



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102019001286-2 A2



(22) Data do Depósito: 22/01/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 04/08/2020

(54) **Título:** FLUIDO COLOIDAL AGNPS-S.AROMATICUM@ALGINATO PARA CONTROLE DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS

(51) **Int. Cl.:** A61K 36/61; A61K 127/00; A61P 31/04; B82Y 5/00.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO - UFRPE.

(72) **Inventor(es):** SEVERINO ALVES JUNIOR; CLÁUDIO AUGUSTO GOMES DA CÂMARA; GLÁCIA MANOELLA DE SOUZA LIMA; IVALDO RODRIGUES DE ARAÚJO; ROBERTA CLÁUDIA SANTOS NEVES; MARCOS VINÍCIUS DA SILVA PAULA; MARCILIO MARTINS DE MORAES; AMANDA MARIA DA SILVA.

(57) **Resumo:** Fluido coloidal AgNps-S.aromaticum@alginato para controle de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. É divulgado nesta patente de invenção um fluido coloidal formado por alginato suplementado com nanopartículas de prata e óleo essencial das folhas de *Syzygium aromaticum* (AgNps-S.aromaticum@alginato) a ser utilizado contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O fluido obtido apresentou atividade frente as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*).



Fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato para controle de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

01. A presente patente de invenção reporta a obtenção do fluido coloidal formado por alginato, suplementado com nanopartículas de prata, e óleo essencial, oriundo das folhas de *Syzygium aromaticum* (AgNps-*S.aromaticum*@alginato), para controle de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*).

02. Na atualidade, a população mundial vem sofrendo com a problemática da resistência a antimicrobianos, capacidade adquirida por micro-organismos, principalmente, pelo uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, estabelecendo a resistência contra os agentes disponíveis comercialmente, caracterizando essa situação como um desafio global emergente.

03. A redução da atividade dos antimicrobianos disponíveis leva ao óbito de milhares de pessoas em todo o mundo, sendo necessária a obtenção de novos agentes antimicrobianos, como solução para o problema da resistência contra os agentes antimicrobianos, disponíveis atualmente.

04. O desenvolvimento da nanotecnologia proporcionou a obtenção de diversos nanomateriais para variados fins, dentre os quais, atividade contra micro-organismos.

05. Dentre estes nanomateriais, é possível citar o exemplo das nanopartículas de prata, as quais têm seu potencial antimicrobiano diretamente associado ao seu baixo tamanho de partícula, apresentando baixa toxicidade para células animais, contudo, ainda existem dúvidas quanto ao mecanismo de ação destas partículas, se ele é específico delas ou se está associado à liberação de íons Ag⁺.

06. Além das pesquisas envolvendo o uso de nanomateriais como agentes antimicrobianos, pesquisas envolvendo a química de produtos naturais, e Fitoquímica, visam novas substâncias e princípios ativos para tal finalidade.

07. Sendo assim, as plantas se apresentam como uma excelente fonte de bioativos, para serem utilizados na produção de fármacos.

08. Dentre os derivados vegetais mais conhecidos por suas atividades tratativas e curativas, os óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* possuem várias propriedades biológicas, dentre elas, a atividade contra uma ampla variedade de micro-organismos.

09. Tais propriedades são atribuídas à presença de fenóis substituídos, como o eugenol, poderoso antimicrobiano.

10. Uma forma para potencializar a atividade antimicrobiana de um óleo essencial pode ser através da associação com nanopartículas de prata, devido ao efeito sinérgico, pois as nanopartículas se ancoram, ou penetram, na membrana celular, formando poros de liberação de radicais livres, aumentando a permeabilidade celular e, consequentemente, o fluxo do agente através da membrana, levando o micro-organismo à morte.

11. Desta forma, a presente patente de invenção propõe utilizar o fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato para controle das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, previamente apresentadas.

12. A obtenção do fluido coloidal ocorreu em três etapas.

13. Na primeira etapa, foi realizada a obtenção das nanopartículas de prata. As nanopartículas de prata foram obtidas via método de Lee e Meisel. Primeiramente, a solução de AgNO₃ (Sigma Aldrich), com concentração de 1mM, foi aquecida até a ebulição, sendo adicionado, à mesma, 5mL de Na₃C₆H₅O₇ (Sigma Aldrich), solução a 1%, na proporção de uma gota por segundo; a solução foi mantida em ebulição até a formação de uma coloração amarelo pálido, a qual é

indicativa da formação das nanopartículas. A suspensão obtida foi mantida sobre a chapa de aquecimento após seu desligamento, por cerca de um minuto, até que a solução atingisse a cor amarela; em seguida, a mesma foi arrefecida lentamente, sob agitação, em um banho à temperatura de 20°C, até a temperatura ambiente.

