UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

DEMÉTRIUS ANTÔNIO OLIVEIRA DOS SANTOS

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE PRATA (AgNPs) E OURO (AuNPs) EMPREGANDO EXTRATO DE *Spondias mombin L.* PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NA MEDICINA VETERINÁRIA

Manaus-Amazonas

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

DEMÉTRIUS ANTÔNIO OLIVEIRA DOS SANTOS

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE PRATA (AgNPs) E OURO (AuNPs) EMPREGANDO EXTRATO DE *Spondias mombin L.* PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NA MEDICINA VETERINÁRIA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Doutor Marcos Marques da Silva Paula

Coorientador: Prof. Doutor Francisco Marlon Carneiro Feijó

Manaus-Amazonas

2023

.

OFEREÇO

A minha família, em especial a minha avó **Dejanira Feliciano do Nascimento (***in memoriam***)** que sempre me ajudou, me motivando a acreditar nas realizações dos meus sonhos.

DEDICO

Aquela que não apenas fez o papel de mãe na minha vida, mas também de pai, e que mesmo nas dificuldades que a vida nos presenteia sempre me orientou a seguir o caminho do saber.

AGRADECIMENTOS

- À Deus, que me iluminou, e deu forças para enfrentar todos os obstáculos e se mostrou nas horas mais difíceis, me fortalecendo e fazendo com que eu me mantivesse equilibrado para a conclusão deste trabalho;
- A toda minha família, em especial aos meus pais, senhora **Benedita Oliveira dos Santos e José Cardoso da Silva,** bem como, minhas irmãs **Maria Leilane Cardoso da Silva** e **Fernanda Cardoso da Silva (***in memoriam***),** que sempre estiveram ao meu lado. Obrigado pelos ensinamentos, carinho e o amor de vocês que sempre me impulsionaram a seguir a diante. Amo vocês!
- Ao meu orientador professor **Dr. Marcos Marques da Silva Paula**, por todos os ensinamentos, paciência e dedicação, me proporcionando a busca por novos conhecimentos, trazendo o entendimento do verdadeiro sentido de pesquisador;
- Ao meu coorientador professor **Dr**. **Francisco Marlon Carneiro Feijó**, que mesmo distante geograficamente, e nos momentos de cansaço, esteve sempre disposto a elucidar minhas dúvidas, trazendo sempre palavras de incentivo;
- Aos membros da banca, agradeço por terem aceitado o convite da participação, em espacial ao professor **Dr. Edgar Aparecido Sanches** por depositar em mim toda a confiança desde o primeiro dia que iniciei o meu estágio de graduação no laboratório *Nanopol* sendo sempre solícito e participativo nos momentos cruciais;
- A professora **Drª. Siomara Dias Rocha,** minha orientadora na graduação que sempre ativa e cuidadosa, esclareceu dúvidas, desde os estágios iniciais no "*mundo da pesquisa*";
- Ao meu companheiro **Ricardo Lins, PhD, h.c. *multi*;** pelo apoio incondicional nos momentos difíceis e pela santa paciência nos momentos que estive ausente. *Te amo*!
- Agradeço também a **Drª. Maria Betânia Pinho Botelho (***in memoriam***)** e a **Irmã Maria Petronila Soares**, por terem sido fundamentais ao me orientarem no caminho da realização dos meus propósitos;
- Ao ilustre professor, neurologista, **MSc**. **Dr.** Massanobu Takatani por sua determinante intervenção no momento que a dúvida "tentou ofuscar a certeza";
- Ao meu amigo de curso **MSc**. **Thiago Maquiné**, bem como a professora **MSc. Maria Célia Oliveira** pelas inúmeras colaborações nas trocas de conhecimentos e *feedbacks*, assim como as orientações necessárias*;*
- A minha segunda família **Célia Lins, Rafael Lins e Dr. José Lins Filho** pelo apoio, orações e presença nos momentos difíceis dessa trajetória;
- Ao técnico de laboratório de microbiologia veterinária **Caio Sérgio Santos** e a discente **Isadora Karoline De Melo** ambos do CCA-UFERSA;
- Aos alunos de PIBIC **Renê Gomes dos Santos** e **Bruna Vitória Graça** Albuquerque pela contribuição nos preparativos das sínteses, ambos discentes da UFAM;
- A todo povo Ximango (Alenquer-Pará) de onde tenho muito orgulho das minhas raízes;
- E aos que, de alguma forma, contribuíram para o sucesso deste trabalho.

EPÍGRAFE

“Ainda que a minha mente e o meu corpo enfraqueçam, Deus é aminha força, Ele é tudo que eu sempre preciso “.

Salmo 73:26

RESUMO

As pesquisas na área de nanotecnologia que envolvem a preparação de nanopartículas metálicas por métodos alternativos vêm sendo difundidas pela abordagem da Química Verde, e, em vista das diversas problemáticas que permeiam os métodos convencionais, novas mediações pouco nocivas ao meio ambiente, autorizam explorar procedimentos que empregam recursos naturais como o uso de extratos vegetais para a síntese de nanopartículas metálicas**.** Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo preparar nanopartículas de ouro e prata, utilizando o decocto das folhas de *S. mombin L.* com vista à aplicação na veterinária pelos potenciais antimicrobianos dessas soluções. As nanopartículas de ouro e nanopartículas de prata foram obtidas de duas formas, sendo que na primeira usando o método convencional houve a redução dos seus respectivos sais. Na segunda metodologia o preparo seguiu o que foi usado no método convencional, porém a única diferença foi a substituição dos agentes redutores pelo decocto *S. mombin L.* para a redução dos sais. O presente trabalho buscou pesquisar parâmetros com o auxílio da espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis para compreender a formação das nanopartículas usando diferentes concentrações do decocto da *S. mombin L*. A análise de microscopia eletrônica de transmissão confirmou que as nanopartículas de ouro e prata, assim como as que foram adicionado decocto apresentaram formas geométricas diferentes, como esféricas e triangulares, com diâmetros médios de partícula variando entre 18,007 e 33,875 nm. A atividade antibacteriana das nanopartículas de prata e ouro associado a *Spondia mombin L*. foi realizada usando o método de micro diluição em caldo nos tempos zero e após as 24 horas para as cepas *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebisiella pneumonie.* Para a análise estatística os resultados das análises microbiológicas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizou-se o pacote agricole implementado em linguagem estatística R. Os testes referentes a atividade bactericida foram realizados somente com nanopartículas de prata e prata associada com o decocto da *Spondia mombin L*., pois as nanopartículas de ouro associada a *Spondia mombin L*. não apresentaram ação bacteriana. Por fim quanto a concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima conclui-se que as nanopartículas de prata associada ao decocto da *Spondias mombin L.* possuem efeitos significativos sobre as atividades bacterianas sendo que a inibição total das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas ocorreu na concentração de 50 $mg/mL^{-1.}$

Palavras-chave: Nanopartículas Metálicas, Extrato da *S. mombin L.***,** Atividade antimicrobiana, Química Verde, Fitoterápico, Rota Alternativa.

ABSTRACT

Research in the area of nanotechnology that involves the preparation of metallic nanoparticles using alternative methods has been disseminated through the Green Chemistry approach, and, in view of the various problems that permeate conventional methods, new mediations that are not harmful to the environment, allow exploring procedures that employ natural resources such as the use of plant extracts for the synthesis of metallic nanoparticles. In this context, the present work aimed to prepare gold and silver nanoparticles, using the decoction of S. mombin L. leaves with a view to veterinary application due to the antimicrobial potential of these solutions. Gold nanoparticles and silver nanoparticles were obtained in two ways, the first using the conventional method, reducing their respective salts. In the second methodology, the preparation followed what was used in the conventional method, but the only difference was the replacement of reducing agents with S. mombin L. decoction to reduce salts. The present work sought to research parameters with the aid of electronic absorption spectroscopy in the UV-Vis region to understand the formation of nanoparticles using different concentrations of S. mombin L decoction. Transmission electron microscopy analysis confirmed that gold nanoparticles and silver, as well as those to which decoction was added, presented different geometric shapes, such as spherical and triangular, with average particle diameters varying between 18.007 and 33.875 nm. The antibacterial activity of silver and gold nanoparticles associated with Spondia mombin L. was carried out using the broth microdilution method at times zero and after 24 hours for the strains Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Klebisiella pneumonie. For statistical analysis, the results of the microbiological analyzes were subjected to analysis of variance and the means compared with each other using the Tukey test, at a level of 5% probability, using the agricole package implemented in R statistical language. bactericidal activity were carried out only with silver nanoparticles and silver associated with Spondia mombin L. decoction, as gold nanoparticles associated with Spondia mombin L. did not show bacterial action. Finally, regarding the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, it is concluded that the silver nanoparticles associated with Spondias mombin L. decoction have significant effects on bacterial activities, with total inhibition of Gram-positive and Gram-negative bacteria occurring in concentration of 50 mg/mL- 1.

Keywords: Metallic Nanoparticles, *S. mombin L*. Extract, Antimicrobial activity, Green Chemistry, Phytotherapeutic, Alternative Route.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Escala manométrica de comprimento de onda 19

Figura 02: Exemplos de nanosistemas 19

Figura 03: Comparação da estrutura da parede celular bacteriana 23

Figura 04: Nanocarregadores empregados na entrega de bioativos de extrato de ervas e óleos essenciais 24

Figura 05: Ilustração de um tecido contendo AgNPs e sua atuação contra bactérias....25

Figura 06: Ação das NPMs dentro um mecanismo celular antimicrobiano 26

Figura 07: Ilustração do mecanismo de ação antimicrobiana de uma AgNPs em uma célula bacteriana 27

Figura 08: Ilustração do mescanismo de ação antimicrobiana de uma AuNPs em uma célula bacteriana 28

Figura 09: Representação esquemática para a síntese verde de NPMs, usando biomoléculas diferentes 29

Figura 10: Representação de complexação do provável mecanismo da síntese verde de nanopartículas metálicas mediado por extratos vegetais 31

Figura 11: Árvore da *S. mombin L.*.....33

Figura 12: Frutos da *S. mombin L* 33

Figura 13: Folha e casca da *S. mombin L.* 34

Figura 14: Constituintes químicos encontrados nas folhas de *Spondias mombin L.*.....35

Figura 15: Efetivos percentuais de caprinos em relação ao rebanho nacional do país.36

Figura 16: Cabra (*Capra aegagrus hircus*) apresentando sinais de mastite 38

Figura 17: Preparação do decocto da *Spondias mombin L.* 59

Figura 18: Liofilização do decocto da *Spondias mombin L.* 60

Figura 19: Sequência da síntese das AuNPs 62

Figura 20: Sequenciamento da síntese de prata usando o método convencional 63

Figura 21: Sequenciamento da adição do decocto nas sínteses AgNPs e AuNPs 64

Figura 22: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AuNPs preparadas por rota convencional 69

Figura 23: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AuNPs associada ao extrato da *Spondias mombin L.* 70

Figura 24: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AgNPs preparadas pela rota convencional 71

Figura 25: Espectro eletrônico (UV Visível) das AgNPs associado ao decocto da *Spondias mombin L.* 72

Figura 26: Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs 73

Figura 27: Histograma de distribuição de diâmetros das AuNPs 74

Figura 28: Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs associado ao decocto da *Spondias mombin L.* 75

Figura 29: Histograma de distribuição de diâmetros das AuNPs associado ao decocto da *Spondias mombin L.* 76

Figura 30: Microscopia eletrônica de transmissão das AgNPs 77

Figura 31: Histograma de distribuição de diâmetros das AgNPs 78

Figura 32: Microscopia eletrônica de transmissão das AgNPs. associado ao decocto da *Spondias mombin L.* 79

Figura 33: Histograma de distribuição de diâmetros das AgNPs associado ao decocto da *Spondia mombin L.* 80

Figura 34: Gráficos das médias de absorbância das bactérias em função das concentrações 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Produtos obtidos da ação redutora dos óleos em nanopartículas metálicas 30

Tabela 2: Genes de virulência e genes que conferem resistência a antissépticos 42

Tabela 3: Principais antissépticos convencionais usados em animais 48

Tabela 4: Grupo de classes como potencial antimicrobiano em compostos vegetais ...52

Tabela 5: Eficiência do decocto do cajá (*S. mombin L.*) aplicando a técnica de micro diluição 83

LISTA DE SIMBOLOS E ACRÔNICOS

Ag: Prata

Ag^+: Íons de prata

Au^{3+}: Íons de ouro

AuNPs: Nanopartículas metálicas de ouro

AgNPs: Nanopartículas metálicas de prata

APS: Sociedade Americana de Física

ATP: Adenosina Trifosfato

ATPase: Adenosinatrifosfatase

$AgNO_3$:Nitrato de prata

BAC: Cloreto de Benzalcônio

CBM: Concentração bactericida mínima

CIM: Concentração inibitória mínima

CCS: Contagem de células somáticas

CG/EM: Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG – EM)

CPC: Cloreto de Cetilpiridinio

CMABio: Centro Multiusuário De Fenômenos Biomédicos

DTA's: Doenças transmitidas por alimentos

DLS: Espalhamento dinâmico de luz

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

EM: Espectrômetro de massa

ESBLs: Espectro estendido

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

HOCl: Ácido hipocloroso

HCl: Ácido clorídrico

HNO_3: Ácido nitrico

$HAuCl_4$: Ácido cloroáurico

IBGE: Instinto Brasileiro de Geografia e Estatística

ISO: Organization for Standardization

IFAM: Instituto Federal do Amazonas

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MB: Azul de metileno

MDR: Resistências a múltiplas drogas

NPMs: Nanopartículas metálicas

nm: Nanômetro

NCCLS: National Committee of Clinical and Laboratory Standards

NaOCl: Hipoclorito de sódio

NPs: Nanopartículas

NH_4^+: Íon amônio de valência quatro

$Na_3C_6H_5O_7$: Citrato de sódio

$NaBH_4$: Borohidreto de sódio

NLCs: Carregadores lipídicos nanoestruturados

OEs: Óleo essencial

Ph: Potencial hidrogeniônico

PVP-I: Polivinilpirrolidona iodada

QAC's: Composto de amônio quaternário

ROS: Espécies reativas do oxigênio

SLNs: Nanopartículas sólidas lipídicas

SPR: Superfície de Plasmon Ressonante

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão

TS: Technical Specification.

TBO: Azul de toluidina

UV-Visv: Espectroscopia no Ultravioleta-Visível

UEA: Universidade Estadual do Amazonas

µL: Microlitro

µmHg: Micrometro de mercúrio

λ : Comprimento de onda

λmax: Comprimento de onda de máxima absorção

SUMÁRIO

1.**INTRODUÇÃO** 16

2. **OBJETIVOS** 16

2.1 Objetivo Geral 17

2.2 Objetivos Específicos 17

3. **REVISÃO DA LITERATURA** 18

3.1 Nanotecnologia 18

3.2 Preparação das nanopartículas 20

3.3 Resistência bactéria e suas mutações 21

3.4 Novos modelos de nanocarregadores e os efeitos da entrega do extrato vegetal dentro das células bacterianas 23

3.5 Mecanismo de ação das nanopartículas metálicas De AgNPs e AuNPs associada com o extrato vegetal atuando dentro de um mecanismo celular antimicrobiano..... 25

3.6 Biossíntese ou síntese verde 28

3.6.1 *Spondia monbin L.* 32

3.7 Caprinocultura leiteira 35

3.7.1 Mastite 37

3.7.2 Microrganismos responsáveis pela mastite 38

3.7.2.1 *Pseudomonas aeruginosa* 40

3.7.2.2 *Escherichia coli* 41

3.8 Antissépticos 44

3.8.1 Antissépticos convencionais 45

3.8.1.1 Álcool 45

3.8.1.2 Iodos (I2) 46

3.8.1.3 (Cl_2) 46

3.8.1.4 Clorexidina 47

3.8.1.5 Composto quaternário de amônio (quats) 47

3.8.2 Antissépticos alternativos como fitoterápicos..... 50

3.9 Nanopartículas de prata (AgNPs) 56

3.10 Nanopartículas de ouro (AuNPs) 57

4. **METODOLOGIA** 58

4.1. Preparação do decocto da *Spondia mombin L.* 58

4.1.2 Liofilização Do Decocto Da *Spondia mombin L.* 59

4.2 Síntese de AuNPs e de AgNPs 60

4.3 Síntese via método convencional 61

4.4 Síntese via rota limpa 64

4.5 Amostras das Cepas bacterianas 65

4.6 Caracterização das Nanopartículas de AuNPs e AgNPs 65

4.6.1 Espectrofotometria de absorção no ultravioleta Visível (UV-Vis) 65

4.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão – TEM 65

4.7 Microscopia eletrônica de transmissão – TEM 65

4.8 Atividades antimicrobianas das AgNPs e AuNPs..... 66

4.9 Delineamento experimental 67

4.10 Estatística 67

4.10.1 Teste De Tukey 67

5. RESULTADO E DISCUSSÃO 68

5.1 Caracterização de AuNPs e AgNPs preparadas por via convencional 68

5.1.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-visível 68

5.1.2.1 AuNPs 68

5.1.2.2 AuNPs associada ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* via rota limpa 69

5.1.2.3 AgNPs 70

5.1.2.4 AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* via rota limpa 71

5.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM das AuNPs e AgNPs 72

5.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão das AuNPs 72

5.2.2 AuNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* 74

5.2.3AuNPs 76

5.2.4 AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* 78

5.3 Valores Médios De Absorbâncias em função das concentrações do decocto liofilizado da *Spondia mombin* associado as AgNPs.....80

5.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) das AgNPs associada ao Decocto da *Spondias mombin.* após as Vinte e Quatro Horas De Tratamento.....83

6. CONCLUSÃO.....86

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 87

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia surgiu a partir do conceito de produzir uma tecnologia em escala nanométrica, sendo benéfica em esferas diferentes, proporcionando melhoria na qualidade de vida. Esse conceito de nanotecnologia e nanociência começou a ser debatido a partir do ano de 1959 por Richard P. Feynman, durante esse período os estudos indicavam a chance de construir novos materiais gerando novas ciências, através da manipulação dos átomos (DE PAULA SILVA, T., *et al*., 2020).

A aplicabilidade das nanopartículas no panorama biotecnológico e industrial têm motivado interesses em várias áreas dentre as quais destacamos a nanomedicina, nanoveterinária, nanofarmacologia, que buscam novas alternativas para desenvolver medicamentos mais seguros, eficientes, concedendo benefícios substanciais e clinicamente importantes (MENCK, *et al*., 2020).

Sendo assim, as nanopartículas metálicas têm sido muito estudadas, devido às especificidades físico-químicas, tais como: seletividade, reatividade, especificidade e baixa toxicidade (SHMARAKOV, I. *et al*.,2017). Desenvolvem-se por métodos químicos, sendo que depois da redução, no caso do metal prata, tende a formar *clusters.* Já o metal ouro se torna estável, uma vez que são aplicados por compostos químicos diferentes, podendo, dessa forma serem aplicados na medicina veterinária (BATAIN, F. *et al.*,2020).

Muitas substâncias redutoras causam toxicidade ambiental e/ou produzem resíduos nocivos ao meio ambiente e para saúde humana (SHUKLA *et al*., 2012). Dentre as opções para amenizar ou eliminar esses obstáculos para reduzir sais metálicos e manter a estabilidade de íons, utiliza-se de biomoléculas que podem ser aplicadas nos processos que envolvam extratos vegetais e muito usadas nas sínteses das nanopartículas de ouro e de prata, tornando a técnica simples, eficaz e ecologicamente correta (HUANG; YANG, 2004; YULIZAR *et al*., 2017).

Uma das plantas com o potencial de agente redutor é a *Spondias mombin L.* conhecida popularmente como cajazeira. É empregada na medicina popular e usada no combate as bactérias resistentes possuindo também ação cicatrizante em processos infecciosos (SOARES *et al*., 2006; DA SILVA *et al*., 2014; SÁ JUNIOR *et al*, 2016), além da atividade antibacteriana atribuída à presença de alguns compostos, tais como: terpenos, alcaloides e compostos fenólicos (Mesquita *et al.*, 2017), podendo ser empregada como uma alternativa antimicrobiana dentro da medicina veterinária.

As pesquisas realizadas por LEONEZ *et al*. (2018), usando o decocto extraído da folha da *Spondias mombin L.,* mostrou grande eficácia mediante as cepas causadoras da mastite em animais. Nos caprinos, a possibilidade de uma infecção se deve pelo fato desses microrganismos colonizarem a região do óstio, penetrando o ducto do teto.

A aplicabilidade dessa solução antimicrobiana na caprinocultura é de extrema importância, pois proporciona um produto com qualidade, evitando a contaminação do leite da carne e o surgimento de outras patologias que venham prejudicar o rebanho (SILVA; GUIMARÃES; OLIVEIRA, 2012).

Diante disso decidiu-se associar as propriedades da *S.mombin L.* e das nanopartículas do ouro e da prata com aplicação no combate à avaliação antimicrobiana em caprinos como antimicrobianos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

Preparar e caracterizar nanopartículas de ouro e prata, utilizando o decocto das folhas de *S. mombin L.* com vista à aplicação em medicina veterinária pelos potenciais antimicrobianos dessas soluções.

2.2 Específicos:

- Sintetizar as AgNPs e AuNPs fazendo a redução dos sais e estabilização das soluções com citrato de sódio e/ou borohidreto de sódio/citrato de sódio, respectivamente;
- Sintetizar AgNPs por meio da redução da prata adicionando o decocto da folha da *Spondias mombin L.;*
- Avaliar a formação e a estabilidade das AgNPs e AuNPs em escala do decocto extraído da folha da *Spondias mombin L.*;
- Identificar a morfologia das AgNPs e AuNPs do decocto extraído da folha da *Spondias mombin L.*;
- Caracterizar as microestruturas das AgNPs e AuNPs;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das AgNPs e AuNPs, obtidas do decocto extraído das folhas da *Spondias mombin L.*

- Avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) das AgNPs associada ao decocto da *Spondia mombin L.* frente as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Nanotecnologia

Data do ano de 1959 que o físico norte-americano Richard Feynman em uma conferência anual da Sociedade Americana de Física (APS), instituiu o conceito de nanotecnologia. Em uma palestra denominada *"There's plenty of room at the bottom"*, explicou sobre o futuro promissor da nanociência e nanotecnologia enfatizando a manipulação e as dimensões das partículas atômicas (FEYNMAN, 1959).

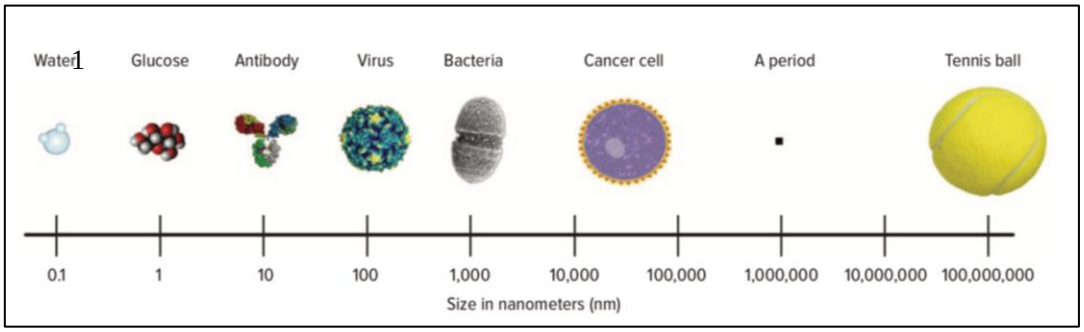
Segundo Feynman, a nanotecnologia tem possibilitado gerar novos produtos usando o conhecimento e a disponibilidade fazendo com que o objeto se torne real, tendo outras opções além dos materiais já existentes na natureza (CADIOLI e SALLA, 2006).

As teses aderidas por Feynman foram seguidas pelo professor Norio Taniguchi da Universidade de Ciências de Tóquio que definiu o termo "nanotecnologia" como sendo um processo de separação, consolidação e formação de matérias por um átomo ou uma molécula, tendo como foco dar relevância as máquinas que tivessem níveis de tolerância inferiores a um mícron (1000 nm) (HULLA *et al.*, 2015).

A era dourada da Nanotecnologia foi assistida nos anos 80, nesse período ou mais precisamente em 1981 ocorreu a construção do primeiro microscópio eletrônico de tunelamento de manipulação atômica (*Scanning Tunneling Microscope*), tendo como criadores Gerd Binning e Heinrich Rohrer (INPI, 2010), que diante dessa descoberta, houve uma contribuição significativa quanto às novas pesquisa para entender o mundo nano.

A escala nanométrica, conforme a norma ISO/TS 80004-1: 2015 equivale o comprimento de onda entre 1 e 100 nanômetros (nm), cerca de um bilionésimo de um metro (SUBEDI, 2013), conforme figura 1.O emprego de novos materiais com a escala em nanômetros contribuiu e muito, com o progresso em inúmeras áreas (HULLA *et al.*, 2015; KISHEN,2015).

Figura 1: Escala nanométrica de comprimento de onda.



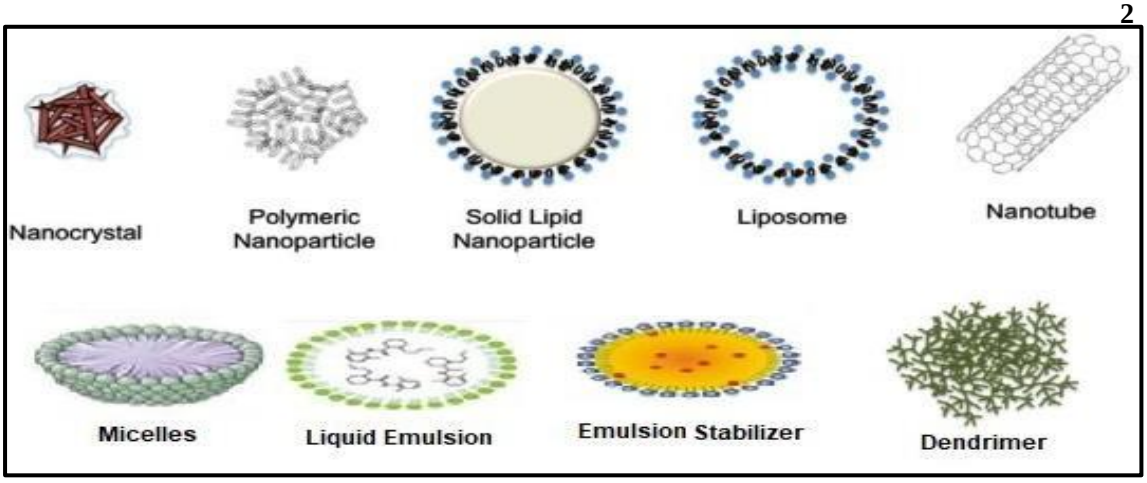
[1]

Fonte: Ventola, C. L. (2012)

Esse pequeno tamanho admite a aplicação no desenvolvimento de novos dispositivos ou ferramentas empregadas nos campos da biomedicina e farmácia (SINGH, P., *et al.*, 2018). Como exemplo alguns nanossistemas aplicados para veicular substâncias ativas através de sistemas biológicos, como os lipossomas, dendrímeros, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanopartículas metálicas, nanotubos de carbono dentre outros (RAVINDRA B. C., *et al.*, 2018), conforme a figura 2.

Figura 2: Exemplos de nanosistemas.

[2]



Fonte: (Ravindra B. C *et al*., 2018; Faraji A. H. *et al*,2009).

[1] VENTOLA, C. L. **The nanomedicine revolution: part 1: emerging concepts.** *P & T :A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, *37*(9), 512–525. 2012.

[2] Ravindra B. C., Kishor S. S., Machindra J. C. (2018) Emerging use of green synthesis silver nanoparticle: an updated review, IJPSR, V. 9/10: 4029-4055
Faraji A. H., Wipf P. (2009) **Nanoparticles in cellular drug delivery**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V17/8, 2950–2962.

Atualmente a nanotecnologia é uma das áreas mais inovadoras da ciência e lida com o desenvolvimento de distintos tipos de nanomateriais, propostos através da elaboração de diferentes sínteses. Inúmeras nanopartículas metálicas têm sido sintetizadas e usadas em diferentes aplicações (TULISNKI, M., *et al*., 2017), por exemplo NPMs de ouro e prata (N. NOAH,2019; SRIVASTAVA, S., *et al.*,2019) além das nanopartículas de zinco, paládio (POURREZA N., *et al*.,2019) e platina (GUGGILLA, B.R., *et al*.,2019) as quais são aplicadas em várias áreas como energia, medicina, agricultura e biotecnologia.

As nanopartículas possuem vantagens consideráveis devido à sua capacidade de veicular fármacos, tornando os com melhores características, tais como mais solúveis, possuem uma excelente capacidade de permear membranas, além da melhora na sua afinidade com os receptores celulares e com isso elevando a biodisponibilidade, tornando essa ação com menos efeitos secundários (MOTA, Rijo, MOLPECERES, & REIS, 2017).

Essas partículas têm aplicações nas atividades antibacterianas antivirais, antifúngica, além da ação anti-inflamatória (ANAND K. *et al*.,2015; CHEN, X.; *et al*.,2008), e GORENŠEK, M.; *et al*., 2007).

3.2 Preparação das nanopartículas

A preparação das NPMs envolve três tipos de diferentes metodologias: químicas, físicas e biológicas. O método químico classificado dentro da categoria dos *bottom-up* acontece em meio aquoso, alcoólico, microemulsões, via separação térmica de sais metálicos e sínteses eletroquímicas (TULISNSKI, M., *et al*., 2017). Nesse processo as partículas são alcançadas por meio de materiais reagentes ao nível atômicos (RUDRAMURTHY *et al*., 2016).

Os procedimentos químicos em sua maioria envolvem a utilização de reagentes químicos geralmente tóxicos e nocivos ao meio ambiente e ao ser humano (SIDDIQI, K. S.; *et al*., 2017), entretanto os métodos químicos usando o processo "*bottom-up"* são empregados nas reduções orgânicos ou inorgânicos e estabilizadores biodegradáveis (BONNIA *et al*., 2016; Mota *et al*., 2017). Apesar de gerar partículas de formas e tamanhos variados, esse método têm uma vantagem em sintetizar muitas NPs num curto intervalo de tempo (AHMED, AHMAD, SWAMI & IKRAM, 2016).

Já o método físico pertencente a classe dos "*top-down"* ocorre quando as partículas são adquiridas por fracionamento do metal utilizando-se das técnicas de

evaporação-condensação, cristalização amorfa, pirólise e moagem de esferas de alta energia. A fragmentação física abrange forças de atração entre as partículas em escala nanométrica (TNVKV, P., *et al*., 2011) podendo ser considerado o limite das tecnologias de custos elevados as quais abrange inúmeros tratamentos (ABDELGHANY, T.M. *et al*., 2018).

A desvantagem de se utilizar o processo "*top-down"* é o fato de que requer o uso de instrumentos altamente sofisticado além do consumo exorbitante de energia fazendo com que durante o processo ocorra um elevado custo operacional (KHANDEL, YADAW, SONI, KANWAR, & SHAHI, 2018), entretanto a vantagem e que nesse processo dificilmente haverá contaminação por solventes ,assim constituindo partículas uniformes ao seu tamanho (IRAVANI, KORBEKANDI, MIRMOHAMMADI, & ZOLFAGHARI, 2014; KORBEKANDI & IRAVANI, 2012; VAN BORTEL, STRUIJKER-BOUDIER, & SAFAR, 2001).

É importante salientar que os processos biológicos também são classificados como "*bottom-up"*, já que esses sistemas se dão pela redução de íons metálicos sob ação de extratos de plantas, óleos essenciais, microrganismos, incluindo bactérias, fungos, leveduras e algas (FERREIRA, D. *et al*., 2020; ANAND K. *et al*.,2015; CHEN, X.; *et al*.,2008).

Assim, a síntese verde ou biossíntese como é denominada, tem se tornado relevante dentro da nanotecnologia por restringir os impactos ambientais na produção de nanopartículas uma vez que limitam a quantidade de reagentes químicos usados, cooperando com a geração de subprodutos tóxicos ou necessidade de equipamentos ou processos custosos (SRIVASTAVA, S., *et al.*,2019).

3.3 Resistência bacteriana e suas mutações

A resistência antimicrobiana é um fenômeno natural e intrínseco, podendo ser adquirido ou transportado em um esforço para fugir das ações dos agentes antimicrobianos. As espécies bacterianas têm habilidade em resistir ou de diminuir os efeitos dos antibióticos por causa de suas características funcionais ou estruturais próprias naturais. (LI, X.-Z.,2016; BLAIR, JMA; *et al.*,2015).

O crescimento em relação a resistência às drogas ocorre em um mínimo de três fases, a saber, aquisição, expressão e seleção de micróbios que expressam esses genes de resistência (FANORO OT, *et al*;2020). Basicamente as bactérias ganham resistência a

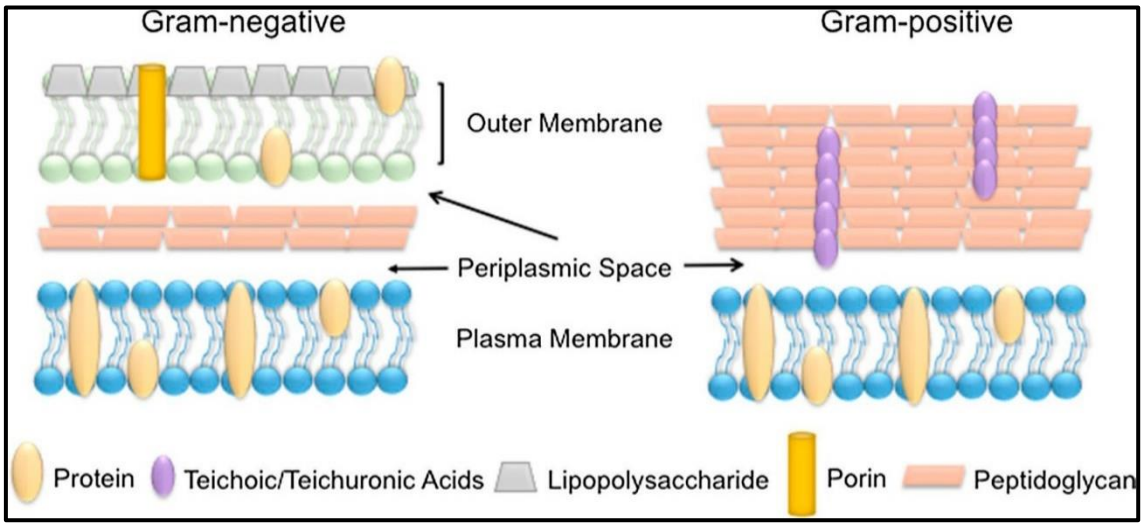
uma ou mais drogas por transdução, transformação e conjugação, ocorrendo via transferência horizontal de genes (HGT), esses agentes antimicrobianos ameaçados por HGT são β-lactâmicos, fluoroquinolonas etc. (BLAIR, JMA; *et al.*,2015; BARLOW, M.,2009). Outra maneira pela qual as bactérias alcançam um gene de resistência é por meio da mutação espontânea de genes existentes (TODAR, K.,2011; SOMMER, MOA., *et al;*2017).

