

Avaliação da composição química e do potencial de inibição do óleo fúsel frente a diferentes microrganismos

Evaluation of chemical composition and inhibition potential of fusel oil against different microorganisms

Evaluación de la composición química y el potencial de inhibición del aceite de fusel contra diferentes microorganismos

Recebido: 02/07/2020 | Revisado: 10/07/2020 | Aceito: 13/07/2020 | Publicado: 27/07/2020

Maria do Socorro Mascarenhas Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5343-4502>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: maria_mascarenhas@outlook.com

Thiago Luis Aguayo de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8127-1990>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: thiagoaguayo@gmail

Margareth Batistote

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9865-2362>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: margareth@uems.br; margobatistote@gmail.com

Claudia Andrea Lima Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4907-0056>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: claudia@uems.br; claudiacardosouems1@gmail.com

Resumo

O controle da contaminação no processo fermentativo é fundamental para garantir a produtividade. Para minimizar a carga de contaminantes são feitos o tratamento ácido e a adição de antibióticos. Entretanto, no próprio processo de produção de etanol, são formados outros álcoois que resultam em uma mistura conhecida como óleo fúsel que pode ser empregado para minimizar a contaminação. Assim, este estudo visa analisar amostras de óleo fúsel, caracterizar e avaliar o potencial de inibição desta substância frente a diferentes microrganismos. Inicialmente, foi realizado um levantamento bibliográfico para identificar as

biomassas e compreender as etapas de formação do óleo fúsel. Concomitantemente, foram analisadas amostras de óleo fúsel com relação aos parâmetros físico-químicos e a composição química. O potencial de inibição do óleo fúsel foi avaliada com o teste do halo de inibição utilizando as leveduras Catanduva-1 (Cat-1) e FT-858 e as bactérias *Salmonella tiffi* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Stafilococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus sp.* A produção de óleo fúsel está diretamente relacionada com o metabolismo das leveduras. As amostras apresentaram diferenças nos parâmetros físico-químicos e ambas apresentaram alto teor de álcool isoamilico. As bactérias apresentaram sensibilidade ao óleo fúsel demonstrando que este subproduto pode ser usado como agente antisséptico e antibacteriano.

Palavras-chave: Processo industrial; Álcoois superiores; Metabolismo; Antisséptico.

Abstract

The control of contamination in the fermentation process is essential to ensure productivity. To minimize the load of contaminants, acid treatment and the addition of antibiotics are carried out. However, in the ethanol production process itself, other alcohols are formed that result in a mixture known as fusel oil that can be used to minimize contamination. Thus, this study aims to analyze fusel oil samples, characterize and evaluate the inhibition potential of this substance against different microorganisms. Initially, a bibliographic survey was carried out to identify the biomass and understand the stages of formation of fusel oil. Concomitantly, samples of fusel oil were analyzed with respect to physical-chemical parameters and chemical composition. The inhibition potential of fusel oil was evaluated with the inhibition halo test using the yeasts Catanduva-1 (Cat-1) and FT-858 and the bacteria *Salmonella tiffi* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Stafilococcus aureus* (ATCC 25923) and *Bacillus sp.* The production of fusel oil is directly related to yeast metabolism. The samples showed differences in physical-chemical parameters and both had a high content of isoamyl alcohol. The bacteria showed sensitivity to fusel oil demonstrating that this by-product can be used as an antiseptic and antibacterial agent.

Keywords: Industrial process; Higher alcohols; Metabolism; Antiseptic.

Resumen

El control de la contaminación en el proceso de fermentación es esencial para garantizar la productividad. Para minimizar la carga de contaminantes, se lleva a cabo el tratamiento con ácido y la adición de antibióticos. Sin embargo, en el proceso de producción de etanol en sí, se forman otros alcoholes que dan como resultado una mezcla conocida como aceite de fusel

que puede usarse para minimizar la contaminación. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo analizar muestras de aceite de fusel, caracterizar y evaluar el potencial de inhibición de esta sustancia contra diferentes microorganismos. Inicialmente, se realizó una encuesta bibliográfica para identificar la biomasa y comprender las etapas de formación del aceite de fusel. Al mismo tiempo, se analizaron muestras de aceite de fusel con respecto a los parámetros físico-químicos y la composición química. El potencial de inhibición del aceite de fusel se evaluó con la prueba de halo de inhibición utilizando las levaduras Catanduva-1 (Cat-1) y FT-858 y la bacteria *Salmonella tiffi* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Stafilococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus sp.* La producción de aceite de fusel está directamente relacionada con el metabolismo de la levadura. Las muestras mostraron diferencias en los parámetros físico-químicos y ambas tenían un alto contenido de alcohol isoamílico. La bacteria mostró sensibilidad al aceite de fusel, lo que demuestra que este subproducto puede usarse como agente antiséptico y antibacteriano.

