



Inovando e gerando soluções para o setor sucroenergético

Novembro de 2019

Resultados dos testes de sensibilidade para o Tylan solúvel

Nota de Propriedade:

ESTE DOCUMENTO CONTÉM INFORMAÇÕES DE USO INTERNO E DE PROPRIEDADE DA QUÍMICA REAL. ELE NÃO DEVE SER REPRODUZIDO, TRANSFERIDO PARA OUTROS DOCUMENTOS, DIVULGADO PARA OUTROS OU USADO PARA QUAISQUER OUTROS PROPÓSITOS PARA OS QUAIS NÃO FOI OBTIDO CONSENTIMENTO ESCRITO EXPRESSO PELA QUÍMICA REAL.

1. Objetivo

Realizar teste de sensibilidade por micro-fermentação afim de avaliar o produto Tylan Solúvel® no controle da contaminação bacteriana presente na fermentação alcoólica.

2. Teste de sensibilidade

O teste de sensibilidade realizado pela Química Real consiste basicamente em reproduzir em escala reduzida uma fermentação *in vitro*, utilizando substrato e inóculo obtidos do processo. Desse modo, os antibacterianos são submetidos às condições semelhantes de pH, temperatura e microbiota encontradas no processo no momento em que a contaminação se pronuncia. Os fermentados obtidos no ensaio podem ser submetidos a contagens microscópicas das células bacterianas viáveis (bastonetes/mL). O efeito dos produtos sobre a levedura (fermento) também pode ser verificado por meio da viabilidade (porcentagem de células vivas em relação a quantidade total de células).



TEL: +55 (31) 3057-2000
WWW.QUIMICAREAL.COM.BR

3. Procedimento

3.1 - Materiais:

Para a realização dos Testes de Sensibilidade foi utilizado os seguintes materiais:

- ✓ Mosto e Fermento;
- ✓ Amostras de antibacterianos;
- ✓ Frascos de Erlenmeyer de 250 mL;
- ✓ Estufa bacteriológica a 36°C;
- ✓ pHmêtro;
- ✓ Balança de precisão;
- ✓ Vidraria e materiais usuais de laboratório.

3.2 - Preparo dos antibacterianos:

Foi pesado 0,01g dos antibacteriano em pó Kamoran e Tylan Solúvel.

Todos os antibacterianos foram diluídos em 100 mL (80/20 - água destilada e etanol), agitando até dissolver todo o produto.

Assim, cada 01 mL, da solução padrão dos antibacterianos em pó, correspondem a 1ppm, para 100mL de amostras de mosto + fermento.

3.3 - Procedimento:

Foram **coletadas** amostras de mosto e fermento.

Distribuiu-se 30 mL do fermento em 6 Erlenmeyer de 250mL.

O pH do fermento foi corrigido para 2,3 (valor de tratamento convencional nas unidades). E para o Tylan, avaliamos o produto em algumas variações de pH para identificar sua ação. Lembrando que na fermentação industrial para Etanol Carburante, o pH do meio pode variar entre 1,8 a 6,0.

Adicionou-se o volume correspondente a dosagem em ppm da seguinte maneira:

Testemunha: Adicionou-se 3 ml de água.

Amostra 1: pH do fermento em 2,3. Adicionou-se 3 ppm de Kamoran (3,0mL)

Amostra 2: pH do fermento em 2,3. Adicionou-se 3 ppm de Tylan Solúvel (3,0mL)

Amostra 3: pH do fermento em 3,0 ou 4,0. Adicionou-se 3 ppm de Tylan Solúvel (3,0mL)

Amostra 4: pH do fermento em 2,3. Adicionou-se 5 ppm de Tylan Solúvel (5,0mL)

Amostra 5: pH do fermento em 3,0 ou 4,0. Adicionou-se 5 ppm de Tylan Solúvel (5,0mL)



Após, aproximadamente 1 hora, adicionou-se 70mL de mosto.
Posteriormente as amostras foram levadas para a estufa 36°C.