As resistências a múltiplas drogas (MDR) primeiramente ocorrem quando bactérias com um gene de resistente as drogas existentes conseguem resistência a outras drogas (BLAIR, JMA; *et al.*,2015). Também ocorrem na defesa contra a exposição a antimicrobianos, as bactérias apresentam o gene de resistência (JAYARAMAN, R.,2009) tornando dominante quando se tem um ambiente propício para o seu crescimento.

A probabilidade de a resistência progredir cresce quando os antimicrobianos são usados por um extenso período (JAYARAMAN, R.,2009; TEIXEIRA, MC; *et al.*,2018). Essa progressão pode estar relacionada com os mecanismos de defesas desenvolvidas pelas bactérias durante a seu ciclo de vida. Em alguns estudos a resistência de bactérias às nanopartículas metálicas tem sido justificada devido ao aperfeiçoamento de substâncias extracelulares que levam à aglomeração e precipitação das MNPs (LU, J.; *et al.*; 2020; SALAS OROZCO, MF; *et al.*; 2019). Assim, impedindo a entrada dos efeitos dos nanoantimicrobianos nas células bacteriana Gram-positivas e Gram-negativas causando a perda da atividade antibacteriana (Panelaáček, A.; et al.; 2020).

As barreiras desenvolvidas pelas bactérias são baseadas nas diferentes estruturas de sua parede celular (envelope) nas bactérias **Gram-positivas** existem somente uma camada densa de peptidoglicano, enquanto **Gram-negativas** tem uma fina camada peptidoglicano com lipopolissacarídeos introduzidas na membrana plasmática, essa membrana complementar é denominada de periplasma (FANORO OT, *et al*;2020). Na figura 3 temos a diferenciação da estrutura da parede celular bacteriana.

Figura 3 : Comparação da estrutura da parede celular bacteriana



Fonte: (Slavin, YN; *et al.*, 2017).

3.4 Novos modelos de nanocarregadores e os efeitos da entrega do extrato vegetal dentro das células bacterianas.

Os extratos ao entrarem em contato com o agente infeccioso destroem a parede celular, elevando o grau potencial através da parede celular e interrompendo a ATP (ELAISSI, A. *et.al.;* 2012). A capacidade dos extratos vegetais de penetrar e destruir as paredes celulares dos fungos e as membranas do protoplasma auxilia na desintegração das membranas mitocondriais, sendo que na cadeia de locomoção dos elétrons uma alteração no fluxo de elétrons pode ocasionar isso (ROAD, K.;2022).

As bactérias podem ainda ter seus lipídios, proteínas e supermoléculas desgastadas como resultado da ação dos extratos dos vegetais. As paredes celulares de micróbios, bem como a membrana do material vivo são exterminadas pelos elementos que compõem o extrato vegetal, resultando em um protoplasma (TARIQ, S. *et al.;* 2019).

Os extratos de ervas apresentam algumas desvantagens que estão diretamente associadas ao e atingir as células e órgãos de interesse na forma ativa (ARMENDÁRIZ-BARRAGÁN, B.; *et al*., 2016; TIRKEY, R.; *et al*., 2016; YADAV, K.; *et al*., 2020; YADAV, K.; *et al*., 2020).

Essas dificuldades podem estar relacionadas com a sensibilidade da luz, calor e oxigênios bioativos que ligeiramente oxidam causando lesões, fazendo com que haja perda das suas propriedades ativas (ROAR, K.;2022). Como solução criaram-se

transportadores de entrega de medicamentos tendo como foco solucionar esses problemas e suas restrições, bem como expandir a biodisponibilidade e a eficácia terapêutica (EKOR M, *et al.;* 2014).

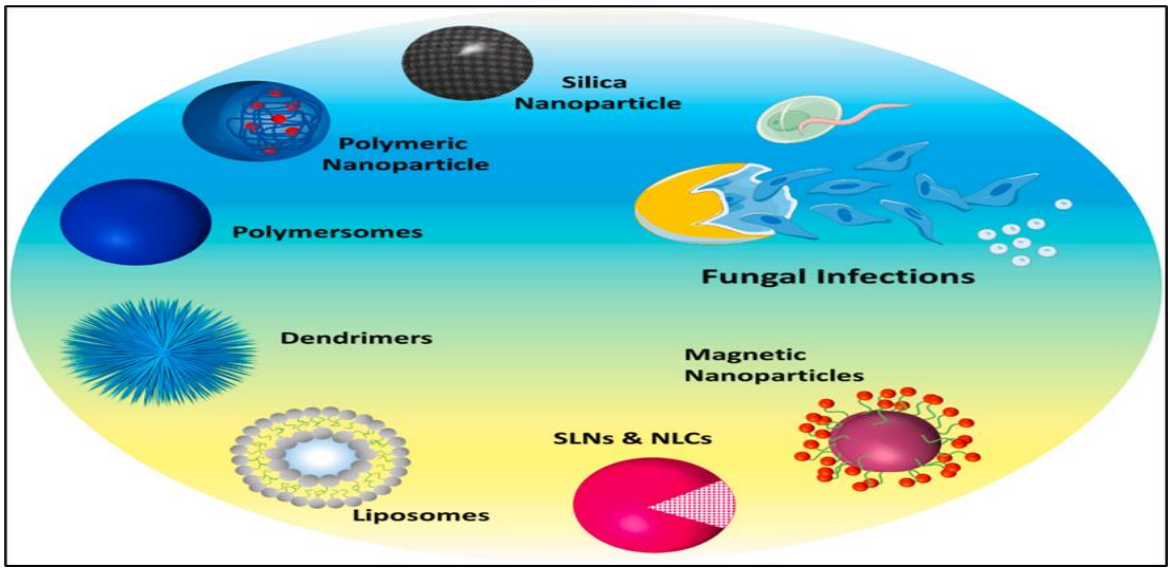
Muitos desses novos transportadores estão sendo considerado revolucionário, pois atualmente em suas formulações está sendo usado vegetais, incluindo também as nanopartículas, método de entrega lipossomais, sistema de entrega embasado em microesfera dentre outros (ROAR, K.;2022).

Os principais ganhos dessas novas formulações alternativas sobre as formulações convencionais compreendem solubilidade aprimorada, biodisponibilidade otimizada, proteção contra toxicidade, distribuição celular melhorada, entrega constante, proteção contra quebra física e química, atividade farmacológica aperfeiçoada e estabilidade (RAHMAN, HS.; *et al.;* 2020).

A inclusão de medicamentos naturais em formas modernas de dosagem concede que sejam administrados de forma mais apropriada, eficazes aos novos grupos de entrega fitoterápicos seja utilizando lipossomas, nanopartículas sólidas lipídicas (SLNs), podendo ser poliméricas, carregadores lipídicos nanoestruturados (NLCs), nanopartículas metálicas etc., podem ser produzidas e usadas como recurso terapêutico no tratamento de infecções fúngicas (ROAR, K.,2022; DEVI, VK.; *et al*., 2010).

A figura 4 nos mostra alguns exemplos de nanocarregadores empregados atualmente na entrega de bioativos de ervas e óleos essenciais usados intervenções antifúngicas.

Figura 4: Nanocarregadores empregados na entrega de bioativos de extrato de ervas e óleos essenciais.



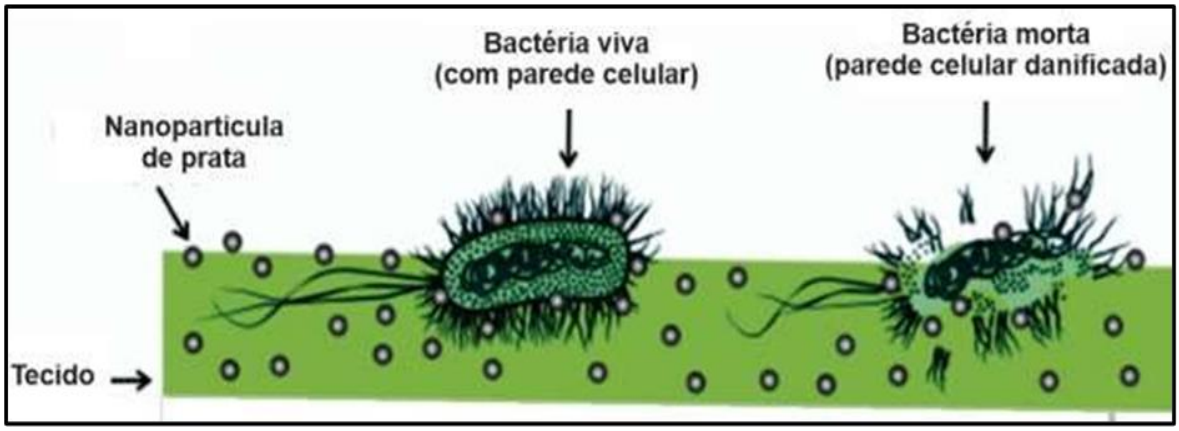
Fonte: (ROAD; K.; 2022).

3.5 Mecanismo de ação das nanopartículas metálicas de AgNPs e AuNPs associada com extrato vegetal atuando dentro de um mecanismo celular antimicrobiano

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm induzido grande preferência devido suas propriedades particulares, tais como estabilidade química, boa condutividade. Já as nanopartículas de ouro (AuNPs) demonstram boa compatibilidade, alta estabilidade, facilidade no controle morfológico do tamanho das nanopartículas, com destaque para as propriedades elétricas e ópticas provenientes do efeito localizado da superfície de plasmon ressonante (SPR), dessa forma contribuindo no esclarecimento dos diagnósticos usados atualmente em testes foto térmicos e colorimétricos (SIDDIQI, K. S.; *et al*., 2017; FERREIRA, D. *et al*.; 2020).

As nanopartículas metálicas sintetizadas com extratos vegetais vêm sendo empregada como agentes antibacterianos, sendo uma das novas alternativos na luta contra as bactérias patogênicas (AZIZI, S.; *et al.;* 2016; MANJU, S. *et al*., 2016; O. MACIEL.; *et al*., 2016). A figura 5 nos mostra a ação em um tecido de uma nanopartícula metálica (AgNPs) atuando contra bactérias.

Figura 5: Ilustração de um tecido contendo AgNPs e sua atuação contra bactérias



Fonte: (GOMES; COSTA; MOHALLEM, 2016).

As bactérias de interesse tanto na área médicas como da veterinária tem como caraterísticas as superfícies de suas membranas carregadas negativamente, essa particularidade favorece a relação com as Nanopartículas Metálicas, que em solução aquosa, apresentam cargas superficiais positivas, por meio das interações eletrostáticas (COSTA, E.A *et al.*, 2022).

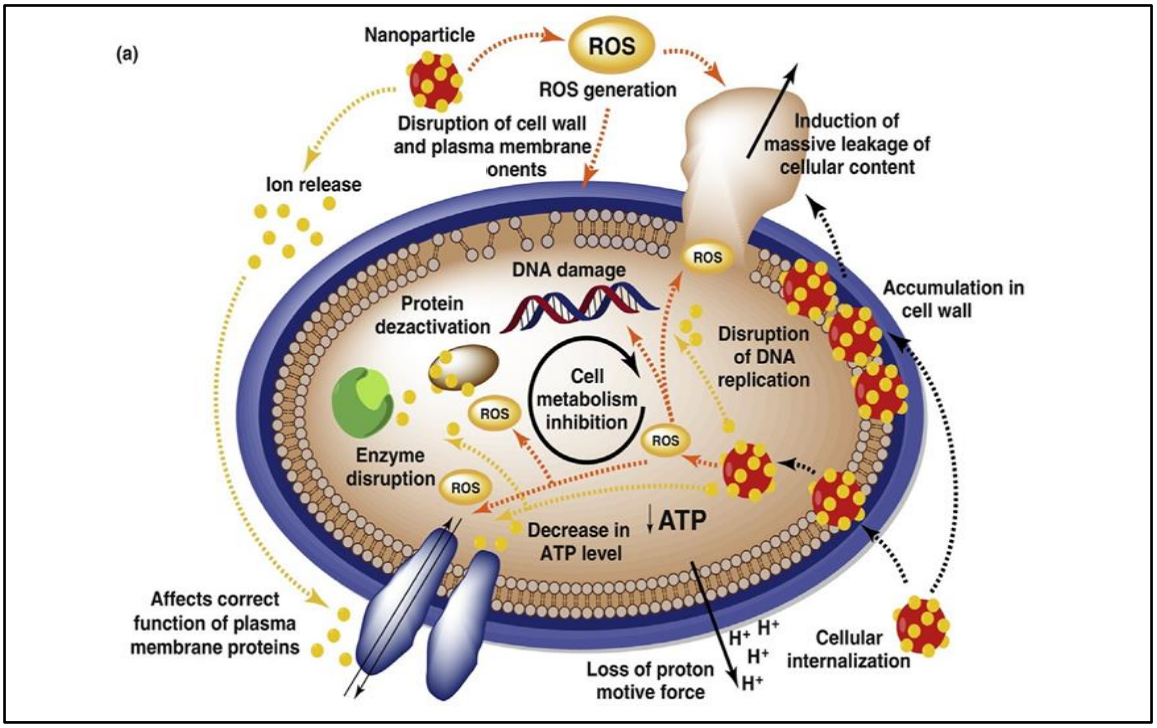
Esta interação proporciona numa ligação forte entre as nanopartículas metálicas e a membrana celular vindo a contribuir com a ruptura de paredes bacterianas e formação de poros ocasionadas pelas AgNPs e AuNPs. (JORTNER; RAO, 2002; HAQQ; CHATTRE, 2018).

As NPMs apresentam pequenas dimensões, atravessando naturalmente os canais iônicos na membrana celular bacteriana, chegando à superfície citoplasmática. No citoplasma as AgNPs e AuNPs, dependendo da atração química entre as nanopartículas e biomoléculas, podem fazer com que aconteça a desnaturação das proteínas, causando prejuízos ao DNA ocasionado pela AgNPs, assim com a produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) - Superóxido; Radical hidroxila e Peróxido de Hidrogênio. Estes elementos têm sua produtividade elevada pela influência das nanopartículas metálicas de prata e ouro (HAAQ; CHATTREE, 2018; TAKAMIYA, 2010).

O ROS pode levar ao estresse oxidativo agindo com as estruturas celulares (proteínas, membranas, ribossomo e DNA) e afetando o metabolismo bacteriano (síntese proteica (TAKAMI *et al.*, 2021).

A figura 6 nos mostra a ação das nanopartículas metálicas dentro de um mecanismo celular antimicrobiano.

Figura 6: Ação das NPMs dentro um mecanismo celular antimicrobiano.



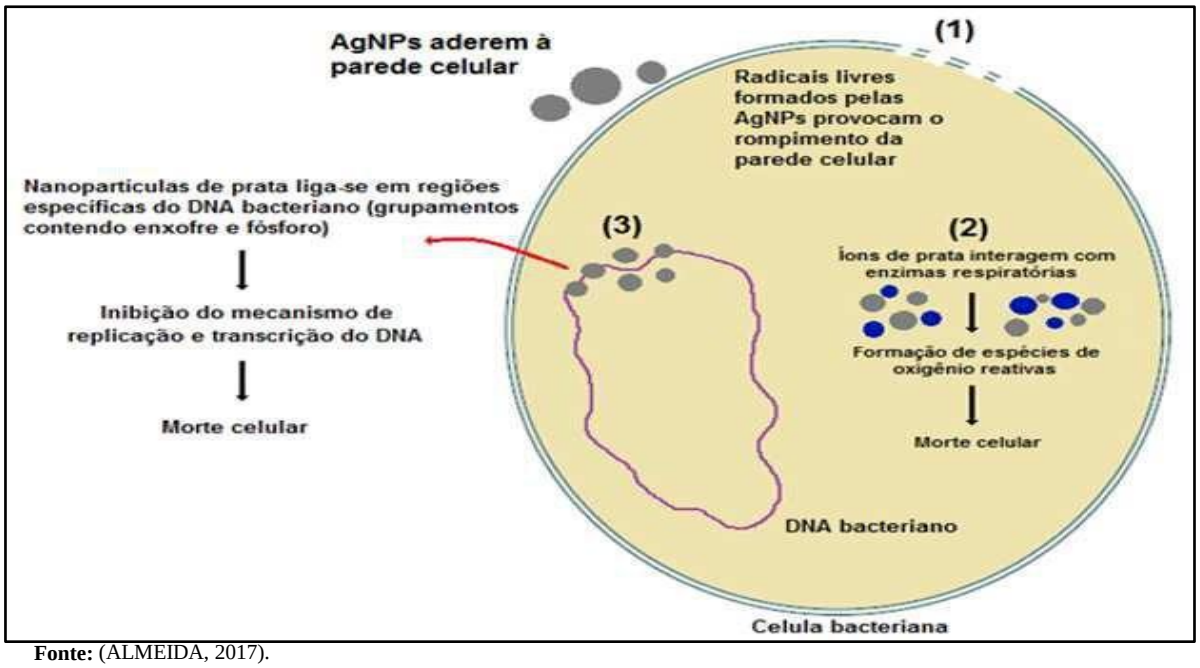
Fonte: (BASAK, S. *et.al*,2020).

As AgNPs apresentam um amplo espectro de atividade antimicrobiana, sendo justificada pela capacidade de interligar-se com aminoácido, bases nitrogenadas do DNA e elementos químicos da membrana e parede bacteriana (COSTA, E.A *et al.*, 2022).

A relação com elementos da membrana plasmática, atinge sua permeabilidade, resultando no desgaste da membrana e morte celular. As demais contribuem para a formação Espécies Reativas do Oxigênio (ROS) e consequentemente o estresse oxidativo bacteriano (TAKAMIYA, 2010; SPORTELLI *et al.*, 2018).

A figura 7 nos mostra os diferentes tipos de mecanismos de ação antimicrobiana de uma AgNPs dentro de uma célula bacteriana.

Figura 7: Ilustração do mecanismo de ação antimicrobiana de uma AgNPs em uma célula bacteriana.

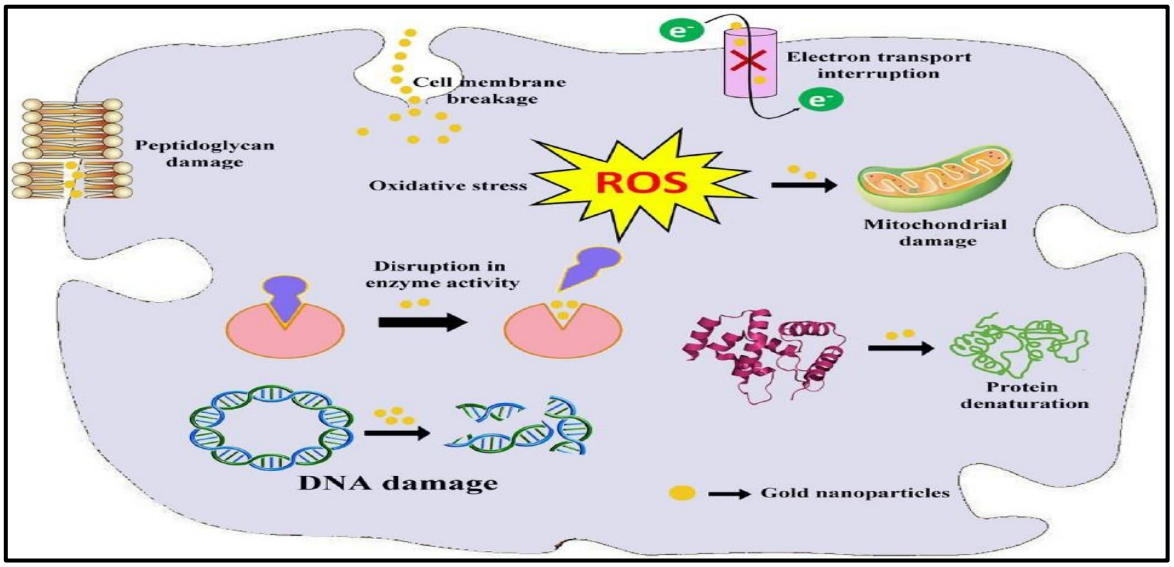


Fonte: (ALMEIDA, 2017).

Similar com o que acontece com a prata, as partículas de ouro também interagem com a superfície celular alterando sua permeabilidade. Além do mais, podem interagir com aminoácidos, ocasionando a desnaturação de proteínas e enzimas bacterianas, bloqueando a função respiratória e a redução de ATP intracelular (SIDIIQI; HUSEN, 2016; PHILIP, 2010).

A figura 8 nos mostra os diferentes tipos de mecanismos de ação antimicrobiana de uma AuNPs dentro de uma célula bacteriana.

Figura 8: Ilustração do mescanismo de ação antimicrobiana de uma AuNPs em uma célula bacteriana.



Fonte: (Ramalingam, 2019).

3.6 Biossíntese ou síntese verde

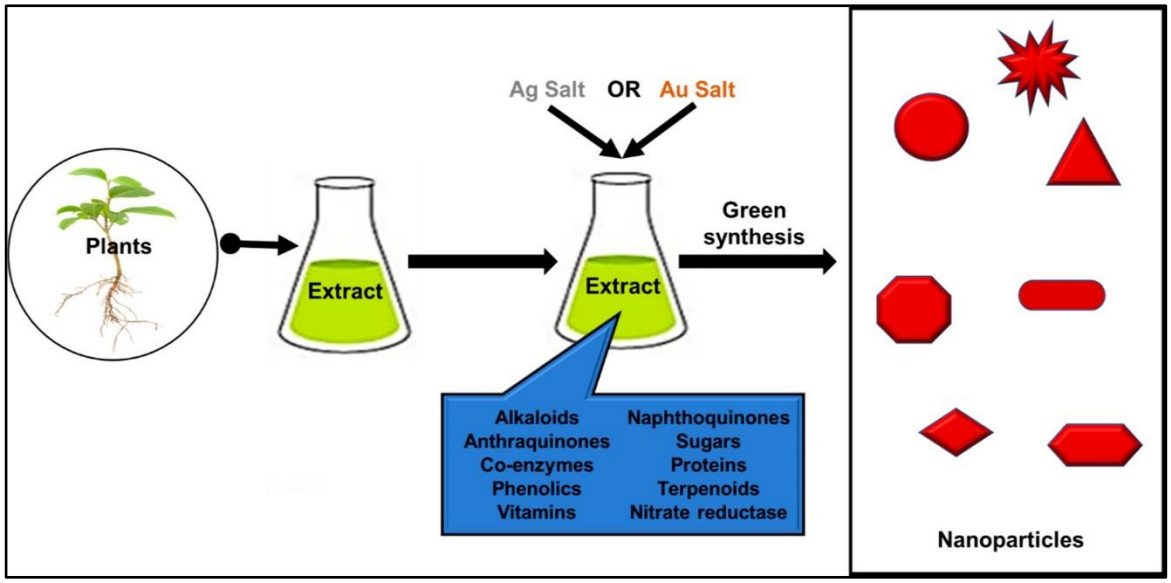
Também conhecida como biossíntese, ou síntese verde, a biogênese apresenta como benefício o baixo consumo de energia, assim como o não uso de aparelhos laboratoriais sofisticados e a suspenção dos solventes tóxicos o extrato aquoso da planta age como agente estabilizante e redutor das nanopartículas metálicas (GORENŠEK, M.; *et al*., 2007; SOLGI, M., *et al*., 2020; DANG *et al.*, 2019).

Na síntese biogênica os extratos biológicos são combinados com as soluções de sais metálicos e o efeito de parâmetros diferentes, como a concentração do sal, pH, temperatura, tempo e radiação. (MITTAL, AK., *et al*.,2013; DWIVEDI, AD *et al*.,2013; 2010). Dentre os quais destacamos especialmente a temperatura e ao pH, pois são fundamentais na formação e nas estabilidades das nanopartículas (SHENY, D.S., *et al*.,2012).

Estudos recentes de síntese de nanopartículas metálicas mediada por extrato biológico comprovam a funcionalização da superfície de nanopartículas com biomoléculas melhorando a ação bactericida. Assim, a atividade antimicrobiana melhorada das nanopartículas metálicas sintetizadas em verde deve-se às biomoléculas ligada à superfície das nanopartículas metálicas (RAI, A.; *et al*.,2010; VEERAPANDIAN, M.; *et al*.,2011).

Na figura 9 observamos a representatividade esquemática quanto a síntese de nanopartículas metálicas.

Figura 9: Representação esquemática para a síntese verde de nanopartículas metálicas, usando biomoléculas diferentes [3]



Fonte: FANORO, OT, *et.al* (2020).

Na síntese verde à base de extratos de plantas é possível elaborar nanopartículas metálicas de prata e ouro pela atuação dos metabólitos secundários existentes nesses agrupamentos, como flavonóides, terpenos, alcaloides, fenólicos, sacarídeos, enzimas, aminoácidos, açúcares, proteínas entre outras biomoléculas que são viáveis na redução de íons de ouro (Au^{3+}) e prata (Ag^{+}) em átomos neutro de Ag^{0} e Au^{0} (NASROLLAHZADEH, M., *et al*., 2019). Os extratos de vegetais agem tanto como agentes redutores quanto estabilizantes (AHMAD, S., *et al*.,2020).

Podemos citar alguns extratos vegetais com ação redutora conforme a tabela 1.

[3] Fanoro OT, Oluwafemi OS. **Mecanismo antibacteriano bactericida de plantas sintetizadas em prata, ouro e nanopartículas bimetálicas**. Farmacêutica. 2020 outubro 30;12(11):1044. DOI: 10.3390/pharmaceutics12111044. PMID: 33143388; PMCID: PMC7693967.

Tabela 1: Produtos obtidos da ação redutora dos óleos em nanopartículas metálicas

ESPÉCIE DE PLANTAS	NPs	TAMANHO (nm)	FORMA	(λ) NA MÁXIMA ABSORÇÃO (nm)	REFERÊNCIAS
Anacardium occidentale	Au	36	Hexagonal	545 – 560	SHENY, D.S., *et al*., 2012
Aquilaria sinensis	Ag	15 - 55	Esférica	408	GA'AL, H., *et al*., 2017
Coleus aromaticus	Au e Au/Ag	14, 17 e 20	Irregular, anisotrópica	426 (Au) 408-526 (Au/Ag)	VILAS, V., *et al*., 2016
Coleus aromaticus	Ag	26 e 28	Esférica	396 - 411	VILAS, V., *et al*., 2016
Curcuma pseudomontana	Au	20	Esférica	525	MUNIYAPPAN, N., *et al*., 2014
Curcuma zedoaria	Ag	-	Globular	415	SUTTHANONT, N., *et al*., 2016
Eucalyptus globulus	Au	42,2	Esférica	544,2	DZIMITROWICZ, A., *et al*., 2019
Ferula persica	Au	37,05	Esférica	530	HOSSEINZADEH, N., *et al*.,2020
Myristica fragrans	Ag	12 - 26	Esférica	420	VILAS, V., *et al*., 2014
Nigella sativa	Au	15,6 e 28,4	Esférica	540	MANJU, S., *et al*.,2020
Nigella sativa	Au	15,6 e 28,4	Esférica	540	MANJU, S., *et al*.,2020
Orange peel	Ag	6,6 - 14,80	Esférica	412	VEISI, H., *et al*.,2019
Pogostemon cablin	Ag	16 -87	Esférica	430	GA'AL, H., *et al*., 2017
Rosmarinus officinalis	Ag	52	-	450	ARASSU, R.R.T., et al.,2019
Rosmarinus officinalis	Au	60,7 ± 60,6	Esférica	528,9	DZIMITROWICZ, A., *et al*., 2019
Sesamum indicum	Ag	6,6 e 14,8	Esférica	420	ALFURAYDI, A.A., *et al*.,2019.
Syzygium aromaticum	Ag	31 - 72	Esférica	430	O. MACIEL, M.V., *et al*.,2019
Thymus vulgaris	Ag	40	Esférica	415 - 440	MELO, A.P.Z., *et al*.,2019
Zingiber zerumbet	ZnO	5, 23 e 45	Hexagonal	430	AZIZI, S., *et al*.,2016

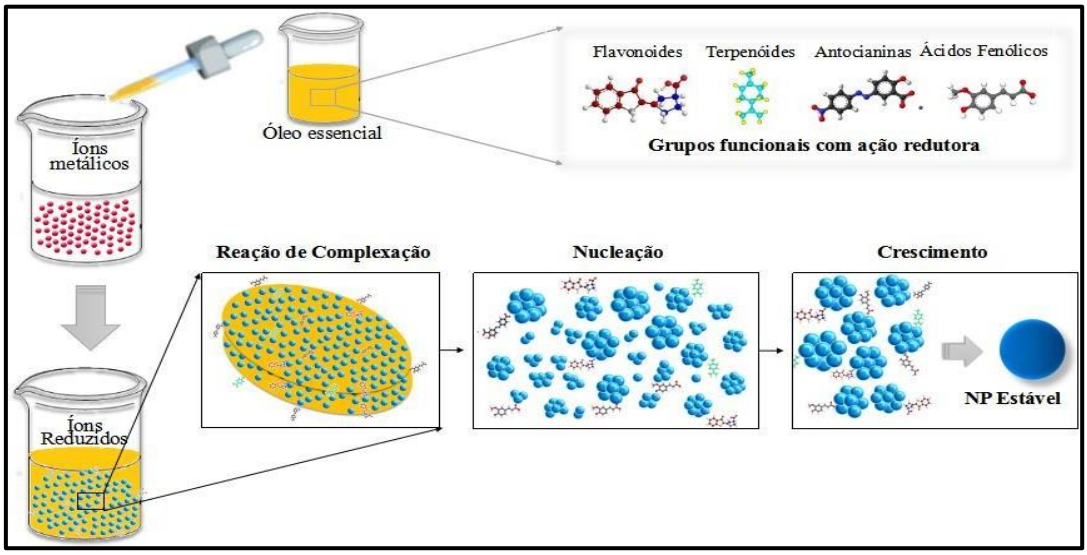
Fonte: (GUIMARÃES, *et.al*,2021).

Na tabela 1, observa-se uma série de exemplos de nanopartículas preparadas, a partir de extratos de origem vegetal com ação redutora de óleos de princípios ativos de plantas. Também notamos que diferentes plantas permitem produzir NPs de ouro e prata de tamanhos e formas diferentes, ou seja, é possível obter-se NPs variando entre 5,23 (nm) e 60,7 (nm) e de formas hexagonal, esférica, globular, irregular e anisotrópica, ainda com cores das soluções variadas previsto pelo comprimento de onda na máxima absorção (λ).

Na redução das nanopartículas metálicas usando extratos vegetais a síntese verde é resultante de três possíveis reações de complexação são elas: A primeira reação acontece entre os componentes das macromoléculas do extrato e os íons metálicos (PJ SARNOSKI, S.O., *et.al* .2012); na segunda a reação ocorre entre os grupos hidroxilas de antomicinas dessas macromoléculas a qual juntam-se com os íons metálicos formando alguns compostos antes da formação das nanopartículas metálicas através da redução (XY JIN, Z.C., *et.al* .2018).

Já na terceira, e última, reação que é a mais lenta, as outras biomoléculas existentes no extrato, mas que não tem a capacidade redutora durante a solução, difundem continuadamente para as interfaces sólido-líquido geradas no núcleo das nanopartículas metálicas (AHMAD, A.M., *et.al* .2013). A figura 10 refere-se à reação de complexação, como possível mecanismo da síntese verde de nanopartículas metálicas mediado por extrato vegetal.

Figura 10: Representação de complexação do provável mecanismo da síntese verde de nanopartículas metálicas mediado por extratos vegetais.



Fonte: GUIMARÃES, M.L.; *et.al* (2021).

Segundo (KIM T.H., *et.al* .2012*)* a dimensão das NPs é um fator muito importante no manuseio dos agentes antibacterianos e consequentemente estabelece o nível de toxidade no produto, pois constatou-se que as AgNPs de 10 nm tem maior potencial de ocasionar mortes celulares do que as partículas de AgNPs de 50 e 100 nm.

Em estudos anteriores, as NPs de prata apresentaram um elevado potencial quanto à ação antimicrobiana, além de baixa toxidade em células de mamíferos (RAI, M., *et.al*, 2009; DENG, X., *et.al*, 2015; FRANCI,G.,*et.al*, 2015); e outros mostrando propriedades que dificultam o processo inflamatório, acelerando o processo de cicatrização de nanopartículas de ouro (TIAN, J.,*et.al*,2007). Diante disso, propomos neste estudo, associar as possíveis propriedades cicatrizantes e antiflamatória da *S. mombin L.* com as propriedades citadas das nanopartículas de ouro e da prata.

3.6.1 *Spondia mombin L.*

Linnaeus foi o primeiro a caracterizar o gênero de plantas Spondias no ano de 1753, dentre os quais se enquadra as *Spondias mombin L.* também conhecida popularmente por cajazeira (CARVALHO, P. C. L, *et al*.,2008).

Pertencente à família Anacardiaceae, as *Spondias mombin L.* são compostas de 60 a 75 gêneros e aproximadamente 600 espécies, sendo que 20 estão distribuídas mundialmente, estando sete delas localizadas em regiões neotropicais, dos quais dentre elas quatro possuem relevância econômica e por suas propriedades farmacêuticas, a saber: *S. dulcis, S. purpurea. S. tuberosa, S. Monbin L.*(SILVA, G. A., *et .al*,2014).

Oriunda de regiões da América Central as espécies *S. mombin L., S. purpurea, S. tuberosa, S.venulosa* se presume ter ocorrido um cruzamento entre as espécies *S. mombin e S.tuberosa* tendo maior ocorrência no Brasil, mais especificamente nas regiões norte e nordeste (SILVA, J. N. *et. al*,2015).