14. Na segunda etapa, foi obtido o fluido de alginato, o qual foi baseado na metodologia descrita por *Rassu et al*, com as seguintes modificações. O fluido de alginato foi produzido a partir da hidratação do pó de alginato de sódio (Sigma Aldrich), em um béquer, a uma proporção de 2% (m/v); para facilitar a hidratação do pó, ele foi misturado ao equivalente, em massa, de álcool etílico absoluto, em seguida, esta mistura foi adicionada à água ultrapura estéril, sob agitação vigorosa, com o auxílio de um agitador magnético, com aquecimento a 40°C.

15. A terceira etapa foi realizada para obter o fluido formado pelo alginato com nanopartículas de prata e óleo essencial, das folhas do *Syzygium aromaticum* (AgNps-*S.aromaticum*@alginato), com a suplementação sendo realizada a partir da hidratação de 2g do pó de alginato em 80mL de água ultrapura estéril, com 20mL da solução de nanopartículas, a fim de que a concentração final de nanopartículas seja de 7,4µg/mL, no fluido coloidal. Por fim, a uma alíquota de 20mL do fluido coloidal, obtido anteriormente, foi adicionado o óleo essencial, estabelecendo a concentração de 3,12% de volume de óleo, em relação ao volume do fluido coloidal.

16. Posteriormente à obtenção do fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato, foram realizados testes de atividade antimicrobiana contra os micro-organismos selecionados.

17. A ação antimicrobiana do fluido foi determinada pela técnica da inibição da multiplicação microbiana, por difusão em ágar e microdiluição, de acordo com a metodologia descrita pelo *Clinical and*

Laboratory Standards Institute. Sendo realizada a inoculação de $1,5 \times 10^6$ UFC/mL (unidades formadoras de colônias) em placa de microcultivo. O fluido obtido foi testado frente aos micro-organismos presentes na microbiota humana, os quais foram: *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA 396), *Pseudomonas aeruginosas* (UFPEDA 416), *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02) e *Streptococcus mutans* (UFPEDA 766).

18. Os experimentos para avaliar a atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório Coleção de Micro-organismos (UFPEDA), da Universidade Federal de Pernambuco. Sendo determinada a concentração inibitória (CMI), ou concentração mínima, capaz de inibir o crescimento, ou desenvolvimento, do micro-organismo, quando exposto ao mesmo, assim como a concentração mínima bactericida (CMB).

19. A análise GC-MS dos óleos essenciais foi realizada utilizando um sistema Varian 220-MS IT GC, acoplado a um detector de massa seletivo; o espectrômetro de massa em EI de 70eV, com um intervalo de varredura de 0,5s e fragmentos de 40 a 550Da. Equipado com mesma coluna e programa de temperatura do experimento de GC-FID, com os seguintes parâmetros: gás portador = hélio; taxa de fluxo = $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; modo dividido (1:30); volume injetado = $1 \mu\text{L}$ de solução diluída (1/100) de óleo em n-hexano.

20. A identificação de componentes foi baseada nos índices de retenção GC-MS, com referência para as séries de n-alcenos C_8 - C_{40} , calculados usando a equação van Den Dool e Kratz (1963), e por combinação computacional com a biblioteca espectral de massa do sistema de dados GC-MS (versão NIST 14; WILEY versão 11), e co-injeção com padrões autênticos, bem como, outros espectros de massa publicados. As porcentagens de área foram obtidas a partir da resposta GC-FID, sem o uso de um padrão interno ou fatores de correção.

21. Os espectros na região do UV-Vis foram obtidos com o espectrofotômetro, modelo CHEN2000-UV-Vis, da *Ocean Optics Inc.* O tamanho (diâmetro hidrodinâmico médio) das nanopartículas foi determinado por DLS, utilizando o equipamento Nano ZS90 (Malvern). Medidas de potencial ζ foram realizadas com instrumento de eletroforese de partícula (ZetaSizer Nano ZS90, Malvern). A morfologia das amostras de nanopartículas de prata foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram previamente fixadas a um pedaço de fita adesiva dupla face de carbono, apoiada sobre um suporte metálico. As imagens de MEV para as amostras foram obtidas utilizando um microscópio Tescan, modelo Mira3, com voltagem de 10kV.