Os testes de sensibilidade foram realizados em 4 unidades produtoras diferentes, afim de ampliar a variação de matéria prima utilizada, e abranger uma variedade maior de tipos de bactérias presente na população bacteriana.

4. Resultados

A princípio, por não conhecermos o comportamento da molécula Tilosina em fermentação alcoólica, o teste de sensibilidade foi realizado com duas dosagens (3 e 5ppm) e com dois tratamentos ácido do fermento, com pH de 2,3 e 3,0 (Tylan Dosagem/pH de tratamento).

Teste de sensibilidade 01

Amostra	População bacteriana	%Viabilidade	%Eficácia
Testemunha	3,11E+07	87,11	
Kamoran	1,02E+06	88,25	96,72
Tylan 3ppm/2,3	1,06E+07	88,61	65,92
Tylan 3ppm/3,0	3,08E+06	90,56	90,10
Tylan 5ppm/2,3	9,86E+06	88,85	68,30
Tylan 5ppm/3,0	2,67E+06	89,11	91,41

Tabela 01 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.



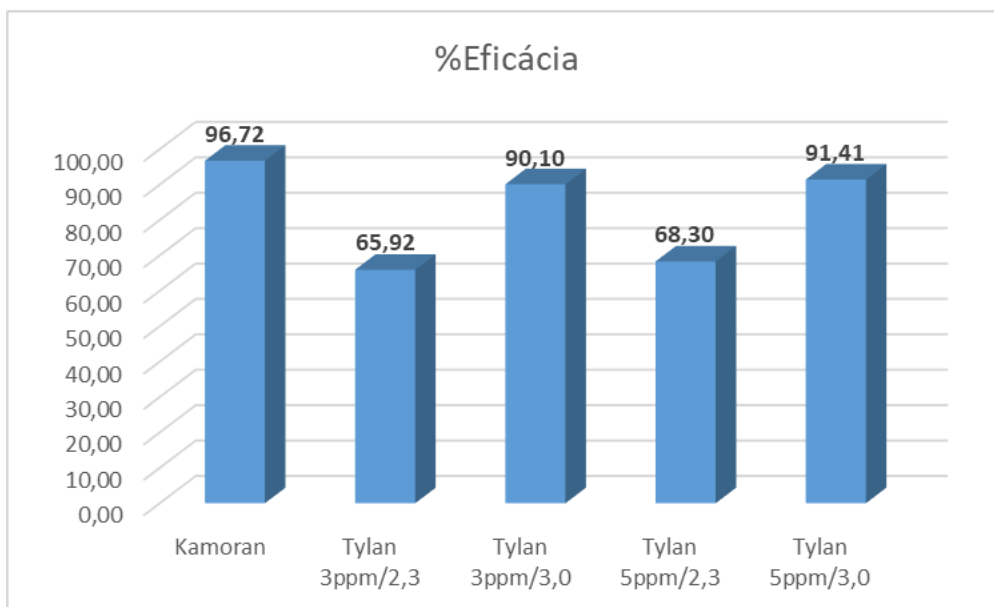


Gráfico 01 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