Palabras clave: Proceso industrial; Alcoholes superiores; Metabolismo; Antiséptico.

1. Introdução

Nas últimas décadas várias tecnologias foram incorporadas ao setor sucroenergético trazendo melhorias significativas para toda a cadeia produtiva do etanol. Estes avanços permitiram a obtenção de índices mais expressivos de eficiência e rendimento deste biocombustível, o que implica em um produto mais competitivo em termos econômicos (de Carvalho, Antunes, Freire, 2016). Os principais avanços estão relacionados ao substrato, com o desenvolvimento de variedades de canas mais produtivas com maior conteúdo de sacarose, a seleção de microrganismos mais eficientes para a conversão dos açúcares e com alta capacidade de resistência ao processo, bem como a produção de outras substâncias químicas aumentando o portfólio de produtos advindos do processo fermentativo e que possuam valor agregado (Pereira et al., 2014).

Neste contexto, as pesquisas utilizando leveduras estão sendo amplamente realizadas, principalmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae* (Borneman & Pretorius, 2015). A *S. cerevisiae* é um organismo teste utilizado no desenvolvimento de pesquisas principalmente na área biotecnológica, por apresentarem características específicas que possibilitam a obtenção de produtos e processos diversos. As leveduras são exímias produtoras de inúmeras substâncias e possuem habilidade de converter vários substratos, além da alta capacidade de multiplicação e fácil conservação (Stribny et al., 2015).

As *S. cerevisiae* são utilizadas em processos, tais como fermentações alimentares, produção de vinho, de cerveja ou panificação, na produção de etanol combustível e de produtos de interesse industrial como substâncias aromáticas, incluindo álcoois superiores, ácidos graxos, acetatos, ésteres etílicos e carbonilos, entre outros (Cordente et al., 2012; Mouret et al., 2014; Nedovic´ et al., 2015). A produção dessas substâncias está diretamente relacionada com os nutrientes presentes nos substratos, no entanto, a variação da concentração destes substratos pode interferir nas rotas metabólicas da levedura e porventura ocorrer à produção de outras substâncias em detrimento ao etanol (Dzialo et al., 2017). De fato, estes microrganismos são considerados como biofábricas de substâncias, pois possuem vias que sintetizam o substrato por meio de biocatálise formando produtos naturais como os álcoois superiores, os quais são um exemplo de formação de substâncias químicas pelo metabolismo das leveduras através da via de Ehrlich (Gamero et al., 2015, Stribny et al., 2015, Styger et al., 2011).

Os álcoois superiores são substâncias alifáticas de cadeia com mais de três átomos de carbono com resíduos secundários ramificados ou aromáticos. São também conhecidos como álcool fúsel que são álcoois voláteis com massa molecular e ponto de ebulição mais altos que o etanol (Cordente et al., 2019). Devido às suas propriedades químicas úteis, os álcoois superiores podem ser aplicados desde a produção de combustíveis alternativos até à aromatização de produtos em indústrias alimentícias (Nozzi et al., 2014).

Entretanto, no ambiente industrial pode haver a presença de outros microrganismos que podem afetar de forma direta o andamento do processo. Um bom exemplo são as bactérias que representam um gargalo nos processos industriais principalmente no processo fermentativo. Em geral, dos microrganismos presentes no meio fermentativo estão presentes na própria matéria-prima ou no solo (Magnani et al., 2010). Neste ambiente podem ser encontradas uma diversidade de bactérias, como os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Satphylococcus* e *Micrococcus* e fúngicos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus* segundo Pillai et al. (2011).

O processo fermentativo é susceptível a contaminação. A microbiota nativa pode causar sérios prejuízos à fermentação em virtude da secreção de substâncias tóxicas comprometendo o rendimento e a viabilidade celular das leveduras selecionadas. O controle desses contaminantes se constitui como um dos principais interesses do setor sucroenergético. Dentre os contaminantes que podem ser encontrados no meio fermentativo estão o *Lactobacillus sp* (45,0%), *Leuconostoc mesenteroides* (14,4%), *Bacillus sp* (9,5%), *Acetobacter sp* (7,4%), *Enterobacter sp* (6,7%), *Sporolactobacillus sp* (3,6%), *Pseudomonas*

fluorescens (1,3%), *Escherichia coli* (1,3%) e *Citrobacter sp* (0,5%), principalmente o gênero *Lactobacillus* e *Bacillus* com destaque para *L. fermentum* (Freitas & Romano, 2013; Naves et al., 2010).