A espécie *S. mombin L.* é uma árvore frutífera que pode chegar a medir até 25 metros de altura, suas folhas ímpares possuem 11 divisões que variam entre 9 à 11 centímetros, as extremidades dos ramos apresentam flores pequenas na cor branca (OSUNTOKUN, O.T. *et. al*, 2017). Floresce começando no fim de agosto junto com o surgimento da nova folhagem e finaliza em dezembro. A partir de suas sementes se regenera espontaneamente, assim de suas raízes e estacas. A figura 11 mostra a imagem da árvore de *S. mombin L.*

Figura 11: Árvore da *S. mombin L.* [4]

Os frutos são compostos de drupa elipsoide e endocarpo súbero-lenhoso, medindo de 3 a 4 centímetros de comprimento com formato oval, oblongo, epicarpo fino e liso, possuem cor amarelo-alaranjado, além de serem ricos em vitamina A, carotenoides, sendo o principal deles a β-criptoxantina eluteína (LOURENÇO, M. A. M. *et. al.* 2018). Nos estudos fitoquímicos, as folhas demostraram a presença de taninos, saponinas, resinas, esteróis e triterpenos, flavonóides e alcaloides (ABO, K. A. *et. al.* 1999; ASUQUO, O.R. *et. al*. 2013; CARABALLO, A. *et.al*,2004). A figura 12 exibe os frutos da *S. mombin L.*

Figura 12: Frutos da *S. mombin L.*

[5]

Fonte: ver nota de rodapé

[4] https://www.google.com/search?q=spondia+mobim+L+ARVORE&tbm=isch&ved=2ahUKEwi2k-fzzMj1AhUwG7kGHQ69BDoQ2cCegQIABAA&oq=spondia+mobim+L+ARVORE&gs_lcp=CgNpbWcQA1CtB1jREWDgE2gAcAB4AIABkQOIAa8TkgEHMi00LjMuMZgBAKABAaoBC2d3cy13aXotaW1nwAEB&sclient=img&ei=havtYfa8LrC25OUPjvqS0AM&bih=625&biw=1366&rlz=1C1GCEA_enBR949BR950#imgrc=GXYPhk4EINt5LM

[5] IDEM

As folhas e as cascas da *Spondias mombin L.* são usadas na medicina casual para tratar infecções, especificamente àquelas com diarréias e disenterias. Nos estudos *in vitro* as substâncias aquosas e etnológicas extraídas das folhas de cajazeira (*S. mombin L.*), impediram o desenvolvimento bacteriano, consistindo no primeiro relato de comprovação de uso popular desta espécie com ação antibacteriana (AJAO, A.O.*et. al*,1995). A figura 13 mostra as folhas e casca da *Spondias mombin L.*

Figura 13: Folha e casca da *S. mombin L.*

[6]

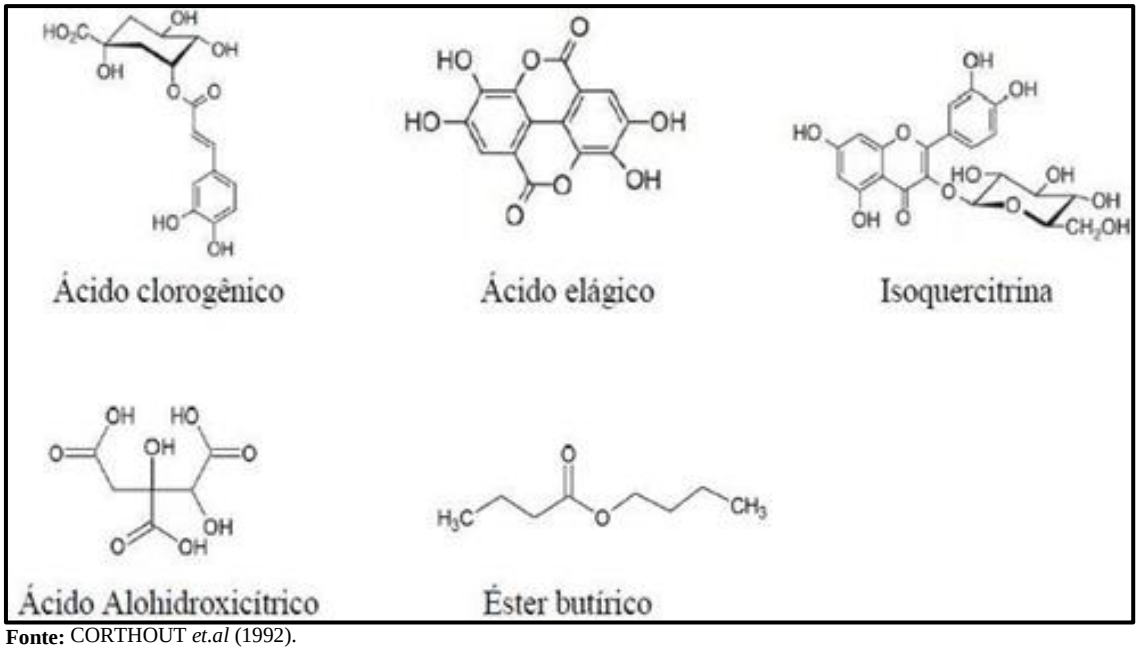
Fonte: ver nota de rodapé

As substâncias extraídas das folhas e dos ramos da *Spondias mombin L.*, apresentam muito taninos elágicos com características medicinais aos microorganismos gram-negativos e gram-positivos (SACRAMENTO, C. K. *et.al*, 2000). Nas análises qualitativas das folhas, avaliando o extrato etanólico mostraram-se três compostos fenólicos: ácidos elágico, ácido clorogênico e a isoquercetrina e do ácido clorogênico foram isolados ácidos clorogênicos e ácido cafeico (CORTHOUT, J. *et.al*, 1992). A figura 14 mostra os constituintes químicos encontrados nas folhas da *Spondias mombin L.*

.

[6] - IDEM

Figura 14: Constituintes químicos encontrados nas folhas de *Spondias mombin L.*



Fonte: CORTHOUT *et.al* (1992).

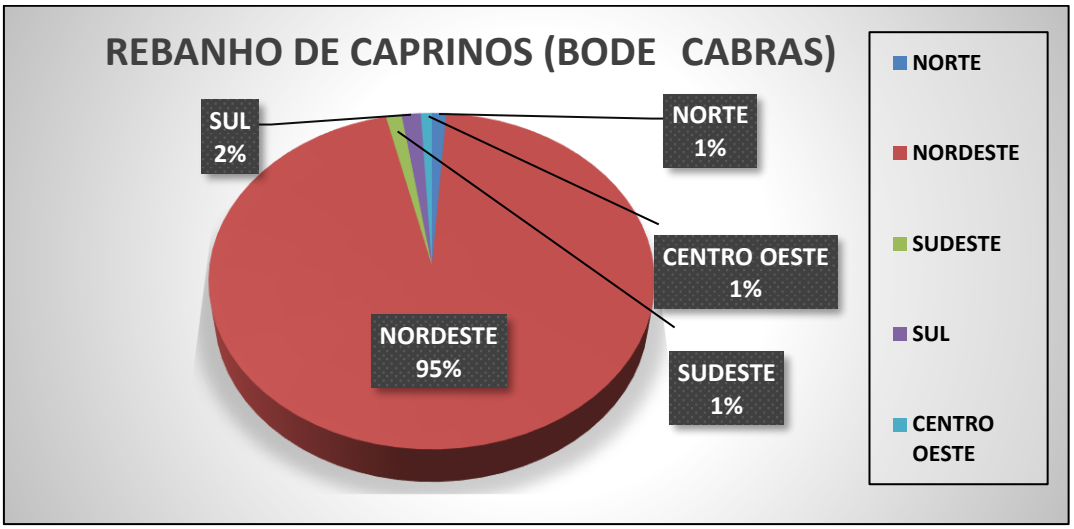
A ação antimicrobiana se deve devido ao aparecimento do derivado do ácido anarcádio, separado das folhas da *S.mombin L.* tendo a capacidade de inibir a β-lactamase, atividade concedida também ao ácido clavulânico um dos antibacterianos mais populares no mercado (COATES, N. J. *et al*. 1994; CORTHOUT *et.al* 1992).

Embora a *S. mombin L* seja utilizada no tratamento de feridas, um estudo particular utilizou o modelo de edema em pata de animal, e observou - se que não houve diferença estatística entre o grupo tratado com o extrato etanólico oriundo da casca e do caule da *S. mombin L.* quando comparado com o grupo controle (ABAD, M.J. *et al.* 1996).

3.7 Caprinocultura leiteira

O Censo Agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2021 o Brasil somou aproximadamente 11.923,630 milhões de caprinos uma redução de 9,8 % quando comparado em 2020 (IBGE, 2022). Desses cerca de 11,353 milhões estão em regiões nordestinas, onde estão concentrados 95,0% do efetivo do rebanho nacional, conforme mostrado na figura 15.

Figura 15: Efetivos percentuais de caprinos em relação ao rebanho nacional do país.



Fonte: IBGE, (2022).

Essa quantidade se deve principalmente à alta capacidade de adaptação desses ruminantes as circunstâncias climáticas do semiárido (bioma da Caatinga) e seus vários tipos de manejos, além de apresentar uma atividade leiteira pequena, contribuem na subsistência do semiárido.

Essas demonstrações no Nordeste explicam a importância em investir em melhorias na exploração e no segmento econômico (CARNEIRO *et al.* ,2016).

Mesmo com a diminuição do rebanho do país a produção leiteira se manteve estável em relação ao ano de 2020 com um a produção estimada em 35,3 bilhões de litro (IBGE, 2022). A exemplo disso destaca-se o que aconteceu na maior bacia leiteira de caprino do país, localizadas nas regiões do Cariri Paraibano, Sertão e Agreste Pernambucanos que antes da crise da Covid-19 produziam uma captação de 2.500 litros/dia com os acúmulos e sem captação ocorreu uma redução no valor do leite de cabra chegando o leite a ser vendido a R$1,00/litro (LUCENA, C. C. *et al.*, 2020).

Para se ter um bom sistema de produção eficaz é necessário adotar modelos com tecnologias avançadas, menos custo, emprego de animais adaptados e abrindo espaços no mercado (CARNEIRO et al., 2016). O leite de cabra é essencial como alimento para pessoas que possuem algum tipo de alergia ao leite da vaca (ALMEIDA et al., 2013) e para alcançar a qualidade é necessária a adoção de medidas higiênicas em Programa de Boas Práticas de Ordenha.

Dentre essas práticas de ordenha destacamos o adequado funcionamento do equipamento de ordenha, boas práticas de ordenha (uso *pré-dipping* e o *pós-dipping*),

tratamento imediato de casos de mastite clínica, assim como de animais com mastite subclínica na secagem (uso de antimicrobianos), segregação e descarte de animais com mastite crônica e na linha de ordenha, suprir a alimentação dos animais após a ordenhagem (para que o esfíncter do teto seja fechado) (VESCO et *al.*, 2017).

A higiene do teto não é apenas para diminuir os riscos de mastite e outras infecções, mas também contribui na qualidade do leite, tornando um alimento de alto valor (VIEIRA *et al.*, 2018). Assim o *pré-dipping* e o *pós-dipping* são uma das estratégias eficientes no controle da mastite contagiosa e ambiental (ALVES *et al.*, 2017).Todavia, o uso de antissépticos é primeiro ato a ser feito para diminuição da população antimicrobiana tendo como finalidade de impedir a disseminação de patógenos contagiosos causadores de mastite (GONÇALVES;TOMAZI; SANTOS, 2017), sendo fundamental a realização de exames clínicos, macroscópica, celular e microbiológica do leite de forma contínua (SOUZA *et al.*, 2019). E dessa forma, um antisséptico a base de nanopartículas poderá ser útil na inibição de microrganismos, preservando os constituintes desse produto lácteo.

Quando se trata de motivos de risco associados à mastite tem-se o sistema de criação, a não divisão do rebanho doente do sadio, limpeza das instalações e equipamentos da ordenha, além do erro no *pré* e *pós-dipping*, número de lactação, o tipo de ordenha (ACOSTA *et al*., 2016),e mais particularmente a pele do úbere, as mãos dos responsáveis pela ordenha e nos resultados antissépticos (SARTORI; SANTOS; MARIN,2012).

O uso indiscriminado de antissépticos no *pré-dipping* e no *pós-dipping* aparentemente pode ser seguro, entretanto pode provocar lesões do epitélio mamário, indução da resistência bacteriana e aparecimento de resíduos no leite (MORÃO *et al*., 2015), o que resulta num número restrito de antissépticos a serem aplicados na lavagem de tetos.

Logo, os estudos de novos fármacos e substâncias que estão voltados para os óleos essenciais e extratos de plantas dentre os quais destacamos o extrato de *Spondia*s *mombin L. c*om ação antimicrobiana (FANIN *et al.*, 2020), principalmente associado a nonopartículas, onde deve-se estudar os aspectos físicos, químicos, ação antimicrobiana e sua citotoxicidade.

3.7.1 Mastite

A palavra mastite é oriunda dos termos gregos mastos, que significa “peito”, e itis, “inflamação de” (QUINN *et al.*, 2015; SÁ *et al*., 2018). É uma síndrome plurietiológica e multifatorial, que gera perdas na indústria leiteira com consumo em programas de controle e profilaxia e redução da quantidade e qualidade de leite produzido, além de poder, no caso de uma infecção sistêmica, causar a morte do animal.

É o efeito da entrada de microrganismos no teto animal, de sua habilidade de colonização, grau de virulência da cepa e da sabedoria de resposta do hospedeiro (ACOSTA *et al.* 2016). Além disso, Souza *et al*. (2019) cita uma estimativa de déficits na produção de leite de cabras portadoras de mastite subclínica variando entre 55 kg e 132 kg de leite/ano, com reduções de 3 g de gordura/Kg de leite por animal. A figura 16 mostra uma caprino fêmea com mastite.

Figura 16: Cabra (*Capra aegagrus hircus*) apresentando sinais de mastite.

Fonte: NOGUEIRA, D.M;*et.al* (2018).

A classificação da mastite pode ser de forma contagiosa ou ambiental, dependendo dos microrganismos responsáveis pela infecção. O contágio da mastite contagiosa é geralmente causado por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus* coagulase-negativa (SCNs).

Na mastite ambiental os microrganismos responsáveis são patógenos oportunistas, habitualmente bactérias achadas em fezes e água contaminadas, tais como: *Escherichia*

coli e Pseudomonas spp. (PÉREZ *et al.*, 2020), acontecendo principalmente no pós-parto e em épocas chuvosas (DREVES, 2017). Supõe-se que em 51,2 % de rebanhos de caprinos já tenham apresentado sinais clínicos dessa doença (SILVA *et al*., 2015).

Os microrganismos aplicam como estratégias a inativação enzimática do antimicrobiano, modificação do alvo do antibiótico, bombas de refluxos de antimicrobiano, deformação na permeabilidade da membrana e construção de biofilmes, esses mecanismos de resistência podem ser provenientes de uma característica intrínseca de algumas espécies de bactérias, obtidas dos resultados e das mutações ou contraídas pela aquisição de material genético exógeno (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

O predomínio da mastite clínica é de 0,15%, ao passo que na subclínica as variações geram em torno de 11,49% a 30,70% em estudos na região Nordeste (ACOSTA *et al.*,2016). Os motivos da mastite subclínica em caprinos é a presença dos agentes patogênicos *Staphylococcus sp.* e *Streptococcus sp.* constantemente encontrados em infecções intramamárias, com *Staphylococcus* como agente principal etiológico (BARROS *et al.*, 2018; SANTOS JUNIOR *et al.*, 2019).

Com isso, as técnicas de *pré e pós-dipping* com soluções antissépticas aplicadas de forma correta podem diminuir casos de mastites subclínicas em até 85% (SILVA *et al.*, 2015). E uma das questões a serem respondidas e a possibilidade do uso de nanopartículas associadas a plantas, potencializando a prevenção da mastite. A profilaxia tem como embasamento a utilização de antimicrobianos e antissépticos, contudo, o mau uso desses fármacos pode agilizar o sistema natural de resistência microbiana, comprometendo a prevenção e o controle (VIEIRA *et al*., 2018).

Mediante a essa perspectiva, os dispositivos principais de ação dos antimicrobianos envolvem inibição da síntese da parede celular das proteínas e de ácidos nucleicos, também atuam na desorganização da membrana celular e interferindo no metabolismo celular (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Nanopartículas associadas à química verde poderão amenizar os índices de mastite.

3.7.2 Microrganismos responsáveis pela mastite

As várias condições climáticas do país, os métodos de produção e a densidade animal por área de exploração fazem com que surja uma diversidade de agentes etiológicos causadores de mastite, sendo divididos em contagiosos e ambientais.

Os principais representantes desse são grupo são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* sua transmissão se dá de animal para animal e de teto para teto no decorrer da ordenhagem, multiplicando-se sobre ou dentro da glândula mamária (ACOSTA *et al*. 2016; SÁ *et al.*, 2018). *S. aureus* é dominante nos casos de mastite contagiosa, ocasionando a mastite subclínica que depende do nível de infecção, virulência da cepa e da resistência do animal hospedeiro, ocasionando o crescimento na contagem de células somáticas (CCS) (FREITAS *et al*.,2018).

As bactérias causadoras da mastite são constituídas pelos seguintes tipos: coliformes, *Streptococcus* ambientais e enterococos, sendo que dentro do grupo de coliforme estão as *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* (VESCO *et al*., 2017) e *Pseudomonas aeruginosa* (SANTOS JUNIOR *et al*., 2019). A principal justificativa para ocorrer à mastite é a pouca imunidade do hospedeiro, assim como as péssimas condições sanitárias desfavoráveis (ACOSTA *et al*.;2016).

3.7.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas spp. tem como características: bacilos gram-negativos, aeróbios, oxidase positiva e catalase negativas (SÁ *et al.*, 2018), possui a capacidade de sobreviver em ambientes variados (PANG *et al.*, 2019). Possui conjunto de mecanismos de resistência a antimicrobianos a sua disposição, compreende-se a resistência intrínseca e adaptativa (tabela 2) (HORCAJADA *et al.*, 2019), exemplo é a *P. aeruginosa* em biofilme, que é capaz de ativar o *Katb* (gene indutor de catalase), capaz de anular peróxido de hidrogênio (ORSI, 2017), o qual possibilita versatilidade metabólica e alta adaptabilidade às alterações ambientais (PANG *et al.*, 2019).

Os genes propiciam a superexpressão de bombas de refluxo, onde foram apresentados com resistência ao composto de amônio quaternário (QAC's) (tabela 2) (MUÑOZ, 2019), antisséptico que pode ser usado no *pós-dipping*.

Além do mais, essa bactéria possui o gene LasB que é habilitada em eliminar componentes teciduais do hospedeiro como as células produtoras e secretoras do leite, e

ainda, envolve-se nos mecanismos de proteção do organismo animal dificultando o processo de tratamento (SILVA,2016).

No úbere dos animais acometidos aparecem sinais similares as mastites causadas por coliformes com decréscimo na produção. Podendo-se ser observado sinas de hiperemia, edema e sensibilidade à palpação. O mais interessante em relação a esse microrganismo é seu comportamento psicotrópico, podendo contaminar o leite e ocasionar Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) (FIGUEIREDO, 2018).

A mastite por *Pseudomonas spp*. está associada essencialmente com a água contaminada utilizada na lavagem dos tetos, dos insufladores (teteiras), da canalização do equipamento de ordenha, do conteúdo reutilizável de *pré* ou *pós-dipping*, ou mesmo em cânulas infectada durante a terapia intramamárias. O controle passa em preservar a qualidade da água e efetivar os procedimentos de ordenha em boas condições sanitária (SÁ *et al.*, 2018).

3.7.2.2 *Escherichia coli*

E. coli é um bacilo gram-negativo normalmente identificado no trato gastrointestinal humano e de animais. São amplamente encontrados no ambiente natural, em animais de produção, resíduos agrícolas, água não tratada, aquicultura e no solo (ZHANG *et al.*, 2020).

Sua classificação se baseia em um conjunto particular de genes, essenciais para o desenvolvimento de determinada doença, sendo essa classificada por patótipos diferentes segundo os genes associados à patogenicidade. A E. *coli* dispõe de fatores como resistência as β-lactamases de espectro estendido (ESBLs), os quais permitem inativação enzimática dos antimicrobianos, além de genes de resistência (tabela 2) (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Alguns fatores de virulência (toxinas, auto transportadoras tipo II, efetores III e a fimbria) foram estudados, entretanto ainda não conseguem esclarecem o grupo de virulência associado às cepas e causadoras de mastite, acredita-se que esses genes estejam associados a fenótipos que ajudam na instalação da *E. coli* no tecido mamário, entre eles, a resistência a fagocitose e a habilidade de estimular resposta pró- inflamatória por células epiteliais mamárias (KEMPF *et al.*, 2016).

Devido a isso, se pode deduzir que cepas causadoras de mastite não exibem fatores de virulência específicos, podendo estar ligado à pressão seletiva de virulência exclusiva ou fatores de aptidão (OLSON, 2018; ZHANG, *et al*., 2020). Ademais, *E. coli* também é capaz de produzir biofilmes, conseguindo resistir à ação de antimicrobianos como o hipoclorito de sódio (RECH *et al.*,2016).

A mastite causada por esse patógeno é aguda, sua recuperação é lenta reduzindo os índices produtivos do rebanho (KEMPF *et al.*, 2016). Diante disso, existem vacinas para mastite contendo cepa J5 de *E. coli* inativada, no qual o meio de ação que envolve os neutrófilos e seu recrutamento rápido na glândula mamária e leite, possibilitando a melhora no processo patogênico da doença (HERRY *et al.*,2017).

A entrada da glândula mamária é o canal do teto em que há o contato com o ambiente contaminado. As bactérias entram pelo canal do teto e se multiplicam no interior da glândula mamária e não se alojam nas superfícies epiteliais. A infecção ocasionada por esta bactéria compreende na melhoria dos métodos de higiene no ambiente onde ocorre à ordenha, diminuição da umidade, melhorar a ventilação no local disponível para os animais, abastecimento de minerais elevando a imunidade dos animais e execução de programas de vacinação (SÁ *et al.*, 2018).

Tabela 2: Genes de virulência e genes que conferem resistência a antissépticos.

GENES	AÇÃO	REFERÊNCIAS
Staphylococcus aureus		
*ica*ABCD	Facilita a aderência e colonização do epitélio da glândula mamária	ORSI, 2017 elaborado
mar, seb, sec ,sed, veja	Atividade superantigênica-induz forte atividade mitogênica celular, liberação de citocinas pró-inflamatórias.	PÉREZ *et al*.,2020 adaptado
tst	Atividade superantigênica-induz a secreção de altos níveis de citocinas	

hja,hlb	Invasão bacteriana e escape da resposta imune do hospedeiro	
lukMF	Redução da defesa do hospedeiro	
Streptococcus sp.		
Pilus Island 1 (PI-1), PI-2[a], PI-2b.	Adesão e Invasão	ROSINI; MARGARITI, 2015 adaptado.
Cfb, hylFB, bac, bca	Danos aos tecidos, Evasão imunológica.	CARVALHO-CASTRO *et. al*, 2017 adaptado
PauA e PauB	Ativador de plasminogênio alternativo (burlar sistema imune)	ORSI, 2017 elabora
Pseudomonas aeruginosa		
SurgE(c),emE,ydgF,mdfA	Superexpressão de bombas de refluxo	MUÑOZ, 2019 adaptado
PmrA,phoQ,colR	Modificação de lipopolissacarídeos	HORCAJADA, *et al*.,2019 adaptado
LasB	Danifica os componentes teciduais do hospedeiro e interfere nos medicamentos de defesa	SILVA, 2016 adaptado
Apr	Envolvida no extermínio dos componentes do sistema de defesa do hospedeiro	SILVA, 2016 adaptado
Escherichia coli		
AcrR	Codificador do sistema de refluxo *AcrB-Tolc*	COSTA; SILVA JUNIOR, 2017 adaptado.
HlyA	Codifica hemolisina (mecanismo de adesão)	KLAUS, *et al*.,2020 adaptado

iss	Produz lipoproteína da membrana externa bacteriana (confere a resistência imune ao hospedeiro)	MACIEL, 2019 adaptado

Fonte: (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

3.8 Antissépticos

A higienização é um fator essencial, onde se começa a prevenção das enfermidades (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020). Antigamente a administração profilática de antimicrobianos utilizados em diversos setores contribuiu com o surgimento de microrganismos resistentes, isso dificultou seu uso.

Mediante a essa situação a alternativa viável é o uso de antissépticos (MEDEIROS *et al*.,2018). O termo antisséptico é usado para substâncias biocidas em contato com tecidos vivos. Podendo ser classificado como bacteriostáticos e bactericidas, quando impede o crescimento microbiano sem causar sua morte e quando causa a destruição, respectivamente (AVANCINI; BOTH, 2017).

Muitos antissépticos são utilizados para assepsia em vários tecidos vivos (tabela 3), tais como álcool 70% (BARBOSÁ *et al.*, 2018), hipoclorito de sódio (NaOCl), clorexidina (RIBEIRO; CAMARGO, 2019), ácido lático (DREVES,2017) e compostos de amônio quaternário (MUÑOZ,2019). Os antissépticos que melhor atendem as condições de utilização em tecidos vivos e estão entre os mais conhecidos são o iodo, a clorexidina e o álcool (URQUIZA *et al.*,2016).

Para aprovação de substâncias como antissépticos as exigências envolvem um produto com vasto espectro de agir mesmo no comparecimento da matéria orgânica, pouco tempo de inativação dos microrganismos, habilidade de proteger a integridade do material, tolerando as oscilações de temperatura e pH, dispondo de ação residual, odor agradável ou inodoro, acessível de aquisição, preparo e pequeno custo (URQUIZA*etal.*,2016).

As qualidades de antissépticos empregados na pecuária leiteira incluem: eficiência contra os principais patógenos existentes nas glândulas mamárias, simples aplicação,

mantendo ou promovendo ótimas condições de higiene (SARTORI; SANTOS; MARIN, 2012; VIEIRA *et al*., 2018) com um produto de um produto de (COUTINHO *et al.*, 2012).

3.8.1 Antissépticos convencionais

A imersão do teto em solutos sanitizantes antes (*pré-dipping*) e após (*pós-dipping*) a ordenha é fundamental na prevenção de doenças. Mediante a essas precauções é importante o uso de antissépticos, sendo a mais comum higienização dos tetos dos animais são eles: iodo, clorexidina, ácido sulfônico, lauricidina, cloro e compostos de amônio quaternário (SILVA *et al.*, 2015; MORÃO *et al.*, 2015; VIEIRA *et al.*, 2018).

Sua diluição tem como sustento a diluição em emolientes com objetivo de diminuir as irritações da pele sendo seus demais compostos é glicerina, lanolina, propilenoglicol, sorbitol, óleos vegetais, minerais e colágeno (SILVA *et al*., 2015).

A comprovação de um antisséptico é aplicada quando sua eficácia atinge 70% de morte microbiana comparando com o controle positivo (MORÃO *et al*., 2015). A eficácia pode estar relacionada com as seguintes veiáveis: superfície previamente limpa, carga orgânica presente, tipo e grau de contaminação microbiana, qualidade dos microrganismos, concentração, período de amostra, presença de biofilmes, temperatura e pH (CAMPOS; VALENTE; AVANCINI,2016; AVANCINI; BOTH, 2017).

Os sanitizantes aplicados no *pós-dipping* o tempo para execução deve ser de 1 a 2 horas, tempo necessário para o esfíncter do teto se fechar (SILVA *et al.*, 2015; SÁ *et al*., 2018). Devido a esses quesitos umas quantidades delimitadas de antissépticos químicos podem ser utilizadas nos tetos, e a resistência e sensibilidade antimicrobiana prejudicam ainda mais programas de prevenção e controle de mastite em rebanhos leiteiros, o que estimula a busca continua por novos fármacos, especialmente fitoterápico (ALVES *et al.*, 2017).

3.8.1.1 Álcool

Usado como antisséptico suas concentrações variam de 60 a 80%, possui uma ação bactericida rápida atuando em 15 segundos, podendo um emoliente se inserido, como a glicerina a 2% (tabela 3).

No entanto a capacidade de volatização é uma das barreiras de uso, assim como ser inflamável, diminuição na presença da matéria orgânica e desidratação do tecido, especificamente quando não há relação com uma base emoliente (TRAJANO *et al*. 2020). Um antisséptico alternativo associado a nanopartículas poderia ser uma alternativa ao álcool, melhorando os benefícios aos animais e as pessoas.

Na assepsia são utilizados dois tipos de álcool: etanol e isopropanol, entre os dois o isopropanol é mais efetivo, valor acessível, pouca volatilidade e simples fabricação (DANTAS, 2018). Entretanto, devido a vulnerabilidade de ambos, seu uso é apropriado para limpeza de mãos, coto umbilical e antissepsia da pele para punção venosa ou arterial (TRAJANO *et al*. 2020), não sendo usual no *pré-dipping e pós-dipping* em animais leiteiros.

3.8.1.2 Iodos (I2)

É um antisséptico eficaz e de extenso espectro de efeito sobre bactérias, fungos e vírus que pode ser empregado de forma isolada ou como constituinte de compostos orgânicos e inorgânicos. Pode estar exposto como tintura (solução hidroalcóolica) ou iodóforo (combinação do iodo com molécula orgânica), um exemplo é o polivinilpirrolidona iodada (PVP-I) (tabela 3).

É empregada principalmente na antissepsia de pele e na limpeza de feridas, contudo cada grupo de patógenos exige concentrações variadas, sendo que acima de 1% não é indicado em peles inflamadas, uma vez que gera irritação (TORTORA; FUNKE; CASE 2017; COUTINHO *et al*., 2012). Assim, existem falhas no uso do iodo e um antisséptico alternativo verde e seguro poderia ser mais bem empregado na pecuária.

As soluções a base de iodo contêm pouca reatividade com proteínas e nenhuma dependência do pH para agir, é uma alternativa para ser usada como desinfetante e antisséptico (DREVES, 2017). A ação efetivada é entre 1-2 minutos e o resultado em 2-4 horas (TRAJANO *et al*., 2019). No *pós-dipping*, o iodo puro deve ser utilizado em concentrações baixas (0,5 %) para que não deixe resíduos no leite (COUTINHO *et al.*, 2012).

3.8.1.3 (Cl_2)

Igual o iodo, também pertence à família dos halogênios podendo ser usados isoladamente na forma gasosa ou ligado com outras substâncias químicas. A ação

antimicrobiana é ocasionada pelo ácido hipocloroso (HOCl), sendo um forte agente oxidante, com ação no sistema enzimático celular (tabela 3), é usado no *pré-dipping* e no *pós-dipping* por ser um germicida com vasto espectro de ação.

Nesse sentido, o hipoclorito de sódio (NaOCl) caracteriza-se como sendo um dos compostos químicos de maior empregabilidade em decorrência de sua rápida ação, aplicabilidade e sua dissolvência em água, contudo princípios ativos que contém cloro têm baixa estabilidade de uso e pequeno efeito residual (MORÃO *et al.,* 2015; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017), não sendo recomendado durante a época de chuva, uma vez que a quantidade de matéria orgânica aumenta nesse período (ARCANJO *et al.,* 2017).

3.8.1.4 Clorexidina

Também conhecida com o nome de digluconato de clorexidina, possuem distintas concentrações e que variam de acordo com sua utilização (tabela 3). Sendo que ação atinge especialmente as membranas celulares das bactérias, efetivando contra as gram-positivas e a maioria das gram-negativas com exceção da maioria das *Pseudomonas*. Utilizada no tratamento de infecções das superfícies dos tetos das cabras, sendo seu efeito antimicrobiano cumulativo e contínuo, tendo duração de no mínimo 6 horas e com um efeito residual de 24 horas na superfície. (COUTINHO *et al.*,2012; TORTORA; FUNKE; CASE,2017).

Considerada uma molécula simétrica composta de quatro anéis clorofenílicos, e dois grupos biguanidas ligados por uma ponte de hexametileno, tendo uma base forte dicatiônica com pH superior a 3,5 (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020). O extenso espectro de ação, a habilidade de não ser inativada por matéria orgânica de grandezas pequenas (PEIXOTO, 2017), não apresentar modificações teratogênicas e possuir baixa atividade tóxica ao sistema (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020) a torna um antisséptico apropriado para programas de controle de mastites caprinas (SILVA *et al.,* 2015).

3.8.1.5 Composto quaternário de amônio (quats).

São detergentes catiônicos provindos de mudanças do íon amônio de valência quatro (NH_4^+), sua ação está conectada à parte positivamente carregada da molécula por prováveis mudanças nas membranas plasmáticas, alterando a permeabilidade celular, sendo bactericidas fortes contra bactérias gram-positivas e menos ativos contra bactérias gram-negativas (TORTORA; FUNKE; CASE 2017).

No entanto, estudos praticados com compostos de amônio quaternários comprovaram resistência das bactérias *Staphylococcus spp*. (MORÃO *et al.*, 2015). Exemplos de compostos de amônios quaternários aplicados como antissépticos são o cloreto de benzalcônio (BAC) e cloreto de cetilpiridinio (CPC) (MUÑOZ, 2019). Todavia, o uso de antissépticos no *pós-dipping* visa desativar agentes microbianos encontrados nos variados ambientes envolvendo a pecuária leiteira.

Com isso, os antissépticos mais eficientes usados no *pós-dipping* são clorexidina e iodo para *S. aureus*, para *Staphylococcus* coagulase positiva; o iodo, ácido lático, clorexidina e cloro e para *Staphylococcus* coagulase negativa clorexidina e cloro (RAMALHO *et al.*, 2012; ARCANJO *et al.*, 2017). Entretanto, o iodo e a clorexidina são incapazes de inibir biofilmes consolidados de *Staphylococcus spp*. PEIXOTO *et al.*, 2015).

Tabela 3: Principais antissépticos convencionais usados em animais.