22. A seguir, será apresentado o detalhamento das evidências para a presente patente de invenção.

23. A morfologia da superfície das nanopartículas de prata foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 1 revelou que as nanopartículas possuem tamanho característico, com comprimento de onda específico, de acordo com Solomon *et al.* Em conformidade com o método utilizado na síntese das nanopartículas, era esperado que as partículas apresentassem entre 50 e 100nm, sendo observado que as menores partículas possuem, aproximadamente, entre 35nm, enquanto as maiores possuem 50nm.

24. A absorção na região eletrônica do UV-Vis informou que as nanopartículas de prata (Figura 2) formam ondas de oscilação coletiva de elétrons de superfície, conhecidas como plasmôns de superfície, exibindo pico próximo de 400nm. Esta ressonância plasmônica é oriunda da excitação coletiva dos elétrons na interface isolante do condutor; tal característica é observada em nanopartículas metálicas, onde o tamanho e a forma são os fatores determinantes primordiais, na faixa de absorção onde ocorre a ressonância.

25. Outra observação é a variação no comprimento de absorção de nanopartículas metálicas, com deslocamento do comprimento, à medida em que ocorre o aumento do volume das mesmas.

26. A leitura do espectro de absorção na região UV-Vis revelou que a absorção ocorreu em torno de 420nm, o que se deve à redução em $C_6H_5O_7Na_3$, a qual produz partículas entre 50 e 100nm, possuindo coloração amarela, que pode variar do amarelo pálido ao amarelo mais escuro (Figura 3). A partir da comparação com a correlação entre comprimento de onda (nm) e tamanho de partícula (nm), proposto por Solomon *et al*, esperava-se que as partículas apresentassem tamanho em torno de 35 a 50nm, o que foi verificado pelas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

27. A determinação do potencial zeta (ζ) é apresentada na Figura 4. Conforme observado, o resultado de potencial ζ foi inferior a -30mV, indicativo de uma boa estabilidade na dispersão coloidal.

28. Os óleos essenciais avaliados possuíam odor característico, apresentando uma tonalidade amarela clara para os óleos provenientes das folhas. A análise por CG e CG-EM dos óleos identificou um total de 9 compostos, a partir dos óleos folheares. O óleo derivado das folhas teve, em sua constituição, 66,56% de eugenol, 15,91% de limoneno, 1,68% de α -humuleno, 0,99% de 1,8-cineole, 0,70% de α -pineno, 0,44% de sabineno, 0,34% de β -pineno e 0,11% de δ -2-careno, representando uma porcentagem de 98,33%.

29. O fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato obtido teve uma coloração amarelada, conforme visualizado na Figura 5.

30. A avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, presentes nas folhas, frente aos micro-organismos pré-determinados, apresenta o tamanho dos halos em mm, estes halos expressam a capacidade que o óleo teve de inibir o crescimento dos micro-organismos (Tabela 1).

31. A partir da avaliação de difusão em ágar (Tabela 1), foi possível observar o comportamento dos óleos frente aos micro-organismos testados, por meio da formação dos halos. Dentre os micro-organismos testados, o que apresentou maior sensibilidade, frente ao óleo presente nas folhas do *S. aromaticum*, foi a *Escherichia coli* (UFPEDA 224) e *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA 396).

32. A primeira é uma bactéria bacilar Gram-negativa que se encontra, normalmente, no trato gastrointestinal inferior dos animais e humanos, e, geralmente, não causa problemas à saúde, mas alguns sorotipos podem causar problemas de ordem intestinal; podem, também, causar infecções adquiridas por via ascendente, passando inicialmente pela uretra e, posteriormente, pela bexiga e rins. Ocasionalmente, pode atingir a corrente sanguínea e causar septicemia (infecção normalmente causada por bacilos Gram-negativos). A segunda também é uma bactéria Gram-negativa, considerada a mais importante representante do gênero *Klebsiella*, pertencente à família das enterobactérias, apresenta produção de uma cápsula protetora, é um tipo de bactéria que está geralmente associada a infecções hospitalares de resistência.