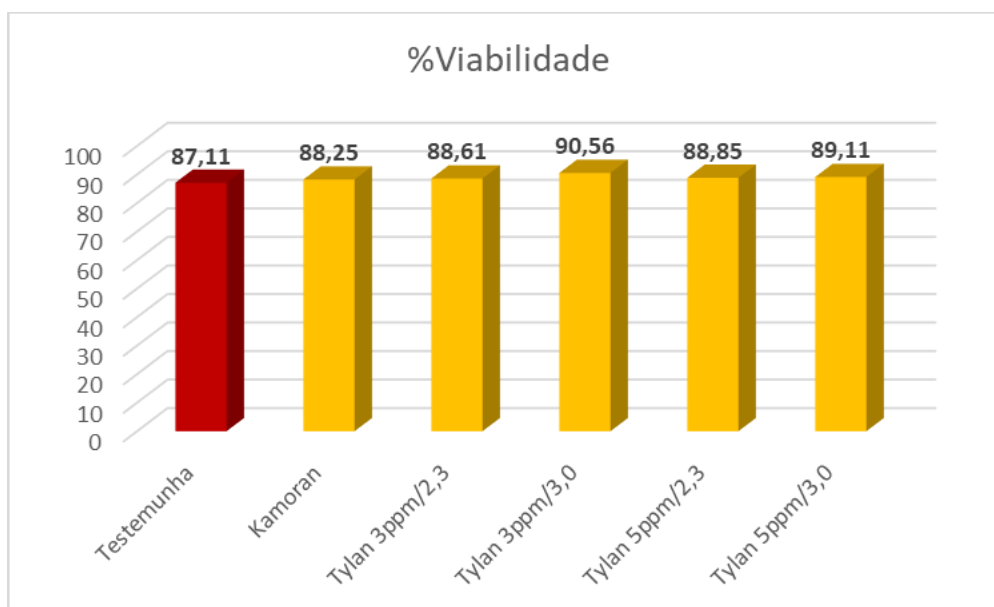


Gráfico 02 – Porcentagem de células de leveduras viáveis.

No primeiro teste de sensibilidade foi possível observar que o Tylan Solúvel apresentou ótima ação na redução da população bacteriana das amostras, principalmente com o pH de tratamento do fermento em 3,0.

A viabilidade se manteve estável independente da dosagem do Tylan Solúvel, indicando que o produto não afeta as células de levedura (fermento).



Teste de sensibilidade 02

Amostra	População bacteriana	%Viabilidade	%Eficácia
Testemunha	5,63E+07	72,09	
Kamoran	3,08E+06	76,06	94,53
Tylan 3ppm/2,3	2,67E+06	76,28	95,26
Tylan 3ppm/3,0	8,83E+06	75,11	84,32
Tylan 5ppm/2,3	3,70E+06	76,48	93,43
Tylan 5ppm/3,0	1,43E+06	76,66	97,46

Tabela 02 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.

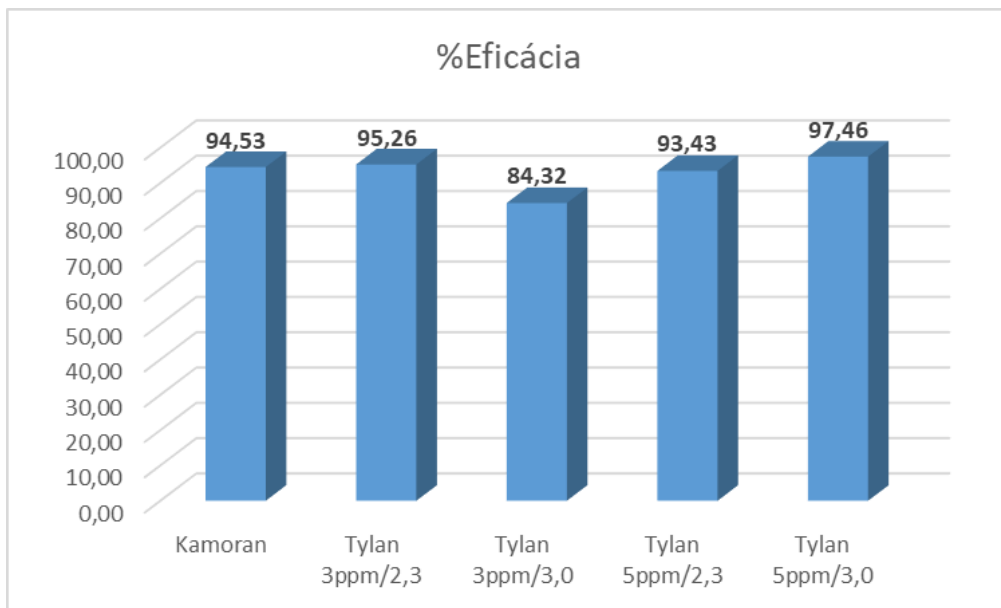


Gráfico 03 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.