ANTISSÉPTICOS	MECANISMO DE AÇÃO	ULTILIZAÇÃO	REFERÊNCIA
ÁLCOOL			
Álcool em gel	Desnaturação das proteínas	Antissepsia	PIMENTEL *et al;* 2020
Álcool 70 %	Rompimento da membrana bacteriana	Antissepsia em pequenos animais	TRAJANO *et al*; 2020
IODOFOROS			
Iodo	Penetração na parede celular	*Pós-dipping*	PEIXOTO 2017; DREVES 2017

Polivinilpirrolidona iodada (PV-I)	Extravasamento do conteúdo celular	Antissepsia pré-cirúrgica em animais	MEDEIROS *et al.*;2018
Tintura de iodo a 10 %	Oxidação dos grupos S-H aminoácidos (Interfere na função das proteínas)	Antissepsia do coto umbilical dos cordeiros	REIS; LEITE; GOMES,2018
PRODUTOS CLORADOS			
Cloro a 2,5 %	Desnaturação das proteínas da membrana celular	*Pós- dipping*	PEIXOTO, 2017
Hipoclorito de sódio a 1%	Alteração no transporte de nutrientes	*Pós- dipping*	MACIEL, 2018
Dióxido de cloro de sódio (ClO_2) a 0,1%	Promove perdas de componentes celulares	Antisséptico oral de cães e gatos	GOMES, 2019
ÁCIDOS ORGÂNICOS			
Ácido lático	Age na membrana celular bacteriana	*Pós- dipping*	DREVES, 2017
CLOREXIDINA			
Digluconato de clorexidina 0,12%	Dissociação da membrana plasmática bacteriana (parede do conteúdo celular)	Antisséptico oral de cães e gatos	GOMES, 2019
Digluconato de clorexidina 0,5%	Coagulação de constituintes Intracelulares	Antissepsia pré-cirúrgica animal	MEDEIROS *et al.*, 2018; TRAJANO *et* al., 2020

COMPOSTO DE AMÔNIO (QACS)			
Cloreto de benzalcônio (BAC)	Membrana celular interage eletrostaticamente com a membrana plasmática	*Pós-dipping*	SILVA *et al.*, 2019
Cloreto de cetilpiridinio (CPC)	Membrana celular interage eletrostaticamente com a membrana plasmática	Antisséptico pré-operatório, composição de produtos de higiene	MUÑOZ, 2019

Fonte: (BARBOSÁ *et al*., 2018; RIBEIRO, CAMARGO, 2019; DREVES, 2017; MUÑOZ, 2019; URQUIZA *et a*l.,2016).

3.8.2 Antissépticos alternativos como fitoterápicos

O emprego de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática antiga que favoreceu para estudos com prospecção biotecnológica (HORVAT; MIYASAKA, 2019). As eficiências terapêuticas das plantas advêm dos princípios ativos que podem ser: ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, taninos, cumarinas, flavonoides, antraquinonas, óleos essenciais e saponinas, podendo estar ou não presente em extratos, frações proteicas ou biomoléculas isoladas (BEZERRA, *et al.*, 2018).

Os compostos fitoterápicos são produzidos pelos vegetais com potencial antimicrobiano, são metabólitos secundários, divididos em três classes principais: os terpenoídes, alcaloides e os compostos fenólicos (tabela 4) (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

Alguns exemplos fitoterápicos usados em pesquisas são o óleo essencial de *Lippia origanoides* (MORÃO *et al*., 2018), o extrato etanólico de folha da *Hymenaea martiana* (VIEIRA *et al.*, 2018), decoctos de *Spondias purpúrea L.*, *Azadirachta indica* (MEDEIROS, 2013), decocto de *Spondias mombin L.* (LEONÊZ *et al.*, 2018), extrato

pirolenhoso de *Mimosa tenuiflora* (SOARES *et al.*, 2021) e extrato alcoólico de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus L.* (HORVAT; MIYASAKA, 2019).

Os terpenóides são um grupo extenso de moléculas orgânicas formadas por unidades de isopropeno e seus derivados, são produzidos pelas plantas com o intuito de evitar injúrias promovidas por agentes externos, nesse sentido, apresentam atividade antimicrobiana.

Apesar de serem encontrados majoritariamente nos óleos essenciais de plantas, podem também ser produzidos por animais e microrganismos como é o caso de bactérias e fungos (FELIPE; BICAS, 2017; MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

Os terpenos e terpenóides surgem do isopreno, a partir da rota biossintética do ácido mevalônico (NOGUEIRA, 2019). Na química os terpenos têm como característica os hidrocarbonetos insaturados, contudo, se na sua estrutura molecular incluir um oxigênio será denominado de terpenóide, mostrando diferentes funções químicas como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos (FELIPE; BICAS, 2017).

O timol e o cavacrol são alguns exemplos de compostos que têm atividade microbiana fundamentada, sendo que sua ação deriva principalmente de mutações na membrana microbiana ou em seus constituintes (tabela 4).

Eles estão presentes em extratos e óleos essenciais de inúmeras plantas. Exemplos disso é o terpenóide carvona encontrados em extratos etanólico, metanólicos de folhas de *Ixona coccínea L.* (QUEIROZ; BIERRA; MACHADO, 2018).

Os alcaloides são compostos orgânicos cíclicos com pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel, conhecidos por serem substâncias presente no sistema nervoso, como venenos ou alucinógenos, dentre os mais conhecidos estão à morfina e a cocaína (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). São sintetizados a partir de um ou poucos aminoácidos comuns, todavia sua constituição é mudável, uma vez que dependem dos agrupamentos próximos (SOUZA, 2014).

Apesar dos poucos estudos na literatura sobre alcaloides operantes como antimicrobianos quando confrontado com os demais grupos, esse grupo tem representantes (tabela 4) com potencial de aplicação em associação com outros componentes gerando micropartículas, é o caso da berberina (BARBIZAN, 2019).

Os compostos fenólicos possuem um grupo hidroxila ligados a um anel aromático. Sendo subdivididos em antocianinas, flavonas e flavonóis. Além de outros fenóis relevantes como os taninos e as ligninas (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). Esses compostos fenólicos apresentam propriedades biológicas e farmacológicas (BORGES *et al*., 2017).

As cumarinas e o guaiacol são alguns exemplos, que dispõe de propriedades antimicrobianas comprovadas (tabela 4). Seus efeitos constituem-se na inibição do *quórum sensing* e a modificação da membrana citoplasmática do microrganismo, respectivamente (VIERA 2015; URQUHART *et al.*,2018).

Além disso, diversos compostos podem atuar em sinergismo potencializando o efeito antimicrobiano. Isso acontece quando os compostos são retirados das diversas partes da planta e de diferentes formas, o que pode inclusive ampliar a concentração dos componentes dos componentes químicos nas frações atingidas (MAJOLO *et al.*, 2020).

Tabela 4: Grupo de classes como potencial antimicrobiano em compostos vegetais

COMPOSTO QUÍMICO	MECANISMO DE AÇÃO	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	REFERÊNCIA
TERPENÓIDES			
Limoneiro	Perda da integridade da membrana plasmática microbiana	*Staphylococcus aureus*	GALLEGOS-FLORES *et., al* 2019
Carvona	Acúmulo do composto na membrana do microrganismo ocasionando perda de energias pelas células	*Escherichia coli* *Enterecoccus faecium*	QUEIROZ; BIERRA; MACHADO, 2018.
Carvacrol	Causa alterações ou danos à composição de ácidos graxos na membrana externa de bactérias Aumenta a permeabilidade causando perdas de ATP, vazamento de íons e lise celular	*E. coli Salmonella spp* *S. aureus*	GALLEGOS FLORES *et al.*, 2019

Mentol	Acúmulo do composto na membrana do microrganismo ocasionando perda de energias pelas células.	*E.coli; E.faecium*	QUEIROZ; BIERRA MACHADO, 2018
Eugenol	Influência na síntese, inativação ou agregação de proteínas	*E. coli* *S. aureus*	NOGUEIRA, 2019
Timol	Promove desintegração da membrana externa de bactérias; Aumenta a permeabilidade e a despolarização da membrana citoplasmática	*Aeromonas Hydrophila*	MAJOLO *et al*., 2020
Trans-cinamaldeído	Causa extravasamento de conteúdo citoplasmático	*E. coli* *S. aureus*	NOGUEIRA, 2019
Citronelal	Não esclarecido	*E. coli* *P. aeruginosa*	ESTEVES; ECKER, 2020
ALCALÓIDE			
Berberina	Atividade inibitória de enzimas; Dificulta à aderência as células hospedeiras	*Staphylococcus* spp. *Streptococcus* spp.	BARBIZAN, 2019
Piperina	Não esclarecido	*Candida albicans* *Streptococcus mutans*	ALBUQUERQUE, 2020

COMPOSTO FENÓLICO			
Flavonóides	Oxidação de elementos fundamentais da parede celular, principalmente os peptideoglicanos; Inibição de enzimas; Inibição de ácidos nucleicos.	*S. aureus* *E. coli* *Crostridium perfringens* *Psedomonas aeruginosa.*	ARAÚJO *et al*., 2015; SPRENGER *et al*., 2017; VERRUCK; PRUDENCIO; SILVEIRA, 2018
Guaiacol	Alteração da membrana citoplasmática do microrganismo, perturbando a força motriz de prótons, fluxo de elétrons, transporte ativo e coagulação do conteúdo das células	*E. coli* *S. aureus* *Streptococcus mitis* *S. mutans* *Streptococcus sanguis*	VIERA, 2015
Cumarinas	Inibição da sinalização *quorum sensing;* Impede o processo de replicação do DNA na célula bacteriana	P. aeruginosa	DIAS, 2015; URQUHART *et al*., 2018
Taninos	Inibição de enzimas extracelulares; Competição por íons metálicos essenciais ao metabolismo microbiano. Desestabilização da membrana citoplasmática	*C. albicans* *Saccharomyces cerevisiae* *Micrococcus luteus* *P. aeruginosa* *E. coli* *S. aureus*	AMANCIO *et al*., 2015; ARAÚJO *et al*.,2015; SPRENGER *et al*., 2017

Fonte: (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

Os terpenóides são uma reunião de moléculas orgânicas extensas formadas por unidades de isopropeno e seus derivados, são preparadas pelas plantas com o intuito de

evitar danos promovidas por agentes externos, nesse sentido demonstram atividade antimicrobiana.

Apesar de serem encontrados principalmente nos óleos essenciais de plantas, podem também ser desenvolvidos por animais e microrganismos como é o caso de bactérias e fungos (FELIPE; BICAS, 2017; MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

Os terpenos e terpenóides resultam do isopreno, a partir da rota biossintética do ácido mevalônico (NOGUEIRA, 2019). Quimicamente, os terpenos são definidos como hidrocarbonetos insaturados, contudo, se na sua estrutura molecular do mesmo incluir um oxigênio será denominado de terpenoide, indicando diferentes funções químicas como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos (FELIPE; BICAS, 2017).

Alguns grupos como do timol e cavacrol apresentam atividade microbiana confirmada e sua ação deriva principalmente das modificações na membrana microbiana ou em seus constituintes (tabela 4). Eles estão presentes em extratos e óleos essenciais de várias plantas. Por exemplo é o caso do terpenoide carvona presente em extratos etanólico, metanólicos de folhas de Ixona coccínea L. (QUEIROZ; BEZERRA; MACHADO, 2018).

Os alcaloides são compostos orgânicos cíclicos com pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel, conhecidos por serem substâncias presente no sistema nervoso, como venenos ou alucinógenos, dentre os quais destacamos a morfina e a cocaína (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). Essencialmente são sintetizados a partir de um ou poucos aminoácidos comuns, contudo sua formação é variável, uma vez que necessita de outros agrupamentos adjacentes (SOUZA, 2014).

Mesmo com os poucos estudos na literatura sobre alcaloides atuantes como antimicrobianos quando relacionado com os demais grupos, esse grupo tem representantes (tabela 4) com potencial de aplicação associando com outros componentes formando micropartículas, é o caso da berberina (BARBIZAN, 2019).

Os compostos fenólicos contêm um grupo hidroxila conectados a um anel aromático e são subdivididos em antocianinas, flavonas e flavonóis. Além de outros fenóis importantes como os taninos e as ligninas (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). Esses compostos fenólicos dispõem propriedades biológicas e farmacológicas

(BORGES *et al.,* 2017). Como exemplos temos as cumarinas e o guaiacol, que possuem propriedades antimicrobianas confirmadas (tabela 4).

Seus efeitos compreendem a inibição do quórum *sensing* e a modificação da membrana citoplasmática do microrganismo, respectivamente (VIERA, 2015; URQUHART *et al.,* 2018). Além disso, diferentes compostos podem agir em sinergismo, otimizando o efeito antimicrobiano. Isso acontece quando os compostos são extraídos das diversas partes da planta e de formas diferentes, o que pode inclusive elevar a concentração dos componentes químicos nas frações obtidas (MAJOLO *et al.,* 2020).

3.9 Nanopartículas de Prata (AgNPs)

Nanopartículas de prata são de interesse considerável devido à sua atividade antimicrobiana de amplo espectro e, principalmente, sua baixa toxicidade em relação às células de mamífero (RAI, M., YADAV, A., GADE, A., 2009; DENG *et al*., 2015; FRANCI *et al*. 2015). A eficiência antimicrobiana das AgNPs está principalmente relacionada à sua grande área superficial, o que proporciona uma melhor interação com agentes patogênicos (RAI, M., YADAV, A., GADE, A., 2009;).

Além disso, as AgNPs funcionaram como um reservatório de íons Ag^+, que mostra atividade antimicrobiana contra mais de 650 tipos de agentes patogênicos, incluindo bactérias, vírus, fungos e várias cepas resistentes a antibióticos (DENG *et al.,* 2015; IBRAHIM, H. M .M., 2015; KANG *et al.,* 2016).

Ao explorar a atividade antimicrobiana de íons de prata, as AgNPs encontraram ampla aplicação como nanomateriais utilizados em produtos destinados ao tratamento de feridas agudas e crônicas. Isto possibilitou o surgimento de uma estratégia promissora para combater a resistência bacteriana (RIGO *et al*., 2013).

Estudos recentes demonstraram que além da atividade antimicrobiana, AgNPs também podem inibir a reação inflamatória e, portanto, acelerar a cicatrização de feridas (TIAN *et al*.,2007). Sabe-se que a infecção da ferida bacteriana e a resposta inflamatória prolongada contribuem negativamente no processo de cicatrização de feridas, levando mais tempo para curar do que o esperado (RAHIM *et al*. 2017).

Curativos baseados em AgNP encontram-se em desenvolvimento e alguns estão comercialmente disponíveis, como Aquacel®Ag, Acticoat®Flex, Tegaderm™Ag,

Silvercel™, entre outros. No entanto, o design de um curativo de feridas com base em AgNP ideal continua sendo um desafio até agora.

Pressupõem-se, assim, que há um número limitado de curativos baseados em AgNP que são capazes de abordar todos os aspectos do curativo ideal, ou seja, manter um ambiente de ferida úmida, prevenindo infecções bacterianas, formndo um contato conformal com a pele e ser biocompatíveis e não – tóxicos (MAYE *et al.*, 2003; CAO et al., 2017).

3.10 Nanopartículas de Ouro (AuNPs)

O ouro tem uma longa história de uso medicinal, sendo utilizado pelos chineses desde 2.500 A.C (BHATTACHARYA, R., MUKHERJEE, P.; 2008). Soluções vermelhas de ouro coloidal são utilizadas até hoje na Índia como rejuvenescedores e revitalizantes. Também já foi usado na medicina para tratamento de tuberculose e em aplicações clínicas no tratamento de doenças reumáticas (JAIN, P.K. *et al*., 2017).

Com o desenvolvimento da nanotecnologia, a utilização do ouro na medicina, principalmente em estudos envolvendo diagnósticos e terapias contra o câncer, na entrega de farmácos têm crescido rapidamente nos últimos anos (JUZENAS *et al*., 2008). O ouro apresenta as vantagens da biocompatibilidade, síntese relativamente simples, controle do tamanho das nanopartículas, facilidade de modificação química de sua superfície, e a facilidade de caracterização devido à presença de uma banda de superfície de *plasmon* ressonante (SPR).

AuNPs apresentam propriedades químicas e físicas ímpares para transporte e liberação de fármacos. Também apresenta algumas vantagens, sendo a primeira que o núcleo do ouro é essencialmente inerte e não tóxico. A segunda vantagem é sua facilidade quanto a sua síntese. Nanopartículas monodispersas podem ser formadas com tamanhos variando entre 1 nm a 150 nm (GHOSH *et al.*, 2008).

Apesar de AuNPs serem atraentes como carreadores de fármacos, não podemos negligenciar seu efeito oligodinâmico, comprovado por estudos de atividade antimicrobiana. Num estudo conduzido por NAIK *et al*. 2011, em folhas de poliuretano foram incorporados azul de metileno (MB), azul de toluidina (TBO) e nanopartículas de

ouro de 2 nm por um processo de encapsulamento de redução de volume usando uma mistura de água com acetona.

Estes polímeros impregnados de corantes mostraram boa atividade antimicrobiana, sendo capazes de matar suspensões de *Staphylococcus aureus* sob iluminação branca com uma fonte de luz (2000 lux) usada em ambiente hospitalar. A atividade antimicrobiana foi significativamente maior para os polímeros contendo AuNPs, comparando-se com os controles quando expostos a 24 horas de iluminação.

A preparação de nanopartículas de ouro e prata monodispersas e altamente cristalinas usando extrato de fungo sem células (*Candida albicans*) mostraram a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados sugerem que essas nanopartículas podem ser usadas como inibidores de crescimento eficazes contra o teste microrganismos. Maior atividade bactericida foi observada para nanopartículas de prata (AHMADA *et al*., 2013).

O mecanismo da ação antimicrobiana de AuNPs vem sendo investigado e um estudo sugere que estas exercem suas atividades antibacterianas principalmente de duas maneiras: uma é colapsando o potencial da membrana, inibindo as atividades da **adenosina trifosfatase**, também conhecida como ATPas, e para diminuir o nível de ATP; outro é inibindo a subunidade do ribossomo da ligação ao RNA.

Interessante que a ação das AuNPs não inclui o mecanismo relacionado a espécies reativas de oxigênio (EROs), causa de morte celular induzida pela maioria dos antibióticos e nanomateriais bactericidas. Daí o interesse em usar AuNPs como agentes antibacterianos direcionados ao metabolismo energético e à transcrição de bactérias sem desencadear a reação de espécies reativas de oxigênio, que podem ser ao mesmo tempo prejudicial para o hospedeiro ao matar bactérias (CUI *et al*., 2012).

4. METODOLOGIA

4.1 Preparação do decocto da *Spondias mombin L*.

Primeiramente as folhas foram lavadas em água corrente, secas em ar ambiente e após trituradas, usando-se de um liquidificador doméstico. Após a trituração,200 g das folhas macerada foram pesados em uma balança. E em um becker com 1000 mL de água

destilada, as folhas foram acondicionadas para posterior obtenção da solução na concentração de 1:10 e o preparo foi finalizado com a fervura das folhas durante 15 min e finalmente, a solução foi filtrada em um filtro de papel e funil estéreis para armazenamento em frasco âmbar estéril por um período de 21 dias em ambiente refrigerado, para ser utilizado posteriormente (DANTAS,2018).

A figura 17 mostra a sequência da preparação do decocto da *Spondias mombin L.* sendo a mesma realizada na seguinte ordem:

a) lavagem das folhas;

b) folhas sendo preparadas para a trituração;

c) vegetal triturado;

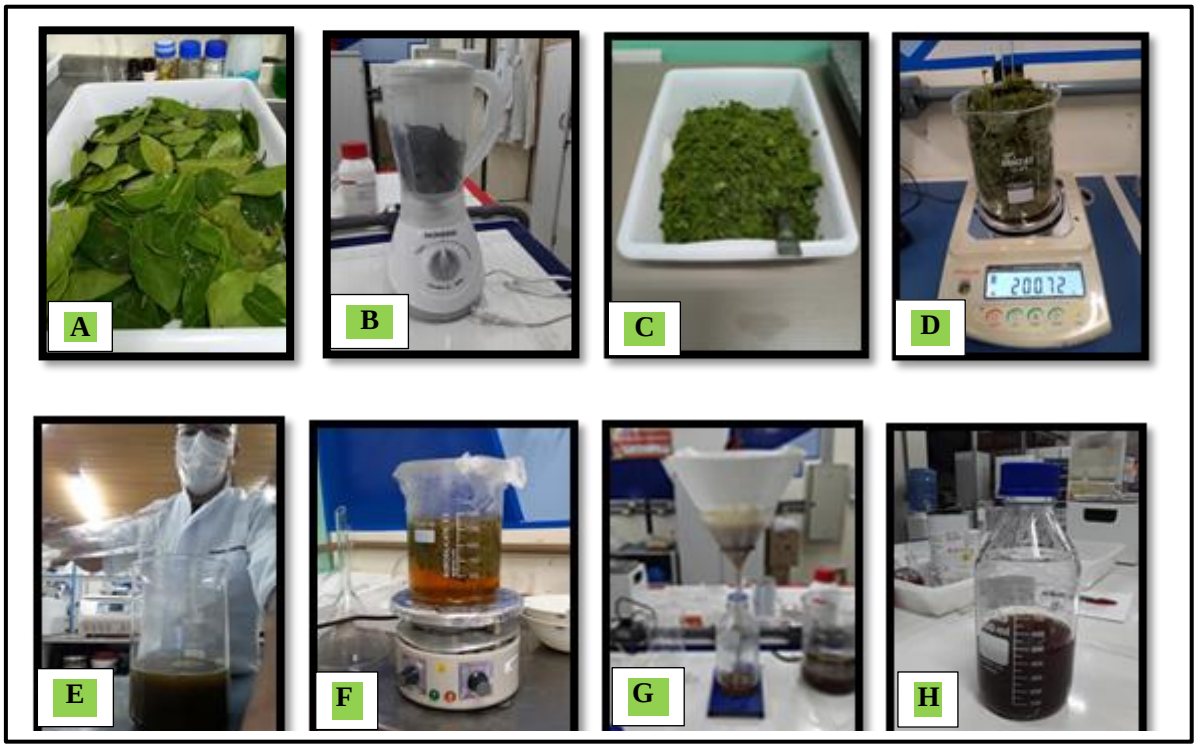
d) pesagem pós trituração;

e) imersão das folhas trituradas na água para fervura;

f) processo de fervura;

g) filtragem do decocto;

h) armazenamento do material.



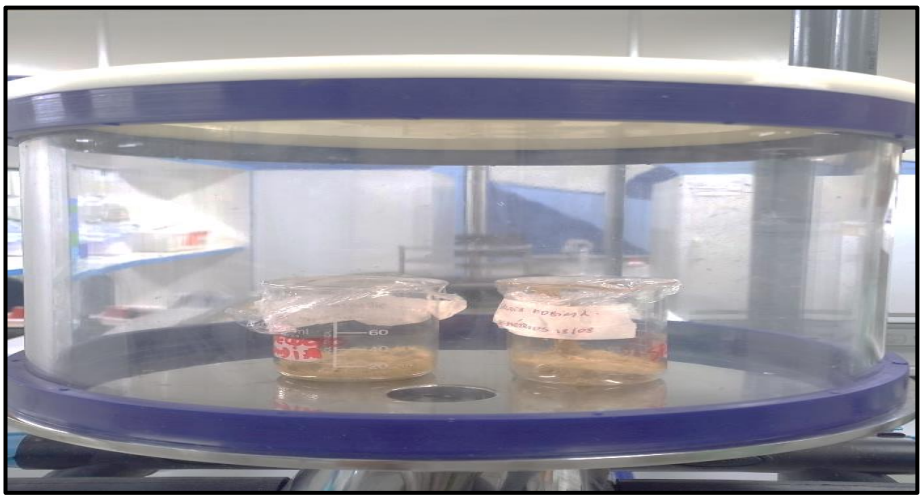
Fonte: (Próprio Autor, 2023)

4.1.2 Liofilização do decocto da *Spondia mombin L.*

O motivo que nos levaram a realizar o processo de liofilização foram que se comparada ao processo de secagem convencional, a liofilização se destaca por preservar as propriedades estruturais do alimento, sendo capaz de remover a umidade em baixas temperaturas, elevando a estabilidade do produto durante o período de estocagem e diminuindo o risco das reações de degradação (MARTINS, 2017).

As amostras foram posicionadas em dois *becker* cada um com 50 mL do decocto líquido em seguida foram submetidas ao procedimento de congelamento lento em freezer por 96 h e temperatura de -18 °C. Após o congelamento o decocto foi transportado para o liofilizador de bancada marca AISI 304/Enterprise e submetida a uma temperatura de -50°C e um vácuo 10 μHg durante 32 horas conforme mostra a figura 18. Após o fim da secagem as amostras foram acondicionadas em tubos falcon para posterior uso.

Figura 18: Liofilização do decocto da *Spondias mombin L.*



Fonte: (Próprio Autor,2023)

4.2 Síntese de AgNPs e de AuNPs

As nanopartículas de prata (AgNPs) e de ouro (AuNPs) foram preparadas empregando-se dois métodos distintos. O primeiro via rota convencional, conforme descrito por (CUMBERLAND, S *et al*., 2009) com pequenas modificações. O segundo, pelo método via rota limpa usando *Spondia mombin L.*

4.3 Síntese via método convencional

As nanopartículas (NPs) metálicas de Ag e Au foram preparadas pela redução dos respectivos sais em solução. O tamanho e morfologia das nanopartículas foram ajustados pelo controle rigoroso de variáveis tais como: temperatura, concentração dos sais dos metais e dos agentes redutores. Toda a vidraria foi previamente limpa com água régia (3:1HCl:HNO_3).

As AuNPs foram preparadas de acordo com o método de Turkevich com pequenas modificações, via redução do ácido cloroáurico com citrato de sódio, conforme figura 19 (DOHNERT, M.B, *et al*., 2012). Uma massa de 2g de citrato de sódio foi dissolvida em 25 mL de água destilada ultrapura em seguida em 100 mL de água foram diluídos 35 µL de ácido cloroáurico do mesmo solvente. Em um balão de fundo chato de bocas no formato esférico, a solução de ácido cloroaúrico ($HAuCl_4$) foi aquecida a 90^0 C por 30 minutos e manteve-se sob agitação em um agitador magnético, onde se adicionou 5 mL da solução de citrato de sódio em seguida desligou-se o aquecimento, prevalecendo apenas a agitação.

Instantaneamente verificou-se uma mudança na coloração da solução passando do amarelo que é a cor específica da solução do ácido cloroáurico para vermelha, essa mudança de cor é uma das características das possíveis formações das AuNPs. Em seguida o sistema permaneceu em refluxo por mais uns 20 minutos e posteriormente foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis para confirmar a formação das AuNPs sendo que o controle do tamanho das nanopartículas foi realizado ajustando-se a concentração do agente estabilizador.

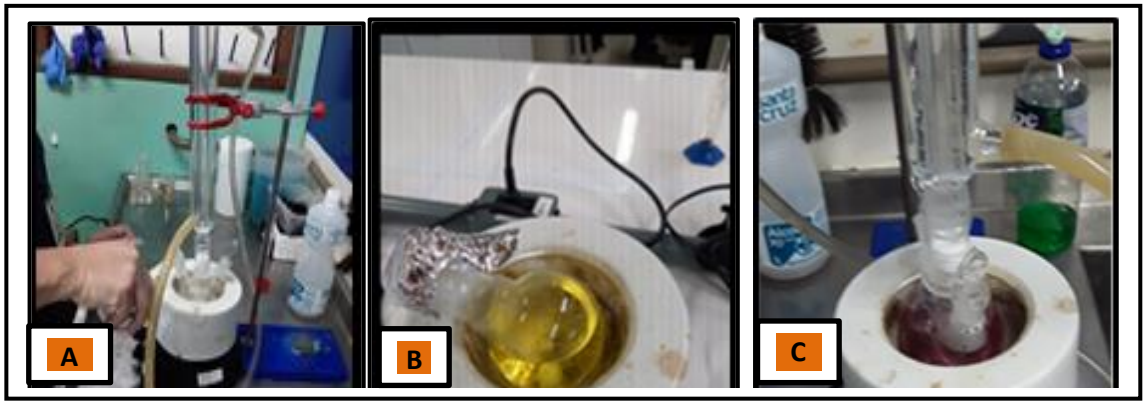
A figura 19 nos mostra a sequência da síntese das AuNPs à qual deu-se na seguinte ordem:

a) primeiro adicionou-se o ácido cloroaúrico;

b) em seguida acrescentou-se o citrato de sódio;

c) observou-se a possível formação de AuNPs.

Figura 19: Sequência síntese das AuNPs



Fonte: (Próprio Autor, 2023).

As AgNPs foram preparadas de maneira análoga, conforme descrito previamente (PAULA, M.M. *et al*., 2012). Em uma balança analítica foram pesados 12g de citrato de sódio ($Na_3C_6H_5O_7$), 0,017 g de nitrato de prata ($AgNO_3$) e 0,23 g de borohidreto de sódio ($NaBH_4$) em seguida em um balão volumétrico, protegido com papel alumínio, e 100 mL de água ultrapura, foram diluídos o nitrato de prata com o citrato de sódio afim de obter uma solução de concentração 1 mM de $AgNO_3$ e 0,5 M de citrato de sódio.

Em seguida o meio reacional foi resfriado em banho de gelo por 20 minuto e em seguida adicionou-se 30µL de solução de borohidreto de sódio 0,25M, recém-preparada e resfriada em banho de gelo previamente. Na sequência, observou-se uma mudança de cor na síntese que lentamente tornou-se amarela, após a adição do borohidreto de sódio.

Assim a solução foi mantida sob agitação por 20 minutos e posteriormente analisou-se num espectrofotômetro UV-Vis para confirmar a formação das AgNPs sendo que o controle do tamanho das nanopartículas foi realizado ajustando-se a concentração do agente redutor. Esta solução de AgNPs foi usada como solução controle em estudos de atividade antimicrobiana e, cujos resultados foram comparados a soluções de AgNPs preparadas utilizando-se o decocto de *Spondias mombin L.*

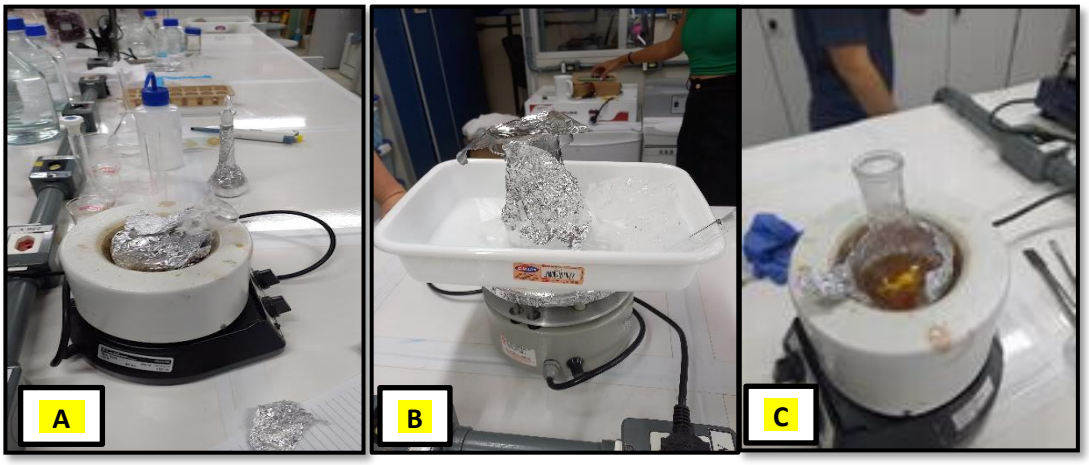
A figura 20 nos mostra a sequência da síntese das AgNPs à qual deu-se na seguinte ordem:

a) solução do citrato de sódio mais nitrato de prata diluído em água em agitação magnética;

b) síntese de citrato de sódio no resfriamento;

c) possível formação de AgNPs após a adição do borohidreto de sódio.

Figura 20: Sequenciamento da síntese de prata usando o método convencional.



Fonte: (Próprio Autor, 2023).

4.4 Síntese rota limpa

Neste caso, um decocto das folhas de *Spondias mombin L.* foi preparado conforme procedimento descrito no item 4.2 e empregado como agente redutor em substituição ao Borohidreto de sódio ($NaBH_4$). A uma solução de $AgNO_3$ e citrato de sódio nas mesmas concentrações usadas na síntese via rota convencional, foi adicionado decocto liofilizado até ocorrer a redução dos íons Ag^+, onde a formação de AgNPs foi monitorada por espectroscopia de UV-vis.

Antes de cada adição de decocto, um espectro de UV-vis para registro e monitoramento do surgimento de uma banda característica de formação de AgNPs. Importante ressaltar que os procedimentos foram executados mantendo-se as soluções contendo íons prata protegidas da luz sempre que possível. Papel alumínio foi usado para recobrir as vidrarias contendo soluções. Esse mesmo procedimento foi empregado na preparação de AuNPs, porém adequando-se as concentrações dos precursores.

As AuNPs foram preparadas de modo análogo ao método de Turkevich *et al*. (1951), a partir de redução química do ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) com algumas modificações, sendo 100 mL de solução aquosa preparada para a diluição de 35μL de ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) em seguida foi transferida para um balão de duas bocas e aquecida a 90^0 C sob agitação magnética. Em seguida adicionou-se aproximadamente

0,12 g de decocto liofilizado da *Spondia mombin L.* até que ocorresse a redução dos íons Au^{3+} e a formação de AuNPs.

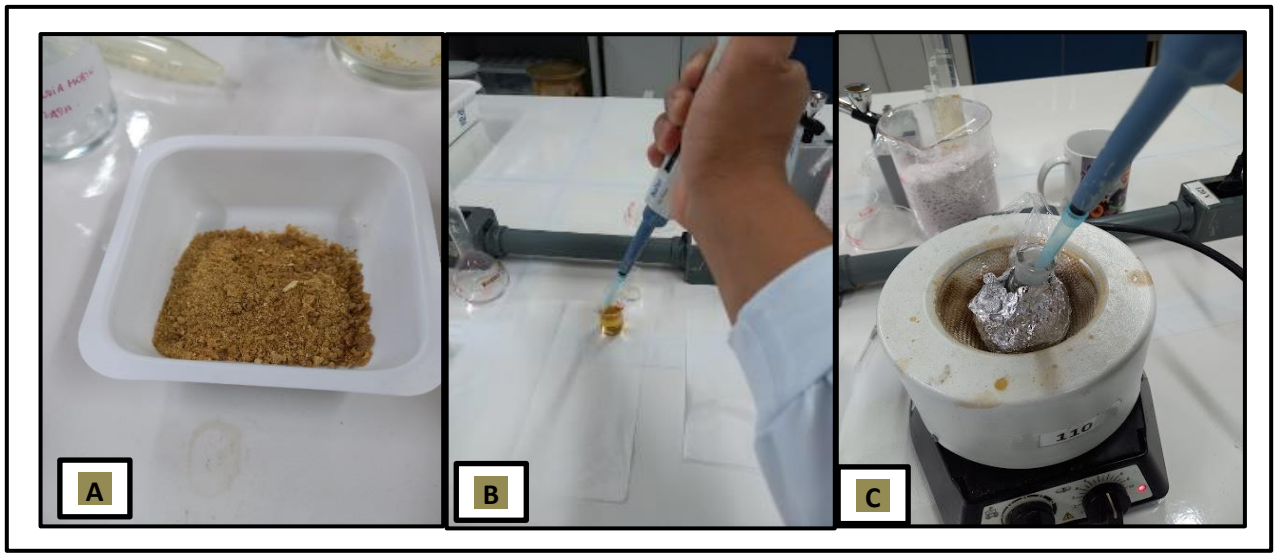
A formação das nanopartículas foi monitorada via espectroscopia de UV-vis, já que AuNPs apresentam banda de SPR características. A figura 21 nos mostra a sequência da adição do decocto nas sínteses das AgNPs e AuNPs à qual deu-se na seguinte ordem:

a) pesagem do decocto liofilizado;

b) decocto diluído em água;

c) decocto adicionado nas sínteses de nanopartículas metálicas.