33. A partir da avaliação de atividade dos óleos essenciais presentes nas folhas do *S. aromaticum*, observou-se que o mesmo apresentou atividade contra todos os micro-organismos testados, dentre os quais, o que apresenta maior concentração de teste, e, conseqüentemente, maior CMI, foi a *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416) (Tabela 2). Esta maior concentração pode ser explicada pelo mecanismo de defesa presente neste micro-organismo, a bomba de efluxo. De acordo com Neves *et al*, este mecanismo de defesa exporta substâncias tóxicas ou metabólitos secundários, assim como, a excreção de moléculas sinalizadoras que governam a comunicação celular, haja vista que esse sistema tem, como base, a abertura de um canal que

atravessa as membranas interna e externa da bactéria, permitindo a remoção de moléculas para o exterior celular. Sendo os metabólitos secundários, tais organismos podem identificá-lo como uma substância tóxica, expelindo-o através deste canal proteico, que atravessa as membranas interna e externa.

Tabela 1 - Perfil de susceptibilidade dos micro-organismos frente aos óleos essenciais das folhas de *Syzygium aromaticum*

Micro-organismos	Halos formados em (mm) frente às concentrações (%)						
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%
<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)	17,5	16,5	16	15	13	10,5	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)	12	11,5	11	10,5	11	8,6	7
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (UFPEDA 416)	7,5	7,5	8,5	8,5	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)	21,5	21	21	18,5	14	9	0
<i>Streptococcus mutans</i> (UFPEDA 766)	19,5	19	18	15,5	11,5	10	0

34. Através da Tabela 3, pode-se perceber a atividade antimicrobiana apresentada pelas nanopartículas de prata frente a todos os micro-organismos testados, sendo determinados a concentração mínima inibitória e a concentração mínima bactericida.

Tabela 2 - CMI dos óleos essenciais presentes nas folhas

Micro-organismo	CMI
<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)	1,56%

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)	1,56%
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (UFPEDA 416)	12,5%
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)	3,12%
<i>Streptococcus mutans</i> (UFPEDA 766)	3,12%

35. A avaliação antimicrobiana do fluido coloidal AgNps-S. *aromaticum*@alginato foi realizada em placas de 96 poços, partindo da amostra com concentração de 3,12% de óleos essenciais e 7,4µg/mL de nanopartículas de prata. Foram aplicados 20µL do fluido coloidal em 180µL do meio de cultura, no primeiro poço, e realizadas sucessivas diluições a partir deste. Desse modo, o primeiro poço consta com concentração equivalente a 0,312% em óleos e 0,74µg/mL em nanopartículas.

Tabela 3 - Atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata

Substância	Micro-organismos teste	CMI	CMB
AgNps	<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)	1,48µg/mL	1,48µg/mL
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFPEDA 416)	1,48µg/mL	1,48µg/mL
	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)	5,92µg/mL	5,92µg/mL
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)	2,96µg/mL	5,92µg/mL
	<i>Streptococcus mutans</i> (UFPEDA 766)	0,74µg/mL	1,48µg/mL

36. A atividade antimicrobiana do fluido coloidal AgNps-S. *aromaticum*@alginato (Tabela 4) apresentou boa atividade, pois ela apresenta concentrações muito reduzidas dos antimicrobianos, apresentando atividade frente a todos os micro-organismos testados. Comparando com o teste de susceptibilidade apresentado na Tabela 2, é possível perceber que a CMI dos micro-organismos foi menor, no

entanto, a variação mais expressiva foi para a CMI, tanto dos óleos essenciais folheares quanto das nanopartículas de prata, frente à *Pseudomonas aeruginosas* (UFPEDA 416) que apresentou uma redução para a CMI, de 12,5 para 0,078%, e de 1,48 para 0,175µg/mL, para o óleo e nanopartículas, respectivamente. Sendo estes valores promissores, pois, segundo Neves *et al*, a *Pseudomonas aeruginosas* é um dos micro-organismos de maior interesse médico, devido aos problemas relacionados a infecções, nos hospitais brasileiros.

Tabela 4 - CMI do fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato

Micro-organismo	CMI O.F.	CMI AgNp
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)	0,078%	0,185µg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (UFPEDA 416)	0,078%	0,185µg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)	0,156%	0,370µg/mL
<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)	0,039%	0,0925µg/mL
<i>Streptococcus mutans</i> (UFPEDA 766)	0,312%	0,74µg/mL

37. A concentração mínima bactericida do fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato é apresentada na Tabela 5, onde as melhores CMBs foram frente à *Escherichia coli* (UFPEDA 224). Sendo notório o sinergismo existente entre as nanopartículas de prata e o óleo essencial.