Neste sentido, minimizar a contaminação é fundamental durante o processo de fermentação e o uso de tratamento ácido e aplicação de antibióticos são as formas empregadas usuais nas usinas. Tais procedimentos causam efeitos indesejáveis como floculação, perda de rendimento, resistência bacteriana, custo elevado e contaminação ambiental (Carvalho-Netto et al., 2015). Assim, a busca por novas substâncias bactericidas oriundas do próprio processo seria uma alternativa, visando reduzir a resistência bactéria e a utilização de ácidos os quais resultam em resíduos e são tóxicos. Diante do exposto, este estudo visa analisar amostras de óleo fúsel, caracterizar e avaliar a seu potencial de inibição frente a diferentes microrganismos, para uso como agente antisséptico ou mesmo antibacteriano no próprio processo de produção de etanol.

2. Metodologia

2.1. Amostras de óleo fúsel

As amostras de óleo fúsel foram obtidas de usinas da Região da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul/Brasil e foram denominadas como amostras (A1 e A2), uma vez que foram obtidas de usinas diferentes.

2.2. Identificação de biomassas e o processo de produção do óleo fúsel

Foi realizada uma pesquisa exploratória qualitativa em base de dados digitais, nos quais foram selecionados artigos científicos de relevância às biomassas que podem ser utilizadas na produção de etanol e obtenção de óleo fúsel. Para tanto, foi realizada uma busca em artigos relacionados com o tema, os quais deram respaldo para a elaboração de um esquema representativo das biomassas e as etapas do processo.

2.3. Avaliação físico-químicas

A caracterização das amostras foi realizada pela análise dos parâmetros físico-químicos tais como pH (pHmetro modelo MPA-210, VERSÃO 2.0), condutividade elétrica

(condutivímetro modelo LUCA-150MC, VERSÃO 7.0), turbidez (turbidímetro TB-1000) e a cor por análise visual. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4. Preparo e análise das substâncias majoritárias

As amostras foram centrifugadas em tubos Falcon de 15 mL por 10 min e filtradas em ultrafiltro de 0,45 µm. Posteriormente foram analisadas utilizando um Cromatógrafo a Gás (CG-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão), acoplado a um espectrômetro de massas (CG-MS Ultra 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), conforme metodologia descrita por Santos et al. (2020).

2.5. Microrganismos utilizados

As leveduras avaliadas neste estudo foram as linhagens industriais Catanduva-1 (Cat-1) e FT-858. As bactérias utilizadas foram *Salmonella tiffi* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Stafilococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus sp.* Os microrganismos foram concebidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia, Bioquímica e Biotransformação do Centro de Estudos em Recursos Naturais da UEMS/Dourados.

2.6. Teste do halo de inibição frente amostras óleo fúsel em diferentes microrganismos

As leveduras (0,10g) foram previamente crescidas em meio líquido YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) 2% contendo (1% de peptona e extrato de levedo e 2% de glicose) estéril e incubadas em shaker a 30°C por 10 horas a 250rpm, após este período foram diluídas em solução salina (0,85% estéril) e a turvação do inóculo foi comparada visualmente com a escala de 0,5 de MacFarland, com o auxílio de um *swab* o inóculo foi espalhado uniformemente sobre a superfície da placa de Petri contendo o meio YPD 2% sólido (1% de peptona e extrato de levedo e 2% de glicose e Agar). As bactérias foram crescidas no meio líquido de Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e incubadas por 24 horas na temperatura de 37°C. Para a realização do teste, 1,0 mL da cultura bacteriana foram adicionadas em placa de Petri contendo o meio sólido Müeller Hinton e espalhadas com o auxílio de um *swab*.

Com uma micropipeta foram adicionados 10 µL das amostras de óleo fúsel nos disco de papel que em seguida foram aplicados com uma pinça estéril sobre a placa e incubadas a 30°C para as leveduras e 37°C para as bactérias por 24 horas. Para o controle negativo, foi utilizado água destilada estéril e para o controle positivo os padrões (PA) de álcool isoamilico

