



# Resultados dos testes de sensibilidade para Nano ativo de prata

#### 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 a base de nano partículas de prata, da Innoma, 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 inoculo obtidos do processo. Desse modo, os antimicrobianos 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).



#### 3. Procedimento

#### 3.1 - Materiais:

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

- ✓ Mosto e Fermento;
- ✓ Amostras de antimicrobianos;
- ✓ 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.

O Kamoran foi diluído em 100 mL (80/20 - água destilada e etanol), agitando até dissolver todo o produto. Assim, cada 01 mL, da solução padrão de Kamoran em pó, correspondem a 1ppm, para 100mL de amostras de mosto + fermento.

Para o produto a base de nano partícula de prata, foi realizado a dosagem de 15ppm (conforme orientado), sobre o volume total da amostra (100mL), o que equivale a 0,15mL do produto, aplicado direto na amostra.

#### 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).

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

**Testemunha**: Adicionou-se 3 ml de água.

**Amostra 1**: Adicionou-se 3 ppm de Kamoran (3,0mL)

Amostra 2: Adicionou-se 15 ppm de Nano Partícula (0,15mL)

Amostra 3: Adicionou-se 15 ppm de Nano Partícula (0,15mL)

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 3 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 Nano Partícula em fermentação alcoólica, o teste de sensibilidade foi realizado na dosagem de 15ppm, aplicados no fermento, com pH de 2,3.

Procedimento convencional de tratamento nas unidades produtoras.

### Teste de sensibilidade 01

Amostras	Contaminação	Eficácia %	Viabilidade %
Testemunha	1,67E+06		85,84
Kamoran	2,09E+05	87,49	86,11
Innoma A	8,38E+05	49,82	86,17
Innoma B	8,87E+05	46,89	86,21

Tabela 01 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.

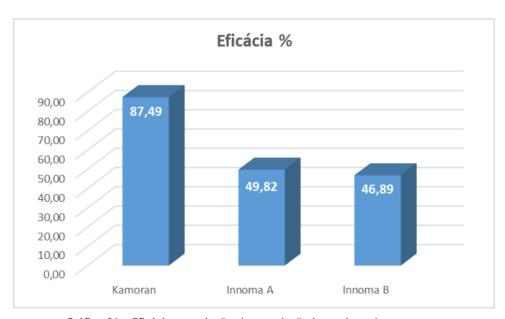


Gráfico 01 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

No primeiro teste de sensibilidade foi possível observar que a Nano Partícula teve leve eficácia frente a contaminação bacteriana, atingindo 48% de eficácia, em média.

O indicativo para aprovação de um antibacteriano é uma eficácia, acima de, 80%.

A viabilidade não apresentou alteração.

## Teste de sensibilidade 02

Amostras	Contaminação	Eficácia %	Viabilidade %
Testemunha	3,47E+07		81,83
Kamoran	3,73E+05	98,93	83,18
Innoma A	1,86E+07	46,40	82,23
Innoma B	1,78E+07	48,70	82,11

Tabela 02 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.

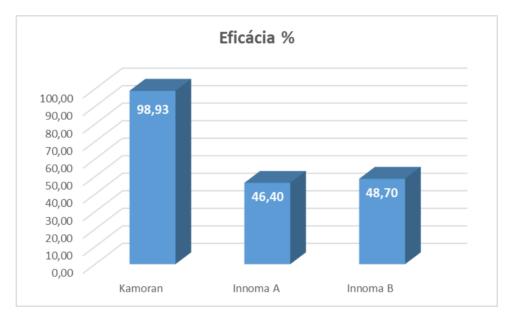


Gráfico 03 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

No segundo teste de sensibilidade, o perfil de da Nano Partícula continuou o mesmo, mantendo a leve eficácia. E a Viabilidade sofreu variação, mas não significativa.

## Teste de sensibilidade 03

Amostras	Contaminação	Eficácia %	Viabilidade %
Testemunha	2,40E+07		75,2
Kamoran	9,99E+04	99,58	78
Innoma A ph 2,3	1,20E+07	50,00	74
Innoma B pH 4,5	7,80E+06	67,50	70,3

Tabela 03 – Dados de microscopia do teste de sensibilidade.

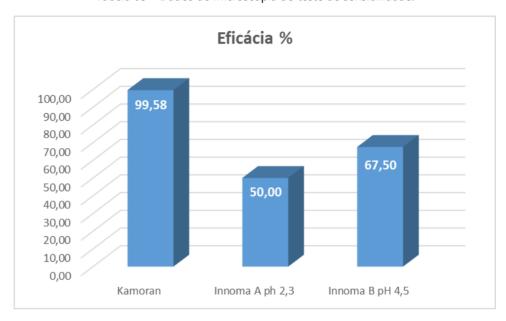


Gráfico 05 – Eficácia na redução da população bacteriana das amostras.

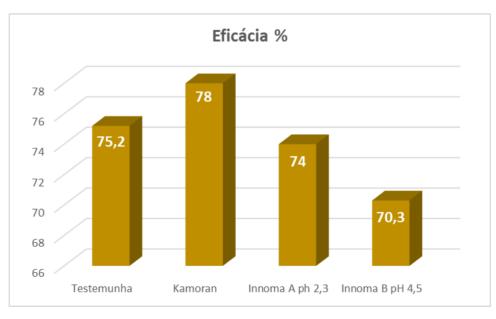


Gráfico 06 – Porcentagem de células de leveduras viáveis.

No terceiro teste de sensibilidade, afim de avaliar se a Nano Partícula teria uma ação diferente ao ser aplicada em outro pH, em uma amostra, aplicamos o produto após a adição do mosto no fermento, o que elevou o pH para 4,5. E após, o procedimento seguiu a rotina.

É possível verificar que a aplicação na amostra com pH mais elevado resultou em uma maior eficácia, se comparado com a aplicação no fermento, com pH de 2,3. Um aumento de 35% na eficácia, comparando as duas aplicações.

Porém, também foi observado uma interferência maior na viabilidade do fermento (relação entre células viáveis e mortas), com uma redução para 70,3%.

Se compararmos as duas aplicações da Nano Partícula, houve uma redução de 5% neste parâmetro, Uma variação considerável, principalmente em relação a testemunha, onde este valor de redução chega em 6,51%.

## 5. Considerações

- De acordo com os resultados apresentados, a Nano Partícula, na dosagem estudada, apresentou leve eficácia, se comparada ao produto referência (Kamoran). Resultado abaixo do mínimo indicado, de 80%, para aprovação;
- Foi possível realizar uma avaliação, com aplicação em pH mais elevado, o que melhorou a eficácia da Nano Partícula;
- Deve-se observar, também, que, na aplicação em um meio com pH mais elevado, houve também interferência na viabilidade do fermento, se tornando um comportamento a ser avaliado em mais testes;
- Assim, serão necessárias mais avaliações para entender melhor o comportamento da Nano
   Partícula no processo fermentativo convencional.

Equipe Técnica
Química Real Ltda.
Gerente Comercial – Valter Tormes
Gerente Técnico – Higor Santos
Consultor Técnico – Fabiano Mazotti
Consultora Técnica – Luzineide Marques