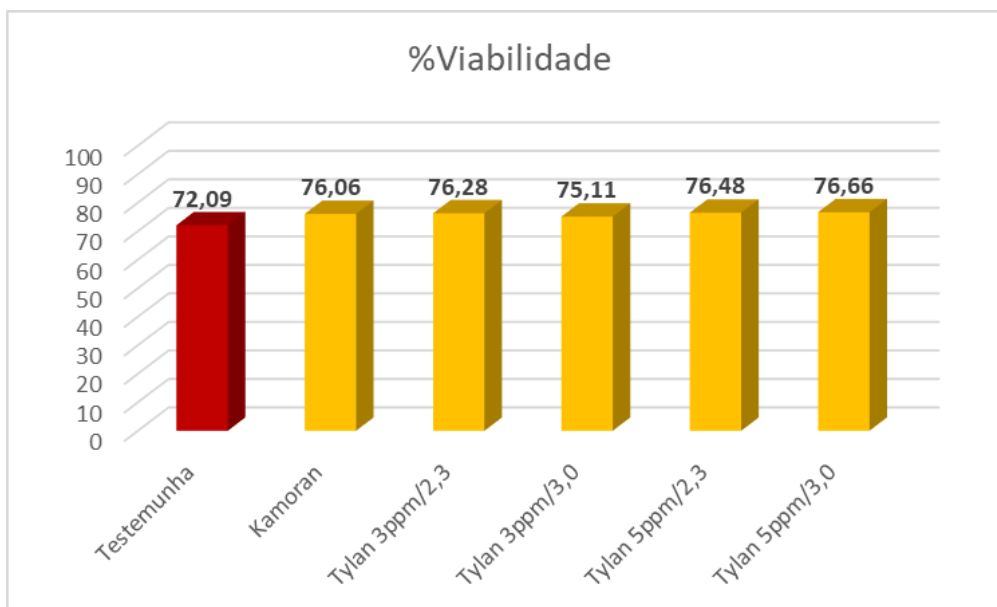


Gráfico 04 – Porcentagem de células de leveduras viáveis.

O segundo teste de sensibilidade manteve a boa eficácia do Tylan Solúvel no controle da contaminação bacteriana, com eficácias similares a do Kamoran. E mantendo a viabilidade celular do fermento.

Teste de sensibilidade 03

Amostra	População bacteriana	%Viabilidade	%Eficácia
Testemunha	8,47E+07	73,06	
Kamoran	2,24E+07	73,81	73,55
Tylan 3ppm/2,3	4,31E+07	73,1	49,11
Tylan 3ppm/3,0	1,62E+07	73,5	80,87
Tylan 5ppm/2,3	1,74E+07	73,68	79,46
Tylan 5ppm/3,0	2,51E+07	72,95	70,37

Tabela 03 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.