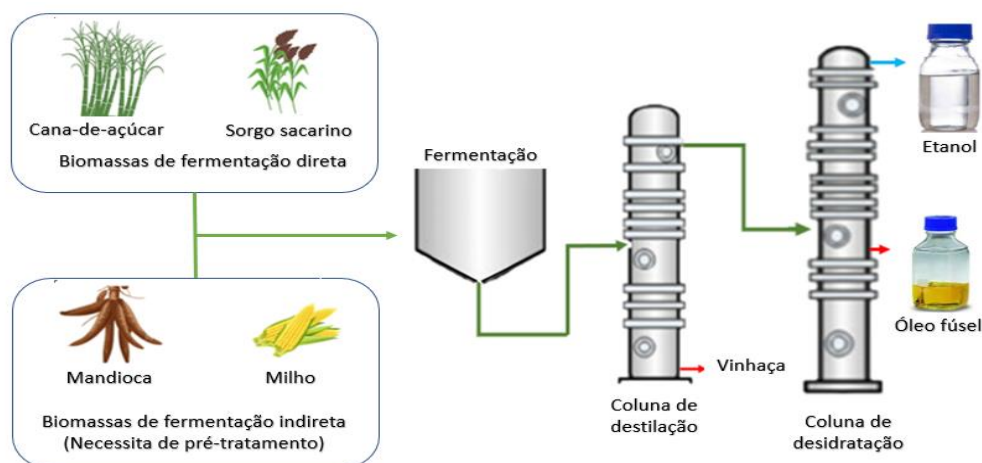
e 1-butanol, os quais estão presentes nas amostras e também foram utilizados os discos contendo antibióticos para as respectivas bactérias, utilizado a Amicacina para as bactérias *Salmonella tiffi* e *Escherichia coli*, Cefuroxina para *Staphylococcus aureus* e Cloranfenicol para *Bacillus sp.* Após o período de incubação, as placas foram avaliadas quanto à presença de halo de inibição, que foi mensurado utilizando um paquímetro para determinar o diâmetro do disco. Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram analisados com o software Excel 2016 com média seguida de desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

As etapas de produção de etanol a partir de diferentes biomassas estão apresentadas na Figura 1. Pode-se observar que as biomassas podem tanto ser de fermentação indireta, sendo necessário um pré-tratamento que possibilite a fermentação, como o milho e a mandioca; como de fermentação direta como a cana-de-açúcar e o sorgo sacarino. Tais biomassas possuem açúcares fermentescíveis que dentro do processo de produção industrial de etanol são biotransformados pelas leveduras nas dornas de fermentação, resultando em uma mistura de leveduras e um fermentado que recebe o nome de vinho levedurado. Esta mistura é separada das leveduras e segue para as torres de destilação (coluna A) e posteriormente segue para a retificação (coluna B), nesta etapa, são separados e recuperados o etanol e os álcoois superiores ou óleo fúsel como é mais conhecido.

De acordo com Chaves & Gomes (2014), a produção de etanol se dá a partir da utilização de biomassas diversas como as celulósicas, sacarinas ou amiláceas, contanto que possuam carboidratos que possam ser tratados e fermentados tais como, milho, plantas oleaginosas, cana-de-açúcar, entre outras. No processo de fermentação são produzidos o etanol, além de outras substâncias como os álcoois superiores, que são formados pelo metabolismo das leveduras, também conhecido como óleo fúsel (De Silva et al., 2020). Conforme Ferreira, Meirelles & Batista (2013), o óleo fúsel é um subproduto do setor sucroalcooleiro que ainda é pouco explorado. O óleo fúsel foi caracterizado por Ferreira (2012), como um líquido oleoso com odor que lembra a fermentação. Assim, pode-se inferir que se trata de uma mistura hidroalcolica oriunda do metabolismo das leveduras e que está intrínseca à produção de etanol.

Figura 1. Biomassas que podem ser utilizadas para o processo de produção de etanol e óleo fúsel.



Fonte: Adaptada pelos autores de Santos, Cardoso & Batistote (2019).

A avaliação físico-química das amostras de óleo fúsel obtidas das usinas da Região da Grande Dourados mostrou diferenças entre as amostras. Em relação ao pH, ocorreu variação, a amostra A2 apresentou pH ácido de 3,5 e sua turbidez foi mais intensa quando comparada a amostra A1. A condutividade foi maior para amostra A1 de 3,11 (mS cm) e a cor variou de branco a amarelo (Tabela 1).

O óleo fúsel é um líquido de cor amarelada ou esverdeada clara, com odor forte que lembra a fermentação, com ponto de ebulição entre 75 e 134°C, inflamável, oriundo da fermentação (Şimşek, Özdalyan & Saygin, 2018). Na composição do óleo fúsel podem ser encontrados diferentes álcoois, entretanto, a quantidade de óleo fúsel produzida depende da composição do substrato, da origem da matéria-prima, em relação a disponibilidade de nutrientes a ser metabolizado pela levedura (Calam et al., 2015). A produção pode variar, em torno de 2,5 L para cada 1000 L de etanol (Awad et al., 2016), dependendo dos ajustes técnicos da usina. Contudo esta substância ainda é pouco explorada.