Tabela 5 - CMB do fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato

Micro-organismo	CMB O.F.	CMB AgNp
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)	0,156%	0,370µg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (UFPEDA 416)	0,156%	0,370µg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)	0,156%	0,370µg/mL
<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)	0,078%	0,185µg/mL

Streptococcus mutans (UFPEDA 766) 0,312% 0,740µg/mL

38. A seguir, será apresentada uma breve descrição das figuras utilizadas nesta patente de invenção. As características e vantagens da presente invenção se tornarão aparentes na descrição detalhada das características e resultados preferidos da invenção, com referências às figuras anexas.

39. A Figura 1 mostra uma imagem SEM, para nanopartículas de prata.

40. A Figura 2 mostra um espectro na região do UV-Vis, para nanopartículas de prata.

41. A Figura 3 mostra uma suspensão de nanopartículas de prata.

42. A Figura 4 mostra o potencial zeta (ζ) da suspensão coloidal de nanopartículas de prata.

43. A Figura 5 mostra o aspecto visual do fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato.

44. A seguir será apresentado as referências utilizadas para confecção desta patente de invenção.

45. Roca, I.; Akova, M.; Baquero, F.; Carlet, J.; Cavaleri, M.; Coenen, S.; Cohen, J.; Findlay, D.; Gyssens, I.; Heure, O. E.; Kahlmeter, G.; Kruse, H.; Laxminarayan, R.; Liébana, E.; López-Cerero, L.; Mac Gowan, A.; Martins, M.; Rodríguez-Baño, J.; Rolain, J.-M.; Segovia, C.; Sigauque, B.; Taconelli, E.; Wellington, E.; Vila, J. **The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention.** *New Microbes New Infect*, 6:22-29, 2015.

46. Rai, M.; Paralikar, P.; Jogee, P.; Agarkar, G.; Ingle, A. P.; Derita, M.; Zacchino, S. **Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: emerging trends and**

future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 519:67-78, 2017.

47. Noelly, C. B. **Atividade antibacteriana e antifúngica de nanopartículas de prata produzidas por *Curvularia inaequalis* (Shear)**. Dissertação de mestrado em Recursos Naturais - Universidade do Vale do São Francisco, 2014.

48. Xiu, Z.; Zhang, Q.; Puppala, H. L.; Colvin, V. L.; Alvarez, P. J. J. **Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles**. *Nano Letters*, 12(8):4271-4275, 2012.

49. Scopel, R.; Falcão, M. A.; Lucas, A. M.; Almeida, R. N.; Gandolfi, P. H.; Cassel, E.; Vargas, R. M. **Supercritical fluid extraction from *Syzygium aromaticum* buds: phase equilibrium, mathematical modeling and antimicrobial activity**. *The Journal of Supercritical Fluids*, 92:223-230, 2014.

50. Lee, P. C.; Meisel, D. **Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols**. *J. Phys. Chem.*, 86:3391, 1982.

51. Rassu, G.; Salis, A.; Porcub, E. P.; Giunchedi, P.; Roldo, M.; Gavin, E. **Composite chitosan/alginate hydrogel for controlled release of deferoxamine: a system to potentially treat iron dysregulation diseases**. *Carbohydrate Polymers*, 136:1338-1347, 2016.

52. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved guideline M44-A2**. Wayne, PA, EUA, 2010.

53. Adams, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. *Allured Publishing Corporation*, 804, 2007.

54. Solomon, S. D.; Bahadory, M.; Jeyarajasingan, A. V.; Rutkowsky, S. A.; Boritz, C. **Synthesis and study of silver nanoparticles**. *Journal of Chemical Education*, 84:322, 2007.

55. Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. **A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold.** *Faraday Discussions London*, 11:55, 1951.

56. Berni Neto, E. A. **Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo nanopartículas de prata para aplicações bactericidas.** Dissertação de mestrado em Física - Universidade de São Paulo, 2010.

57. Garcia, M. V. D. **Síntese, caracterização e estabilização de nanopartículas de prata para aplicações bactericidas em têxteis.** Dissertação de mestrado em Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, 2011.

58. Mallakpour, S.; Nouruzi, N. **Effect of modified ZnO nanoparticles with biosafe molecule on the morphology and physiochemical properties of novel polycaprolactone nanocomposites.** *Polymer*, 89:94-101, 2016.

59. Nogueira, J. M.; Miguel, L. F. S. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde.** Instituto Oswaldo Cruz, 4(3):221-397, 2010.