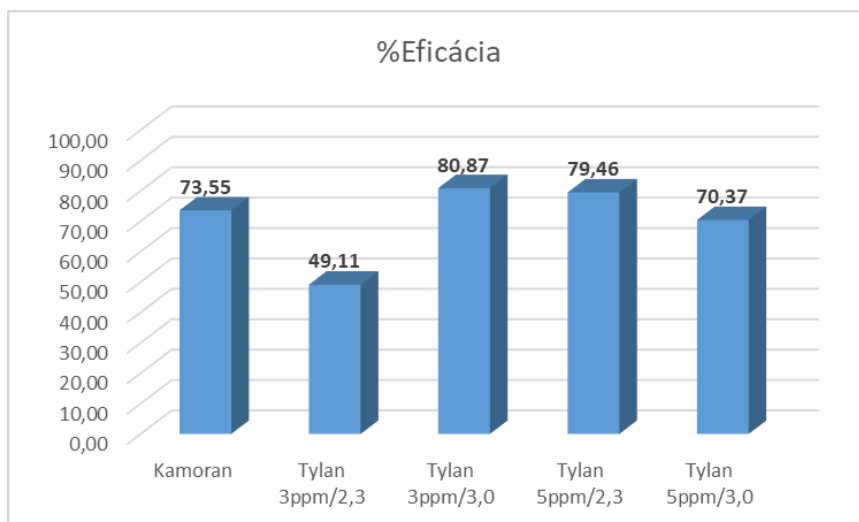


Gráfico 05 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

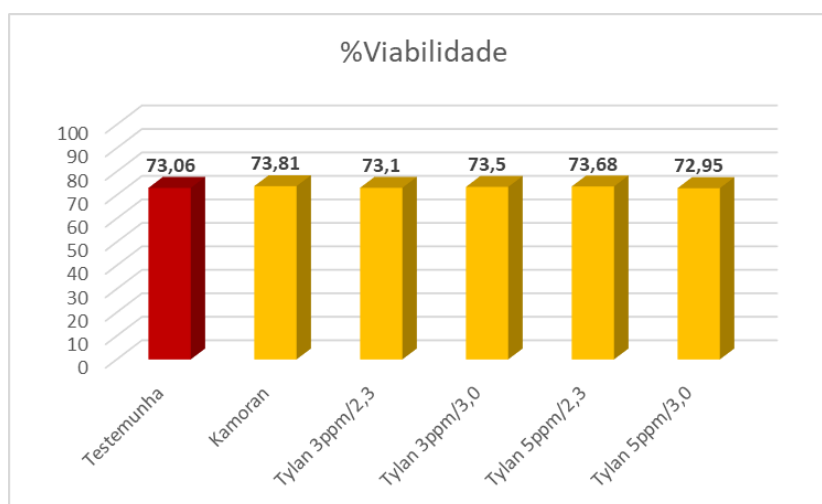


Gráfico 06 – Porcentagem de células de leveduras viáveis.

No terceiro teste de sensibilidade, é possível observar que apenas a amostra com a dosagem de 3ppm, no pH de 2,3 não resultou em uma boa eficácia no controle da população bacteriana. Porém as demais amostras os resultados foram similares a eficácia do Kamoran.

Um ponto específico neste teste é que a unidade apresentava alta incidência de bactérias Gram negativas, o que pode explicar a eficácia dos produtos abaixo de 80%, que é o indicativo para aprovação de um antibacteriano.

E novamente não houve interferência na viabilidade do fermento.



Teste de sensibilidade 04

Amostra	População bacteriana	%Viabilidade	%Eficácia
Testemunha	2,11E+07	85,11	
Kamoran	2,81E+05	87,31	98,67
Tylan 3ppm/2,3	1,81E+06	87,14	91,42
Tylan 3ppm/4,0	1,40E+06	86,17	93,36
Tylan 5ppm/2,3	1,12E+06	87,68	94,69
Tylan 5ppm/4,0	7,04E+05	87,51	96,66

Tabela 04 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.