Figura 21: Sequenciamento da adição do decocto nas sínteses AgNPs e AuNPs.



Fonte: (Próprio Autor, 2022).

4.5 Amostras das Cepas bacterianas

Durante o processo foi usado uma cepa bacteriana, sendo essas três amostras padrão (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) e uma clínica (*Klebisiella pneumonie* Lamiv). Coletou-se a cepa clínica no ano de 2022, de pacientes oriundos do Hospital Veterinário da UFERSA e estava depositada no banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Veterinária-LAMIV.

A bactéria clínica foi identificada seguindo os métodos de identificação bacteriana aplicados rotineiramente, enquanto as amostras padrão usadas foram cepas de referência

American Type Culture Collection (ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922.

4.6 Caracterização das AuNPs e AgNPs

4.6.1 Espectrofotometria de absorção no ultravioleta Visível (UV-Vis)

A formação das AuNPs e AgNPs foram monitoradas por espectroscopia de absorção eletrônica nas regiões nas regiões de 200-800 nm. Foi usado um espectrofotômetro UV-vis (GlobalTrade Technology), e como porta amostras, cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm.

4.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão – TEM

Às análises morfológicas das nanopartículas foram realizadas empregando a técnica de microscopia eletrônica de transmissão, já que esta permite avaliar a geometria e tamanho de partículas com maior precisão.

As soluções de nanopartículas de Au ou Ag foram depositadas em um suporte de níquel/carbono e mantidas a temperatura ambiente protegidas de contaminantes e da luz para secar. A microscopia eletrônica de transmissão usado na análise da amostra sendo do modelo JEOL e marca JEM-1400 Flash.

4.7 Atividades antimicrobianas das AgNPs e AuNPs

A atividade antibacteriana das nanopartículas de prata e ouro associado a *Spondia mombin* foi realizada usando o método de micro diluição em caldo. A avaliação foi realizada com as cepas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Klebisiella pneumonie (*clínica Lamiv-Ufersa) na concentração de 0,5 x 10^8 ufc/m na escala de Macfarland.

Foram semeados 5 microlitros de cada cepa em meio BHI (Brain Heart Infusion) em poços de microplacas, e adicionados 95 microlitros de meio BHI e 100 µL de cada

tratamento utilizando as concentrações 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,36%, 0,78%, 0,39%, 0,19% e 0,097%.

As placas foram incubadas por 24 horas a 37^0C em estufa bacteriológica. Em um espectrofotômetro usando comprimento de onda de 620 nm foram realizadas duas leituras no tempo de 0 horas e 24 horas sendo utilizados clorexidina a 0,2% como controle positivo e água destilada como controle negativo.

Em seguida, as microplacas com as cepas bacterianas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Passado esse tempo, foi realizada a leitura visual para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), considerando-se os micropoços que se apresentassem completamente translúcidos.

Posteriormente, as placas foram novamente submetidas à leitura em espectrofotômetro para registro das novas absorbâncias após o momento de incubação de 24 horas, visando trazer dados quantitativos do comportamento microbiano nas diferentes concentrações avaliadas.

4.8 Determinação da Concentração Bactericida (CBM)

A determinação da CBM para as cepas bacterianas foi realizada a partir dos micropoços onde não houve crescimento microbiano visível (CIM e concentrações superiores). Assim, foi retirada uma alíquota de 50 µL de cada poço e foi semeada em placa de Petri contendo meio de cultura Ágar Brain Heart Infusion.

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 ± 1 °C por 24 horas, e em seguida, verificou-se a presença ou ausência de colônias microbianas. Assim, pode ser definida a concentração bactericida como a menor concentração do cada tratamento capaz de causar a inativação total dos microrganismos, a qual foi representada pela ausência de crescimento de colônias no ágar.

4.9 Delineamento experimental

Foram utilizados os seguintes tratamentos, sendo T1 - nanopartículas de Au associado *S. mombin L.*, T2 - nanopartículas de Ag - associado a *S. mombin L.* T3 – clorexidina a 0.2%, T4 – água destilada. Cada tratamento teve 2 repetições para submissão aos testes microbiológicos.

4.10 Estatística

As análises estatísticas foram realizadas em duplicata e os resultados foram submetidos à análise de variância, e a comparação entre as médias dos tratamentos foi feita pelo teste de *Tukey* , segundo as necessidades de cada análise, para determinar as diferenças significativas das médias ao nível de probabilidade de 5 % ($p<0.05$) (FERREIRA, 2000) .Para os testes de variância e comparação utilizou-se o pacote *agricole* implementando em linguagem estatística R, onde através dos processos de ajustamentos das curvas de resposta de cada variável em relação a concentração em função dos dias de aplicação conduziu-se para o entendimento do experimento (LIN *et al*., 2017).

4.10.1 Teste De Tukey

O teste de Tukey pode ser usado para equiparar todo e qualquer contraste entre duas médias de tratamentos. Ele é exato e simples para situações, onde o número de repetições é o mesmo em todos os tratamentos. Porém, para casos em que os números de repetições são diferenciados, apesar de ainda poder ser usado, ele é apenas aproximado (PIMENTEL GOMES, 2000 apud OLIVEIRA 2008).

No caso das múltiplas comparações entre amostras de tamanho iguais o método com melhor performance é o de Tukey, que se baseia na amplitude total “estudentizada” (“studentized range”), que é um valor “q”, fixado em função do grau de liberdade e número de tratamentos (COSTA NETO, 1977 apud OLIVEIRA 2008). Esse procedimento permite formar intervalos de confiança para a comparação em pares, conforme uma distribuição de amplitude e tendo como base a diferença mínima significativa, que é calculada na forma conforme a equação 1.

$$d.m.s = q * \sqrt{\frac{QMR}{r}}$$

Onde “q” é o valor dado na tabela no nível de significância planejado, “QMR” é o quadrado médio do resíduo da análise de variância e “r” é o número de repetições de cada um dos tratamentos (RAMOS, 2019 & OLIVEIRA, 2008).

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das AuNPs e AgNPs preparadas por via convencional e rota limpa

É importante ressaltar que a caracterização das nanopartículas, possibilitou compreender através das técnicas utilizadas suas qualidades morfológicas levando em consideração fatores como estabilidade e redução.

5.1.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-visível

5.1.2.1 AuNPs

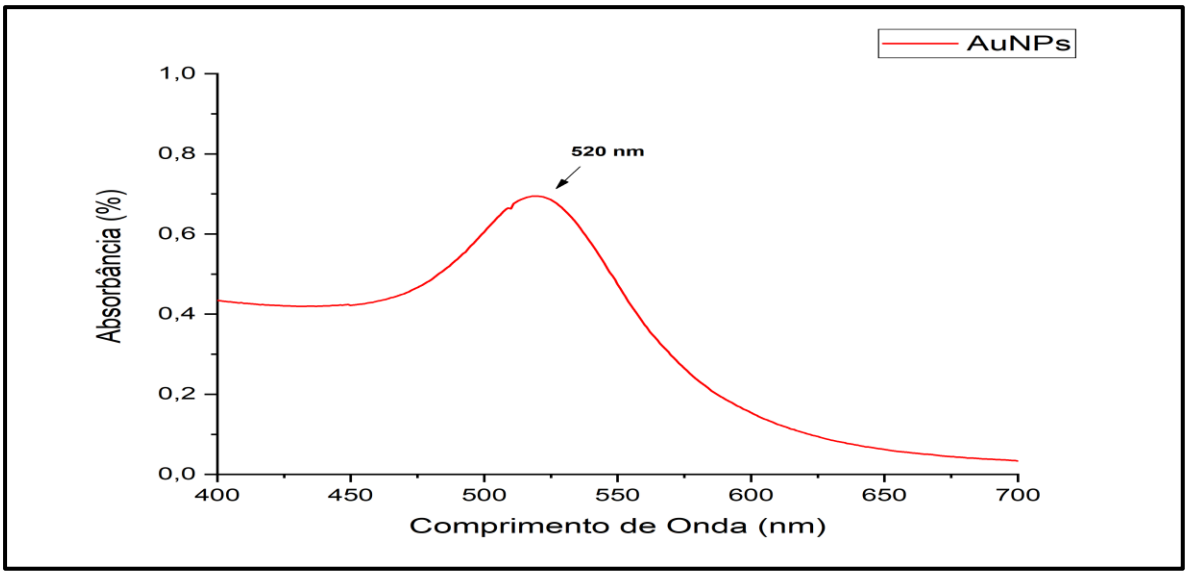
Os resultados da caracterização UV-vis das AuNPs preparados, utilizando-se a técnica de *Turkevich* (método convencional) é apresentada na figura 22. Observa-se no espectro eletrônico uma banda típica de superfície de *plasmon* ressonante, um comprimento de onda na máxima absorção (λ máx.) em 520 nm.

Fazendo uma comparação entre as bandas plasmônicas das AuNPs e das AuNPs associadas ao decocto, identificamos que houve uma redução de 15 nm a favor das AuNPs. Conforme (SILVA, 2016), essa diminuição pode ser justificada devido a excelente ação do citrato atuando como agente redutor formando nanopartículas através da redução do sal $NaAuCl_4$.

Segundo (SANGWAN, S. *et al.* ,2021) esse valor é específico de nanopartículas de geometria esférica e de diâmetro médios na faixa de 15 a 25 nm. A curva possui uma característica que indica se tratar de nanopartículas monodispersas e com pouca agregação, além de confirmar uma maior presença de nanopartículas estáveis, indicando que a técnica de *Turkevich* sintetiza nanopartículas de ouro com boa estabilidade

termodinâmica. Entretanto, ainda assim, as AuNPs tendem a se aglomerar devido as forças de ***Van der Waals***, reafirmando que esta interação ocorra entre partícula-partícula.

Figura 22: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AuNPs preparadas por rota convencional.



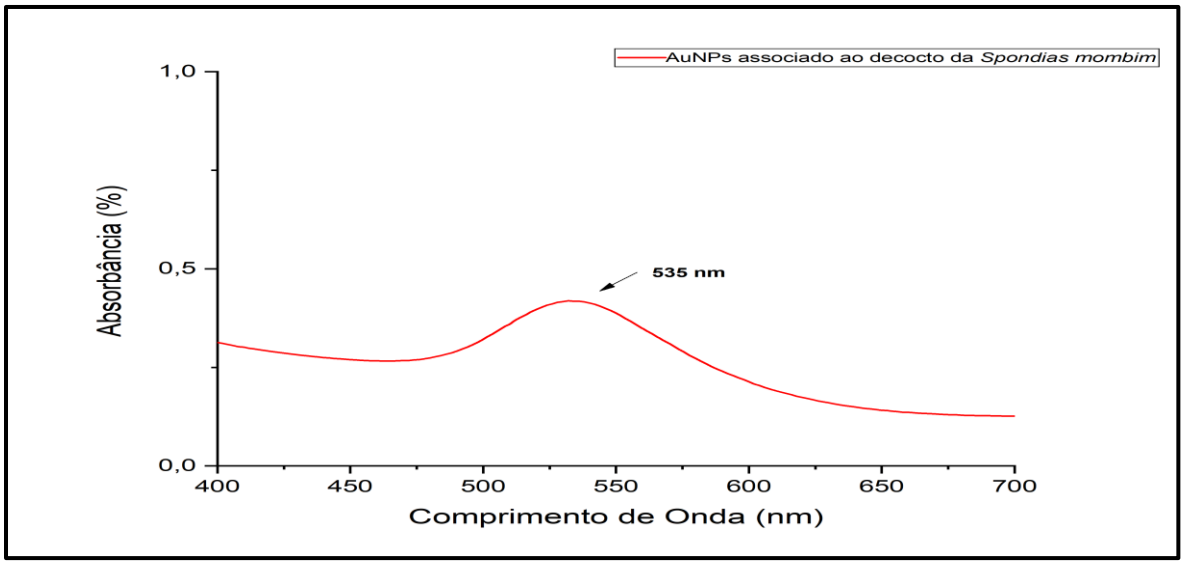
Fonte: (Próprio Autor, 2023).

5.1.2.2 AuNPs associada ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* via rota limpa

Conforme apresentado na figura 23 as nanopartículas de ouro sintetizadas com o extrato liofilizado da *Spondias mombin*, usando a rota limpa apresentou banda típica de superfície de *plasmon* ressonante centralizada em 535 nm (λ máx.).

De acordo com (ALIABALI, A. *et al.* ,2018), alguns estudos referentes as caracterizações usando UV-vis apresentaram um máximo de absorção entre 527-535 nm, sendo esse intervalo característico para nanopartículas de ouro com extrato vegetal e que apresentam na sua geometria a forma esférica com diâmetros entre 30 – 50 nm.

Figura 23: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AuNPs associada ao extrato da *Spondias mombin*



Fonte: (Próprio Autor, 2023).

É possível observar que entre as bandas plasmônicas das AuNPs e das AuNPs associadas ao decocto, existe uma diferença quanto à sua localização de 15 nm favoráveis as nanopartículas de AuNPs com decocto. Essa locomoção segundo (CAMACHO *et al.* 2017; GUERRERO, ALBELLA, e AROCA, 2014) se deve ao acúmulo da camada de extrato aos arredores da parte externa das nanopartículas fazendo com que ocorra a mudança no índice de refração do meio.

5.1.2.3 AgNPs

A figura 24 apresenta os espectros de absorção na região do ultravioleta, sendo visíveis através do espectro eletromagnético. Observa-se também que as nanopartículas de pratas apresentaram banda centrada em 410 nm (λ máx.), sendo que essa máxima absorção equivale a banda de ressonância plasmônica.

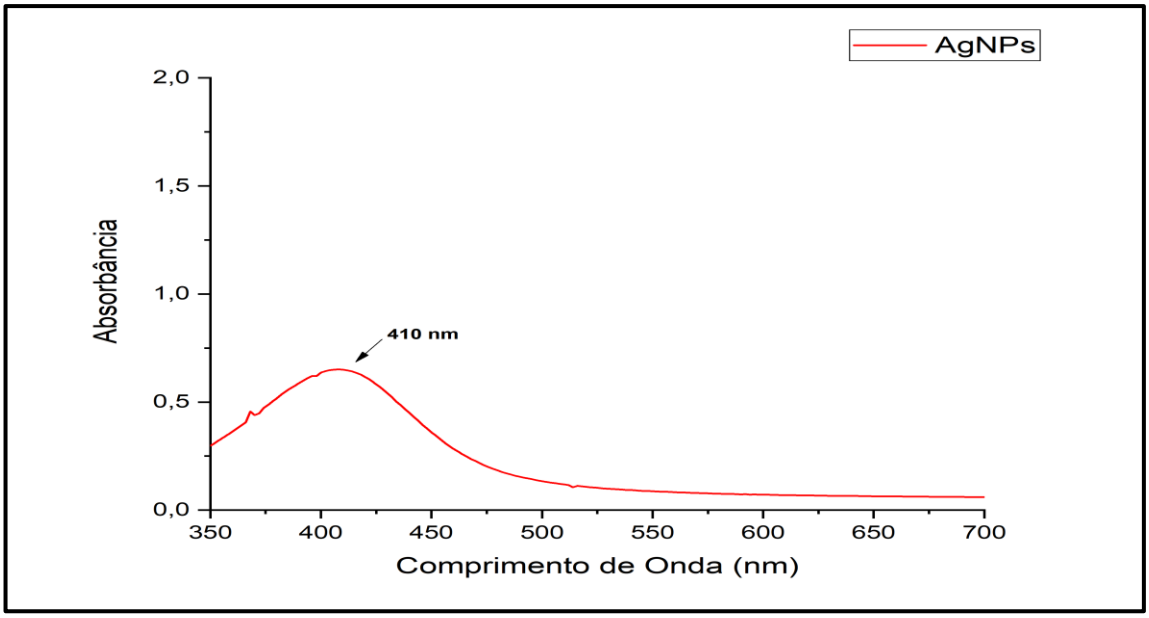
Conforme reportado na literatura de LOK *et al.*, 2007; RAZA *et al.*, 2016, os autores após analisarem uma amostra em UV-vis, presenciaram as bandas SPR nas regiões entre 395 e 420 nm, sendo as mesmas específicas de nanopartículas de pratas.

Segundo a "***Teoria de Mie***", apenas uma banda de superfície simétrica é esperada no espectro de absorção de nanopartículas esféricas, em contrapartida, duas ou mais bandas SPR são esperadas para nanopartículas anisotrópicas dependendo, assim, das

formas específicas das partículas. Além disso, a forma simétrica da banda de ressonância de plasmons pode mostrar a forma e a sua distribuição nítida referente ao tamanho das partículas (IDER *et al.*, 2017; AMENDOLA; BAKR; STELACCI, 2010).

Os resultados encontrados na análise de UV-visíveis referentes as nanopartículas de prata estão de acordo com a literatura consultada.

Figura 24: Espectro eletrônico de uma solução aquosa de AgNPs preparadas pela rota convencional.



Fonte: (Próprio Autor,2023).

5.1.2.4 AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* via rota limpa

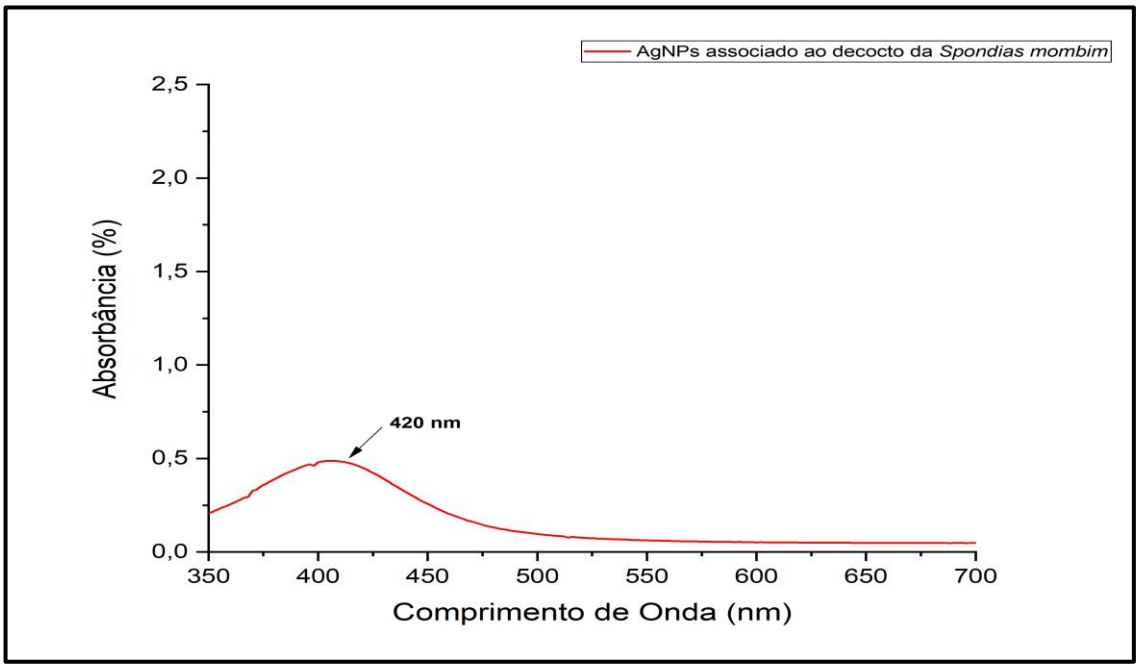
Os resultados da caracterização UV-vis das AgNPs associados ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* preparadas por rota limpa são apresentados na figura 25. Observa-se no espectro eletrônico uma banda típica de superfície de plasmon ressonante, com comprimento de onda na máxima absorção (λ máx.) em 420 nm.

A faixa de variação do tamanho médio das nanopartículas de prata que apresentam a ressonância plasmônica de superfície na região de comprimento de onda de 420 nm, pode variar amplamente e depender de vários fatores, tais como métodos de síntese, com sua morfologia, seu revestimento e sua concentração das partículas.

Segundo Rani *et; al*. (2020) no geral, os tamanhos médios das nanopartículas de prata, na faixa de 5 a 25 nm, podem apresentar ressonância plasmônica de superfície em torno de 420 nm. Para diâmetros menores, a ressonância plasmônica de superfície pode

ocorrer em comprimento de onda mais curto, enquanto para diâmetros maiores pode acontecer em comprimentos de onda mais longos.

Figura 25. Espectro eletrônico (UV Visível) das AgNPs associado ao decocto da *Spondias mombin L.*.



Fonte: (Próprio Autor,2023).

5.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM das AuNPs e AgNPs

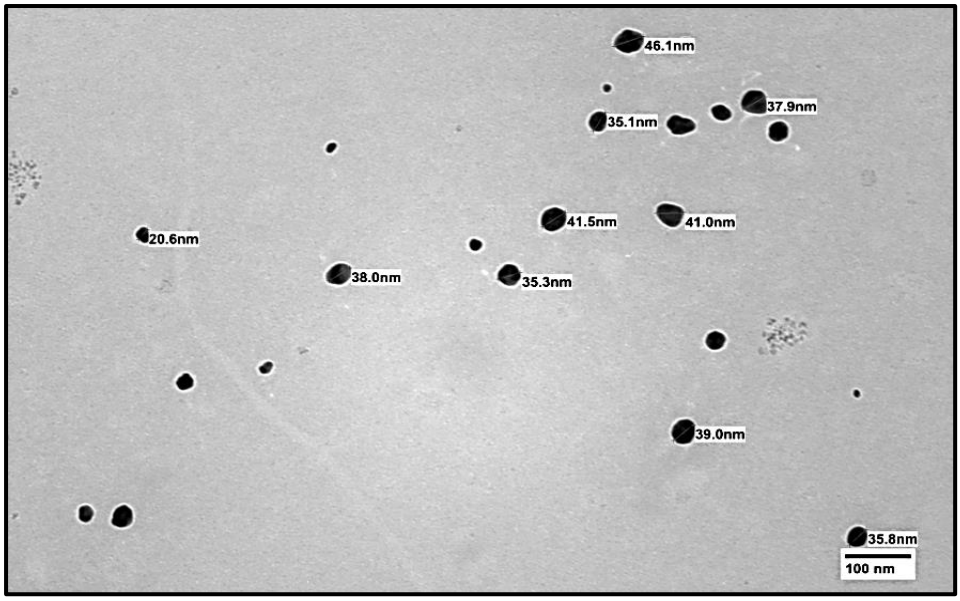
5.2.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão das AuNPs

As figuras 26 e 27 mostram imagens obtidas por TEM das AuNPs e histogramas, apresentando a distribuição do diâmetro das AuNPs obtidas pelo método de *Turkevich*, supracitado**.** O histograma apresenta a distribuição, o diâmetro médio, o desvio padrão, as medidas máximas e mínimas dos tamanhos das AuNPs e as gaussianas mostram como ocorreu à distribuição normal dos diâmetros próximos ao valor médio.

As AuNPs evidenciadas na figura 26 mostram o núcleo escuro e revestimento, trazendo um entendimento de moléculas tensoativas adsorvidas na superfície, sendo que a maioria apresenta uma morfologia esférica e ovalada com um pequeno aglomerado e distribuição homogênea de tamanho. Esta microscopia eletrônica de transmissão confirma o que foi mencionado na caracterização por UV-vis, segundo espectro eletrônico apresentado na figura 22.

As micrografias das nanopartículas de ouro revelam, de forma a formação delas com dimensões compatíveis às estimadas pela técnica de UV-vis. Esta técnica é no que tange a determinação da geometria e tamanho das partículas.

Figura 26: Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs.

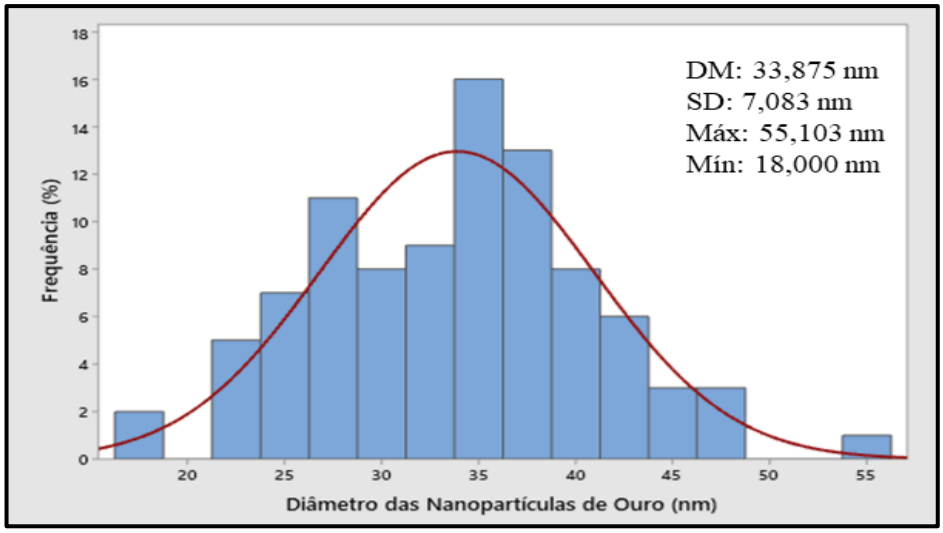


Fonte: (Próprio Autor,2023).

É possível observar, na figura 27, que essas nanopartículas exibem picos na curva gaussiana, no intervalo de 33-38 nm, com distribuição de diâmetro médio (Dm) de 33,875 nm, além de outras variações. O grau de distribuição desse conjunto de nanopartículas aponta um desvio padrão de SD= 7,083 nm, indicando uma boa homogeneidade das nanopartículas.

Os valores de tamanho referentes às AuNPs apresentados na imagem de TEM são convenientes com os valores dimensionais das nanopartículas apresentados na caracterização por UV-vis tendo as suas variações entre 18,000 nm a 55,103 nm.

Figura 27: Histograma de distribuição de diâmetros das AuNPs**.**



Fonte: (Próprio Autor,2022).

5.2.2 AuNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin*

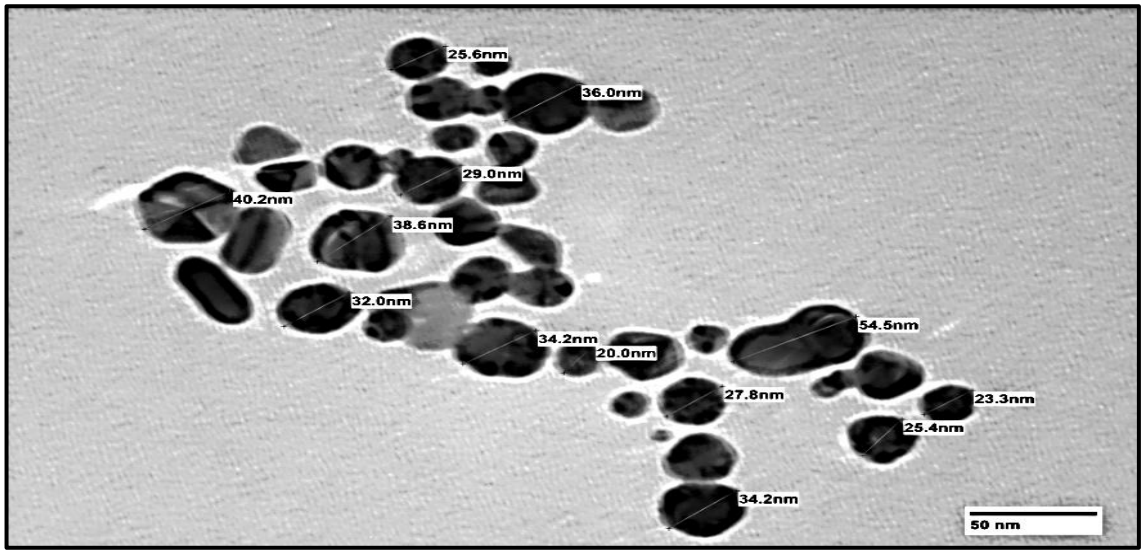
As imagens obtidas por TEM das AuNPs associadas ao decocto da *Spondias mombin* e histograma apresentadas à distribuição do diâmetro das AuNPs obtidas pelo método via rota limpa**,** estão representadas nas figuras 28 e 29**.** AuNPs associadas ao decocto da *Spondias mombin* demonstradas na figura 28, apresentam uma morfologia variando de formas esféricas, à triangulares quase esféricas, por vezes hexagonais em forma de bastão criando pequenos aglomerados.

A estrutura das nanopartículas obtidas neste trabalho, condiz com os estudos realizados por (KUMAR *et al.*, 2016) em que se utilizando do extrato aquoso de *Lavandula angustifolia Mill.* para elaboração de nanopartículas de ouro, obteve-se partículas em formatos: esféricos, quase esféricos e triangulares dentre outros ou com uma variação de diâmetro médio (Dm), entre 30-100 nm, o que pode ser justificado principalmente pelas composições contidas no extrato utilizado.

Assim, pela égide de UPSON *et al.* (2000), é descrito que as espécies de *Lavandula.sp*. podem mostrar diversos metabólitos secundários como os flavonóides (genkwanina, luteolina, apigenina), porém a presença e a quantidade dos mesmos podem se diferenciar entre as espécies, de acordo com o local e as condições de onde são cultivadas (exposição solar, umidade, solo), dentre outras.

Isso pode determinar as diferentes características encontradas em uma mesma espécie, uma vez que a substância redutora empregada é um fator determinante para se chegar ao denominador do tamanho e da estabilização das nanopartículas (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).

Figura 28: Microscopia eletrônica de transmissão das AuNPs associado ao decocto da *Spondias mombin*



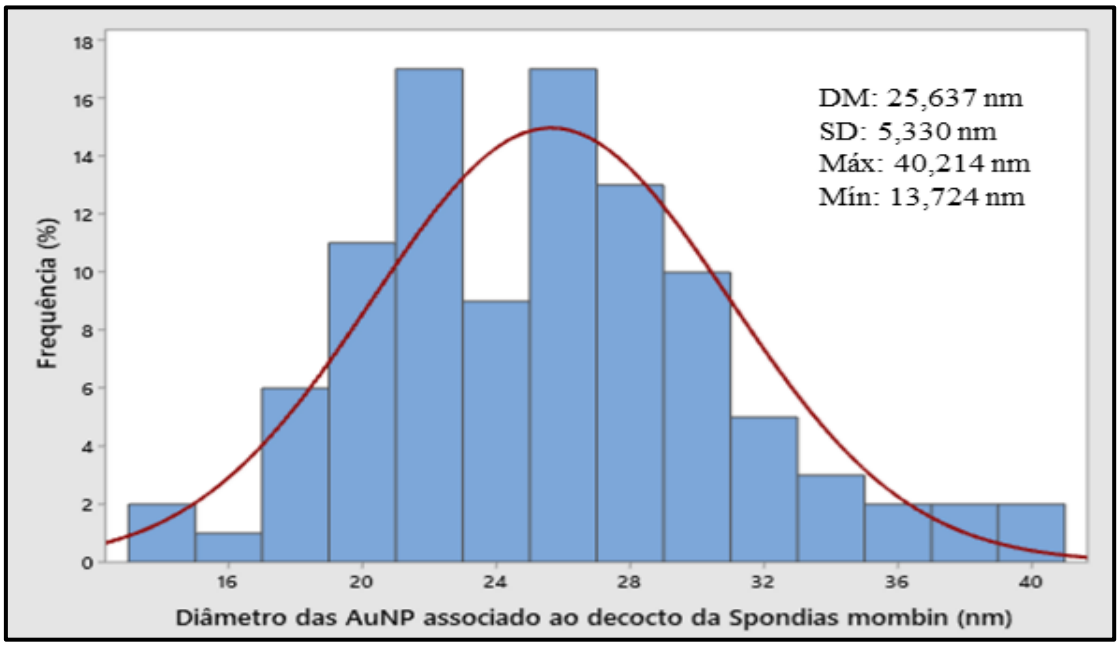
Fonte: (Próprio Autor,2023).

Pode-se observar também na figura 29 que os diâmetros das AuNPs associados ao decocto da *Spondias mombim* apresentam pico da curva gaussiana no intervalo de 23-27 nm com diâmetro médio de Dm = 25,637 nm, e possuem uma variação de diâmetro das AuNP, como se pode observar no grau de dispersão desse conjunto de nanopartículas, que aponta um desvio padrão SD = 5,330 nm, indicando uma boa uniformidade e nos diâmetros máximo de 40,214 nm e mínimo de 10,485 nm.

Verificou-se, ainda, que com a adição do decocto da *Spondias mombin* na síntese de ouro, houve uma diminuição no diâmetro médio de 8 nm. Essa redução foi essencial para se manter o controle da nanopartícula, onde as nanopartículas metálicas apresentaram uma banda plasmônica de superfície na região UV-vis em torno de 535nm, conforme a figura 23, o que sinaliza ser uma partícula de grande porte.

O aumento e a aglomeração são dependentes do agente de redução e estabilização, da temperatura e do pH, conforme MATSUSHITA *et al.*, 2012.

Figura 29: Histograma de distribuição de diâmetros das AuNPs associado ao decocto da *Spondia mombin*



Fonte: (Próprio Autor,2023).

