j.femsyr.2004.09.010 FEMS Yeast Res. 5, 399-409.
- Lamb, J. C., Maronpot, R. R. & Gulati, D. K., Russell, V. S., Barnes, L. H. & Sabharwal, P. S. (1985). Reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 81(1):100-112. 10.1016/0041-008x(85)90125-5.
- Liu, H., Ramos, K. R. M., Valdehuesa, K. N. G., Nisola, G. M., Lee, W. K. & Chung, W. J. (2013). Biosynthesis of ethylene glycol in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97: 3409–3417. 10.1007/s00253-012-4618-7.
- Maia, A. B. (1992). Fermentação alcoólica em *Saccharomyces cerevisiae*: desenvolvimento de um novo sistema contínuo e novas concepções sobre a formulação de meios. Belo Horizonte, UFMG, 1992. (tese dout.)
- Maia, A. B.; Marinho, L. S. & Nelson, D. L. (2020). On the role of higher alcohols in the characterization of cachaça. *Res. Soc. Develop.* 10.33448/RSD-V9I10.9135.
- Morrissey, R. E., Lamb, J. C., Morris, R. W., Chapin, R. E., Gulati, D. K. & Heindel, J. J. (1989). Results and evaluations of 48 continuous breeding reproduction studies conducted in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 13(4):747-777. 10.1016/0272-0590(89)90332-1
- OIV – Org. Intern. Vigne Vin (2021). State of the world vitivinicultural sector in 2020. <https://www.oiv.int/public/medias/7909/oiv-state-of-the-world-vitivinicultural-sector-in-2020.pdf>
- Opdyke, D. L. J. (1979) Triethylene Glycol. *Food Cosmet. Toxicol.*, 17: 913-16.
- Patocka, J. & Kuca, K. (2012). Toxic alcohols: aliphatic saturated alcohols. *Mil. Med. Sci. Lett.* 81(4): 142-163. 10.31482/mmsl.2012.022
- Pereira, B., Li, Z. J., De Mey, M., Lim, C. G., Zhang, H., Hoeltgen, C. & Stephanopoulos, G. (2016). Efficient utilization of pentoses for the bioproduction of renewable two-carbon compounds, ethylene glycol and glycolate. *Metab. Eng.* 34, 80-87. 10.1016/j.ymben.2015.12.004
- Price, C. J., Kimmell, C. A., Tyl, R. W. & Marr, M. C. (1985). The developmental toxicity of ethylene glycol in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 81(1):113-127. 10.1016/0041-008x(85)90126-7.
- Ramos, G. C. B. & Pandolfi, C. (2019). A evolução do mercado de cervejas artesanais no Brasil. *Rev. Interf. Tecnológica*, 16 (1): 480–488. <https://revista.fatectq.edu.br/interfacetecnologica/article/view/591>.
- Salusjarvi, L., Toivari, M., Vehkomaki, M. L., Koivistoinen, O., Mojzita, D., Niemela, K., Penttila, M. & Ruohonen, L. (2017). Production of ethylene glycol or glycolic acid from D-xylose in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 101: 8151-8163. 10.1007/s00253-017-8547-3.
- Song, H., Jin, R., Kang, M. & Chen, J. (2013). Progress in synthesis of ethylene glycol through C1 chemical industry routes. *Chinese J. Catal.*, 34: 1035-1050. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(12\)60529-4](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(12)60529-4)
- Spigno, G., Pizzorno, T. & Faveri, D. M. (2008). Cellulose and hemicelloses recovery from grape stalks. *Bioresour Technol.*, 99 (10): 4329-4337. 10.1016/biortech.2007.08.044
- Uchiyama, S., Kawamura, Y., Maitani, T., Suzuki, T., Ishizaka, T. & Saito, Y. (1986). Determination of diethylene glycol in wine by use of an extrelut column. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 27 (3): 283-287.

Uranukul, B., Woolston, B. M., Fink, G. R. & Stephanopoulos, G. (2019). Biosynthesis of monoethyleneglycol in *S. cerevisiae* utilizing native glycolytic enzymes. *Metabolic Eng.*, 51: 20-31. 10.1016/j.ymben.2018.09.012.

Vale, J. A. (1979). Ethylene glycol poisoning. *Vet. Hum. Toxicol.*, 21:118-120.

Van Maris, A. J., Winkler, A. A., Kuyper, M., Laat, W. T., Dijken, J. P., Pronk, J. T. (2007). Development of efficient xylose fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*: xylose isomerase as a key component. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 108: 179-204.

Wang, Y., Xian, M., Feng, X., Liu, M. & Zhao, G. (2018). Biosynthesis of ethyleneglycol from d-xylose in recombinant *Escherichia coli*. *Bioengineered*, 9 (1): 233-241. Doi 10.1080/21655979.2018.1478489.

Werkhoff, P. & Bretschneider, W. (1986). [Gas chromatographic determination of diethylene glycol in wine, grape juice and grape-juice concentrates]. *Z Lebensm Unters Forsch*, 182 (4): 298-302.

Wiberg, G. S., Trenholm, H. L. & Coldwell, B. B. (1970). Increased ethanol toxicity in old rats: changes in LD50, in vivo and in vitro metabolism, and liver alcohol dehydrogenase activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 16:718-727.

Wiener, H. L. & Richardson, K. E. (1989). The metabolism and toxicity of ethylene glycol in male rats. *Biochem. Pharmacol.*, 38 (3): 539-541. 10.1016/0006-2952(89)90396-1