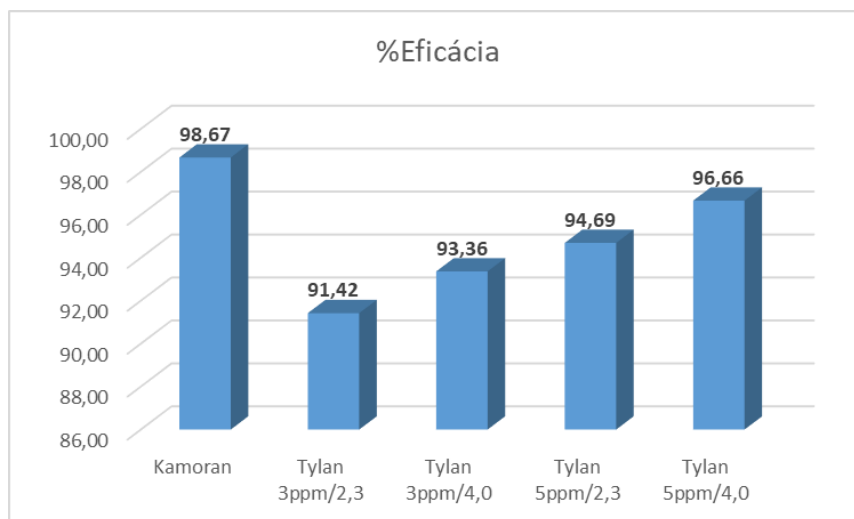


Gráfico 07 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

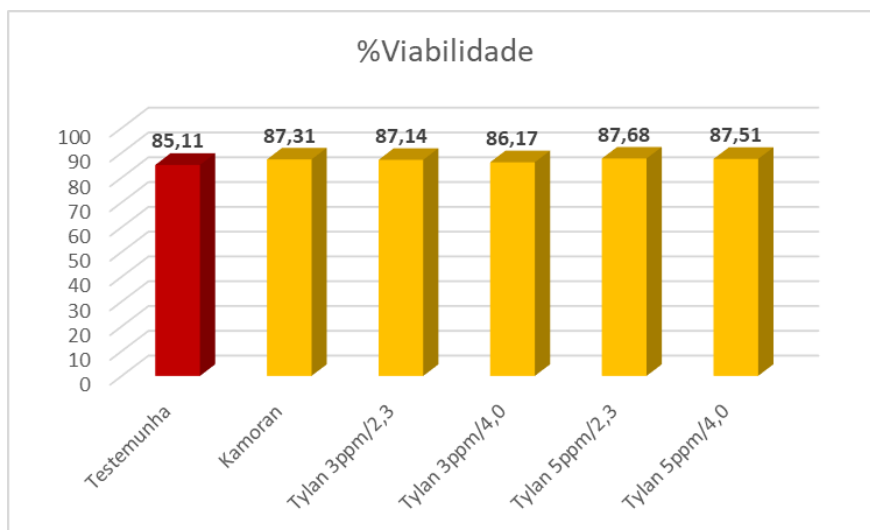


Gráfico 08 – Porcentagem de células de leveduras viáveis.



Para o quarto teste de sensibilidade, foi elevado o pH do tratamento ácido do fermento para 4,0. Isto ocorreu para avaliar a ação do Tylan Solúvel em pH mais alto que o convencional, encontrado nas unidades produtoras.

Os resultados apontaram ótima eficácia para o tratamento com pH mais elevado, onde tanto na dosagem de 3ppm, quanto para dosagem de 5ppm, os melhores resultados foram quando o Tylan Solúvel foi aplicado em amostras com pH de 4,0.

A viabilidade não sofreu interferência.

5. Considerações

Em unidades que processam cana

- De acordo com os resultados apresentados, o Tylan Solúvel se demonstrou uma opção viável para tratamento de fermentações que processam cana;
- Os resultados apontam que o Tylan Solúvel possui uma melhor eficácia, quando aplicado no fermento, que recebeu tratamento ácido com pH de 3,0 ou acima, se tornando assim uma alternativa para as unidades que possuem dificuldade na redução do pH durante o tratamento ácido;
- Não foi observada interferência na viabilidade do fermento nas aplicações do Tylan Solúvel, nas dosagens de 3 e 5ppm, normalmente utilizadas nos tratamentos convencionais.

Em unidades que processam milho, fornecem creme de levedura ou que secam levedura

- Para estas unidades que processam cereais, ou que trabalham com fornecimento de creme, ou secam levedura, algumas questões devem ser respondidas para iniciar as pesquisas de aprovação do Tylan Solúvel.

1. Qual a toxicidade do Tylan Solúvel para Equinos, Bovinos, Peixes e Caprinos?
2. Qual a temperatura de degradação da molécula?



- Estas perguntas devem ser respondidas pois, o DDGS, resíduo da fermentação de cereais (milho) é destinado a alimentação destes animais. E o mesmo ocorre com a levedura seca.
- A questão da temperatura se dá, pois, caso a molécula se degrade a temperaturas em torno de 50°C, pode se tornar um argumento para estas unidades, pois, devido ao aquecimento do DDGS e Levedura, a molécula irá se degradar, eliminando assim seu residual.

Equipe que atuou neste trabalho:

Luzineide Marques – Consultora técnica

Marcos Tonon – Consultor técnico

Higor Santos – Gerente técnico

Valter Tormes - Gerente

Equipe Técnica
Química Real Ltda.