Tabela 1. Avaliação físico-química de amostras de óleo fúsel

Parâmetros físico-químicos	Amostras	
	A1	A2
pH	5,03 ± 0,23	3,5 ± 0,14
Condutividade (mS cm)	3,11 ± 0,19	1,95 ± 0,11
Turbidez (NTU)	194 ± 2	246 ± 3
Cor	Branca	Amarela

Valores apresentando Média ± Desvio padrão. Fonte: Elaborada pelos autores

A análise de substâncias majoritárias do óleo fúsel mostrou que as amostras são similares em relação à composição, porém, apresentaram teores diferentes como o 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico) para a amostra A1 foi de 73,58%, enquanto na A2 foi de 77,14%, sendo esta a substância encontrada em maior quantidade nas amostras de óleo fúsel (Tabela 2).

O óleo fúsel é uma mistura de álcool isoamílico, álcool isobutílico e propanol, o álcool isoamílico é o principal componente de acordo com Bergmann et al. (2018). O álcool isoamílico com alto grau de pureza pode ser utilizado em diferentes processos, tais como na síntese do butirato de isoamila, que apresenta sabor de banana e é muito utilizado na indústria de alimentos (Bansode & Rathod, 2014; Calam et al., 2015) e na obtenção do acetato de isoamila que pode ser utilizado como flavorizante, pois apresenta odor agradável de frutas e, ainda, como matéria-prima na fabricação de cosméticos, materiais de limpeza e como fixador de perfumes (McGinty et al., 2010). Os álcoois superiores podem ser utilizados em outros processos e entrar na composição de vários produtos industrializados, como exemplo o 2-feniletanol empregado em perfumes e cosméticos, o butanol em tintas e vernizes e o 1-propanol em produtos farmacológicos Dzialo et al. (2017).

Ademais, a produção de óleo fúsel está diretamente relacionada com às características genéticas das linhagens de leveduras utilizadas no processo de fermentação, e a variação na composição é influenciada pelas características do substrato e pela condução do processo (Moreira, Netto & De Maria, 2012).

Tabela 2. Os teores médios das substâncias presentes nas amostras de óleo fúsel.

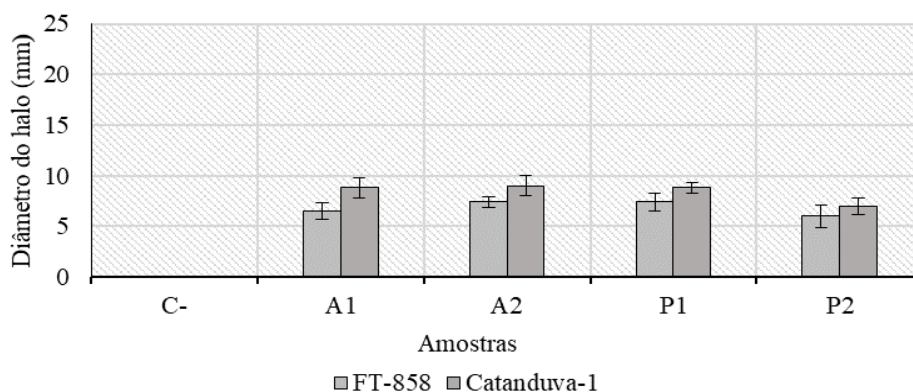
Tempo de retenção (min)	Substâncias	Abundância relativa (%) *	
		A1	A2
1,70	Etanol	0,29±0,01	0,31±0,01
1,93	1-propanol	1,07±0,09	1,37±0,06
2,25	2-metil-1-propanol (álcool isobutílico)	4,47±0,12	3,17±0,05
2,45	1-butanol	7,58±0,13	7,71±0,80
4,22	3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	73,58±0,34	77,14±0,29

* Valores apresentando Média ± Desvio padrão. Fonte: Elaborada pelos autores.

Na avaliação do teste de halo de inibição utilizando leveduras industriais foi observado um perfil semelhante em relação à presença de halo entre as amostras. Notadamente a levedura FT-858 apresentou halos de 6,5 mm para a amostra A1, 7,4 mm tanto para a amostra A2 como para o controle positivo P1 já para o P3 o diâmetro do halo foi de 6,0 mm. Enquanto

que a levedura Catanduva-1 apresentou halos mais expressivos de 8,8 mm para a amostra A1 e P1, 9,0 mm para a A2 e 7,0 mm para a P3 (Figura 2). Os dados sugerem que a levedura FT-858 seja mais resistente as substâncias presentes nas amostras.

Figura 2. Teste do halo inibição em leveduras frente às amostras óleo fúsel.



Controle negativo (C-); Amostras de óleo fúsel (A1 e A2) e os padrões álcool isoamílico (P1) e 1-butanol (P2). Fonte: Elaborado pelos autores.