60. Neves, P. R.; Mamizuka, E. M.; Levy, C. E.; Lincopan, N. ***Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil.** *Bras. Patol. Med. Lab.*, 47(4):409-420, 2011.

REIVINDICAÇÕES

1) Fluido coloidal **caracterizado por** ser constituído **pela** suplementação do alginato à partir da hidratação de pó de alginato com solução de nanopartículas de prata, com uma alíquota do fluido coloidal e adição de óleo essencial das folhas do *Syzygium aromaticum*.

2) Fluido coloidal, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** formulação preferencial da suplementação de alginato à partir da hidratação de 1,9-2,1g do pó de alginato em 60-100mL de água ultrapura estéril, com 19-21mL da solução de nanopartículas de prata a uma alíquota do fluido coloidal e adição de óleo essencial, estabelecendo a concentração de 2,5-3,5% de volume de óleo em relação ao volume do fluido coloidal.

3) **Uso do** Fluido coloidal definido na reivindicação 01, **caracterizado por ser utilizado** contra as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*).

FIGURAS

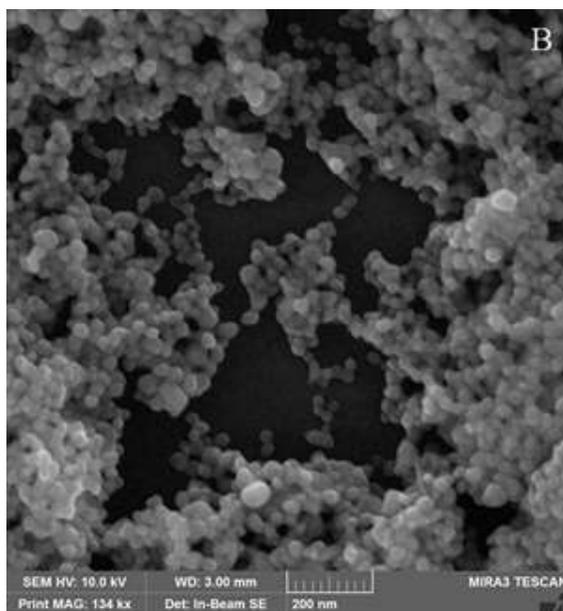


Figura 1

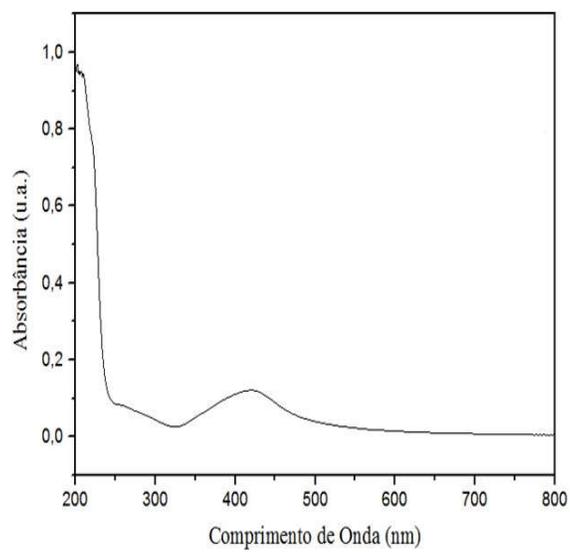


Figura 2



Figura 3

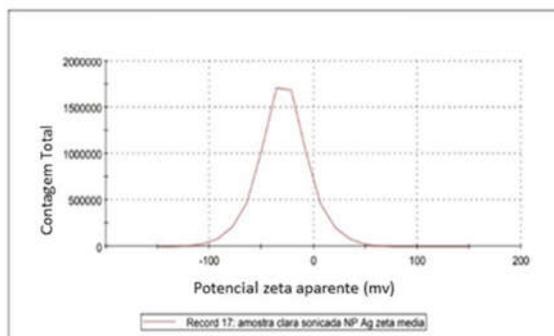


Figura 4



Figura 5

RESUMO

Fluido coloidal AgNps-*S.aromaticum*@alginato para controle de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

Fluido coloidal e uso

É divulgado nesta patente de invenção um fluido coloidal formado por alginato suplementado com nanopartículas de prata e óleo essencial das folhas de *Syzygium aromaticum* (AgNps-*S.aromaticum*@alginato) a ser utilizado contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O fluido obtido apresentou atividade frente as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*).