5.2.3 AgNPs

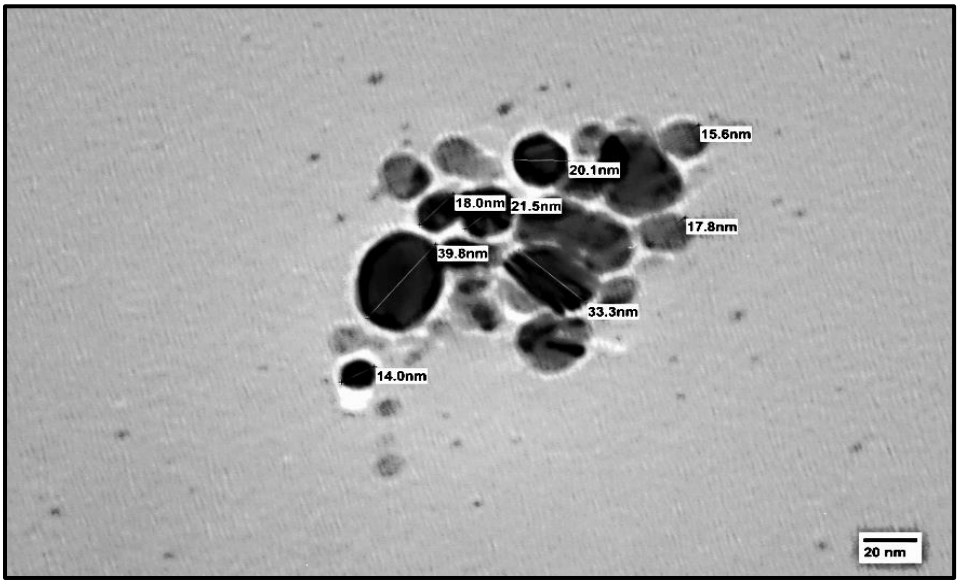
As figuras 30 e 31 mostram as imagens adquiridas por TEM das AgNPs e histograma apresentando a distribuição do diâmetro das AgNPs**.** O histograma mostra não apenas a distribuição, mas o diâmetro médio, o desvio padrão, as medidas máximas e mínimas dos tamanhos das AgNPs e a gaussiana indica como ocorreu a distribuição normal dos diâmetros próximos ao valor médio.

As AgNPs evidenciadas na figura 30, foram adquiridas utilizando o método via convencional, onde foi usado o borohidreto de sódio como agente redutor. Na imagem de TEM, observa-se que na escala de 20 nm visualiza-se a morfologia das nanopartículas de prata, que na sua maioria são esféricas, onde também apresentam um pequeno aglomerado de baixa dispersão.

Quanto as formas esféricas das NPs, conforme os estudos de LOK *et al.*, 2007; RAZA *et al.*, 2016, em que os autores afirmam que foi possível presenciar a formação de bandas nas regiões entre 395 e 420 nm sendo essas particularidades atribuídas às nanopartículas de prata, essas afirmações condizem com os resultados encontrados na pesquisa que foi de aproximadamente de 410 nm, conforme a figura 24.

Segundo (NEŠOVIĆ *et al.*, 2019) a aglomeração das nanopartículas em escala nanométricas se justifica devido as mesmas já possuírem tendência de se aglomerar, ocasionado pela energia superficial decorrente dos domínios reduzidos.

Figura 30: Microscopia eletrônica de transmissão das AgNPs.



Fonte: (Próprio Autor,2023).

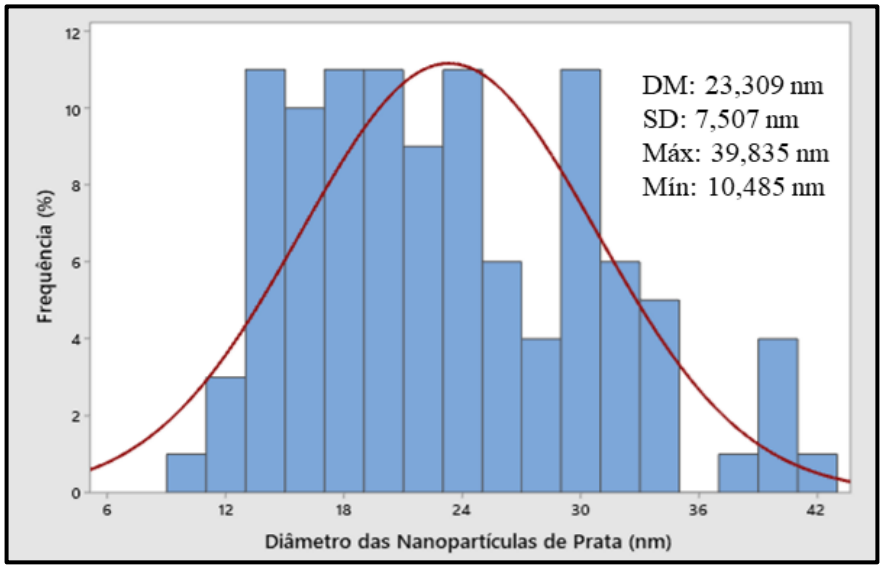
Tendo como base as imagens do TEM construiu-se um histograma conforme a figura 31 em que os diâmetros das AgNPs apresentam pico da curva gaussiana no intervalo de 19-24 nm com diâmetro médio de Dm = 23,309 nm, e possuem uma variação de diâmetro das AgNP, é possível observar o grau de dispersão desse conjunto de nanopartículas que aponta um desvio padrão SD = 7,507 nm, sinalizando uma boa uniformidade e um diâmetro máximo encontrado que foi de 39,835 nm e mínimo de 10,485 nm.

De acordo com GARCIA (2011) que descreve que os diâmetros médios de Ag-NPs sintetizadas usando $NaBH_4$ e cuja banda BPS se encontra próxima aos 400 nm variam entre 5 – 10 nm, percebe-se no trabalho que o diâmetro médio encontrado foi de 14 nm.

As diferenças entre os valores adquiridos podem estar associadas com as concentrações dos reagentes utilizados e com a metodologia empregada, já que em seu trabalho a adição do $NaBH_4$ foi preparada por gotejamento, enquanto no presente trabalho a adição dos reagentes foi efetuada de forma total e ao mesmo tempo.

Logo é possível afirmar que as variações referentes aos diâmetros encontrados na figura 31 condizem com o que foi descrito pelo autor.

Figura 31: Histograma de distribuição de diâmetros das AgNPs



Fonte: (Próprio Autor,2023).

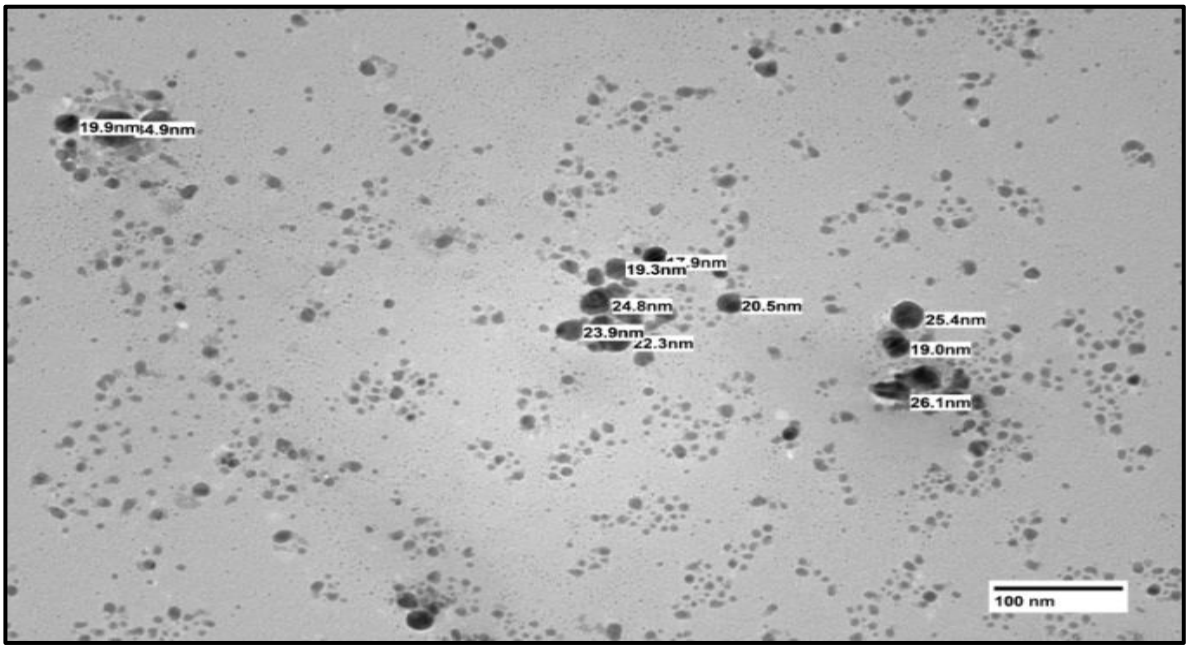
5.2.4 AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin*

As micrografias usando o TEM apresentadas nas figuras 32 e 33 são referentes as AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* e ao histograma, onde ambos foram obtidos usando a técnica via rota limpa, em que houve a substituição do agente redutor formado por compostos químicos, referentes ao borohidreto de sódio, que foi substituído pelo extrato vegetal *matter* do trabalho.

Quanto à forma, as AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin*, evidenciadas na figura 32, apresentam uma morfologia esférica e monodispersa, com um pequeno aglomerado. As imagens obtidas via microscopia eletrônica de transmissão certificam o fora mencionado na análise por UV-vis, segundo os dados apresentados na figura 25.

Para (Rani *et al*., 2020) na faixa SPR o pico máximo e único de absorção é de 420nm e aponta que o tamanho, das nanopartículas de prata usando extratos, gira em torno dos 20 nm. Resultados semelhantes aos do autor foram encontrados nesse trabalho.

Figura 32: Microscopia eletrônica de transmissão das AgNPs. associado ao decocto da *Spondias mombin*



Fonte: (Próprio Autor, 2023).

Pode-se observar na figura 33 que os diâmetros das AgNPs associados ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* apresentam pico da curva gaussiana no intervalo de 16-20 nm com diâmetro médio de (Dm) de 18,007 nm.

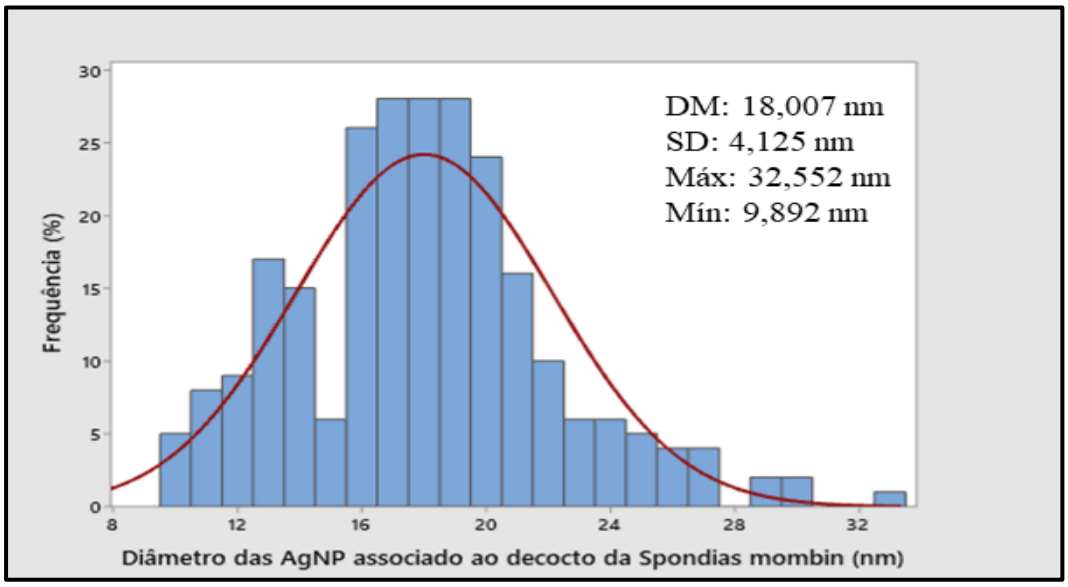
Também se pode observar o grau de dispersão desse conjunto de nanopartículas que aponta um desvio padrão SD =4,125 nm, indicando uma boa uniformidade e onde os diâmetros máximos encontrados foram de 32,552 nm e os mínimos de 9,892 nm.

Fazendo uma análise e comparando os dados obtidos do histograma da figura 31 observamos que ocorreu uma redução dos valores das nanopartículas para o histograma da figura 33. Essa redução segundo GUIMARÃES, M.L.; *et.al* (2021) ocorre em consequência da complexidade redutora das biomoléculas existentes nos extratos.

Uma quantidade reduzida desses grupos funcionas contida nos extratos pode agir com diferentes íons construindo ligações que favoreçam o processo de nucleação, de acordo com MELO, A.P.Z., *et.al* (2020), tornando-os estáveis, após se alojam na superfície das nanopartículas.

O tamanho médio encontrado neste trabalho está de acordo com a pesquisa de (D. V. S. Dias e*t al*., 2021), onde os valores aceitos para a utilização biológica devem estar em intervalos entre 1 e 50 nm.

Figura 33: Histograma de distribuição de diâmetros das AgNPs associado ao decocto da *Spondias mombin.*



Fonte: (Próprio Autor, 2023).

5.3 - Valores Médios De Absorbâncias em função das concentrações do decocto liofilizado da *Spondia mombin* associado as AgNPs.

A figura 34 apresenta os gráficos das médias de absorbância das bactérias, utilizando o método de micro diluição em caldo conforme as concentrações de 50 á 0,97 mg/mL, conforme cada bactéria. O crescimento bacteriano pode ser percebido a partir da diferença entre os valores da média de absorbância do momento da semeadura (hora zero) e após o período de incubação (24 horas). O tratamento de micro diluição em caldo escolhido é justificado por apresentar o melhor resultado quanto a ação em bactérias gram positivas e gram negativas.

A ordem das figuras são:

A) *Escherichia coli;*

B) *Staphylococcus aureus*;

C) *Klebsiella pneumonie*;

D) *Pseudomona aeruginosa.*

Os valores das médias representadas nos gráficos entre o eixo y e x, acompanhadas de respectivas letras minúsculas na linha, significam que as concentrações não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Após as 24 horas, observou-se que todas as bactérias mostraram sensibilidade para a concentração de 50 mg/mL, que foi verificada na técnica de CBM em meio sólido. Tais resultados são satisfatórios, já que a técnica de decocção da *Spondia mombin* e a síntese usada para a formação das AgNPs, são simples, já que ambas as concentrações inibiram as unidades formadoras de colônia (UFC) dos microrganismos em teste.

Evidenciou-se ainda que a sensibilidade das bactérias usando as AgNPs, associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin*, decaiu a cada diminuição da concentração. Respostas como essa, já foram observadas para o extrato da casca da *C. ferrea* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (PEREIRA *et al*. 2006). Ainda é possível observar que a concentração de 50 mg/mL^{-1} testada nesses experimentos foi a que demonstrou maior atividade antimicrobiana para todas as bactérias avaliadas.

Para a *Escherichia coli* (A) não houve diferença estatística nas concentrações de 50 a 0,781 mg/mL$^{-1,}$ sendo que suas médias se mantiveram valores constantes no tempo zero assim como também após as vinte e quatro horas.

Entretanto a partir da concentração de 0,390 mg/mL^{-1} (t=24 h) houve uma diferença estatística, além de uma elevação das bactérias em 0,12 nm e em seguida ocorreu a redução para 0,11nm na concentração de 0,195 mg/mL^{-1} voltando a elevar-se em 0,20 nm na concentração de 0,097 mg/mL^{-1}.t

Referente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonie* e *Pseudomona aeruginosa* nas concentrações de 50 a 6,250 mg/mL$^{-1,}$ estas não apresentaram diferenças estatísticas no período correspondente ao tempo zero e após as vinte e quatro horas.

As reduções dos valores das médias de absorbâncias após as 24 horas mantiveram-se constantes tendo suas variações entre 0,09 a 0,013nm para a bactéria Staphylococcus *aureus,* enquanto que 0,063 a 0,011 nm para a *Klebsiella pneumonie* e de 0,055 a 0,074nm para *Pseudomona aeruginosa* .

Nas concentrações abaixo de 3,125 mg/mL^{-1} , verificou-se uma diferença estatística justificada pelo aumento na absorbância final, em que ficou clara a pouca ação

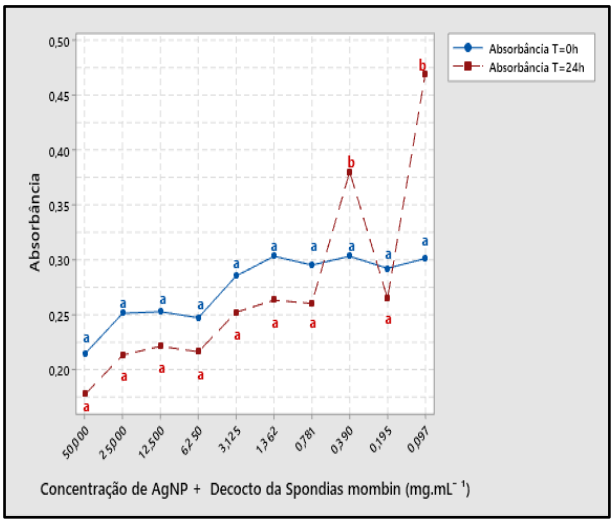
bacteriostática do princípio ativo nas concentrações mais baixa e com isso elevou-se a multiplicação das colônias bacterianas.

Os resultados deste estudo comprovam a eficácia do decocto liofilizado da *Spondias mombin* associada a AgNPs como potencial agente antibacteriano, corroborando com os resultados obtidos por Medeiros (2009) nos quais se desenvolveu estudo semelhantes, usando caprinos, onde se avaliou o desempenho do extrato da folha do *Spondias mombin* 3%, *in vitro*, frente aos agentes responsáveis pela mastite em caprinos como, *Klebsiella pneumonie e Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus e Streptococcus sp*.

Semelhante ao presente estudo, Leonez *et al*. (2018), avaliou a eficiência do decocto do cajá (*S. mombin L*.) aplicando a técnica de micro diluição, nas concentrações de 1:1 e 1:2, onde essas obtiveram ação inibitória frente a estirpes de *Staphylococcus sp.*

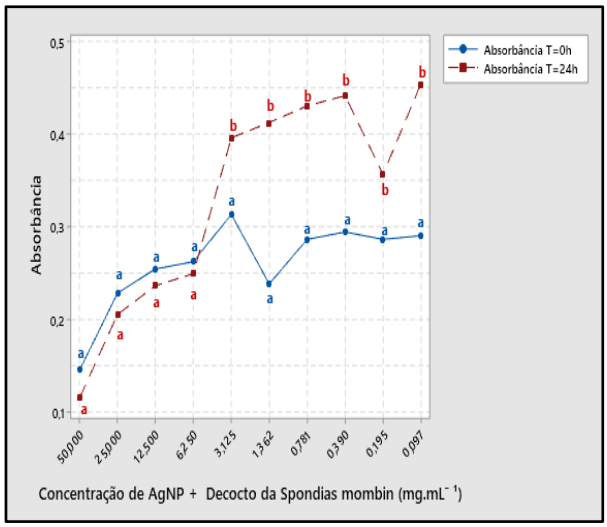
Figura 34: gráficos das médias de absorbância das bactérias, utilizando o método de micro diluição em caldo conforme as concentrações de 50 a 0,97 mg/mL para bactérias *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae e Pseudomonas aeruginosa.*

A)



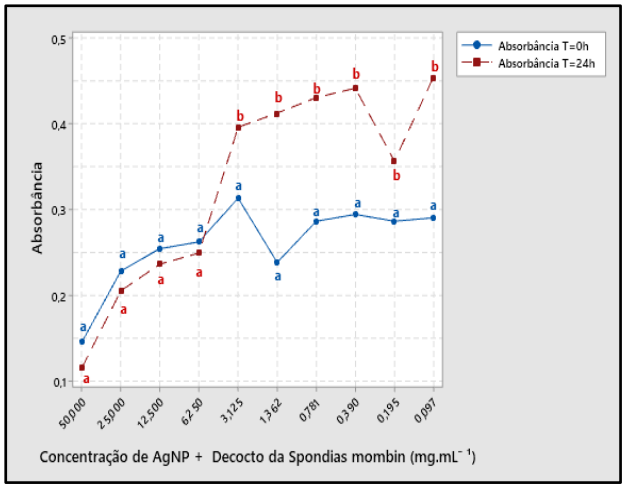
Escherichia coli

B)



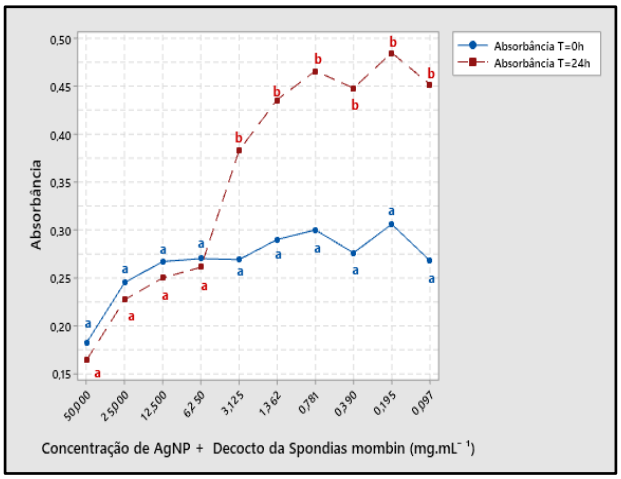
Staphylococcus aureus

C)



Klebsiella pneumonie

D)



Pseudomona aeruginosa

5.4 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) das AgNPs associada ao Decocto da *Spondias mombin.* após as vinte e quatro horas de tratamento.

Os resultados da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) das AgNPs associada ao decocto da *Spondias mombin.*, após as vinte e quatro horas de tratamento estão descritos na tabela 5.

Tabela 5: CIM E CBM de nanopartículas de prata associada ao decocto da Spondias *mombin* + prata para as bactérias *Escherichia coli, S. aureus, Klebsiella e Pseudomonas aeruginosa.*

Bactéria	**CIM**		**CBM**		**CONTROLE**
	AgNPs + decocto da *Spondias mombin*	AgNPs	AgNPs + decocto da *Spondias mombin*	AgNPs	
Eschericia coli (Gram-negativa)	6,25%	12,5%	12,5%	50%	(-) Água Destilada
S. aureus (Gram-positiva)	6,25%	25%	50%	-	
Klebsiella pneumoniae (Gram-negativa)	3,125%	12,5%	12,5%	25%	
Pseudomonas aeruginosa (Gram-negativa)	12,5%	25%	12,5%	-	

Fonte: (Próprio Autor, 2023).

No tocante a ação da síntese verde podemos observar que quanto a concentração mínima inibitória a associação do nitrato de prata com o decocto liofilizado da *Spondias mombin* apresentaram um sinergismo melhor nas concentrações que variaram de 3,125% a 12,5%, onde foram capazes de inibirem o crescimento de todas as bactérias testadas, considerando *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae e Pseudomonas aeruginosa*.

Essa inibição podem ser justificada devido a maioria das AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* apresentarem formato esférico,assim como um diâmetro médio menor do que as AgNPs sendo essa diferença seja possivelmente a responsável pelo sinergismo na redução dos saís nas mínimas concentrações.

Conforme (JIA *et al.*, 2017) acredita-se que as nanopartículas menores e esféricas, apresentam uma maior toxicidade. A vantagem na aquisição de nanopartículas em escala nanométricas menores que as escalas usuais representa melhor atividade antibacteriana, que se apresenta significativamente mais forte, quando comparamos com as partículas convencionais, sendo benéfica no combate as infecções bacterianas (BRUNA *et al*., 2021).

Entre as bactérias testadas se encontra as *Pseudomonas aeruginosa*, que são consideradas bactérias multirresistentes a maioria dos antimicrobianos por causa da capacidade de impermeabilidade da membrana externa, a produção de β-lactamases, regulação de bombas de efluxo e outros motivos que configuram para a resistência adquirida (POOLE, K.2011).

Como podemos observar na tabela 5 as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* sintetizadas com nanopartículas utilizando AgNPs associadas ao decocto liofilizado da *Spondias mombin*, apresentaram uma concentração mínima de 12,5% sendo esse valor bem inferior do demonstrado pelas AgNPs que foi de 25%, esses dados indicaram uma boa limitação de crescimento microbiano quando usado a síntese via por rota limpa.

Para (XY JIN, Z.C., *et.al* .2018) a associação com plantas como a *Spondia mombin* potencializa a ação antibacteriana e ocorre quando os grupos hidroxilas de antomicinas dessas macromoléculas a qual juntam-se com os íons metálicos formando alguns compostos antes da formação das nanopartículas metálicas em redução (XY JIN, Z.C., *et.al* .2018) para inibir a ação microbiana.

Quanto a concentração bactericida mínima conforme a tabela 5, observamos que a ação bactericida usando AgNPs associada ao decocto liofilizado da *Spondias mombin teve* excelente resultados em todas as bactérias testadas, onde a ação bactericida ocorreu entre 12,5% e 50% divergindo dos apresentados pelas AgNPs que foi de 25% a 50%.

Acredita-se que o mecanismo de ação antibacteriano das AgNPs associada ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* ocorra devido a parede celular ser carregada negativamente atraia os íons Ag^+ e com isso causando o rompimento da parede celular, ocasionando desativação de enzimas e/ou mudanças na permeabilidade da membrana levando, desnaturação proteica e a morte celular (KALWAR; SHAN, 2018; KODURU *et al*., 2018). Segundo (KUMAR *et al*., 2017) a desnaturação está associada à característica da prata em reagir com compostos sulfurados e fosforados de biomoléculas.

A bactéria gram-positiva Staphylococcus *aureus* e a gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* não apresentaram ação bactericida quando aplicado AgNPs em suas superfícies, porém mesmo sendo uma bactéria resistente por apresentar e sua parede celular lipídeos e lipopolissacarideos que bloqueiam a entrada de moléculas hidrofílicas ocorreu a ação bacteriana em 50% da amostra quando usado AgNPs associada ao decocto liofilizado da *Spondias mombin* podem estar relacionados com as propriedades biocompatíveis encontrada nas folhas da Spondias *mombin*.

Segundo (Novaes & Novaes, 2021) acredita-se que o potencial antimicrobiano da planta se dá pela ação dos lipídeos fenólicos, flavonoides, apigenina, kanferol, quercetina e agastiflavona que possibilitam a estabilização das nanopartículas e fixação em sua superfície (Novaes & Novaes, 2021), dentre os quais podemos destacar também a ação dos taninos que devido a sua interação com as proteínas impedem a ação enzimática (KONISH *et al.*, 1993).

Os resultados observados durante os estudos com nanopartículas de ouro associada ao decocto liofilizado das folhas de *Spondia mombin* não inibiram bactérias gram positivas e gram negativas, como *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae e Pseudomonas aeruginosa*.

Essa situação pode ser justificada devido a composição do extrato que é composto por diferentes componentes bioativo. Conforme (TOLEDO, 2021) partículas de ouro associadas a *Pterodon emarginatus* também não inibiram bactérias como *Escherichia coli* provavelmente devido a interferência no tamanho da partícula ou ainda pela redução do

ouro no extrato da planta. Para isso são necessários estudos posteriores que investiguem a natureza das moléculas dos extratos envolvidas nesses mecanismos (OLIVEIRA, 2018).

6.0 CONCLUSÃO

No presente estudo as rotas sintéticas permitiram com sucesso a obtenção de AgNPs e AuNPs, associadas com o decocto da *Spondias mombin L*. Foi possível observar que o decocto retirado da folha do insumo pode ser usado como agente redutor e estabilizador, sendo permitido pela substância presente nos vegetais e fazendo com que esse processo se tornasse barato e ecologicamente seguro.

Os testes preliminares realizados com as AuNPs e decocto da *Spondias mombin L.* não foram satisfatórios, podendo ser explicado pela compostura diferenciada dos constituintes presente no extrato responsáveis na formação das biomoléculas.

Quanto as AgNPs obtidas a partir do decocto da *Spondias mombin L.*, após as vinte e quatro horas, demostrou-se que os resultados foram superiores aos apresentados pela AgNPs. Isso nos faz concluir que as AgNPs obtidas a partir do decocto da *Spondias mombin L.* apresentaram maior eficiência na atividade antimicrobiana frente as cepas gram-positivas e gram-negativas com vista à aplicação em medicina veterinária pelos potenciais antimicrobianos, mostrando-se como uma escolha promissora no combate a resistência bacteriana.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J. *et al.* **Anti-inflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela**. Journal of Ethnophamacology, v. 55, p. 63-68. Venezuela: Dezembro, 1996

- ABDELGHANY, T.M., AL-RAJHI, A.M.H., AL ABBOUD, M.A., "**Recent Advances in Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications: About Future Directions. A Review.** *BioNanoScience*, v. 8, pp. 5-16, Estados Unidos: Abril, 2018.

- ABO, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S. **Antimicrobial Potential of *Spondias mombin, Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*.** Phytotherapy Research, v.13, p.494–7. Nigéria: Setembro, 1999.

- AGUILERA, L., FAGUNDES, N., MELO, A.D., BANDEIRA, B., NOBRE, F.X., ANGLADA-RIVERA, J., SILVA, J.P., PÉREZ, J. DE LA C., LEYET, Y. **Influence of sonication time on the structure and electrical properties of Na2Ti6O13 ceramics: An approach applying the Mott-Schottky model,** *Ceram. Int*. (2020) 0–1. doi:10.1016/j.ceramint.2019.12.106).

- AHMADA, T., WANIA, I. A. MANZOOR, N., AHMED, J., ASIRI, A. M. **Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles Colloids and Surfaces** *B: Biointerfaces* 107 (2013) 227– 234 http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.02.004.

- AHMED, S., AHMAD, M., SWAMI, L., & IKRAM, S. (2016). **A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications**: A green expertise. Journal of Advanced Research, 7, 17–28. https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007.

- AHVANOOEI, M. R., NOROUZIAN, M., & HEDAYATI, M. (2020). **Iodine Concentration in Iranian Dairy Milk Products and Its Contribution to the Consumer's Iodine Intake**. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 14(2), 159-165. 10.22059/ijvm.2019.280325.1004984.

- AIRES, A. M. M. **Biodispositivos Eletrônicos implantáveis e biodegradáveis nano/microfibras de poli (ε-caprolactona) (PCL**) - Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2012.

- AJAO, A.O.; SHONUKAN, O.; FEMI-ONADEKO, B. **Antibacterial Effect of Aqueous and Alcohol Extracts of *Spondias mombin*, and *Alchornea cordifolia* - Two Local Antimicrobial Remedies.** *International Journal of crude drug Research*, *23*(2), 67-72. Nigéria: setembro, 2008.

- ALBUQUERQUE, Taira Endi de Flaviano. **Extração, caracterização e avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante da piperina proveniente da *Piper Nigrun*.** Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Odontológicas) – Centro Universitário Christus, Fortaleza, 2020.

- ALFURAYDI, A.A., DEVANESAN, S., AL-ANSARI, M., *et al.*, **Eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles from the sesame oil cake and its potential anticancer**

and antimicrobial activities. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v. 192, pp. 83-89, USA: January ,2019.

- ALMEIDA, Édipo S. **Biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata por Fusarium oxysporum**. 2017. Universidade Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2017

- ALVES, A. P. P. *et al*. **Soluções de óxido de zinco e de nitrato de prata como alternativa para antissepsia de tetos de bovinos (teste *in situ*).** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 37, n.10, p. 1049-1056, Brasil: fevereiro, 2017.

- ALVES, D.C.B. **Nanotubos de Titanatos Aplicados como Sensores de Gás**, Brasil: 2009.

- ALIABALI, A., AKKAM, Y., Al ZOUBI, M., Al-BATAYNEH, K., Al-Trad, B., ABO ALROB O., EVANS, D. (2018). **Synthesis of Gold Nanoparticles Using Leaf Extract of Ziziphus zizyphus and their Antimicrobial Activity**. Nanomaterials, 8(3), 174.

- AMANCIO, A. M. *et al*. **Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas do gênero *Psydium*.** Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 13, n. 1, p. 644-652, Brasil: julho, 2015.

- AMENDOLA, V.; BAKR, O; STELLACCI, F. A **study of the surface plasmon resonance of silver nanoparticles by the discrete dipole approximation method: effect of shape, size, structure, and assembly. Plasmonics,** v. 5, p. 85 97, 2010.

- ANAND K. K. H.; MANDAL B. K. **Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants**. *Spectrochemical Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. v.135 p.639-645, India: Julho, 2015.

- ARASSU, R.R.T., NAMBIKKAIRAJ, B., RAMYA, D.R., **Green synthesis of silver nanoparticles and characterization using plant leaf essential oil *Rosemarinus officinalis* and their antifungal activity against human pathogenic fungi**. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*, v. 7, n. 11, pp. 138-144, Brasil: Novembro, 2018.

- ARAÚJO, E. R. D. *et al*. **Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidro alcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera Colubrina* frente a bactérias gram negativa e gram positiva.** Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v.5, n.3, p.66-71, Brasil: agosto, 2015.

- ARCANJO, A. H. M. *et al.* **Programa dos seis pontos de controle da mastite em rebanhos leiteiros**. Global Science Technology, Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 10, n. 1, p. 78 – 88, Brasil: Fevereiro, 2017.

- ARMENDÁRIZ-BARRAGÁN, B.; ZAFAR, N.; BADRI, W.; GALINDO-RODRÍGUEZ, SA.; KABBAJ, D; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Extratos vegetais: do encapsulamento à aplicação** Especialista Opin. Droga Entrega., 13 (2016), pp. 1165 - 1175, 10.1080/17425247.2016.1182487.
- ASUQUO, O.R. *et al*. (2013). **Comparative Study of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Spondias mombim* on neurobehaviour in male rats.** *Journal of pharmacy and biological* sciences, v. 5, p. 29- 35. Estados Unidos: janeiro, 2013.

- AVANCINI, C. A. M.; BOTH, J. M. C. **Efeito da atividade bactericida de três desinfetantes sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA).** *Revista*

de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul, v. 7, n. 2, Brasil: maio, 2017.

- AZIZI, S., MOHAMAD, R., RAHIM, R.A., *et al*. **ZnO-Ag Core Shell Nanocomposite Formed by Green Method using Essential Oil of Wild Ginger and Their Bactericidal and Cytotoxic Effects**. Applied Surface Science, v. 384, pp. 517-524, Estados Unidos: Outubro, 2016.