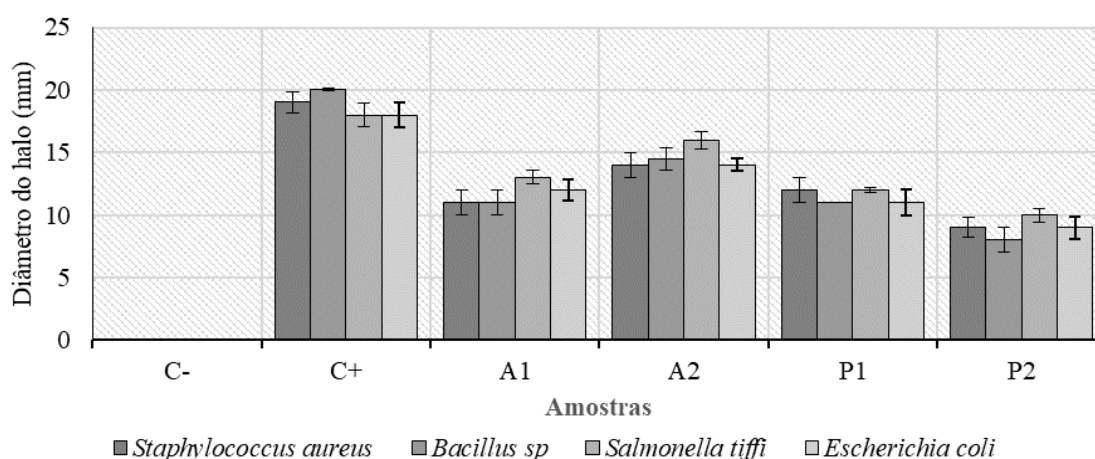
A avaliação da susceptibilidade das bactérias em relação às amostras de óleo fúsel, para as substâncias foi observada a presença de halo de inibição (Figura 3). A amostra A2 de óleo fúsel apresentou halos mais efetivos com 14 mm para *Staphylococcus aureus*, 14,5 mm para *Bacillus* sp, 16 mm para a *Salmonella tiffi*, 14 mm para *Escherichia coli*. Para as demais amostras as bactérias apresentaram halos menores que 12,5 mm de diâmetro. Possivelmente a ação sinérgica das substâncias presentes na amostra A2 tenha apresentado um potencial de inibição mais elevado para as bactérias. Ademais, foi observado que os halos da amostra A2 ficaram próximos aos halos de inibição dos antibióticos de referência, os quais foram utilizados como controle positivo. Esta ação pode também ser explicada com base na análise química que revelou que esta amostra apresentou teor mais elevado de álcool isoamílico e 1-butanol.

As bactérias podem apresentar resistência a substâncias antimicrobianas por meio dos mecanismos fisiológicos que podem ser tanto intrínsecos como extrínsecos ou adquiridos, sendo que nos intrínsecos a complexidade da parede celular deve ser levada tendo em vista que as bactérias podem ser Gram-positivas ou Gram-negativas (Blair et al., 2015). As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus* sp Gram-positivas, enquanto as *Salmonella tiffi* e *Escherichia coli* são classificadas como Gram-negativas que de acordo com relatos da literatura possuem certa tolerância a antibactericidas e antimicrobianos, ou seja, apresentam maior resistência a certas substâncias, por possuírem uma parede celular mais espessa. A

membrana externa das bactérias Gram-negativas limita a ação de vários antibióticos o que os torna ineficientes, contudo, nem todos os antibióticos apresentam eficiência para os grupos Gram de bactérias, conforme salienta Randall et al. (2013).

Os mecanismos de resistência adquiridos pelas bactérias podem ser amplamente classificados, notadamente, isso porque as bactérias podem sofrer mutações que resultam em alterações das estruturas celulares e inibir o efeito do antibiótico (Redgrave et al., 2014), tal resistência pode resultar em múltiplos mecanismos que podem ser herdados por via de transmissão vertical do material genético ou transmissão horizontal por meio de plasmídeo (Hughes & Webber, 2017); em segundo lugar, as bactérias são capazes de produzir enzimas que podem inativar ou modificar o antibiótico (Zhao & Hu, 2013) e em terceiro, as bactérias podem impedir o acesso dos antibióticos ao seu alvo, regulando o nível de atividade de efluxo da célula ou reduzindo a permeabilidade da membrana celular (Masi et al., 2017).

Figura 3. Teste do halo inibição em bactérias frente às amostras de óleo fúsel.



Controle negativo (C-); controle positivo (C+); Amostras de óleo fúsel (A1 e A2) e os padrões álcool isoamilico (P1) e 1-butanol (P2). Fonte: Elaborado pelos autores.