- BAI, C., LIU, M. **Implantation of nanomaterials and nanostructures on surface and their applications**, *Nano Today*. 7 (2012) 258–281. doi:10.1016/j.nantod.2012.05.00

- BARBIZAN, O. A. **Produção e avaliação de micropartículas de alginato contendo bacitracina de zinco, berberina e nitroprussiato de sódio recobertas por quitosana para tratamento de bacterioses extraídas de peixes.** 135 p. Tese (Doutorado em Nanociência e Nanobiotecnologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

- BARBOSA, A. S. A. A. *et al.* **Eficácia do álcool etílico e quaternário de amônio na desinfecção de equipamentos médicos hospitalares.** *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 8, n. 4, p. 409-414, Brasil: outubro, 2018.

- BARLOW, M. **O que a resistência antimicrobiana nos ensinou sobre a transferência horizontal de genes.** Dentro Transferência horizontal de genes; Humana Press: Totowa, NJ, EUA, 2009.

- BASAK, S.; PACKIRISAMY, G. Nano-based antiviral coatings to combat viral infections. **Nano-Structures and Nano-Objects**, v. 24, p. 100620, 2020.

- BATAIN, F. *et al.* **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS BIMETÁLICAS DE PRATA E OURO CO-ESTABILIZADAS COM DIFERENTES COPOLÍMEROS ANFIFÍLICOS**. p. 23–28, Brasil: junho, 2020.

- BAVYKIN, D. V., WALSH, F.C. **Titanate and Titania Nanotubes,** *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, 2009. doi:10.1039/9781849730778.

- BENEDITO, Aline, SILVA, Fabiana, SANTOS, Ísis. "**Nanopartículas de prata: aplicações e impacto ambiental.**" *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz* 16 (2017): 4-5. Benet.

- BELEÑO, C. C. "**Estudio del efecto antibacteriano de nanopartículas de plata en cepas multi-resistentes de Pseudomonas aeruginosa**". (2020).

- BEZERRA, A. C. D. S. *et al.* **Fitoterapia e a Ovino caprinocultura: uma associação promissora,** *Ciência Animal Brasileira, v.11, n.3, p: 589-599***.** Brasil: 2018.

- BHATTACHARYA, R., MUKHERJEE, P. **Biological properties of "naked" metal nanoparticles**., *Adv. Drug Deliv*. Rev. 60 (2008) 1289–306. doi:10.1016/j.addr.2008.03.013.
- BLAIR, JMA; WEBBER, MA; BAYLAY, AJ; OGBOLU, DO; PIDDOCK, LJV **Mecanismos moleculares de resistência a antibióticos.**Nat. Rev. Microbiol.2015,13, 42-51

- BONNIA, N. N., KAMARUDDIN, M. S., NAWAWI, M. H., RATIM, S., AALINA, H. N., & ALI, E. S. (2016). **Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using**

“Polygonum Hydropiper” and Study its Catalytic Degradation of Methylene Blue. Procedia Chemistry, 19, 594–602. https://doi.org/10.1016/J.PROCHE.2016.03.058.

- BORGES, I. V. *et al*. **Identificação da fração antimicrobiana do extrato da *Mimosa tenuiflora*.** *Comunicata Scientiae*, v. 8, n. 1, p. 155-164, Brasil: março, 2017.

- BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLO, V. R; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. **Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 2006, 42, 195.

- BRUNA, Tamara *et al*. **Silver nanoparticles and their antibacterial applications**. International Journal of Molecular Sciences, [s.l], v. 22, n. 13, p. 7202, 2021.

- CADIOLI, L.P. e SALLA, L.D. **Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia**. Brasil: 2006. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/277043046_Nanotecnologia_um_estudo_sobre_seu_historico_definicao_e_principais_aplicacoes_desta_inovadora_tecnologia>. Acesso em : 21jan. 2022.

- CAMACHO, S. A., P. H. B. Aoki, C. J. L. CONSTANTINO and A. G. BROLO. 2017. “**Immunoassay Quantification Using Surface-Enhanced Fluorescence (SEF) Tags**.” 2717–24. doi: 10.1039/c7an00639j.

- CAMPOS, F. L.; VALENTE, P.; AVANCINI, C. A. M. **Atividade dos desinfetantes iodóforo e composto quaternário de amônio sobre *Candida padrão* e isolados clínicos de mastite bovina**. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA*, v. 10, n. 4, p.716-725. Brasil: fevereiro, 2016.

- CAO, Z., SHEN, Z., LUO, X., ZHANG, H., LIU, Y., CAI, N., XUE, Y., YU, F. **Citrate-modified maghemite enhanced binding of chitosan coating on cellulose porous membranes for potential application as wound dressing, Carbohydr**. *Polym.* 166 (2017) 320–328. doi:10.1016/j.carbpol.2017.03.012.

- CARABALLO, A.; CARABALLO, B.; RODRÍGUZ-Acosta, A. **Preliminary assessment of medicinal plants used as antimalarials in the southeastern Venezuelan Amazon**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 37, n.2, p. 186-8. Venezuela: 2004.

- CARNEIRO, J. A., & MACEDO, D. S. (2020). Cúrcuma: **Princípios Ativos e seus benefícios para a saúde**. p., 14(87), 9.

- CARNEIRO, W. P. et al. **Avaliação produtiva e reprodutiva de caprinos leiteiros no Semiárido paraibano.** Revista Científica de Produção Animal, v. 18, n. 1, p. 18-25, Brasil: 2016.

- CARVALHO, P. C. L, RITZINGER, R.; SOARES FILHO, W. S.; LEDO, C. A. S. **Características morfológicas, físicas e químicas de frutos de populações de umbu-cajazeirano.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 1, p. 140-147, Brasil: 2008.

- **Catalytically and biologically active silver nanoparticles synthesized using essential oil**. *Spectrochimica acta part a: molecular and biomolecular spectroscopy*, v. 132, pp. 743-750, Nov. 2014.

- CHEN, X.; SCHLUESENER, H. J. **Nanosilver: A nanoproduct inmedical application.** *Toxicology Letters*, v. 176, n. 1, p. 1-12, Estados Unidos: 2008.

- COATES, N. J. *et al.* **A novel β-lactamase inhibitor isolated from Spondias *mombin***. *Journal of Natural Products*, v. 57, n. 5, p. 654-7. Estados Unidos: 1994.

- COLLINS, G. *et al.* **Charge generation, charge transport, and residual charge in the electrospinning of polymers: A review of issues and complications.** *Journal of Applied Physics*, Melville, v. 111, n. 4, p. 719-724, fev 2012.

- CORTHOUT, J.; PIETERS, L. A.; CLAEYS, M.; VANDEN-BERGHE, D. A.; VILETINCK, A. J. **Antiviral caffeoyl: esters from *Spondias mombin***. *Phytochemistry*, v.31, n.6p.79-81, Estados Unidos: 1992.

- CORTIVO R, DE GALATEO A, HADDAD M, CABERLOTTO M, ABATANGELO G. **Glycosaminoglycans in human normal gingiva and in periodontosis: biochemical and histological observations**. *G Stomatol Ortognatodonzia*.; 5 (3): 69-72. 1986.

- COSTA, A. L. P. CAMPOS, M. B.; BARBOSA, L. P. J. L.; BEZERRA, R. M.; BARBOSA, F. H. F. **Análise qualitativa fitoquímica e do potencial antimicrobiano do extrato bruto de casca de bertholletia excelsa humb. e bomple (lecytgidaceae) frente a microrganismos gram positivos**. Ciência Equatorial, v.22, n. 1, p. 26-34, 2012.

- COSTA, G. F. et al. **Eletrofiação de Polímeros em Solução**. *Polímeros*, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 8, Maio 2012. ISSN ISSN 0104-1428.

- COSTA, E.A.; NUNES, B.P.; SOUSA, A.M.; FILHO, L.A.M.; SILVA, A.E.A.; KRAMER, D.G. **NANOPARTÍCULAS.** ANUÁRIO PESQUISA E EXTENSÃO UNOESC XANXERÊ - 2022. [s.d.].

- COSTA NETO, PL. de O. 1977. **Estatística**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, SP.264P.

- COUTINHO, L. C. A. *et al*. **Eficácia in vitro de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite**. Pesquisa Veterinária Brasileira [online]. v.32, n. 1, p. 61-65, Brasil: 2012.

- CUI, Y., ZHAO, Y., TIAN, Y., ZHANG, W., LÜ, X., JIANG, X **The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on Escherichia coli Biomaterials 33** (2012) 2327 e 233. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.057.

- CUMBERLAND, S. A.; LEAD, J. R. **Particle size distributions of silver nanoparticles at environmentally relevant conditions**. *J. Chromatography. A*, Birmingham, v. 1216, 9099-9105, England: 2009.

- CUTRIM, E. S. M. et al. **Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and hydroalcoholic extracts of zingiber officinale (ginger) and**

rosmarinus officinalis (Rosemary). Revista Virtual de Quimica, v. 11, n. 1, p. 60–81, 2019.

- DA SILVA, G. A. *et al.* **Gênero Spondias: Aspectos botânicos, composição químicaepotencial farmacológico**. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 10, p. 27-41, Brasil: 2014.

- DA SILVA, L.G. **Caracterização físico-química e avaliação da liberação in-vitro dos conjugados poli(ε-caprolactona) /tetraciclina e poli(ε-caprolactona) /ácido etilsalicílico**. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá. 2012.

- DANG, H.; FAWCETT, D.; POINERN, G. E. E. J. **Green synthesis of gold nanoparticles from waste macadamia nut shells and their antimicrobial activity against Escherichia coli and Staphylococcus epidermis**. International Journal of Research in Medical Sciences, v. 7, n. 4, p.1171-1177, 2019.

- DANTAS, T.D. **Utilização do decocto de cajá (*SpondiaS mombin*) como antisséptico em feridas cirúrgicas de felinos**. p. 59. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) Universidade Federal Rural do Semiárido. Brasil: 2018.

- DANTAS, T. D**. Eficiência do uso de decocto de folhas de cajá (*Espondias mombin* L.) In vitro e in vivo como antissépticos em gatos (felis *catus*) em casos à ovário salpingo histerectomia e orquiectomia**. 53 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Semi- árido. Brasil: 2018.

- DE MATTEIS, V., CASCIONE, M., TOMA, C., & LEPORATTI, S. (2018). **Silver Nanoparticles: Synthetic Routes, In Vitro Toxicity and Theranostic Applications for Cancer Disease. Nanomaterials**, 8(5), 319. https://doi.org/10.3390/nano8050319.

- DE PAULA SILVA, T.; SCOMBATTI PINTO, G. **Nanotecnologia E Sua Influência Na Evolução Da Medicina**. Revista Interface Tecnológica, v. 17, n. 2, p. 269–280, 2020.

- DENG, X., NIKIFOROV, A.Y., COENYE, T., COOLS, P., AZIZ, G., MORENT, R., GEYTER, N.DE, LEYS, C. **Antimicrobial nano-silver non-woven polyethylene terephthalate fabric via an atmospheric pressure plasma deposition process.**, *Sci. Rep*. 5. doi:10.1038/srep10138. Estados Unidos: 2015.

- DIAS, A. R.; DA S. V. G. **Cumarinas: origem, distribuição e efeitos tóxicos**. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal: 2015.

- DIAS, D. V. S., ZANCANELLA, C. A., BANDEIRA, D. M., CORREA, J. M., PINTO, F. G. DA S., & EISING, R. (2021). **Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato metanólico de Podocarpus lambertii Klotzch ex Endl / Green synthesis of silver nanoparticles using methanol extract of Podocarpus lambertii Klotzch ex Endl**. Brazilian Journal of Development, 7(4), 42062–42072. https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-595

- DOHNERT, M. B, VENÂNCIO, M., POSSATO, J.C., ZEFERINO, R.C., DOHNERT, L.H., ZUGNO, A.I., SOUZA, C.T., PAULA, M.M.S., LUCIANO, T.F. **Gold nanoparticles and diclofenac diethyl ammonium administered by iontophoresis reduce inflammatory cytokines expression** in *Achilles tendinitis*, Int.J. Nanomedicine.7. doi:10.2147/IJN.S25164. 2012.

- DWIVEDI, AD; GOPAL, K. **Biossíntese de nanopartículas de prata e ouro usando extrato de folha de álbum de Chenopodium**. Colóides Surf. A Físico-químico. Eng. Asp.2010,369, 27-33

- DZIMITROWICZ, A., BERENT, S., MOTYKA, A., *et al.*, **Comparison of the characteristics of gold nanoparticles synthesized using aqueous plant extracts and natural plant essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis***. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 12, n. 8, pp. 4795-4805, Estados Unidos: Dezembro, 2019.

- EKOR.; M. **O crescente uso de fitoterápicos: questões relacionadas às reações adversas e desafios no monitoramento da segurança Frente**. Pharmacol., 4 (2014), pág. 177, 10.3389/ffar.2013.00177.

- ELAISSI, Z. ROUIS, NA BEM SALEM, S. MABROUK, Y. BEM SALEM, KBH SALAH, M. AOUNI, F. FARHAT, R. CHEMLI, F. HARZALLAHSKHIRI, ML KHOUJA **Composição química de óleos essenciais de 8 espécies de eucalipto e avaliação de suas atividades antibacteriana, antifúngica e antiviral** BMC Compl. Alternativa Med. 12 (2012), pág. 81, 10.1186/1472-6882-12-81.

- EL FAWAL, Gomaa F. *et al.* Electrospun **Polyvinyl Alcohol Nanofibers Containing Titanium Dioxide for Gas Sensor Applications**. *Arabian Journal for Science and Engineering*, v. 44, n. 1, p. 251–257 (2019). Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13369-018-3529-z.

- ESTEVES, F. M.; ECKER, A. B. DA S. **Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em cepas padrão de bacilos gram negativos.** *Revista Uningá*, v. 57, n. 1, p. 11-23, Brasil: 7472020.

- FANIN, M. et al. **Métodos alternativos no tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus aureus*.** *Medicina Veterinária* (UFRPE), v.14, n.1, p.24-32, Brasil: janeiro/março, 2020.

- FANORO OT, OLUWAFEMI, OS. **Mecanismo antibacteriano bactericida de plantas sintetizadas em prata, ouro e nanopartículas bimetálicas**. Farmacêutica. 2020 outubro 30;12(11):1044. DOI: 10.3390/pharmaceutics12111044. PMID: 33143388; PMCID: PMC7693967.

- FARAJI A. H., WIPF P. (2009) **Nanoparticles in cellular drug delivery**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V17/8, 2950–2962.

- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L**. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais**. Química Nova na Escola, v. 39, n. 2, p. 120-30, Brasil: 2017.

- FERREIRA, D. *et al.* **Gold Nanoparticles for Vectorization Of Nucleic Acids for Cancer Therapeutics.** *Molecules 25*, Estados Unidos: 2020.

- FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. D. C. **Nanotecnologia: Aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise.** Quimica Nova, v. 32, n. 7, p. 1860–1870, Brasil: 2009.

- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In... REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE

INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. Anais... São Carlos, SP: SIB, p. 255-258, 2000.

- FEYNMAN, R. P. **There's Plenty of Room at the Bottom**. Encontro Anual da Sociedade Americana de Física, *Caltech*, Estados Unidos: 1959

- FITZPATRICK S. R., GARVEY M., FLYNN J., JORDAN K., & GLEESON D. (2019). **Are some teat disinfectant formulations more effective against specific bacteria isolated on teat skin than others? Acta Veterinaria Scandinavica**, 61, 1–5. 10.1186/s13028-019-0455-3.

- FITZPATRICK S. R., GARVEY M., FLYNN J., JORDAN K., & GLEESON D. (2021). **O efeito dos ingredientes desinfetantes nas bactérias da pele do teto associadas à mastite em rebanhos leiteiros irlandeses.** Irish Veterinary Journal, 74, 1 (2021). 10.1186/s13620-020-00179-7.

- FRANCI, G., FALANGA, A., GALDIERO, S., PALOMBA, L., RAI, M., MORELLI, G., GALDIERO, M. **Silver nanoparticles as potential antibacterial agents,** *Molecules*. 20.8856–8874.doi:10.3390/molecules20058856. Estados Unidos: 2015.

- FREITAS, C. H. *et al*. **Identificação e perfil de suscetibilidade antimicrobiana de bactérias causadoras de mastite bovina em propriedades leiteiras de Pelotas, Rio Grande do Sul**. *Brazilian Journal of Biology,* v. 78, n. 4, p. 661-666, Brasil: 2018.

- GA'AL, H., FOUAD, H., MAO, G. *et al.*, **Larvicidal and pupicidal evaluation of silver nanoparticles synthesized using *Aquilaria sinensis* and *Pogostemon cablin* essential oils against dengue and zika viroses vector *Aedes albopictus* mosquito and its histopathological analysis**. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, v. 64, n. 6, pp. 1171-1179, Estados Unidos: Setembro, 2017.

- GALLEGOS-FLORES, P. I. *et al*. **Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: Carvacrol, Limoneno, Linalool, α-Terpineno y Timol.** *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v. 22, p. 241-248, Estados Unidos: 2019.

- GARCIA, Marcus Vinicius Dias. **Síntese, caracterização e estabilização de nanopartículas de prata para aplicações bactericidas em têxteis**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Unicamp, Campinas, 2011.

- GARG, K., BOWLIN, G. - **Electrospinning Jets and Nanofibrous Structures**. *Department of Biomedical Engineering*, Virginia Commonwealth University, 2011.

- GHOSH, P., HAN, G., DE, M., KIM, C.K., ROTELLO, V.M. **Gold nanoparticles in delivery applications.,** *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60 (2008) 1307–15. doi:10.1016/j.addr.2008.03.016.

- GOMES, A. F. **Avaliação *in vitro* da efetividade de compostos antissépticos bucais no controle da placa bacteriana de cães e gatos.** 2019. 29 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia. Brasil: 2019.

- GOMES, A. V. S.; COSTA, N. E. V.; MOHALLEM, N. D. S. **Os Tecidos e a Nanotecnologia. Química Nova na Escola.** v. 38, n.4, p. 288-296, São Paulo, novembro 2016.

- GONÇALVES, J. L.; TOMAZI, T.; SANTOS, M. V. **Rotina de ordenha eficiente para produção de leite de alta qualidade**. Revista *Acadêmica Ciência. Animal*, v. 15, Supl. 2, p.9-14, Brasil: 2017.

- GORENŠEK, M.; RECEL J. P. **Nanosilver Functionalized Cotton Fabric**. *Textile Research Journal*, v.77 p. 138-141, 2007.

- GROVE, D.C., RANDALL, W.A. **Assay Methods of Antibiotic: A Laboratory Manual New York**: *Medical Encyclopedia.* 1955.

- GUGGILLA, B.R., RUSTED, A., AND BAKRANIA, S., **Platinum nanoparticle catalysis of metanol for thermoelectric power generation.** *Applied Energy*, v. 237, pp. 155–162, Estados Unidos: Outubro, 2019.

- GUERRERO, Ariel R., PABLO ALBELLA, and RICARDO F. AROCA. 2014. "**Plasmon Enhanced Fluorescence with Aggregated Shell-Isolated Nanoparticles**." 1–6

- GUIMARÃES, M. L.; AMARANTE, J. F.; OLIVEIRA, H.P. **A importância dos óleos essenciais na síntese verde de nanopartículas metálicas**. Matéria (Rio de Janeiro) [online]. 2021, v. 26, n. 03 [Acessado 30 janeiro 2022], e13053. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620210003.13053>. Epub 11 Out 2021. ISSN 1517-7076. https://doi.org/10.1590/S1517-707620210003.13053.2021.

- HAIDER, Adnan; HAIDER, Sajjad; KANG, Inn-kyu. **REVIEW A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology**. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 11, n. 8, p. 1165–1188 (2018). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>.

- HAQQ SM, CHATTREE A. **A review**: **a green approach for the synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial applications**. Asian J Pharm Clin Res 11:74– 78. 2018.

- HERRY, V. *et al*. **Local immunization impacts the response of dairy cows to *Escherichia coli* mastitis**. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-18, Estados Unidos: 2017.

- HORCAJADA, J. P. *et al*. **Epidemiology and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections**. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 32, n. 4, e00031-19, Estados Unidos: outubro, 2019.

- HORVAT, E.; MIYASAKA, N. R. S. **Atividade antimicrobiana e desinfecção hospitalar com extrato de cravo-da-índia (*syzygium aromaticun* e/ou *caryophyllus aromaticus* l.).** *Ensaios USF*, v. 1, n. 2, p. 1-13, Brasil: 2019.

- HOSSEINZADEH, N., SHOMALI, T., HOSSEINZADEH, S., *et al.*, **Green synthesis of gold nanoparticles by using *Ferula persica Wild* gum essential oil: production, characterization and *in vitro* anti-cancer effects**. *Pharmacy and Pharmacology*, v. 72, n. 8, pp. 1-13, Estados Unidos: Abril, 2020.

- HUANG, H.; YANG, X. **Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: A green method.** *Carbohydrate Research*, v. 339, n. 15, p. 2627–2631. Estados Unidos, 2004.

- HUANG, X., EL-SAYED, I.H., QIAN, W., EL-SAYED, M.A. **Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods**, *J. Am. Chem. Soc*. 128 (2006) 2115–2120. doi:10.1021/ja057254a.

- HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W. **Nanotechnology: History and future**. *Human and Experimental Toxicology*, v. 34, n. 12, p. 1318–1321, 2015.

- **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍTICA REBANHO DE CAPRINOS BODE E CABRAS**. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/caprinos/br. Acessado em: (13.jul.2022).

- IDER, M. *et al*. **Silver metallic nanoparticles with surface plasmon resonance: synthesis and characterizations**. Journal of Cluster Science, v. 28, p. 1051 1069, 2017.

- IBRAHIM, H. M .M. **ScienceDirect Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms**, *J. Radiat. Res. Appl. Sci. 8* (2015) 1–11. doi:10.1016/j.jrras.2015.01.007.

- JIA, Y.-P.; MA, B.-Y.; WEI, X.-W.; QIAN, Z.-Y. **The in vitro and in vivo toxicity of gold nanoparticles**. Chinese Chemical Letters, v. 28, p. 691-702, 2017

- TRAVANI, S., KORBEKANDI, H., MIRMOHAMMADI, S. V, & ZOLFAGHARI, B. (2014). **Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods**. Research in Pharmaceutical Sciences, 9(6), 385–406.

- JAIANA, M. *et al.* **Metodologia de microscopia eletrônica de transmissão para avaliação da ação antibacteriana de substâncias extraídas de plantas**. 2022.

- JAIN, P.K., HUANG, X., EL-SAYED, I.H., EL-SAYED, M.A. **Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems**, *Plasmonics. 2* (2017) 107–118. doi:10.1007/s11468-007-9031-1.

- JAVARAMAN, R. **Resistência aos antibióticos: Uma visão geral dos mecanismos e uma mudança de paradigma**. Atual Sci.2009, 96, 1475-1484.

- JONES AC, PATTRICK M, DOHERTY S, DOHERTY M. **Intra-articular hyaluronic acid compared to intra-articular triamcinolone hexacetonide in inflammatory knee osteoarthritis**. *Osteoarthritis Cartilage*. 1995; 3 (4): 269-273.

- JORTNER, J.; RAO, C. N. R. **Nanostructured advanced materials. Perspectives and directions**, Pure and Applied Chemistry v. 74, p. 1491-1506, 2002.

- JUZENAS, P., CHEN, W., SUN, Y.P., COELHO, M.A.N., GENERALOV, R., GENERALOVA, N., CHRISTENSEN, I.L. **Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer**, *Adv. Drug Deliv*. Rev. 60 (2008) 1600–1614. doi:10.1016/j.addr.2008.08.004.

- KALWAR, K.; SHEN, M. **Electrospun cellulose acetate nanofibers and Au@AgNPs for antimicrobial activity - A mini review.** *Nanotechnol DE GRUYTER*, v. 2019, n. 8, p. 246-257, Set 2019.

- KALWAR, K.; SHAN, D. **Antimicrobial effect of silver nanoparticles (AgNPs) and their mechanism–a mini review**. Micro & Nano Letters, v. 13, n. 3, p. 277-280, 2018.

- KANG, S.J., CHO, Y. I., KIM, K.H., CHO, E.S. **Proteomic Analysis to Elucidate the Antibacterial Action of Silver Ions Against Bovine Mastitis Pathogens, Biol.** *Trace Elem.* Res. 171 (2016) 101–106. doi:10.1007/s12011-015-0510-5.

- KEMPF, F. **Genomic Comparative Study of Bovine Mastitis *Escherichia coli*.** *Public Library of Science ONE*, v. 11, n. 1, p. 1-22, 2016.

- KODURU, J. R. *et al.* **Phytochemical-assisted synthetic approaches for silver nanoparticles antimicrobial applications: A review.** Advances in Colloid and Interface Science, v. 256, n.2, p. 326-339, 2018.

- KUMAR, B.; SMITA, K.; VIZUETE, K. S. A.; CUMBAL, L. **Aqueous Phase Lavender Leaf Mediated Green Synthesis of Gold Nanoparticles and Evaluation of its Antioxidant Activity**. Biology and medicine, v. 8, n. 3, p. 1-4, 2016.

- KHANDEL, P., YADAW, R. K., SONI, D. K., KANWAR, L., & SHAHI, S. K. (2018). **Biogenesis of metal nanoparticles and their pharmacological applications: present status and application prospects.** Journal of Nanostructure in Chemistry, 8(3), 217–254. https://doi.org/10.1007/s40097-018-0267-4.

- KHOR, H. L.; SCHANTZ, J. T.; PHAN, T-T.; LIM, T. C.; TEOH, S. H.; HUTMACHER, D. W. **Poly(E-Caprolactone) Films as A Potential Substrate for Tissue Engineering Na Epidermal Equivalent.** *Materials Science and Engineering*, v. 2002.

- KHOSHNEVISAN, K. et al. **Cellulose acetate electrospun nanofibers for drug delivery systems: Applications and recent advances.** *Carbohydrate Polymers*, Irã, 18 jun 2018. 131-141.

- KIM T.H., KIM M., PARK, H.S., *et al.*, **Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles.** *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, v. 100 A, n. 4, pp. 1033-1043, Estados Unidos: Fevereiro, 2012.

- KISHEN, A., SHRESTHA, S., SHRESTHA, A., CHENG, C., & GOH, C. **Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation**. *Dental Materials*, *32*(8), 968–977. Estados Unidos: 2016.

- KLAUS, R. *et al.* **Caracterização molecular de isolados de *Escherichia coli* em casos de diarreia neonatal bovina.** *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 6, p. 40449-40457. Brasil: 2020.

- KORBEKANKI, H., & IRAVANI, S. (2012). **Silver Nanoparticles**. In A. A. Hashim (Ed.), The delivery of nanoparticles (pp. 4–36). Croatia: InTech. Retrieved from www.intechopen.com.

- KUMAR, Vijay *et al*. **Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Physalis angulata and its antibacterial and antioxidant activity**. Journal OfEnvironmental Chemical Engineering, [s.l.], v.

5, n. 1, p.744-756, fev. 2017. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.055.

- LAN, R., TAO, S. **Preparation of nano-sized nickel as anode catalyst for direct urea and urine fuel cells**, *J. Power Sources*. 196 (2011) 5021–5026. doi:10.1016/j.jpowsour.2011.02.015.

- LATEEF A., AZEEZ M. A., ASAFIA T. B., YEKEEN T. A., AKINBORO A., OLADIPO I. C., AZEEZ L., OJO S. A., GUEGUIM-KANA E. B., BEUKES L. S. ***Cocoa pod husk* extract-mediated biosynthesis of silver nanoparticles: its antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities.** *J. Nanostruc. Chem.* 6: 159–169. 2016.

- LEONEZ, C. F.; FEIJO, F. M. C.; ALVES, N. D.; SANTOS, C. S.; RODRIGUES, G. S.O.; FERNANDES, F. C.; MATOS, T. M. **Efficacy of the decoction of cashew leaf (*Spondiasmombin L.)* as a natural antiseptic in dairy goat matrices**. *African Journal of Agricultural Research*, v. 13, n. 13 p. 644-649, Africa: Março, 2018.

- LEUNG, N.H.L., CHU, D.L.K.W., SHIU, E.Y.C., CHAN, K., MCDEVITT, J.J., HAU, B.J.P. YEN, H., LI, Y. IP, D.K.M., PEIRIS, J.S.M., SETO, W., LEUNG, G.M., MILTON, D.K., COWLING, B.J. **Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks.** *Nature Medicine 1-20* (2020) https://doi.org/10.1038/s41591-020-0843-2.

- LIN, Z. *et al.*; **Performance Assessment and Translation of Physiologically Based Pharmacokinetic Models From acslX to Berkeley Madonna, MATLAB, and R Language: Oxytetracycline and Gold Nanoparticles** As Case Examples. Toxicological 67 Sciences, Volume 158, Issue 1, July 2017, Pages 23–35. Published: 08 April 2017. doi: 10.1093/toxsci/kfx07
-

- LI, X.-Z. **Resistência antimicrobiana em bactérias: uma visão geral dos mecanismos e papel das bombas de efluxo de drogas**. **Dentro e fora - Resistência Antimicrobiana Mediada por ux em Bactérias**; Adis: Cham, Suíça, 2016.

- LIU, J.; SONSHINE, D. A.; SHERVANI, S.; HURT, R. H. **Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces.** ACS Nano. 4:6903-6913, 2010. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20968290/.Acesso em: 11 abr. 2023.

- LOURENÇO, M. A. M. *et al.* ***Spondias mombin* supplementation attenuated cardiac remodeling process induced by tobacco smoke.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, [s.l.], v. 22, n. 8, p.3996-4004, Estados Unidos: Maio, 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/ 10.1111/jcmm.13683.

- LOK, C. N. *et al.* **Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities. Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 527 534, 2007.

- LU, J.; WANG, Y.; JIN, M.; YUAN, Z.; BOND, P.; GUO, J. **Tanto os íons de prata quanto as nanopartículas de prata facilitam a transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos mediados por plasmídeos**. Água Res.2020,169, 115229.

- LUCENA, C. C.; FILHO, Z. F. H.; BOMFIM, M. A. D. **Atuais e potenciais impactos do coronavírus (Covid-19) na caprinocultura e ovinocultura**. *Cim*, v. 10, n. 1º, disponível em: www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-de-capri. Brasil: 2020.

- M.R. EL-AASSAR, OMAR M. IBRAHIM, MOUSTAFA M.G. FOUDAD, NAGHAM G. EL-BEHERIB, MONA, M. **Wound healing of nanofiber comprising Polygalacturonic/Hyaluronic acid embedded silver nanoparticles: In-vitro and in-vivo studies.** *Agwae Carbohydrate Polymers 238* (2020) 116175.

- MACÊDO, M. J. F., RIBEIRO, D. A., SANTOS, M. de O., MACÊDO, D. G. de, MACEDO, J. G. F., ALMEIDA, B. V. de, SARAIVA, M. E., LACERDA, M. N. S. de, & Souza, M. M. de A. (2018). **Fabaceae medicinal flora with therapeutic potential in Savanna areas in the Chapada do Araripe**, **Northeastern Brazil**. Revista Brasileira de Farmacognosia, 28(6), 738–750. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.06.010.

- MACIEL, K. A. **Distribuição microrregional e susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* patogênica de bovinos no município de Araguaína -TO.** 2019. 100 p. Doutorado (Doutorado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal do Tocantins, Araguaína. Brasil: 2019.

- MACIEL, R. V. **Avaliação do crescimento fúngico em amostras obtidas dos tetos de vacas leiteiras sadias, antes e após a realização do pré-dipping. 2018**. 41 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, Brasil: 2018.

- MAJOLO, C. *et al*. **Atividade antibacteriana do óleo essencial e extratos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae e do timol frente à *Aeromonas hydrophila*.** *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, v. 10, n. 2, p. 46-49, Brasil: 2020.

- MANJU, S., MALAIKOZHUNDAN, B., VIJAYAKUMAR, S., *et al.*, **Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic effects of *Nigella sativa* essential oil coated gold nanoparticles.** *Microbial Pathogenesis*, v. 91, pp.129-135, Estados Unidos: Fevereiro, 2016.

- MARTINS, E. C.; LEONARDI, R. R.; OLIVEIRA, C. R.; MATSUMOTO, F. M. T. **Liofilização como alternativa para conservação do leite humano.** Journal of Health Sci Inst. v. 29, n. 2, p. 119- 22, 2017.

- MATSUSHITA, A. F. Y.; INABA, J.; FUJIWARA, S. T.; WOHNRATH, K.; GARCIA, J. R.; PESSOA, C. A. **Synthesis and characterization of silver nanoparticles in the polymer 3-N-propyl pyridine silsesquioxane chloride for application in textile materials**. Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias, v. 18, n. 1, p. 39-50, 2012.

- MASCHARAK, P. K.; PINTO, M. M; CHAKRABORTY, I.; SIMONTON, W. S.; ANDRADE, M. R.; BRASLAU, R. **Tracking silver delivery to bacteria using turnon fluorescence**. This journal is The Royal Society of Chemistry. 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27928567/. Acesso em: 11 abr 2023.

- MAYE, M.M., HAN, L., KARIUKI, N.N., LY, N.K., CHAN, W.B., LUO, J., ZHONG, C.J. **Gold and alloy nanoparticles in solution and thin film assembly: spectrophotometric determination of molar absorptivity,** *Anal. Chim. Acta. 496* (2003) 17–27. doi:10.1016/S0003-2670(03)00986-3.

- MEDEIROS, L. K. G. et al. **Efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antissepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico em cadelas submetidas à OSH eletiva**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 9, p. 1787-1792, Brasil: 2018.

- MEDEIROS, E.S.; MOTA, R.A.; SANTOS, M; V.; FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; TELES, J.A.A. **Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus spp*. isoladas de vacas com mastite subclínica**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 29, n. 7, p. 569-574, jul. 2009.

- MELO, A.P.Z., O.B. MACIEL, M.V., SGANZERLA, W.G., *et al.*, **Antibacterial activity, morphology, and physicochemical stability of biosynthesized silver nanoparticles using thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil Antibacterial activity, morphology, and physicochemical stability of biosynthesized silver nanoparticles**. *Materials Research Express*, IOP Publishing, p. 015087, Estados Unidos: Janeiro, 2020.