O óleo fúsel pode ser uma fonte promissora para ser utilizado como um agente antimicrobiano. Salienta-se ainda que este produto do processo de produção do etanol, apresenta diferentes álcoois que o compõem evidenciando diferentes possibilidades de uso deste subproduto.

4. Considerações Finais

O óleo fúsel é obtido durante o processo de destilação do etanol e a sua produção está intrinsecamente relacionada com o metabolismo das leveduras. A caracterização físico-química mostrou diferenças entre as amostras e apresentou em sua composição diferentes álcoois, sendo que o álcool isoamilico foi encontrado em maior abundância.

A levedura FT-858 apresentou menor sensibilidade frente às amostras de óleo fúsel. As bactérias apresentaram sensibilidade ao óleo fúsel e o diâmetro dos halos formados pela amostra A2 foram mais expressivos. Este resultado mostra o potencial de inibição do óleo fúsel demonstrando também a possibilidade da sua utilização como agente antisséptico ou mesmo antibacteriano para o próprio processo de produção de etanol.

As análises realizadas apontam para a possibilidade da utilização do óleo fúsel para o controle da contaminação em diferentes processos, contudo são necessários outros estudos para determinar o seu potencial citotóxico e genotípico em outros organismos.

Agradecimentos

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Financiadora de Inovação e Pesquisas (FINEP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (311975/2018-6 CALC); Programa Institucional de Bolsas aos Alunos de Pós-Graduação (PIBAP) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) –Código 001.

Referências

- Awad, O. I., Mamat, R. B., Ali, O. M., & Yusri, I. M. (2016). Effect of fuel oil-gasoline fusel blends on the performance and emission characteristics of spark ignition engine: a review. *Journal of Scientific Research & Development*, 3(5), 31-36.
- Bansode, S. R., & Rathod, V. K. (2014). Ultrasound assisted lipase catalysed synthesis of isoamyl butyrate. *Process Biochemistry*, 49(8), 1297-1303.

- Bergmann, J. C., Trichez, D., Sallet, L. P., e Silva, F. C. D. P., & Almeida, J. R. (2018). Technological advancements in 1G ethanol production and recovery of by-products based on the biorefinery concept. In *Advances in sugarcane biorefinery*, 73-95. Elsevier.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42-51.
- Borneman, A. R. & Pretorius, I. S. (2015). Genomic Insights into the *Saccharomyces sensu stricto* Complex. *Genetics*, 199(2):281–291.
- Calam, A., Solmaz, H., Uyumaz, A., Polat, S., Yilmaz, E., & İçingür, Y. (2015). Investigation of usability of the fusel oil in a single cylinder spark ignition engine. *Journal of the energy institute*, 88(3), 258-265.
- Carvalho-Netto, O. V., Carazzolle, M. F., Mofatto, L. S., Teixeira, P. J., Noronha, M. F., Calderón, L. A., & Pereira, G. A. (2015). *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional reprogramming due to bacterial contamination during industrial scale bioethanol production. *Microbial cell factories*, 14(1), 13.
- Chaves, M. C. D. C., & Gomes, C. F. S. (2014). Avaliação de biocombustíveis utilizando o apoio multicritério à decisão. *Production*, 24(3), 495-507.
- Cordente, A. G., Curtin, C. D., Varela, C., & Pretorius, I. S. (2012). Flavour-active wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(3), 601-618.
- de Carvalho, A. L., Antunes, C. H., & Freire, F. (2016). Economic-energy-environment analysis of prospective sugarcane bioethanol production in Brazil. *Applied energy*, 181, 514-526.
- de Silva, A. P., Silvello, G. C., Bortoletto, A. M., & Alcarde, A. R. (2020). Composição química de aguardente de cana obtida por diferentes métodos de destilação. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1-10.

Dzialo, M. C., Park, R., Steensels, J., Lievens, B., & Verstrepen, K. J. (2017). Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS microbiology reviews*, 41(Supp_1), S95-S128.

Ferreira, M. C. (2012). Estudo do processo de destilação de óleo fúsel.

Ferreira, M. C., Meirelles, A. J., & Batista, E. A. (2013). Study of the fusel oil distillation process. *Industrial & engineering chemistry Research*, 52(6), 2336-2351.

Freitas, M. D., & Romano, F. P. (2013). Tipos de contaminações bacterianas presentes no processo de fermentação alcoólica. *Bioenergia em Revista: Diálogos*, 3(2), 29-37.

Gamero, A., Belloch, C., & Querol, A. (2015). Genomic and transcriptomic analysis of aroma synthesis in two hybrids between *Saccharomyces cerevisiae* and *S. kudriavzevii* in winemaking conditions. *Microbial cell factories*, 14(1), 128.

Hughes, G., & Webber, M. A. (2017). Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *British journal of pharmacology*, 174(14), 2237-2246.

Magnani, G. S., Didonet, C. M., Cruz, L. M., Picheth, C. F., Pedrosa, F. O., & Souza, E. M. (2010). Diversity of endophytic bacteria in Brazilian sugarcane. *Genet Mol Res*, 9(1), 250-258.

Masi, M., Réfregiers, M., Pos, K. M., & Pagès, J. M. (2017). Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram-negative bacteria. *Nature microbiology*, 2(3), 1-7.

McGinty, D., Letizia, C. S., & Api, A. M. (2010). Fragrance material review on phytol. *Food and Chemical Toxicology*, 48, S59-S63.

Moreira, R. F., Netto, C. C., & de Maria, C. A. (2012). A fração volátil das aguardentes de cana produzidas no Brasil. *Química Nova*, 35(9), 1819-1826.

Mouret, J. R., Camarasa, C., Angenieux, M., Aguera, E., Perez, M., Farines, V., & Sablayrolles, J. M. (2014). Kinetic analysis and gas-liquid balances of the production of fermentative aromas during winemaking fermentations: effect of assimilable nitrogen and temperature. *Food research international*, 62, 1-10.

Naves, R. F., Fernandes, F. D. S., Pinto, O. G., & Naves, P. L. F. (2010). Contaminação microbiana nas etapas do processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usinas alcooleiras. *Enciclopédia Biosfera*, 6(11), 1-16.

Nedović, V., Gibson, B., Mantzouridou, T., Bugarski, B., Djordjević, V., Kalušević, A., Paraskevopoulou A., Sandell M., Šmogrovičová D. & Yilmaztekin, M. (2015). Aroma formation by immobilized yeast cells in fermentation processes. *Yeast*, 32(1), 173-216.

Nozzi, N. E., Desai, S. H., Case, A. E., & Atsumi, S. (2014). Metabolic engineering for higher alcohol production. *Metabolic engineering*, 25, 174-182.

Pereira, L. G., Dias, M. O. S., Junqueira, T. L., Chagas, M. F., Cavalett, O., Maciel Filho, R., & Bonomi, A. (2014). Production of butanol and other high valued chemicals using ethanol as feedstock integrated to a first and second generation sugarcane distillery. *Chem. Eng. Trans*, 37, 805-810.

Pillai, J. S., Danesh, N., Puttaiah, E. T., & Girish, K. (2011). Microbial diversity in solid waste molasses of Sugar Industry, Aranthangi, Tamilnadu. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(2), 723-730.

Randall, C. P., Mariner, K. R., Chopra, I., & O'Neill, A. J. (2013). The target of daptomycin is absent from *Escherichia coli* and other gram-negative pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(1), 637-639.

Redgrave, L. S., Sutton, S. B., Webber, M. A., & Piddock, L. J. (2014). Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends in microbiology*, 22(8), 438-445.

Santos, M. D. S. M., Cardoso, C. A. L., & Batistote, M. (2019). Avaliação da ação da luz ultravioleta na linhagem de levedura industrial Ragi Instam utilizada na produção de etanol/Evaluation of the action of ultraviolet light on Ragi Instam industrial yeast strain used in ethanol production. *Brazilian Journal of Development*, 5(9), 14074-14081.

Santos, M. D. S. M., de Castro, T. L. A., Batistote, M., & Cardoso, C. A. L. (2020). Caracterização do óleo fúsel das usinas da Região da Grande Dourados. In: apresentado em *VII Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia*.

Şimşek, S., Özdalyan, B., & Saygın, H. (2019). Improvement of the Properties of Sugar Factory Fusel Oil Waste and Investigation of its Effect on the Performance and Emissions of Spark Ignition Engine. *BioResources*, 14(1), 440-452.

Stribny, J., Gamero, A., Pérez-Torrado, R., & Querol, A. (2015). *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces uvarum* differ from *Saccharomyces cerevisiae* during the production of aroma-active higher alcohols and acetate esters using their amino acidic precursors. *International journal of food microbiology*, 205, 41-46.

Styger, G., Prior, B., & Bauer, F. F. (2011). Wine flavor and aroma. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 38(9), 1145.

Zhao, W. H., & Hu, Z. Q. (2013). Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. *Critical reviews in microbiology*, 39(1), 79-101.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Maria Socorro Mascarenhas Santos – 40%

Thiago Luis Aguayo de Castro – 10%

Margareth Batistote – 25%

Claudia Andrea Lima Cardoso – 25%