- MENCK, C. F. M., WUNDERLICH, G., ROMUALDO, G. F., & FOTORAN, W. L. **Nanotecnologia aplicada à entrega de fármacos para superação de obstáculos clínicos contra tumores. Nanotecnologia aplicada a entrega de fármacos para superação de obstáculos clínicos contra tumores**, 1-388. https://www.atenaeditora.com.br/post-artigo/30401. Brasil: 2020.

- MESQUITA, A. A. *et al.* **Prevalência e resistência a antibióticos de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* em propriedades de agricultura familiar em rebanhos leiteiros de Minas Gerais, Brasil.** *Veterinária Notícias*, Uberlândia, MG. v.25, n.2, p.186-205. Brasil: 2020.

- MESQUITA, M. O. M. de; PINTO, T. M. F.; MOREIRA, R. F. **Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão.** *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 119-2549, Brasil: 2017.

- MITTAL, AK; CHISTI, Y.; BANERJEE, UC. **Síntese de nanopartículas metálicas usando extratos vegetais.** Biotecnologia. Av. 2013,31, 346-356.

- MORAES SEGUNDO, J. D. P. **Influência da Adição de Surfactantes em Fibras Altamente Alinhadas de Poli (caprolactona) obtidas por Eletrofiação**. 2015. 129p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Manufatura e Materiais, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- MORÃO, R. P. *et al.* **Efeito de antisséptico contendo óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia origanoides* Cham.) nos tetos de vacas leiteiras e qualidade do leite**. *Revista Unimontes Científica*, Montes Claros, v. 20, n.1, p. 68-82, Brasil: 2018.

- MOTA, A. H., RIJO, P., MOLPECERES, J., & REIS, C. P. (2017). **Broad overview of engineering of functional nanosystems for skin delivery.** International Journal of Pharmaceutics, 532(2), 710–728. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.078

- MUNIYAPPAN, N., NAGARAJAN, N.S. **Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* essential oil, its biological activity and cytotoxicity against human ductal breast carcinoma cells T47D.** *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 2, n. 4, pp. 2037-2044, Estados Unidos: Dezembro, 2014.

- MUÑOZ, M. E. E. **Resistência aos compostos de amônio quaternário (QACs) de uso doméstico e hospitalar em patógenos prioritários multirresistentes.** 2019. 86 p.

Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo, São Paulo. Brasil: 2019.

- N. NOAH, **Green synthesis: Characterization and application of silver and gold nanoparticles** in *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, Elsevier Inc., pp. 111-135, 2019.

- NAIK, A. J.T., ISMAIL, SALIM, KAY, C., WILSON, M., PARKIN, I. P. **Antimicrobial activity of polyurethane embedded with methylene blue, toluidene blue and gold nanoparticles against Staphylococcus aureus; illuminated with white light Materials**. *Chemistry and Physics 129* (2011) 446– 450 doi: 10.1016/j.matchemphys.2011.04.040.

- NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. **Biodegradable polymers as biomaterials**., *Program Polym Sci*, v. 32, p. 762, 2007.

- NASROLLAHZADEH, M., SAJADI, S.M., SAJJADI, M., *et al.,* **An Introduction to Nanotechnology in *An Introduction to Green Nanotechnology***, vol. 28, pp. 1-27, 2019.

- NECAS J, BARTOSIKOVA L, BRAUNER P, KOLAR J. **Hyaluronic acid (hialuronan) a review**. *Vet Med.* 2008; 53 (8): 397-411.

- NEŠOVIĆ, Katarina *et al.* **Chitosan-based hydrogel wound dressings with electrochemically incorporated silver nanoparticles–In vitro study**. European Polymer Journal, [s.l], v. 121, [s.n], p. 109257, 2019

- NOGUEIRA, D. M.; PEIXOTO, R. DE M. **Manejo-produtivo Ovinos.pdf**, 2018.

- NOGUEIRA, J. O. **Ação antimicrobiana de diferentes terpenos e fenilpropanoides em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.** 2019. 113 p. Dissertação (Mestrado em Químico-Bioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. Brasil: 2019.

- NOVAES, T. E. R., & NOVAES, A. S. R. (2021). **Análise dos potenciais medicinais do cajueiro (Anacardium occidentale Linn):** Uma breve revisão. Research, Society and Development, 10(1), e41810111838. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11838.

- NURULAINI, A. *et al*. **A new green method for the synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activities against gram-positive and gram-negative bacteria**. Journal of the Chinese Chemical Society, v. 66, n. 7, p. 705-712, 2019.

- NCCLS - National Committee of Clinical and Laboratory Standards. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Eighth edition. Approved standardM2-A8.** NCCLS. Pennsylvania, 2003.

- O. MACIEL, M.V., R. ALMEIDA, A., MACHADO, M.H., *et al.*, ***Syzygium aromaticum*** *L*. (Clove) **Essential Oil as a Reducing Agent for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles**. *Open Journal of Applied Sciences*, pp. 45-54, Estados Unidos: Janeiro, 2019.

- OLSON, M. A. **Genome-Wide Identification of Fitness Factors in Mastitis-Associated *Escherichia coli*.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 84, n. 2, p. 1-16, Estados Unidos: 2018.

- OLIVEIRA, Andréia Fróes Galuci. **Testes Estatísticos Para Comparação de Médias. Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n° 6, p.777-788 Novembro/Dezembro 2008.

- ORSI, A. M. **Capacidade de formação de biofilme e resistência aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis* causadores de mastite bovina**. 2017.64 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Universidade de São Paulo, Pirassununga. Brasil: 2017.

- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018). **Resistencia a los antibióticos.** En línea: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPLShort_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1.

- OSUNTOKUN, O.T. *et al.* **Assessment of Nephrotoxicity, Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Epigallocatechin, Epicatechin and Stigmasterol Phytosterol (Synergy) Derived from Ethyl Acetate Stem Bark Extract of *Spondias Mombin* on Wistar Rats Using Molecular Method of Analysis.** *Journal of Molecular Microbiology*. v. 1, n. 1:103, p 1-11, Estados Unidos: Junho, 2017.

- PANELAÁČEK, A.; KVEUTEK, L.; SMÉKALOVUMA, M.; VEČEŘOVUMA, R.; KOLÁŘ, M.; RODEROVUMA, M.; DYČKA, F.; ŠEBELA, M.; PRUCEK, R.; TOMANEC, O.; *et* all. **Resistência bacteriana às nanopartículas de prata e como superá-la**.Nat. Nanotechnol. 2018,13, 65-71.

- PANG, Z. *et al.* **Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies**. Biotechnology Advances, v. 37, p. 177–192, 2019.

- PAULINO, SP, SANTOS, G; BORGES, G; SANTIAGO, A; SILVA, G. **Avanços Analíticos baseados em modelos de calibração de primeira ordem e Espectroscopia UV-VIS para avaliação da qualidade da água: uma revisão - PARTE 1.** QUIM.NOVA, v. 45, n. 3, p. 314–323, 2022.

- PAULA, M.M. DA SILVA, FRANCO, C.V., BALDIN, RODRIGUES, M.C. L., BARICHELLO, T., SAVI, G.D., BELLATO, L.F., FIORI, M.A., SILVA, L., **Synthesis, characterization, and antibacterial activity studies of poly- {styrene-acrylic acid} with silver nanoparticles,** *Mater.Sci.Eng.C.29*(2009). doi: 10.1016/j.msec.2008.11.017.

- PAULA, M.M.S., COSTA, C.S., BALDIN, M.C., SCAINI, G., REZIN, G.T., SEGALA, K., ANDRADE, V.M., FRANCO, C. V, STRECK, E. L, **In vitro Effect of Silver Nanoparticles on Creatine Kinase Activity**, *J. Braz. Chem. Soc. 20* (2009) 1556–1560.

- PAL, S.; TAK, Y.; SONG, J.M. **Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gramnegative bacterium Escherichia coli. Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 1712-1720, 2007. Disponível em: https://pubmed.ncbi. nlm.nih.gov/17261510/#:~:text=To%20our%20knowledge%2C%20this%20is, col i. Acesso em: 11 abr. 2023.

- PEIXOTO, A. F. **Produção de biofilme e perfil de sensibilidade aos desinfetantes de *Sthaphylococcus* coagulase positiva causadores de mastite subclínica em vacas**. 2017.51p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. Brasil: 2017.

- PETERS, R.J.B., BOUWMEESTER H., GOTTARDO, S., V. AMENTA, M. ARENA, P. BRANDHOFF, H.J.P. MARVIN, A. MECH, F. BOTELHO MONIZ, L.Q. PESUDO,

H. RAUSCHER, R. SCHOONJANS, A.K. UNDAS, M.V. VETTORI, S. WEIGEL, K. ASCHBERGER, **Nanomaterials for products and application in agriculture, feed and food, Trends Food Sci.** *Technol*. 54 (2016). doi:10.1016/j.tifs.2016.06.008.

- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba: Degaspari, 2000.477p.

- PIMENTEL, K. G. B. *et al.* **Vantagens e limitações de soluções antissépticas na higienização e prevenção frente ao novo coronavírus**. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 16, n. 4, p. 439-454, Estados Unidos: Outubro/Dezembro, 2020.

- PHILIP, D. ***Green synthesis of gold and silver nanoparticles using Hibiscus rosa sinensis***. Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures, 42(5): 1417- 1424. 2010.

- PJ SARNOSKI, S.O., JOHNSON, J.V., REED, K.A., et al., **"Separation and characterization of proanthocyanidins in Virginia peanut shells by LC** - MS" Food Chemistry, vol. 131, pp. 927–939, Apr. 2012.

- POURREZA N., ABDOLLAHZADEH, R., **Colorimetric sensing of palladium ions based on in situ generation of palladium nanoparticles as an activator for the thionine-hydrazine reaction.** *Talanta*, v. 196, pp. 211-216, Maio, 2019.

- **Produtos convencionais e extratos de plantas medicinais utilizados na higienização de tetos de bovinos leiteiros**. *Caderno de Ciências Agrárias*, v. 7, p. 260-270, Brasil: janeiro/março, 2015

- PULS, J.; WILSON, S. A.; HOLTER, D. **Degradation of Cellulose Acetate-Based Materials: A Review**. *J Polym Environ*, Germany, v. 19, n. 2011, p. 152-165, nov 2011. ISSN DOI 10.1007/s10924-010-0258-0.

- QUEIROZ, A. C. DA S.; BEZERRA, A. M. C.; MACHADO, A. L. **Atividades antioxidantes e antimicrobianas de extratos orgânicos de *Ixora coccínea* L.** *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, v. 8, n. 4, p. 49-53, Brasil: 2018.

- QUINN, P. J. *et al.* **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 3. ed. Porto Alegre: ArtMed, Brasil: 2015.

- RAHIM, K., SALEHA, S., ZHU, X., HUO, L., BASIT, A., FRANCO, O.L. **Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds,** *Microb. Ecol*. 73 (2017) 710–721. doi:10.1007/s00248-016-0867-9.

- RAI, A.; PRAHBUNE, A.; PERRY, CC **Síntese mediada por antibióticos de nanopartículas de ouro com potente atividade antimicrobiana e sua aplicação em revestimentos antimicrobianos**. J. Mater. Química2010,20, 6789-6798.

- RAI, M., YADAV, A., GADE, A. **Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, Biotechnol.** *Adv.27* (2009) 76–83. doi: 10.1016/j.biotechadv. 2008.09.002.

- RAMALHO, A. C. *et al*. **Eficácia *in vitro* de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pósdipping frente a *Staphylococcus* spp. isolados em rebanhos leiteiros.** *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 32, n. 12, p. 1285-1288, Brasil: 2012.

- RAMALINGAM V. **Multifunctionality of gold nanoparticles: Plausible and convincing properties**. Advances in Colloid and Interface Science, v.271,2019.

- RAMOS, Dayvison Magalhães. Análise da Tensão Residual Gerada no Processo de Soldagem MIG e por Eletrodo Revestido em Armaduras de Aço CA50S. Monografia (graduação em Engenharia Mecânica). Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto - MG, 2019.

- RAVINDRA B. C., KISHOR S. S., MACHINDRA J. C. (2018**) Emerging use of green synthesis silver nanoparticle: an updated review**, IJPSR, V. 9/10: 4029-4055.

- Rani, P., Kumar, V., Singh, P. P., Matharu, A. S., Zhang, W., Kim, K.-H., Singh, J., & Rawat, M. (2020). **Highly stable AgNPs prepared via a novel green approach for catalytic and photocatalytic removal of biological and non-biological pollutants**. Environment International, 143, 105924. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105924

- RAY, Saikat Sinha *et al.* **A comprehensive review: Electrospinning technique for fabrication and surface modification of membranes for water treatment application.** *RSC Advances*, v. 6, n. 88, p. 85495–85514, 2016.

- RAZA, M. *et al*. **Size and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes. Nanomaterials**, v. 6, n. 4, p. 74, 15 abr. 2016.

- RECH, C. R. *et al.* **Adesão e formação de biofilme de *Escherichia coli* em poli (tereftalato de etileno) e resistência a sanificantes**. *Revista Evidências*, Joaçaba, v. 16, n.2, p.113-130. Brasil: 2016.

- REIS, I. A.; LEITE, J. W. C.; GOMES, J. A**. Comparação entre tintura de iodo a 10% e produto comercial na prevenção de afecções umbilicais de cordeiros recém-nascidos.** In: *Zootec 28º Congresso Brasileiro de Zootecnia*, Anais da 5ª Reunião..., Brasil: 2018.

- RIBAS, M. A. de L.; SANTOS, B. M. dos; BOTELHO, M. P. J. **Avaliação da propriedade bactericida do digluconato de clorexidina 0,12% e 0,2% em solução/Evaluation of the bactericide property of 0.12% and 0.2% chlorexidine digluconate in solution.** *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 1, p. 4621-4634, Brasil: 2020.

- RIBEIRO, A. L. M..; CAMARGO, J. C. S. **Comparação da eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras: hipoclorito de sódio 2, 5% e clorexidina 2%.** 2019. 24 p. Monografia (Graduação em Odontologia) – Universidade de Uberaba, Uberaba. Brasil: 2019.

- RIGO, C.; FERRONI, L., TOCCO, ROMAN, I. M., MUNIVRANA, I., GARDIN, C., CAIRNS, W.R.L., VINDIGNI, V., AZZENA, B., BARBANTE, C., ZAVAN, B. **Active silver nanoparticles for wound healing**, *Int. J. Mol. Sci. 14* (2013) 4817–4840. doi:10.3390/ijms14034817.

- RM Plant, L. Dinh, S. ARGO, M. SHAH. **O essencial dos óleos essenciais.** Av. Pediatra, 66 (2019), pp. 111 - 122, 10.1016/j.yapd.2019.03.005.

- ROAD, K. Palavras-chave **Infecção fúngica Compostos antifúngicos Extrato de erva Óleos essenciais E nanoportadores**. p. 1–35, 2022.

- RODGERS KE, JOHNS DB, GIRGIS W, CAMPEAU J, DIZEREGA GS. **Reduction of adhesion formation with hyaluronic acid after peritoneal surgery in rabbits**. *Fertil Steril*. 1997; 67 (3):553-558.

- RUDRAMURTHY, G., SWZMY, SINNIAH, U., GHASEMZADEH, A., (2016). **Nanoparticles: Alternatives Against Drug-Resistant Pathogenic Microbes. Molecules,** 21(7), 836. https://doi.org/10.3390/molecules21070836

- S. TARIQ, S. WANI, W. RASOOL, K. SHAFI, MA BHAT, A. PRABBAKAR, AH SHALLA, MA RATHER. **Uma abrangente do potencial antibacteriano, antifúngico e antiviral de óleos essenciais e seus constituintes químicos contra patógenos microbianos resistentes a medicamentos Microb**.Patogo.,134(2019), Artigo103580, 10.1016/j.micpath.2019.103580.

- SÁ JUNIOR, P. F. *et al*. **In vitro antimicrobial activity of aqueous extracts, hydroalcoholic and alcoholic species of Anacardiaceae family**. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 15, p. 56-61, Brasil: 2016.

- SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin* L.).** *Jaboticabal*: Funep. p. 42. (Série Frutas Nativas, 4). Brasil: 2000.

- SALAS OROZCOS, MF; NIÑO-MARTINEZ, N.; MERCADOEUNEZ-CASTAÑÓN, GA; MENDEZ, FT; RUIZ, F. **Mecanismos moleculares de resistência bacteriana a nanopartículas de metal e óxido de metal**. Int. J. Mol. Sci.2019,20, 2808.

- SANTOS JÚNIOR, D. de A. *et al*. **Etiology and *in vitro* antimicrobial sensitivity of isolated bacteria from goats with mastitis in the sertão and Cariri of Paraíba**. *Ciência Animal Brasileira*, v. 20, p. 1-11, e-44848, Brasil: 2019.

- SANTOS, L. A.; MENEZES, J. S.; RUFINO, L. R. A.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. **Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta Plectranthus ornatus Codd (boldo chinês)**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde 2014, 12, 119.***Science***, 11(9), 203-212.

- SANTOS, P. R. e NUNES, J. S. **Cenário mundial do patenteamento em nanobiotecnologia**. *INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial.* Rio de Janeiro - RJ. 2010. Disponível em: http://www.inpi.gov.br/menuservicos/informacao/arquivos/nanobiotecnologia_estudo_verso_final.pdf>. Acesso em: 21 jan.2022.

- SARTORI, L.C.A.; SANTOS, R.C.; MARIN, J.M. **Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-diping frente à *candida spp* isolada de leite mastitico bovino**. *Veterinária, Jaboticabal,* v. 28, n. 4, p. 240-243. Brasil: 2012.

- SANGWAN, S; SETH, R. **Synthesis, Characterization and Stability of Gold Nanoparticles (AuNPs) in Different Buffer Systems**. Journal of Cluster Science, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10876-020-01956-8>.

- SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. **Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities.** Advances in Colloid and Interface Science, v. 145, p. 83-96, 2009.

- SHENY, D.S., MATHEW, J., PHILIP, D. **Synthesis characterization and catalytic action of hexagonal gold nanoparticles using essential oils extracted from *Anacardium occidentale***. *Spectrochimica, Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 97, pp. 306-310, Estados Unidos: Novembro, 2012.

- SHMARAKOV, I. *et al*. **Antitumor Activity of Alloy and Core-Shell-Type Bimetallic AgAu Nanoparticles**. *Nanoscale Research Letters*, v. 12, n. 1, 2017.

- SIDDIQI, K. S.; HUSEN, **A. Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system**. *J. Trace Elem. Medicine and Biology*, v. 40, p. 10-23**, 2017.**

- SIDDIQI, K.S. AND A. HUSEN. **Engineered gold nanoparticles and plant adaptation potential. Nanoscale** Res. Lett., 11(1): 400. 2016.

- SILVA, F.L.R.E. **Síntese e Caracterização de Nanoestruturas à Base de Dióxido de Titânio Síntese e Caracterização de Nanoestruturas à Base de Dióxido de Titânio,** (2012).

- SILVA, H. W.; GUIMARÃES, C. R. B.; OLIVEIRA, T. S. **Aspectos da exploração da caprinocultura leiteira no Brasil**. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)*, v.2, n.2., p.121-125, Brasil: dezembro, 2012.

- SILVA, Í. O. **Nanoestrutura plasmônica de ouro e sua aplicação em nanobiotecnologia têxtil: avaliação antimicrobiana e de citotoxicidade.** UFRN. Natal, p. 160. 2017.

- SILVA, J. N. *et al*. **DNA barcoding and phylogeny in neotropical species of the genus *Spondias*.** *Biochemical Systematics and Ecology*, [s.l.], v. 61, p.240-243. Elsevier BV. Brasil: 2015.

- SILVA, L. C. A. DA *et al*. **Avaliação *in vitro* da sensibilidade de estirpes de *Staphylococcus spp*. Isoladas de mastite caprina frente a desinfetantes comerciais**. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 82, p. 1-4. Brasil: 2015.

- SILVA, M. S. M.; FERREIRA, F. M. D. **Uso racional de antimicrobianos por acadêmicos de um Centro Universitário do norte do Paraná**. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 10, p. 81223-81236, 2020.

- SILVA, S. T. **Análise fenotípica e genética de fatores virulência de isolados clínicos de *Pseudômonas aeruginosa* multidroga-sensível e multidroga-resistente de Recife-PE**. 2016. 70 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

- SILVA, T. D. P., & PINTO, G. S. **Nanotecnologia e sua influência na evolução da medicina.** *Revista Interface Tecnológica*, 17(2), 269-280. Disponível em https://revista.fatectq.edu.br/index.php/interfacetecnologica/article/view/982.

- SILVA, A. A**. Síntese e estabilização de nanopartículas de ouro para fins biotecnológicos e cosméticos.** 2016. 93f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

- SILVEIRA, J. V. W. **Produção e caracterização de fibras eletrofiadas de acetato de celulose com propriedades funcionais obtidas pela incorporação de lignina e óleo essencial de citronela**. UNICamp. Campinas, p. 132. 2014.

- SLAVIN, YN; ASNIS, J.; HAFELI, UO; BACH, H. **Nanopartículas de metal: Entendendo os mecanismos por trás da atividade antibacteriana**. *J. Nanobiotecnologia* 2017,*15*, 65.

- SOARES WNC, LIRA GPO, SANTOS CS, DIAS GN, PIMENTA AS, PEREIRA AF, BENÍCIO LDM, RODRIGUES GSO, AMORA SSA, ALVES ND, FEIJÓ FMC. **Pyroligneous acid from Mimosa tenuiflora and Eucalyptus urograndis as an antimicrobial in dairy goats**. *J Appl Microbiol.* 2021 Aug;131(2):604-614. doi: 10.1111/jam.14977. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33342017.

- SOARES, E. B. *et al.* **Caracterização física e química de frutos de cajazeira**. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, p. 518-519, Brasil: 2006.

- SOLEYMANI M, VELASHJERDI M, SHATERABADI Z, BARATI A. **One-pot preparation of hyaluronic acid-coated iron oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia therapy and targeting CD44 - overexpressing cancer cells, Carbohydrate Polymers (2020).** https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116130 (in press).

- SOLGI, M., TAGHIZADEH, M., **Biogenic Synthesis of Metal Nanoparticles by Plants.** *Biogenic Nano-Particles and their Use in Agro-ecosystems*, pp. 593-606, Estados Unidos: 2020.

- SOMMER, MOA; MUNK, C.; TOFT-KEHLER, RV; ANDERSSON, DI **Previsão de resistência a antibióticos: tempo para um novo paradigma pré-clínico**? Nat. Rev. Microbiol.2017,15, 689-696.

- SOUZA, A. D. de. **Isolamento de Alcaloides e atividades biológicas de espécies de Lauraceae da Amazônia.** 2014. 184 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

- SOUZA, V. *et al*. **Uso da condutividade elétrica do leite para detecção de mastite subclínica caprina**. *Comunicado técnico 192*, Sobral CE Embrapa caprinos e ovinos. Brasil: 2019.

- SOUZA, Cintya de Oliveira *et al*. **Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreiogênica versátil.** *Rev Pan-Amaz Saude*, Ananindeua, v. 7, n. 2, p. 79-91, jun. 2016.Disponívelem http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232016000200079&lng=pt&nrm=iso>.acessos em 12 abr. 2023.

- SPORTELLI, M. C.; IZZI, M.; VOLPE, A. **The Pros and Cons of the Use of Laser Ablation Synthesis for the Production of Silver Nano-Antimicrobials**. Antibiotics 7, 67, 2018.

- SPRENGER, L. K. *et al.* **Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcóolico de *Ficus carica* e *Polygala spectabilis*.** *Archives of Veterinary Science*, v. 22, n. 3, 2017.

- SRIVASTAVA, S., BHARGAVA, A., PATHAK, N., *et al.*, **Production, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles produced by *Fusarium oxysporum* and monitoring of protein ligand interaction through in-silico approaches**. *Microbial Pathogenesis*, v. 129, pp. 136-145, Apr. 2019.

- SUBEDI, S. K. **An Introduction to Nanotechnology and Significant Figures**. *The Himalayan Physics*, v. 4, n. 4, p. 78–81, 2013.

- SURMENEV, R.A., ORLOVA, T., CHERNOZEM, R. V., IVANOVA, A.A., BARTASYTE, A., MATHUR, S., SURMENEVA, M.A. **Hybrid lead-free polymer-based nanocomposites with improved piezoelectric response for biomedical energy-harvesting applications: A review,** *Nano Energy. 62* (2019) 475–506. doi:10.1016/j.nanoen.2019.04.090.

- SUTTHANONT, N., ATTRAPADUNG, S., NUCHPRAYOON, S., **Larvicidal Activity of Synthesized Silver Nanoparticles from *Curcuma zedoaria* Essential Oil against *Culex quinquefasciatus***. *Insects*, v.10, n.1, pp. 27, Jan 2019.

- TAKAMIYA, A.S. **Adição de nanopartículas de prata ao Poli (metil metacrilato): análise microbiológica**. 2010. 114 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, 2010.

- TEIXEIRA, MC; SANCHEZ-LOPEZ, E.; ESPINA, M.; CALPENA, AC; SILVA, AM; VEIGA, FJ; GARCIA, ML; SOUTO, EB. **Avanços em nanoterapia com antibióticos: Superando a resistência antimicrobiana**. Cap.09, Dentro Nanotecnologias Emergentes em Imunologia; Elsevier: Amsterdã, Holanda, 2018.

- TEO, W. E.; KAUR, S.; RAMAKRISHNA, S. **Electrospun polymer nanocomposite fibers: Fabrication and physical properties. Physical Properties and Applications of Polymer Nanocomposites,** p. 616–637, 2010.

- TIAN, J., WONG, K.K.Y., HO, C.M., LOK, C.N., YU, W.Y., CHE, C.M., CHIU, J.F., TAM, P.K.H. **Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing**, *Chem Med Chem*. 2. 129–136.doi:10.1002/cmdc.200600171. 2007.

- TOLEDO, Ana Cristina Oltramari. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação das atividades biológicas de nanopartículas de prata e de ouro, obtidas por síntese verde, a partir do extrato aquoso das sementes de Pterodon emarginatus Vogel (Fabaceae) associadas à gentamicina e ao ácido hialurônico**. (2021).

- TIRKEY, R.; ADEEPKUJUR, YADAV, K.; TRIPATHI, V.; DEWANGAN, D.; SARAF, S.; **Potencial de fitoativos e ervas neotéricas para direcionar módulos fisiopatológicos da artrite** Touro. Ambiente. Pharmacol. Ciência da Vida., 10 (2021), págs. 273 – 281.

- TNVKV, P., AND EK, E., **Biofabrication of Ag nanoparticles using Moringa oleifera leafetractandtheir antimicrobial activity**. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v, n.6, pp.439-442, Dec.2011.

- TODAR, K. Livro-texto on-line de Bacteriologia de Todar; Departamento de Bacteriologia da Universidade de Wisconsin-Madison: Madison, WI, EUA, 2011.

- TRAJANO, S. C. *et al*. **Importância da antissepsia cirúrgica na prevenção de infecção no pós-operatório em pequenos animais. Medicina Veterinária** (UFRPE), v. 13, n. 3, p. 343-351. Brasil: 2020.

- TULINSKI, M., JURCZYK, M., **Nanomaterials Synthesis Methods**. *Metrology and Standardization for Nanotechnology*, n. 1, pp. 75-98, Jan. 2017.

- UPSON, T. M.; GRAYER, R. J.; GREENHAM, J. R.; WILLIAMS, C. A.; AL-GHAMDI, F.; CHEN, F.-H. **Leaf flavonoids as systematic characters in the genera Lavandula and Sabaudia**. Biochemical Systematics and Ecology, v. 28, p. 991-1007, 2000.

- URQUHART, C. *et al*. **Atividade antibiofilme da cumarina frente à *Pseudomonas aeruginosa.*** *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, v. 10, n. 2, 2018.

- URQUIZA, M. de C. et al. **Comparação da eficácia e efeito residual de duas técnicas de antissepsia pré-operatória das mãos com duas substâncias antissépticas**. *Revista Interdisciplinar*, v. 9, n. 3, p. 112-120, 2016.

- VAN BORTEL, L. M., STRUIJIKER-BOUDIER, H. A., & SAFAR, M. E. (2001). **Pulse pressure, arterial stiffness, and drug treatment of hypertension. Hypertension** (Dallas, Tex.: 1979), 38(4), 914–921. https://doi.org/10.11648/j.ijmsa.20150405.17.

- VEERAPANDIAN, M.; YUN, K. **Funcionalização de biomoléculas em nanopartículas: Especializado para aplicações antibacterianas**. Aplic. Microbiol. Biotecnologia.2011,90, 1655-1667.

- VEISI, H., DADRES, N., MOHAMMADI, P., *et al.*, **green synthesis of silver nanoparticles based on oil-water interface method with essential oil of orange peel and its application as nano catalyst for A3 coupling**. *Materials Science & Engineering C*, v. 105, n. September 2018, p. 110031, Dec. 2019.

- VENTOLA, C. L. **The nanomedicine revolution: part 1: emerging concepts.** *P & T:A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, *37*(9), 512–525. 2012.

- VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S.; SILVEIRA, S. M. da. **Compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas**. *Revista CSBEA*, v. 4, n.1, v. 111 – 124, 2018.

- VIANA, A. V. *et al*. **Potencial antimicrobiano das nanopartículas de prata estabilizadas em curcumina e extrato de folhas de cajueiro** (*Anacardium occidentale L.*). **Research, Society and Development,** v. 10, n. 9, p. e47610918364, 2021

- VIEIRA, D. S. et al. **Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico bruto da folha da *Hymenaea martiana* Hayne frente à *Staphylococcus* spp. e avaliação de seu potencial como desinfetante em cabras**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, p. 462-469, 2018.

- VIEIRA, E. D. O. **Eletrofiação de blenda de acetato de celulose e spiropyran para identificação de cianeto em acetonitrila**. UFSC. Florianópolis, p. 43. 2016.

- VIERA, P. V. A. **Complexação de guaiacol com ß-ciclodextrina para tratamento de alveolite seca: avaliação *in vitro* e *in vivo*.** 2015. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo. Brasil: 2015.

- VILAS, V., PHILIP, D., MATHEW, J., **Essential oil mediated synthesis of silver nanocrystals for environmental, anti-microbial and antioxidant applications**. *Materials Science & Engineering C*, v. 61, pp. 429-436, Apr. 2016.

- VILAS, V.; PHILIP, D.; MATHEW, J. **Biosynthesis of Au and Au/Ag alloy nanoparticles using *Coleus aromaticus* essential oil and evaluation of their catalytic, antibacterial and antiradical activities**. *Journal of Molecular Liquids*, v. 221, pp. 179-189, Sep. 2016.

- VILLEGAS, L. F. *et al.* (1997). **Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú**. *Journal of ethnopharmacology*, v. 55, p. 193-200.

- WANG, Peilong *et al.* **Sensitive detection of b -agonists in pork tissue with novel molecularly imprinted polymer extraction followed liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry detection.** *Food Chemistry, v. 184*, p. 72–79, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.073>.

- WATANABE, M. **The Investigation of Sodium Titanates Reactions of TiO , with NaOH by the Hydrothermal**, *J. Solid State Chem*. 36 (1981) 91–96.

- WILLIAMS, J. M.; ADEWUNMI, A.; SCHEK, R. M.; FLANAGAN, C. L.; KREBSBACH, P. H.; FEINBERG, S. E.; HOLLISTER, S. J.; DAS, S. **Bone Tissue Engineering Using Polycaprolactone Scaffolds Fabricated Via Selective Laser Sintering**. *Biomaterials*. 2005.

- WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D. W. **The Return of a Forgotten Polymer Polycaprolactone In The 21st Century,** *Progress in Polymer Science. v. 35*, 2010.

- XUE, J., XIE, J., LIU, W., & XIA, Y. **Electrospun Nanofibers: New Concepts, Materials, and Applications.** *Accounts of Chemical Research*, *50*(8), 1976–1987. 2017. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00218.

- XY JIN, Z.C., LIU, Y., TAN, T., *et al*.,"Cr (VI) **Removal from aqueous solutions via reduction and absorption by green synthesized iron nanoparticles**" J. Clean. Prod, v. 176, pp. 929-936, Mar. 2018.

- YADAY, K.; CHAUHAN, NS.; SARAF, S.; SINGH, D.; SINGH, MR **Desafios e necessidade de carreadores de entrega de bioativos e agentes biológicos: uma introdução** Av. Av. Dev. Nov. Carriers Bioact. Biol. Agentes, Elsevier (2020), pp. 1-36, 10.1016 / b978-0-12-819666-3.00001-8.

- YADAV, K.; SINGH, MR.; RAI, VK.; SRIVASTA, N.; PRASAD YADAV, N.; **Aspectos comerciais e potencial de mercado de novos sistemas de entrega de bioativos e agentes biológicos** Av. Av. Dev. Nov. Carriers Bioact. Biol. Agentes, Elsevier (2020), pp. 595-620, 10.1016 / b978-0-12-819666-3.00020-1.

- YULIZAR, Y. *et al*. **Green Method for Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Polyscias scutellaria* Leaf Extract under UV Light and Their Catalytic Activity to Reduce Methylene Blue**. v. 2017, 2017.

- ZAGHO, M. M., & ELZATAHRY, A. **Recent Trends in Electrospinning of Polymer Nanofibers and their Applications as Templates for Metal Oxide Nanofibers Preparation. In Electrospinning - Material, Techniques, and Biomedical Applications.** 2016. https://doi.org/10.5772/65900.

- ZHANG, B.; ZHU, H.; ZOU, M.; et al. **Design and fabrication of size-controlled Pt-Au bimetallic alloy nanostructure in carbon nanofibers: a bifunctional material for biosensors and the hydrogen evolution reaction**. *Journal of Materials Science, v. 52,* n. 13, p. 8207–8218, 2017.

- ZHANG, S. *et al*. **Disseminação de genes de resistência antimicrobiana (ARGs) via integrons em *Escherichia coli*: Um risco para a saúde humana.** *Poluição Ambiental*, p. 115260, 2020.

- ZHANG, Y., JIANG, Z., HUANG, J., LIM, L.Y., LI, W., DENG, J., GONG, D., TANG, Y., LAI, Y., CHEN, Z. **Titanate and titania nanostructured materials for environmental and energy applications: A review,** *RSC Adv. 5* (2015) 7947979510. doi:10.1039/c5ra11298b.

- ZHANG, Y; HE, Y.; LIN C. **Antibacterial surface design of biomedical titanium materials for orthopedic applications** Journal of Materials Science & Technology Volume 78, 10 July 1, Pages 51-67, 2021.